

QUADERNO TECNICO 2023-2024

APINVERNO

Interreg



Cofinancé par
l'Union Européenne

France - Italie ALGOTRA

Benefici e
rischi dello
svernamento
delle famiglie
d'api in altitudine



INRAE



UNA API
Unione Nazionale
Associazioni Apicoltori Italiani



SOMMARIO

✦ SCHEDA TECNICA APINVERNO N°1	3
Origine del progetto APINVERNO	
✦ SCHEDA TECNICA APINVERNO N°2	5
Il dispositivo sperimentale di APINVERNO	
✦ SCHEDA TECNICA APINVERNO N°3	8
Effetti delle strategie di gestione invernale sul carico di varroa durante la stagione apistica	
✦ SCHEDA TECNICA APINVERNO N°4	11
Quali possono essere gli effetti dello svernamento in montagna sullo sviluppo in primavera delle famiglie ?	
✦ SCHEDA TECNICA APINVERNO N°5	15
L'effetto dello svernamento sulle riserve e sulla produzione di miele	
✦ SCHEDA TECNICA APINVERNO N°6	18
Effetto dello svernamento in montagna e dell'ingabbiamento invernale sulla sopravvivenza delle colonie	
✦ SCHEDA TECNICA APINVERNO N°7	20
Quali effetti delle strategie di controllo sulla carica virale ?	
✦ SCHEDA TECNICA APINVERNO N°8	25
Il punto di vista degli apicoltori	
✦ SCHEDA TECNICA APINVERNO N°9	28
Resistenza alla varroa : il pin-test, uno strumento di valutazione del comportamento igienico	
✦ SCHEDA TECNICA APINVERNO N°10	31
APINVERNO - una transizione riuscita	

HANNO CONTRIBUITO AL SUCCESSO DEL PROGETTO APINVERNO

Eleonora Bassi
Robin Buisson
Benoît Doremus
Massimiliano Gotti
Valeria Grande
Giovanni Guido

Pascal Jourdan
Guillaume Kairo
Coline Kouchner
Daniele Longhi
Cristina Marzachi
Philippe Maure

Fanny Mondet
Michele Tagliabue
Simone Tosi
Emilie Tourlet

Crediti fotografici : Guillaume Kairo



ORIGINE DEL PROGETTO APINVERNO

Dal monitoraggio dei 390 alveari di Innov'api in 3 anni, con un ritmo di 8 osservazioni all'anno, è emersa chiaramente la questione delle condizioni di svernamento degli alveari. Da un lato, lo stato di salute pre-svernamento delle famiglie influenza la sopravvivenza invernale; dall'altro, la popolazione e lo stato di salute delle famiglie sopravvissute condizionano la ripresa delle famiglie stesse in primavera ovvero all'inizio della stagione e, in ultima analisi, la loro produttività nel corso dell'intera stagione. Tra i fattori sanitari essenziali da controllare in inverno, il più importante è il carico di Varroa, che va mantenuto basso.

Ciò che caratterizza la dinamica delle famiglie in inverno è la diminuzione della covata opercolata in seguito all'interruzione della deposizione delle uova da parte della regina, dovuta al calo delle temperature invernali.

In questo periodo, i trattamenti di fine stagione contro la Varroa sono responsabili della diminuzione del carico del parassita nelle famiglie. Da alcuni anni, questo trattamento di fine stagione è stato spesso accompagnato da un trattamento supplementare in inverno, per limitare significativamente la carica di Varroa durante l'inverno e all'inizio della stagione successiva. Il trattamento acaricida, solitamente a base di acido ossalico, è tanto più efficace quando applicato in assenza di covata.

Le due figure di Innov'Api :

- ✦ Differenza tra i trattamenti riusciti in Italia (Figura 1.1A) e i trattamenti non riusciti in Francia (Figura 1.1B). Si può notare che, dopo un trattamento inefficace di fine stagione in Francia (luglio/agosto, croce gialla), il carico di Varroa raggiunge livelli elevati durante la stagione (frecche rosa) ;

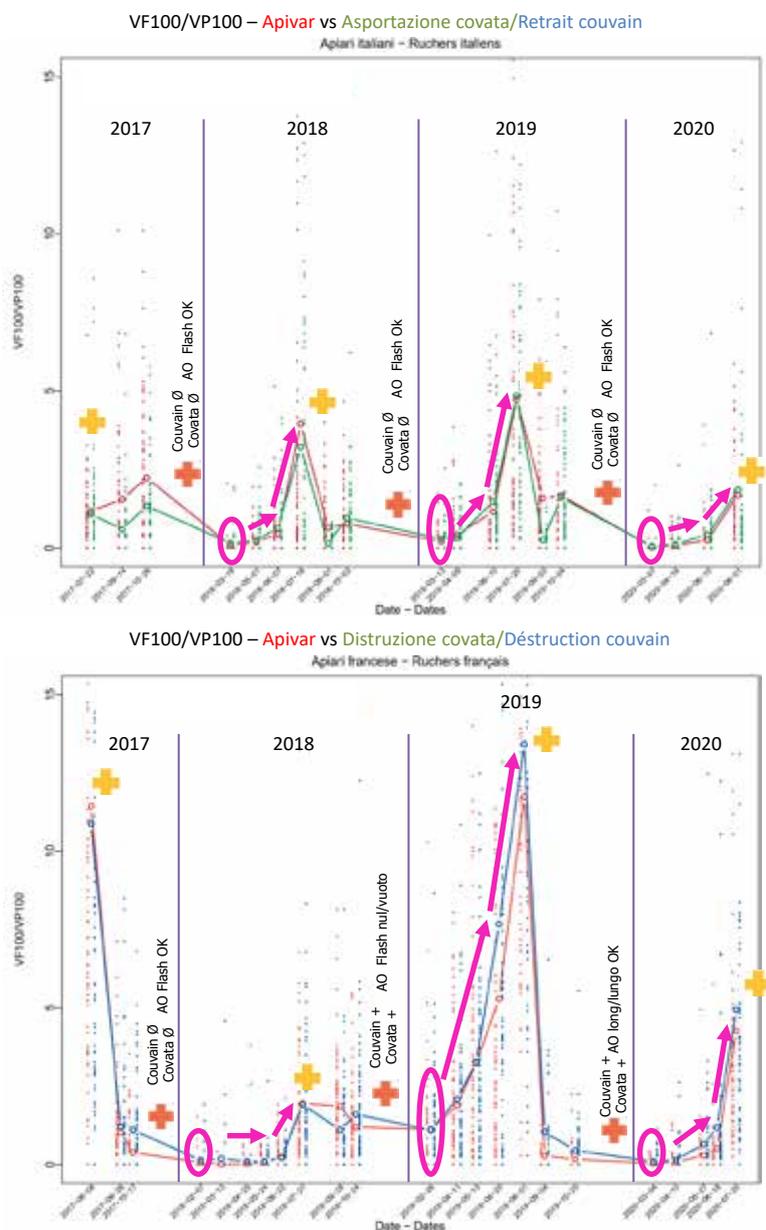


Figura 1.1 - Effetto dei trattamenti contro la Varroa in Italia (A) e in Francia (B)



✦ Figura 1.2: Conseguenza sulla produttività delle colonie durante la stagione e sulla mortalità invernale: nell'apiario francese T2, dove il trattamento contro la Varroa a fine stagione e quello invernale sono stati insufficienti, si è registrato un calo di produzione del 7% e una mortalità invernale vicina al 40%.

✦ Una pratica comune tra gli apicoltori della regione ALCOTRA è quella di spostare gli alveari nelle pianure costiere a fine stagione per lo svernamento, per approfittare della ripresa precoce della vegetazione e quindi delle potenziali risorse alimentari.

Questo è il nocciolo della questione posta nel progetto APINVERNO: le temperature invernali, sempre più miti sulle coste del Mediterraneo a causa del cambiamento climatico, sono ancora in grado di provocare un blocco naturale di covata? Oppure dobbiamo ricorrere a svernamenti ad altitudini più elevate con inverni più rigidi (che provocano naturalmente il blocco di covata)? O a un intervento per indurre artificialmente il blocco, come l'ingabbiamento della regina?

APINVERNO si interroga quindi sull'esistenza di una strategia ottimale per organizzare lo svernamento; a tal fine, il progetto propone di confrontare diversi scenari :

✦ Lasciare le colonie in quota, in modo tale da provocare un arresto naturale della deposizione a causa del rigore dell'inizio dell'inverno, e approfittare di questo periodo di assenza di covata per effettuare un trattamento acaricida supplementare contro la Varroa; al termine di questo trattamento, transumare in pianura per sfruttare le prime risorse della primavera;

Exemple des ruchers Français durant la saison 2019-2020
Esempio di apiari francesi durante la stagione 2019-2020

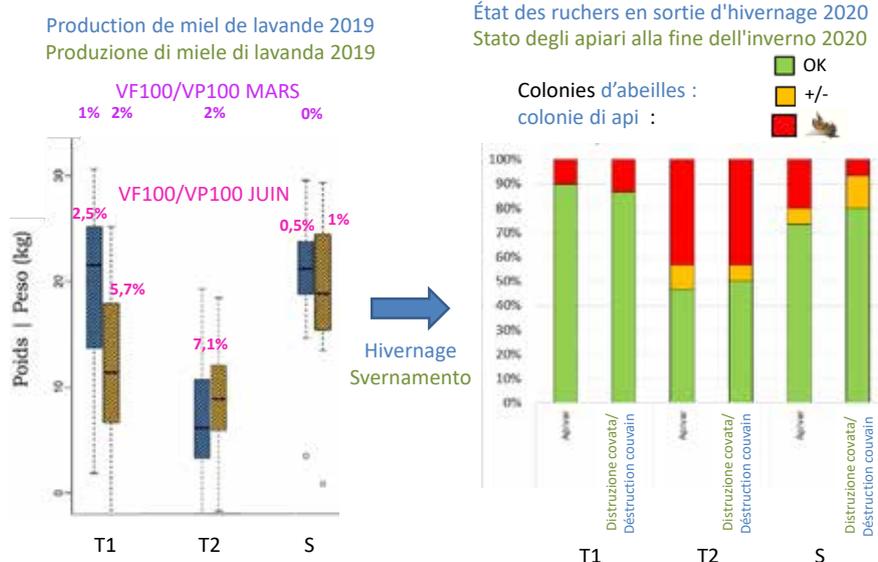


Figura 1.2 - Conseguenza sulla produttività delle colonie durante la stagione e sulla mortalità invernale

✦ Spostare le famiglie in pianura alla fine dell'autunno, nella speranza che l'inverno sia sufficientemente rigido da indurre un blocco di covata e che le famiglie non abbiano un carico troppo elevato di Varroa alla fine dell'inverno;

✦ Transumare in pianura alla fine dell'autunno e, una volta allestito l'apiario, integrare la pratica dell'ingabbiamento della regina per interrompere artificialmente la deposizione della regina e realizzare un trattamento acaricida supplementare nelle migliori condizioni possibili (assenza di covata).

Il confronto tra le modalità è stato arricchito da una differenza abbastanza importante tra il clima del Piemonte e quello delle Alpi provenzali. In generale, le Alpi provenzali godono di temperature più miti rispetto alle Alpi piemontesi. Il clima delle due regioni è molto diverso, poiché si trovano sui versanti opposti della catena montuosa. Le temperature medie annue sono di 9°C e 16°C in Piemonte e in Provenza rispettivamente, con massime medie di 19°C e 26°C in estate. Il numero di giorni di pioggia al mese varia tra 8 e 11 in Piemonte e tra 3 e 8 in Provenza. Le precipitazioni medie giornaliere variano da 2,5 a 4,4 mm/giorno durante la primavera e l'estate in Piemonte e da 0,6 a 1,8 mm/giorno in Provenza per lo stesso periodo dell'anno. (www.donneesmondiales.com/europe).



IL DISPOSITIVO SPERIMENTALE DI APINVERNO

OBBIETTIVO

L'obiettivo principale del progetto APINVERNO è valutare diverse strategie per la lotta alla Varroa in inverno: svernamento in quota in ambiente freddo e/o ingabbiamento della regina. Queste diverse strategie mirano a favorire l'interruzione della covata nelle colonie per ottimizzare l'efficacia dei trattamenti acaricidi a base di acido ossalico. In assenza di covata, la varroa si trova esclusivamente in fase foretica sulle api, quindi è esposta direttamente all'effetto dell'acido ossalico durante i trattamenti "flash" tramite gocciolamento o sublimazione. Per raggiungere questo obiettivo, è stato condotto uno studio, in Francia e in Italia, per 2 anni, sugli apiari di 4 apicoltori (2 francesi e 2 italiani) che hanno messo a disposizione per la sperimentazione 60 colonie ciascuno ogni anno (240 colonie/anno).

PROTOCOLLO SPERIMENTALE

ANNO 1:

Nel primo anno di studio sono stati messi in atto 2 protocolli leggermente diversi in Francia e Italia per adattarsi a delle differenze minori nelle pratiche apistiche sui due versanti delle Alpi. In Francia sono stati scelti 2 apicoltori con circuiti produttivi diversi al fine di integrare questa componente nella scelta delle strategie di controllo invernale. Infatti, nella regione "Provenza-Alpi-Costa Azzurra", la grande diversità del territorio offre la possibilità di concludere la stagione dell'apicoltura con diverse raccolte estive, rispettivamente di lavanda o di

montagna, che possono giocare un ruolo diverso nello sviluppo della varroa, per il loro carattere bloccante o stimolante, rispettivamente. Al termine della stagione produttiva e dopo i trattamenti estivi, lasciati a libera scelta dell'apicoltore, entrambi gli apiari sono stati suddivisi in 2 gruppi da 30 colonie. Un gruppo ha svernato in montagna, a un'altitudine di circa 1000 m, nei dipartimenti delle Alte Alpi o delle Alpi Marittime, in condizioni fredde favorevoli all'interruzione naturale della covata. L'altro gruppo ha svernato in pianura, tra i 250 e i 300 m, nelle Alpi Marittime o nel Var. A differenza della zona montuosa, la pianura offre condizioni più temperate e quindi non favorisce il blocco naturale della covata. Di conseguenza, in questo gruppo è stato effettuato l'ingabbiamento della regina da metà novembre a metà dicembre per provocare un'interruzione artificiale della covata (Figura 2.1).

Per il gruppo svernato in quota, lo svernamento in montagna è da considerare come parziale perché le colonie si sono aggiunte a quelle svernate in pianura a partire dalla metà di dicembre, al momento dello sgabbiamento delle regine. Tutte le colonie delle 2 modalità in Francia, riunite fino alla fine della stagione, sono state poi sottoposte ai trattamenti acaricidi.

In Italia gli apiari dei 2 apicoltori italiani hanno seguito percorsi produttivi identici (acacia e castagno), che sono ampiamente diffusi nella regione. A differenza della Francia, le strategie di ingabbiamento e di non ingabbiamento della regina sono state testate in ambienti diversi (montagna e pianura). Il motivo di questo adattamento del protocollo è di tipo



Figura 2.1 - Dispositivo sperimentale dell'anno 1 per gli apiari francesi



Figura 2.2 - Dispositivo sperimentale dell'anno 1 per gli apiari italiani

climatico poiché la pianura padana (170 m di quota) è una zona piuttosto fredda in inverno, mentre le zone di svernamento in montagna, a quote più basse rispetto a quelle francesi (700 m in Piemonte e negli Appennini) non sono necessariamente fredde a seconda della localizzazione e dell'esposizione degli apiari. In queste condizioni, in cui il blocco di covata può non essere sistematico o non essere contemporanea per tutte le colonie di un apiario, la strategia di ingabbiamento delle regine permette di omogeneizzare l'interruzione della deposizione. Un'altra conseguenza è che i gruppi di famiglie che hanno svernato in pianura si sono aggiunti a quelle svernate in montagna durante l'inverno per essere riunite fino alla fine della stagione (Figura 2.2).



ANNO 2 :

Per il secondo anno è stato messo in atto un protocollo comune in Francia e Italia. In ciascuno dei 4 apiari, 1 gruppo di 20 colonie ha svernato in montagna senza ingabbiamento della regina e 2 gruppi di 20 colonie hanno svernato in pianura con o senza ingabbiamento (Fig. 2.3).

PRINCIPIO DELL'INGABBIAMENTO DELLA REGINA

Per garantire il blocco artificiale di covata, le regine vengono ingabbiate per 25 giorni, da metà novembre a metà dicembre. Durante questo periodo

di tempo, durante il quale si induce l'interruzione della deposizione, emerge l'intera covata (ciclo di 21 giorni per la covata operaia e di 24 giorni per la covata maschile). Per isolare le regine, sono state utilizzate le gabbiette cinesi. Una volta catturata la regina, la gabbia viene fissata sulla covata (più fresca possibile e che quindi ultima a sfarfallare), e sulla parte superiore del favo in prossimità delle riserve. Questa azione mira a limitare i rischi di spostamento del glomere e di abbandono della regina. Al momento della liberazione della regina, tutta la varroa è in fase foretica poiché non ha più la



Figure 2.3 - Dispositivo sperimentale dell'anno 2 per gli apiari francesi e italiani

possibilità di rinchiudersi nella covata per riprodursi. Vengono quindi applicati due trattamenti successivi di acido ossalico tramite sublimazione: il primo al momento del rilascio ed il secondo 3-4 giorni dopo, prima che compaiano i primi stadi larvali se la regina riprende l'attività di deposizione delle uova al momento del rilascio (Fig. 2.4).

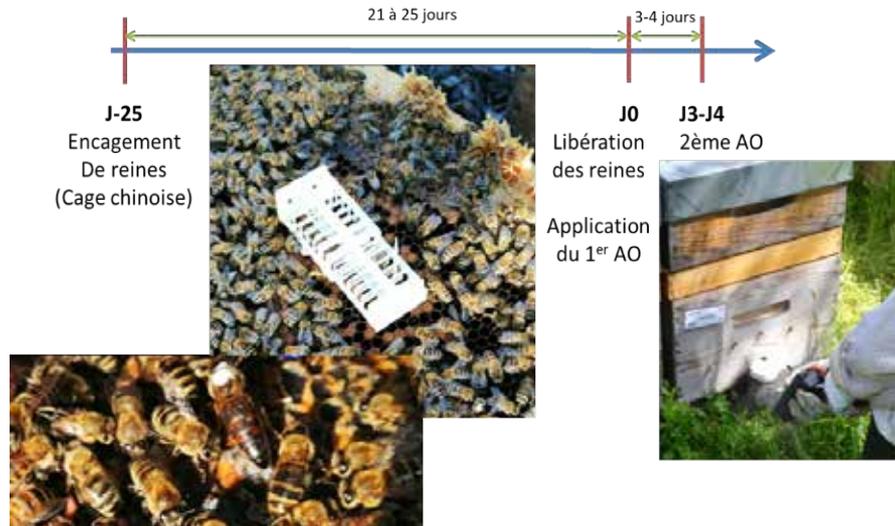


Figura 2.4 - Principio dell'ingabbiamento invernale con gabbietta cinese

CALENDARIO ANNUALE DELLE OPERAZIONI E DELLE MISURAZIONI EFFETTUATE SULLE COLONIE

Le varie operazioni e misurazioni sono state effettuate dal mese di agosto (trattamento estivo e preparazione allo svernamento) al luglio dell'anno successivo (fine della stagione produttiva). Per ciascuna famiglia, sono stati misurati: la popolazione d'api e di covata tramite metodo ColEval (Hernandez et al, 2020), lo stato

di salute (infestazione varroa e cariche virali) e il comportamento igienico, in periodi chiave della stagione (prima della costituzione dei gruppi (V1), alla fine dell'inverno (V2) e prima dell'ultima raccolta (V3). Inoltre, i tassi di sopravvivenza invernale sono stati valutati durante le visite primaverili e le performance produttive sono state misurate pesando ogni raccolta. In questo modo, è stata realizzata una valutazione oggettiva delle diverse strategie di gestione della varroa per identificare i costi e i benefici di ciascuna di esse (Fig. 2.5).

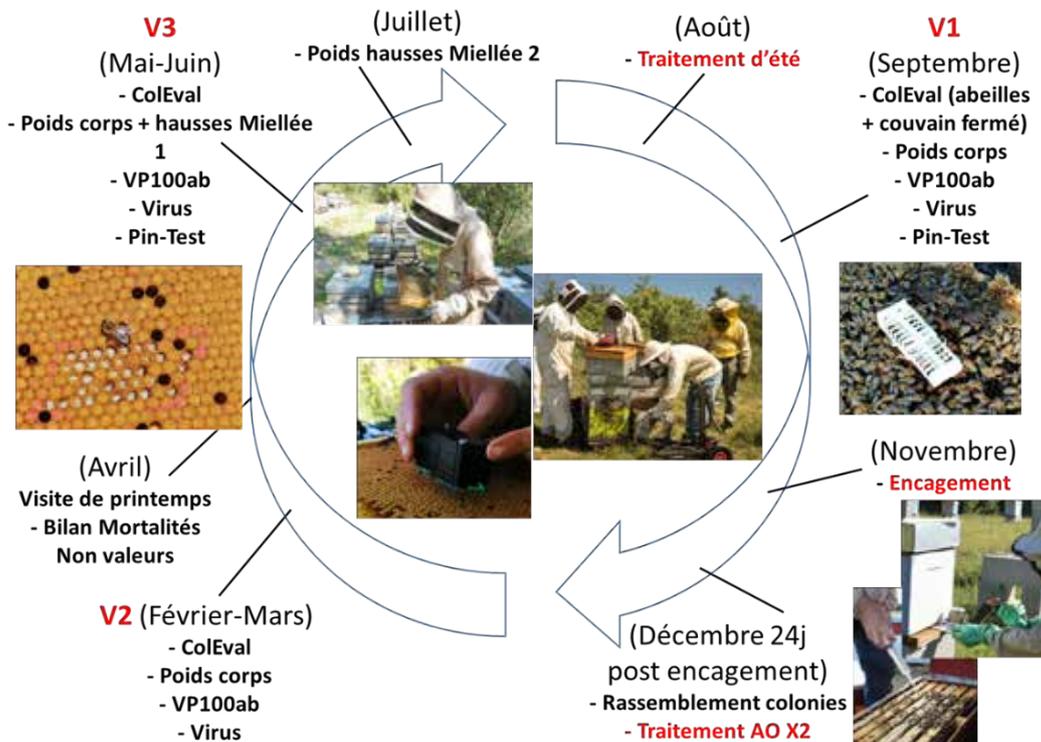


Figura 2.5 - Calendario annuale delle operazioni realizzate sulle famiglie

EFFETTI DELLE STRATEGIE DI GESTIONE INVERNALE SUL CARICO DI VARROA DURANTE LA STAGIONE APISTICA

Nel progetto APINVERNO, il beneficio di diverse strategie di svernamento (svernamento in quota o in pianura con o senza ingabbiamento) per combattere la varroa è stato valutato misurando l'evoluzione dei tassi di infestazione nel tempo. In entrambi gli anni del progetto, i tassi di infestazione sono stati misurati in settembre (prima dell'attuazione delle strategie di svernamento), a fine inverno (dopo i trattamenti e alla ripresa delle famiglie) e prima dell'ultimo flusso nettario (lavanda o montagna in Francia e castagno in Italia) sapendo che tassi elevati possono avere un impatto sulla produzione di miele.

COME MISURARE IL TASSO DI VARROA FORETICA ?

Per misurare la carica di varroa nelle colonie, l'indicatore di infestazione utilizzato è la misurazione del tasso di varroa foretica per 100 api (VP/100ab).

Esistono tre metodi (zucchero a velo, CO₂ e detersivo) per misurare il tasso VP/100ab nelle colonie di api. Nel progetto APINVERNO è stato privilegiato il metodo con detersivo poiché è il più affidabile. Questo metodo consiste nel prelevare, su un telaio di covata fresca, un campione di circa 300 api (equivalente ad un volume di 100 ml o a un peso di 40 g). Una volta prelevato, questo campione viene conservato al freddo in un sacchetto per congelatore. In laboratorio, i sacchetti sono pesati per determinare la quantità di api raccolte (Quantità di api = peso del campione ÷ 0,14 g (peso di un'ape)). Successivamente, una soluzione d'acqua e detersivo (Teepol®) viene aggiunta nei sacchetti, che vengono poi agitati vigorosamente per staccare le varroe dalle api. Una

volta effettuata questa operazione, il contenuto della busta viene filtrato e risciacquato attraverso un doppio setaccio, il primo (maglie larghe) trattiene le api ed il secondo (maglie fini) trattiene le varroe. Si possono quindi contare le varroa sul setaccio fine, tenendo conto del numero reale di api presenti nel campione e calcolare infine il tasso VP/100ab (VP/100ab = numero di varroe X 100 / numero di api) (Fig 3.1)



Figura 3.1 - Lavaggio delle api e conta delle varroe foretiche

QUANTO SONO EFFICACI LE DIVERSE STRATEGIE PER COMBATTERE LA VARROA IN INVERNO ?

I risultati presentati si distinguono tra apiari francesi e italiani. Per ciascuna modalità vengono compilati i risultati dei 2 apicoltori.

IN FRANCIA :

Durante le 3 misurazioni effettuate ogni anno, non è stata osservata alcuna differenza nel tasso di infestazione tra le modalità (1° anno : inverno in montagna senza ingabbiamento VS svernamento in pianura con ingabbiamento; 2° anno : inverno in montagna senza ingabbiamento VS inverno in pianura con ingabbiamento VS inverno in pianura senza ingabbiamento). I diversi gruppi presentavano livelli bassi e accettabili di varroa foretica prima dello svernamento (circa 0,2 VP/100ab nell'anno 1 e 1VP/100ab nell'anno 2 come valore mediano). A marzo, alla fine dell'inverno, le misurazioni hanno rivelato una buona efficacia di tutte le strategie di controllo invernale e si avvicinavano a tassi di infestazione di 0 VP/100ab come valore mediano per entrambi gli anni. Questi trattamenti invernali efficaci hanno permesso di mantenere bassi i carichi di varroa durante le due stagioni di produzione poiché prima dell'ultimo flusso nettario, nel mese di giugno, i tassi erano sistematicamente inferiori a 1 VP/100ab come valore mediano, ben al di sotto della soglia di 2-3 VP /100ab, oltre la quale si inizia ad avere un impatto sulla produzione (Fig. 3.2).

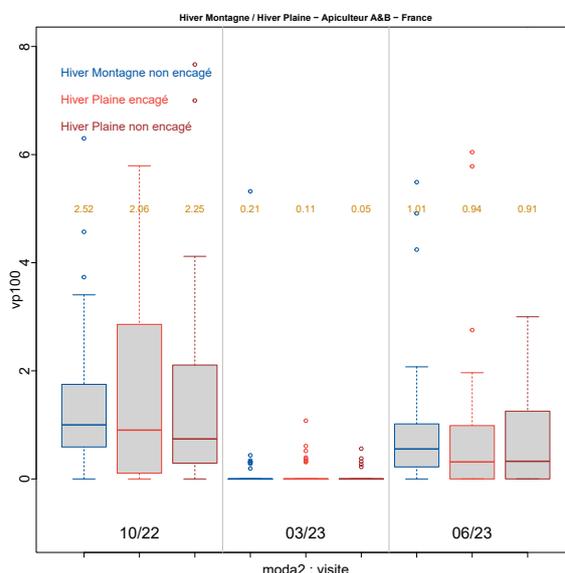
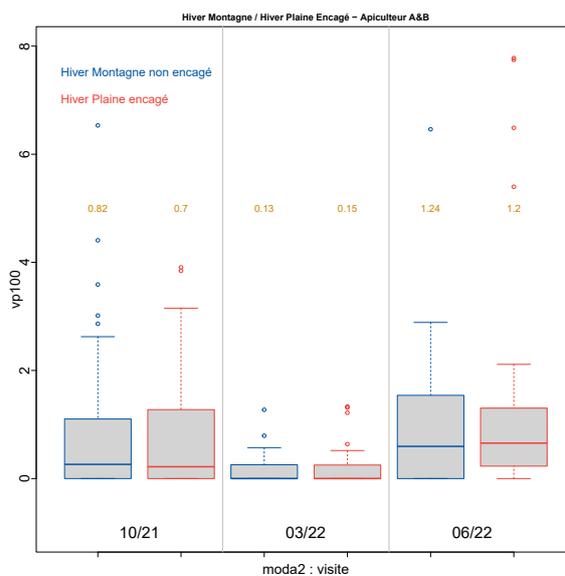


Figura 3.2 - Evoluzione del tasso di varroa foretica per gli apiari francesi negli anni 1 e 2 in funzione delle diverse strategie invernali

IN ITALIA :

Come in Francia, durante le 3 misurazioni effettuate ogni anno, non è stata osservata alcuna differenza nel tasso di infestazione tra le modalità (1° anno: inverno in montagna con o senza ingabbiamento VS inverno in pianura con o senza ingabbiamento; 2° anno: inverno in montagna senza ingabbiamento VS svernamento in pianura con ingabbiamento VS svernamento in pianura senza ingabbiamento). I diversi gruppi presentavano tassi di varroa foretica molto bassi e accettabili durante i 2 anni poiché, qualunque fosse il periodo di misurazione, i tassi

avevano un valore medio di 0 VP/100ab e quindi non hanno mai rappresentato un rischio per le colonie italiane. Tutte le strategie di controllo invernale hanno dimostrato la loro efficacia (Fig. 3.3).

UN PUNTO DA CHIARIRE :

È da notare che anche le strategie senza l'ingabbiamento della regina in ambienti invernali teoricamente meno propensi al blocco spontaneo di covata (pianura/costa in Francia) si sono rivelate efficaci. Questo risultato è dovuto a due inverni particolarmente freddi durante la sperimentazione, che hanno indotto un'assenza di covata nelle famiglie al momento dei trattamenti. Trattare alla cieca in ambienti dove gli inverni possono essere caldi comporta il rischio di un trattamento invernale inefficace, che si traduce in una riduzione della produzione e in perdite invernali nella stagione successiva (l'esperienza del Progetto Innov'api - quaderno tecnico 2017-2021).

In conclusione, svernare in zone fredde o ingabbiare le regine contribuisce a garantire un trattamento invernale efficace e una stagione apistica serena.

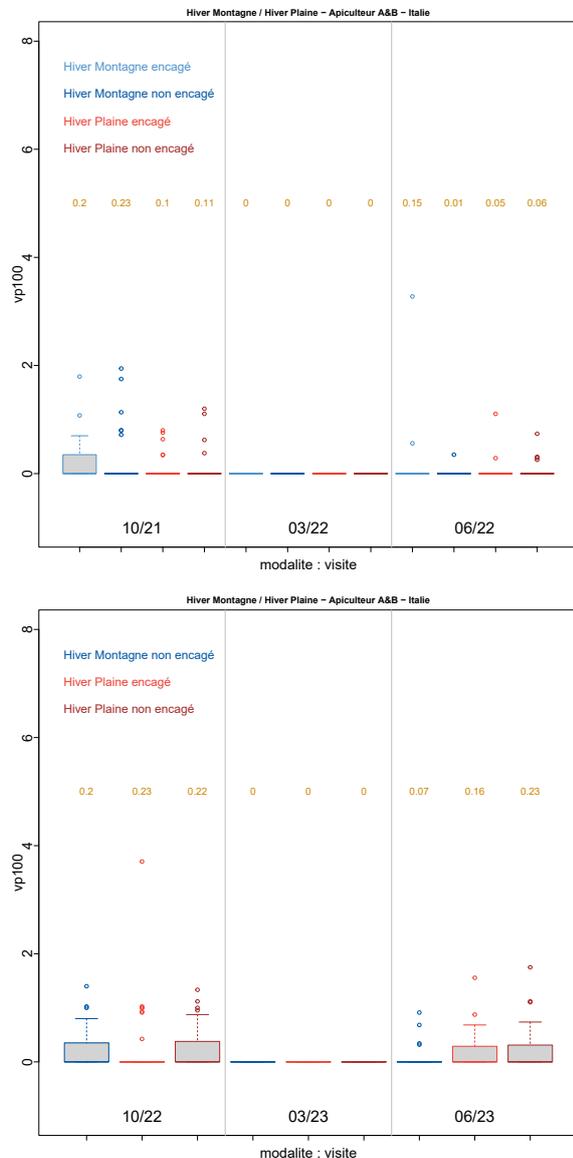
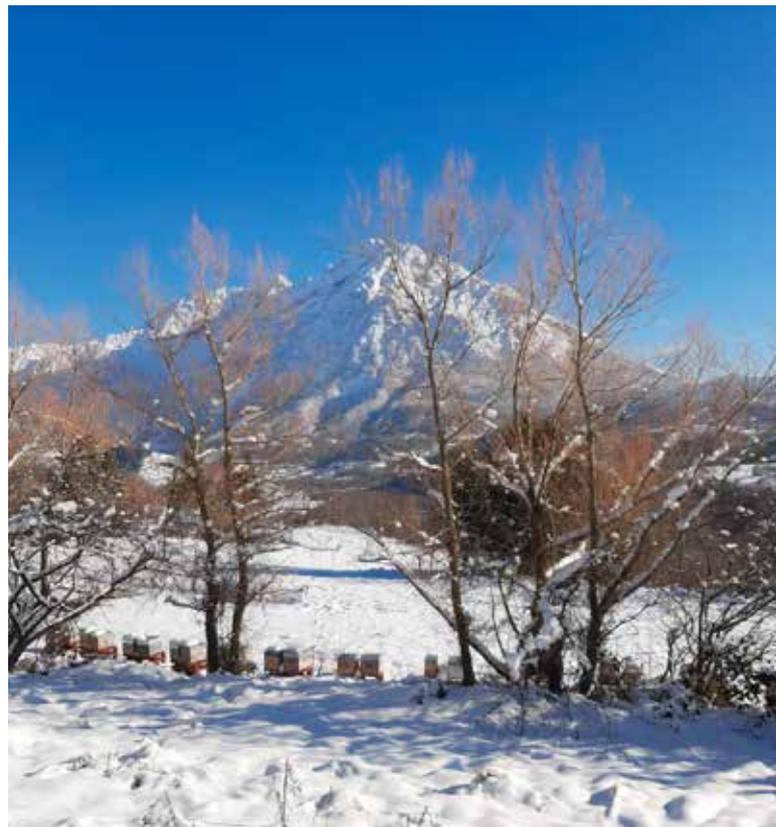


Figure 3.3 - Evoluzione del tasso di varroa foretica per gli apicoltori italiani negli anni 1 e 2 in funzione delle diverse strategie invernali



QUALI POSSONO ESSERE GLI EFFETTI DELLO SVERNAMENTO IN MONTAGNA SULLO SVILUPPO IN PRIMAVERA DELLE FAMIGLIE ?

Vista l'importanza di trattare gli alveari contro la varroa durante l'inverno in sicuro blocco di covata, e vista la difficoltà che in alcune zone ALCOTRA si riscontra per ottenere il blocco naturale di covata (o per vicinanza al mare o per gli effetti del surriscaldamento globale), si è pensato di provare a indurre tale blocco con un invernamento delle famiglie in montagna, grazie a una stagione attiva più breve e grazie alle temperature più basse riscontrabili in tali zone.

Durante il primo anno di progetto abbiamo formato 4 gruppi di alveari in Italia :

- ✦ Alveari invernati in pianura con ingabbiamento della regine ad ottobre per 30-40 giorni
- ✦ Alveari invernati in pianura senza ingabbiamento della regina
- ✦ Alveari invernati in montagna con ingabbiamento delle regine ad ottobre per 30-40 giorni
- ✦ Alveari invernati in montagna senza ingabbiamento della regina

In Francia, invece, durante il primo anno di progetto sono stati formati 2 gruppi di alveari :

- ✦ Alveari invernati in pianura con ingabbiamento della regine ad ottobre per 30-40 giorni
- ✦ Alveari invernati in montagna senza ingabbiamento della regina

Durante il secondo anno di progetto i protocolli sono stati cambiati.

Si è deciso di formare 3 gruppi di alveari sia in Italia che in Francia :

- ✦ Alveari invernati in pianura con ingabbiamento della regine ad ottobre per 30-40 giorni
- ✦ Alveari invernati in pianura senza ingabbiamento della regina
- ✦ Alveari invernati in montagna senza ingabbiamento della regina

Gli alveari sono stati misurati seguendo il metodo ColEval (figura 4.1). Il metodo ColEval prevede la valutazione da parte di un operatore formato e allenato della percentuale di copertura di ogni facciata di telaio da parte delle api e della covata opercolata (attraverso il metodo ColEval è possibile valutare tutte le componenti di un favo, ma nel caso di APINVERNO si è deciso di semplificarlo alla valutazione di solamente queste due componenti).



Figura 4.1 - Un favo di covata. Nel metodo ColEval, il 100% è la totalità del telaio (contorno di legno) anche quando il favo non è completamente costruito. Il valore minimo valutabile è il 5%.

² Hernandez, Julie et al.- Coleval: Honeybee COLony structure EVALuation for field survey - Insects 2020, 11(1), 41; <https://doi.org/10.3390/insects11010041>

A ottobre 2021 in Francia (figura 4.2), gli alveari dei due gruppi (inverno in montagna-regina non ingabbiata e inverno in pianura-regina ingabbiata) presentavano la stessa quantità di api adulte e covata (nessuna differenza significativa). A seguito del trattamento invernale (effettuato nell'inverno 2021-2022), nella stagione 2022, il gruppo di alveari con svernato in montagna aveva leggermente meno api e covata rispetto all'altro gruppo ma, durante la stagione produttiva, non sono stati registrati trend di sviluppo differenti tra i due gruppi di alveari.

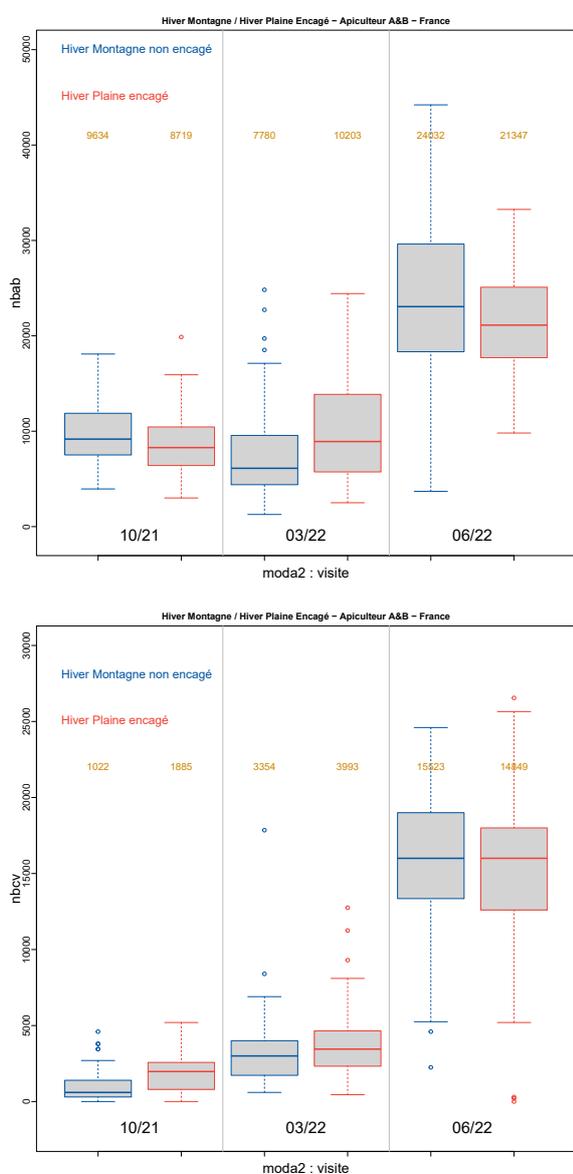


Figura 4.2 - Valutazione tramite metodo ColEval della quantità di api e di covata negli alveari francesi durante il primo anno. La misura è stata ripetuta ad ottobre, marzo e giugno.

A ottobre 2022 in Francia (figura 4.3), gli alveari dei tre gruppi (inverno in montagna-regina non ingabbiata, inverno in pianura-regina ingabbiata e inverno in pianura-regina non ingabbiata) presentavano la stessa quantità di api adulte e covata (nessuna differenza significativa). A seguito del trattamento invernale (effettuato nell'inverno 2022-2023), nella stagione 2023 non sono stati registrati trend di sviluppo differenti tra i due gruppi di alveari. Per il gruppo che è rimasto in montagna, si è registrata una quantità minore di api allo svernamento, ma questa differenza si è appianata durante i mesi successivi.

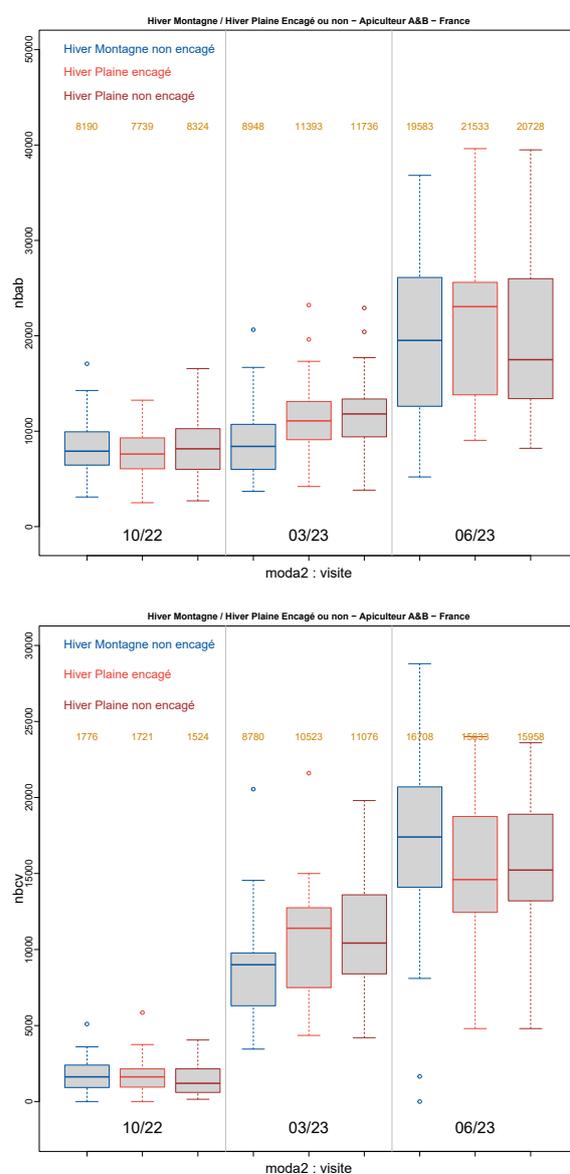


Figura 4.3 - Valutazione tramite metodo ColEval della quantità di api e di covata negli alveari francesi durante il secondo anno. La misura è stata ripetuta ad ottobre, marzo e giugno.



In Italia, a ottobre 2021 (figura 4.4), gli alveari dei quattro gruppi (inverno in montagna-regina non ingabbiata, inverno in montagna-regina ingabbiata, inverno in pianura-regina ingabbiata e inverno in pianura-regina non ingabbiata) presentavano la stessa quantità di api adulte e covata (nessuna differenza significativa). A marzo 2022, i gruppi "inverno in montagna-regina ingabbiata" e "inverno in montagna-regina non ingabbiata" avevano una quantità inferiore di api e di covata rispetto agli altri gruppi. Questa differenza si è però annullata nel mese di giugno.

A ottobre 2022 in Italia (figura 4.5), gli alveari dei tre gruppi (inverno in montagna-regina non ingabbiata, inverno in pianura-regina ingabbiata e inverno in pianura-regina non ingabbiata) presentavano la stessa quantità di api adulte e covata (nessuna differenza significativa). A seguito del trattamento invernale (effettuato nell'inverno 2022-2023), nella stagione 2023 non sono stati registrati trend di sviluppo differenti tra i due gruppi di alveari.

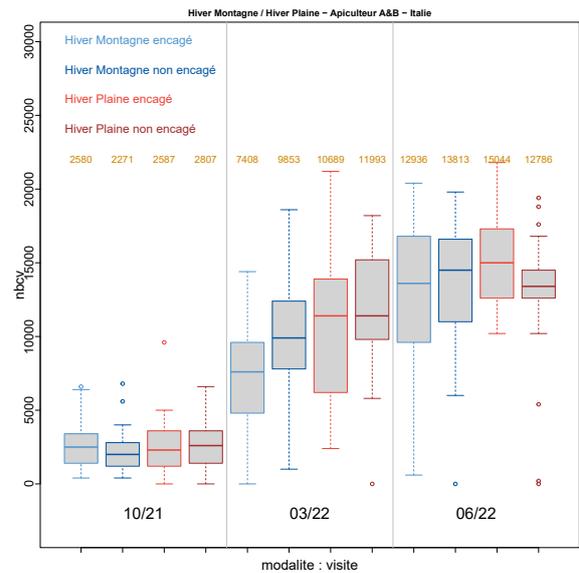
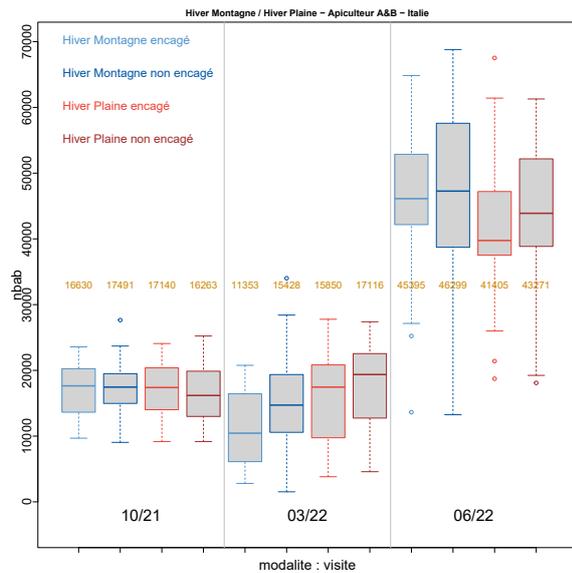


Figura 4.4 - Valutazione tramite metodo ColEval della quantità di api e di covata negli alveari italiani durante il primo anno. La misura è stata ripetuta ad ottobre, marzo e giugno.

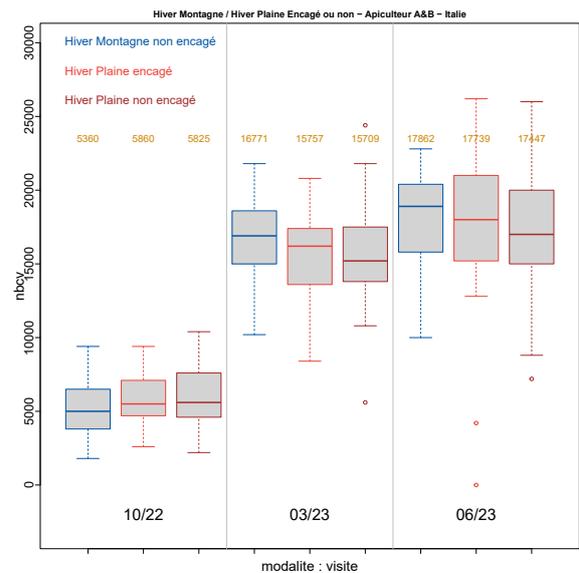
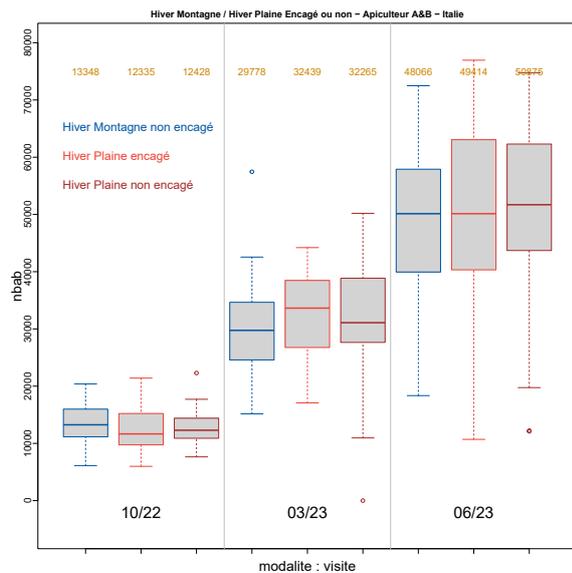


Figura 4.5 - Valutazione tramite metodo ColEval della quantità di api e di covata negli alveari italiani durante il secondo anno. La misura è stata ripetuta ad ottobre, marzo e giugno.



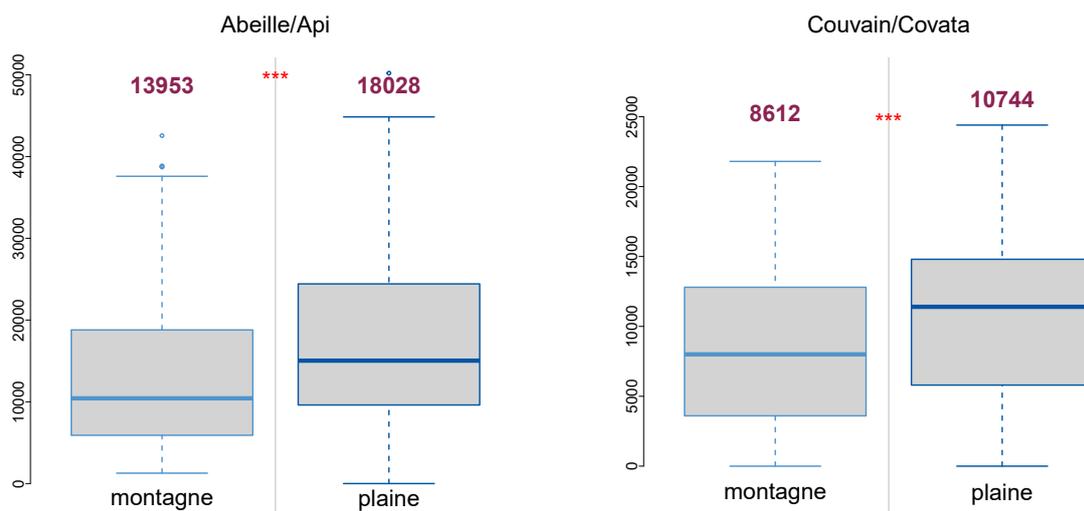


Figura 4.6 - Quantità di api e di covata presenti in tutti gli alveari francesi e italiani a marzo.

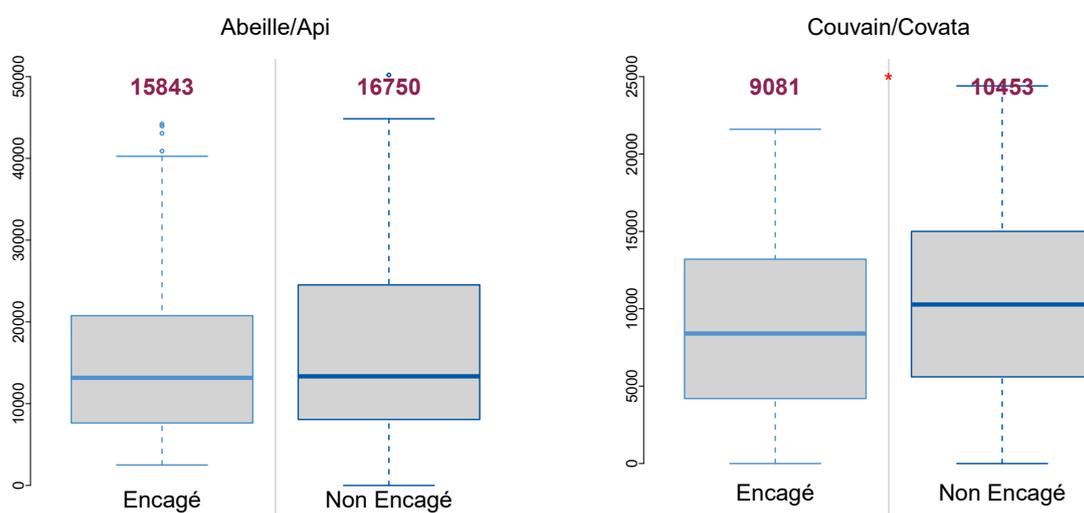


Figura 4.7 - quantità di api e di covata presenti in tutti gli alveari francesi e italiani a giugno.

Analizzando la quantità di api e covata presenti allo svernamento e considerando tutti gli alveari partecipanti ai due anni di progetto, si può evidenziare che esiste una differenza significativa tra gli alveari che hanno svernato in montagna (hanno una quantità di api e covata inferiore) rispetto a quelli che hanno svernato in pianura (figura 4.6). Questo indica che l'effetto dell'ambiente sullo svernamento degli alveari è stato forte.

Considerando tutti gli alveari partecipanti ai due anni di progetto e analizzando la quantità di api e covata presenti allo svernamento, si può evidenziare che non esiste una differenza significativa tra gli alveari che hanno subito l'ingabbiamento della regina in autunno-inverno rispetto a quelli che non hanno avuto la regina ingabbiata (figura 4.7).

Questo indica che l'effetto della tipologia di tecnica di trattamento non ha avuto un elevato impatto sullo svernamento degli alveari e sul loro sviluppo durante la stagione successiva.

CONCLUSIONI

La pratica dello svernamento in montagna induce una differenza significativa (figura 4.7) nella quantità di api adulte e di covata presenti negli alveari alla fine dell'inverno (a marzo) : le famiglie svernate in montagna sono leggermente più piccole in questo periodo.

Tale differenza, però, va ad annullarsi entro il mese di giugno, quando non è più possibile osservare alcuna differenza significativa.



L'EFFETTO DELLO SVERNAMENTO SULLE RISERVE E SULLA PRODUZIONE DI MIELE

Durante il monitoraggio degli 8 apiari coinvolti nel progetto APINVERNO, i melari di tutti gli alveari del dispositivo sperimentale sono stati pesati al momento della raccolta.

In Italia, i due raccolti principali sono quello di acacia (apiari A e B; raccolto a metà maggio, M1) e quello di castagno (apiari A e B; raccolto nella prima metà di luglio, M2).

In Francia, il primo raccolto viene effettuato in montagna (apiario A; in maggio; M1), oppure su macchia o acacia (apiario B; raccolto a fine aprile, inizio maggio; M1). La seconda raccolta viene effettuata in montagna (apiario A; fine giugno/inizio luglio; M1) o sulla lavanda (apiario B; raccolta a metà luglio; M2).

Ricordiamo i diversi gruppi del protocollo :

- ✦ Nel 2022, in Italia, sono previste 4 condizioni : svernamento in montagna con o senza ingabbiamento e svernamento in pianura, con o senza ingabbiamento.
- ✦ Nel 2022, in Francia, sono presenti solo due gruppi : svernamento in montagna senza ingabbiamento e svernamento in pianura con ingabbiamento.
- ✦ Nel 2023, in Italia e in Francia, ci sono tre condizioni : svernamento in montagna senza ingabbiamento e svernamento in pianura con o senza ingabbiamento.

L'obiettivo di queste diverse condizioni sperimentali è di determinare, per ciascuna, i vantaggi nel controllo della varroa in inverno. Il progetto mira anche a garantire che le diverse strategie non rappresentino un rischio per i raccolti della stagione successiva.



Figura 5.1 - Pesando il nido

ANNO 2022 - Effetto dello svernamento in montagna o in pianura sulla produzione totale (M1 + M2) in Italia e Francia.

In Italia e in Francia, a prescindere dagli apiari, e quindi dal tipo di miele raccolto, non sono state riscontrate differenze significative tra i gruppi sperimentali.

Le famiglie con regine non ingabbiate in Italia nell'apiario A sembrano avere un peso del raccolto leggermente superiore, ma il basso numero di alveari (15 per gruppo) non consente di confermare se questa tendenza sia significativa.

ANNO 2023 - Effetto dello svernamento in montagna e in pianura sulla produzione totale (M1 + M2) in Italia e Francia.

Nel 2023, il protocollo è identico in Italia e in Francia. In generale, non si registrano differenze significative tra i diversi metodi. Come nel 2022 in Italia, il raccolto medio della modalità "non ingabbiata" in pianura è leggermente superiore a quello delle altre due modalità, ma questa media elevata è dovuta a pochi alveari con una produzione maggiore. Ci limiteremo affermando che c'è una tendenza ad avere un raccolto leggermente migliore in peso quando la regina non è ingabbiata in pianura.

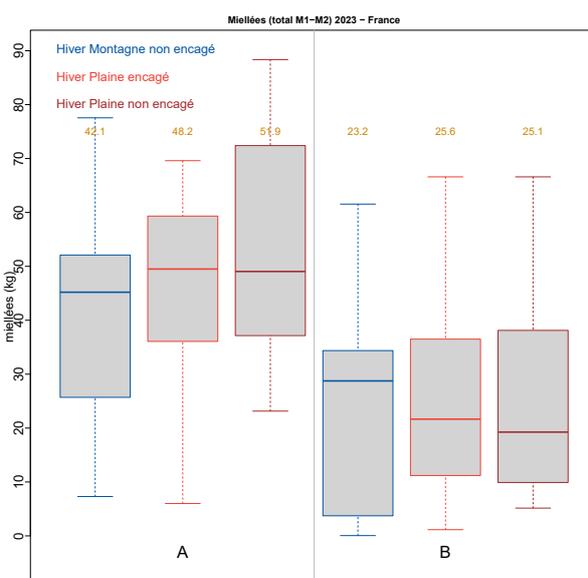
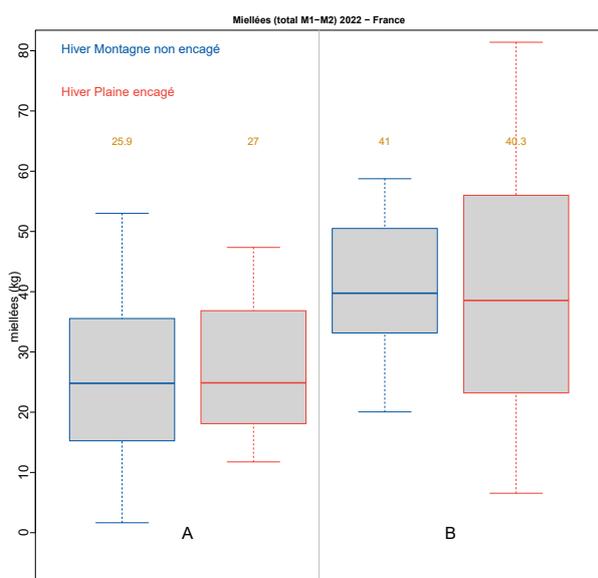
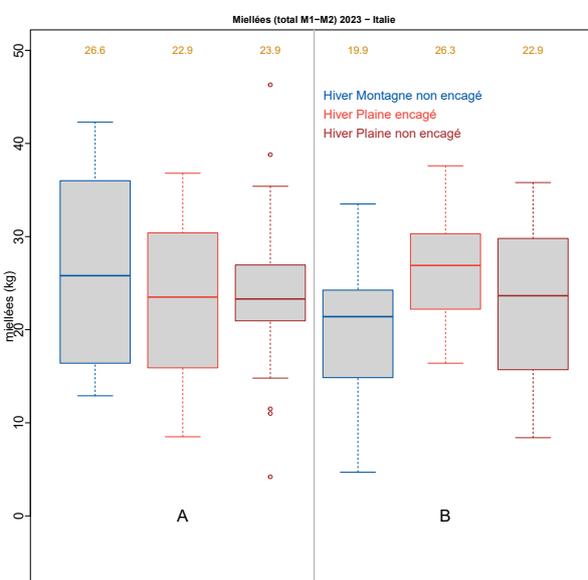
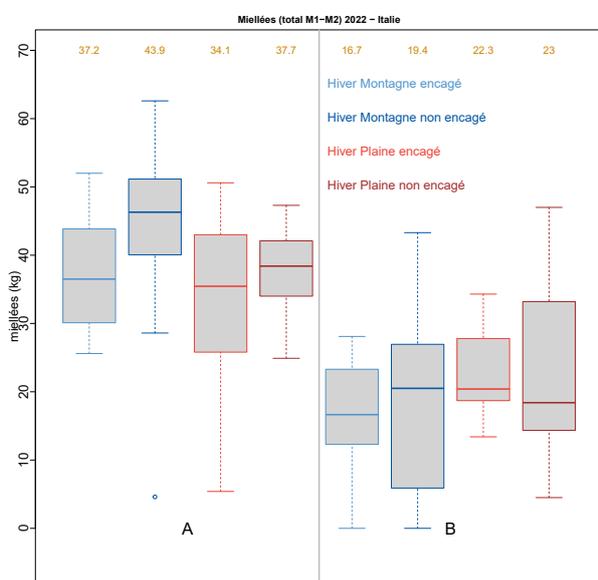


Figura 5.2 - Peso totale delle raccolte nel 2022 in Italia (pannello in alto) e in Francia (in basso)

Figura 5.3 - Peso totale delle raccolte nel 2023 in Italia (pannello in alto) e in Francia (in basso)



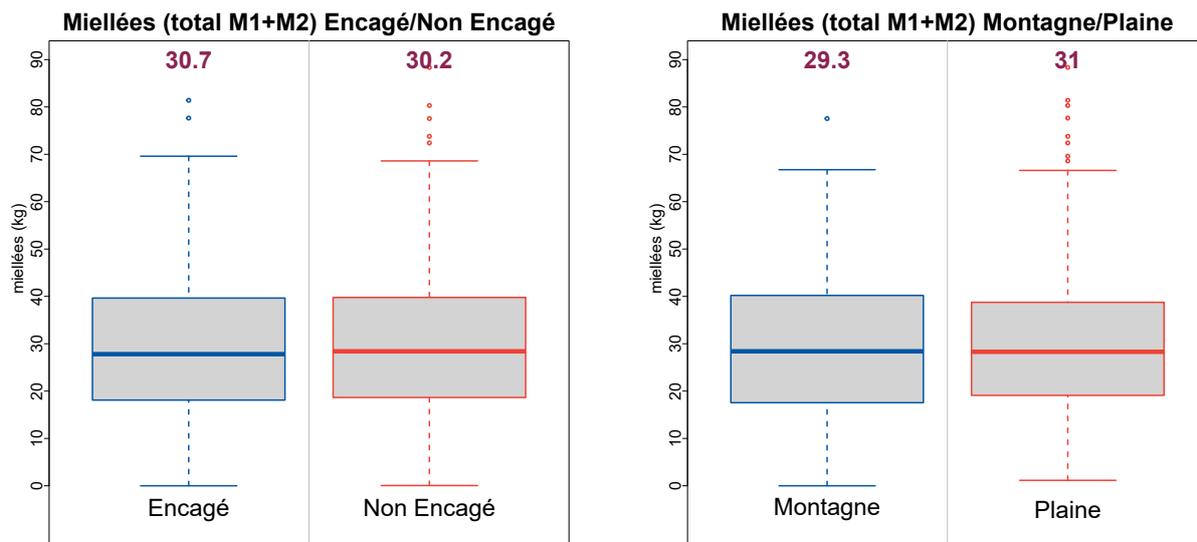


Figura 5.4 – Confronto dei pesi totali delle raccolte in funzione del trattamento (pannello a destra) e in funzione del luogo di svernamento (a sinistra)

PUNTO DI VISTA GLOBALE: effetto dell'ingabbiamento e del luogo di svernamento sulla produzione totale (M1 + M2) in Italia e Francia (considerando entrambi gli anni).

Se consideriamo i dati nel loro complesso, sommando i due anni e tutti gli alveari di ciascuna categoria, risulta evidente che non c'è alcuna differenza di produzione tra le colonie in cui la regina è stata ingabbiata e quelle in cui ciò non è avvenuto. Né vi è alcuna differenza tra gli alveari che hanno svernato in montagna o in pianura.

Sebbene gli apiari in Italia e in Francia abbiano seguito percorsi molto diversi, nessuno di essi era predisposto per un flusso nettario precoce (rosmarino, erica, ecc.).

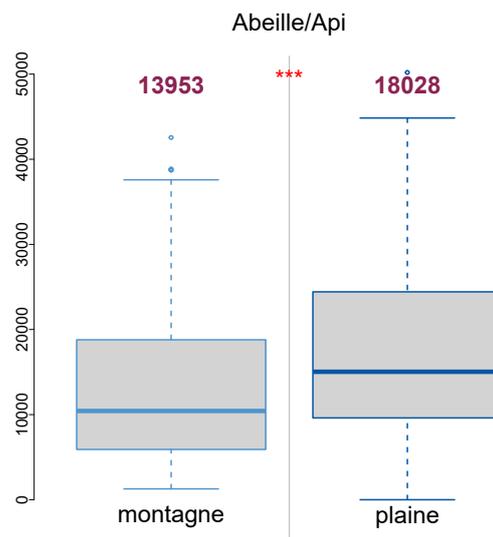


Figura 5.5 – Confronto del numero di api dopo svernamento in montagna e in pianura

POPOLAZIONI DI API SVERNANTI IN MONTAGNA E IN PIANURA : possibile impatto su una raccolta precoce.

Esaminando tutti i dati (entrambi gli anni, con o senza svernamento), risulta che il numero di api osservate durante la stagione è significativamente più alto quando l'apiario ha svernato in pianura rispetto a quando ha svernato in montagna. Questa differenza potrebbe avere una conseguenza quando si prevede una raccolta precoce: le famiglie svernate in pianura potrebbero avere una ripresa primaverile più rapida.

CONCLUSIONE

Le tecniche di svernamento in montagna o di ingabbiamento in pianura per migliorare il controllo della varroa possono essere praticate senza impatto sulla produzione di miele.



EFFETTO DELLO SVERNAMENTO IN MONTAGNA E DELL'INGABBIAIMENTO INVERNALE SULLA SOPRAVVIVENZA DELLE COLONIE

Alla fine dell'inverno, è stata effettuata una valutazione dei tassi di perdita delle colonie in funzione delle diverse strategie di controllo invernale contro la varroa. Il tasso di perdita può essere definito come il numero totale di colonie morte o ritenute prive di valore (cattivo stato di salute, scarsa popolazione o mancanza di sviluppo). La valutazione delle perdite è stata effettuata, con gli apicoltori del progetto APINVERNO, durante le visite primaverili (marzo/aprile) e prima della raccolta di miele estivo.

studio. A livello di un apiario e nell'arco di un anno, si possono osservare differenze tra le modalità, che però non permettono di trarre conclusioni a causa dei bassi numeri (15-30 colonie per modalità). Per arrivare a delle conclusioni, è necessario effettuare una valutazione complessiva raggruppando gli stessi metodi in base alla località di svernamento (pianura o montagna) o alla pratica o meno dell'ingabbigliamento della regina.

LE DIVERSE STRATEGIE PRESENTANO LO STESSO RISCHIO DI PERDITA DI COLONIE ?

La tabella dettagliata delle perdite (Tab.1) mostra le percentuali di perdita per ciascuna delle modalità studiate e per tutti gli apiari durante i 2 anni dello

UN EFFETTO DEL LUOGO DI SVERNAMENTO SULLA SOPRAVVIVENZA ?

Confrontando tutte le colonie svernate in montagna con quelle svernate in pianura, per i 2 anni di studio, in Francia e Italia, non è stata evidenziata alcuna differenza nel tasso di

pays	api	année	nbr	modalité	Sortie hiver	%	Printemps	%	% morta totale
France	A	2021-22	30	MMN	2	7	10	36	40
			30	MPC	4	13	7	27	37
		2022-23	20	MMN	2	10	4	22	30
			20	MPC	2	10	2	11	20
			20	MPN	2	10	3	17	25
			20	MPC	2	10	3	17	25
	B	2021-22	30	LMN	9	30	2	10	37
			30	LPC	3	10	2	7	17
		2021-23	20	LMN	3	15	1	6	20
			20	LPC	1	5	6	32	35
			20	LPN	0	0	5	25	25
			20	LPN	0	0	5	25	25
Italie	A	2021-22	15	ZMC	4	27	0	0	27
			15	ZMN	0	0	0	0	0
			15	ZPC	1	7	0	0	7
			15	ZPN	1	7	1	7	13
		2022-23	20	ZMN	1	5	2	11	15
			20	ZPC	2	10	1	6	15
			20	ZPN	0	0	0	0	0
			20	ZPN	0	0	0	0	0
	B	2021-22	15	ZMC	0	0	1	7	7
			15	ZMN	0	0	0	0	0
			15	ZPC	2	13	0	0	13
			15	ZPN	0	0	0	0	0
		2022-23	20	ZMN	5	25	0	0	25
			20	ZPC	1	5	0	0	5
			20	ZPN	5	25	1	7	30
			20	ZPN	5	25	1	7	30

Tabella 1 - Perdita delle famiglie dopo l'inverno e durante la stagione in funzione della modalità e dell'apiario.



sopravvivenza. In Francia, i tassi di sopravvivenza delle colonie che hanno svernato in montagna e in pianura sono rispettivamente dell'84,6% e del 92% a fine inverno e dell'81,7% e dell'80,2% durante la stagione. In Italia i tassi di sopravvivenza delle colonie svernanti in montagna e in pianura sono rispettivamente del 90,6% e 91,7% a fine inverno e del 97,1% e 97,6% durante la stagione (Fig. 6.1).

UN EFFETTO DELL'INGABBIAMENTO INVERNALE SULLA SOPRAVVIVENZA ?

Confrontando tutte le colonie con ingabbiamento delle regine e quelle senza, per i 2 anni di studio, in Francia e Italia, non è stata evidenziata alcuna differenza nel tasso di sopravvivenza. In Francia, i tassi di sopravvivenza delle colonie con ingabbiamento e senza ingabbiamento sono

rispettivamente del 90,4% e 88,1% a fine inverno e dell'88,8% e 88,8% durante la stagione. In Italia, i tassi di sopravvivenza delle colonie con ingabbiamento della regina e senza ingabbiamento sono rispettivamente del 89,7% e 92,3% a fine inverno e del 98% e 97% durante la stagione (Fig. 6.2).

La mortalità primaverile in Italia è stata molto più bassa che in Francia senza alcun legame con il luogo di svernamento o con la pratica dell'ingabbiamento della regina.

In conclusione, non è stato dimostrato alcun impatto negativo delle strategie per combattere la Varroa in inverno, sia che si tratti del luogo di svernamento (montagna o pianura) o della pratica dell'ingabbiamento invernale delle regine.

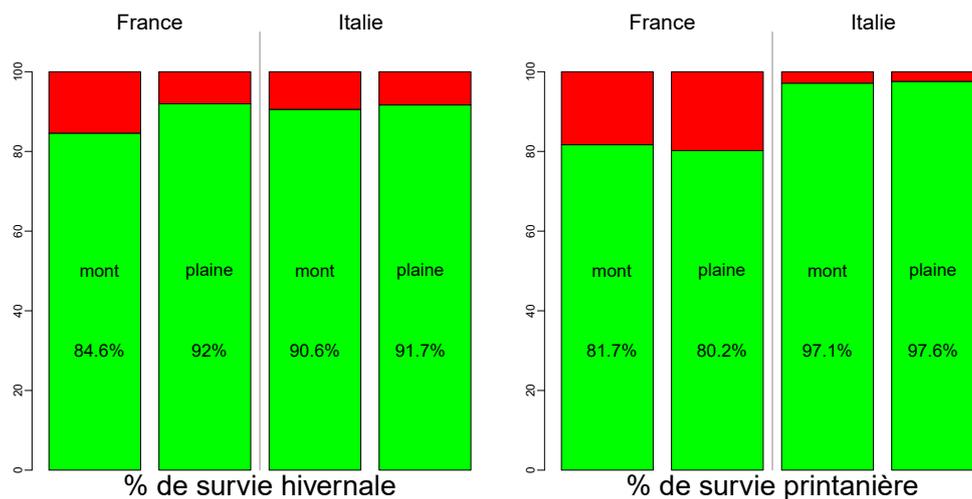


Figura 6.1 - Perdite di colonie alla fine dell'inverno e durante la stagione in base al luogo di svernamento

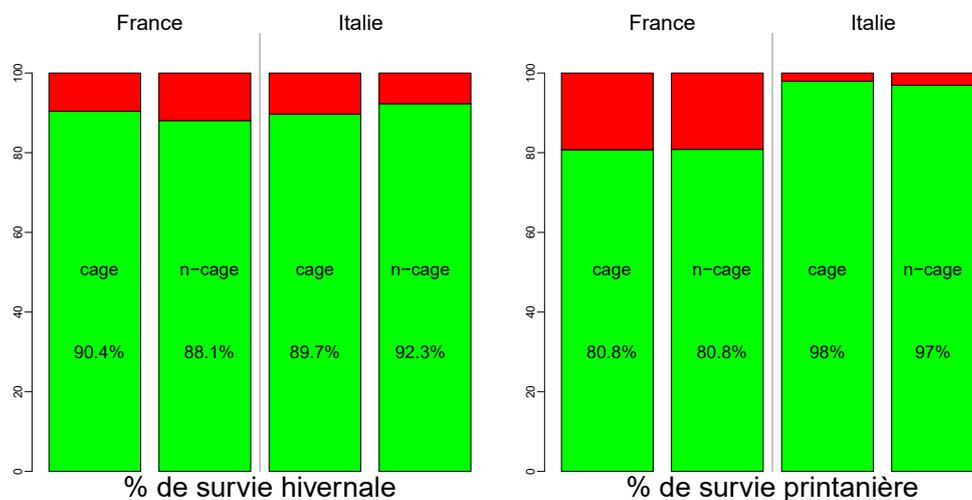


Figura 6.2 - Perdita delle colonie dopo l'inverno e durante la stagione in funzione della pratica dell'ingabbiamento della regina.



QUALI EFFETTI DELLE STRATEGIE DI CONTROLLO SULLA CARICA VIRALE ?

INTRODUZIONE

I virus rappresentano uno dei principali fattori che contribuiscono al declino della salute di *Apis mellifera*, con un impatto che varia in base alla presenza concomitante di altri agenti di stress, come il parassita *Varroa destructor*. Analogamente ad altri organismi, la maggior parte dei virus che infettano le api non causa malattie, tuttavia, alcuni rivestono un'importanza patologica significativa, poiché sono responsabili di malattie quali forme di paralisi acuta o cronica, deformazione delle ali e riduzione e anomalia della covata. Tra questi virus si annoverano quelli del complesso della paralisi acuta (acute bee paralysis virus, ABPV; Israeli acute paralysis virus, IAPV; Kashmir bee virus, KBV), il virus della cella reale nera (black queen cell virus, BQCV), il complesso dei virus delle ali deformi (deformed wing virus, DWV-A e DWV-B), il virus della covata a sacco (sacbrood virus, SBV) e il virus della paralisi cronica (chronic bee paralysis virus, CBPV).

Si tratta di virus con genoma a RNA a singolo filamento e polarità positiva appartenenti all'ordine Picornavirales. Il complesso dell'ABPV ed il BQCV appartengono al genere Dicistroviridae, il DWV e l'SBV appartengono al genere Iflaviridae, mentre lo stato tassonomico del CBPV non è stato ancora definito (Figura 7.1A). Tutti i virus possono essere trasmessi orizzontalmente (da un individuo infetto ad uno sano) per via orale e la maggior parte anche per contatto; è inoltre noto che la maggior parte di essi si trasmette anche per via verticale (alle nuove generazioni). Oltre a ciò, il parassita *V. destructor* può essere vettore di trasmissione per l'ABPV, DWV ed SBV (Figura 7.1B).

In genere, nei nostri climi, poiché l'acaro si riproduce nelle celle di covata, la sua popolazione crolla spontaneamente nel periodo invernale, quando la regina tipicamente non depone uova. Tuttavia, il cambiamento climatico sta imponendo temperature insolitamente elevate in inverno nelle regioni settentrionali dell'Italia e nel sud della Francia, tali

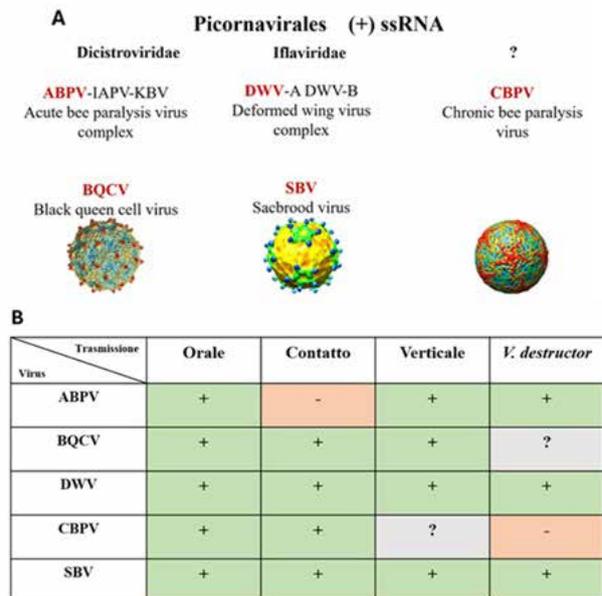


Figura 7.1 – A : schema riassuntivo della classificazione dei cinque virus analizzati e ricostruzione delle loro particelle secondo il International Committee on Taxonomy of Viruses (<https://ictv.global/taxonomy/>).

B : tabella riassuntiva delle principali modalità di trasmissione di ciascun virus.

da impedire il blocco della covata invernale e da sostenere la persistenza dell'acaro e dei virus ad esso associati. Inoltre, i frequenti trattamenti anti-acaro possono modificare le fluttuazioni stagionali dei virus all'interno delle colonie. Per indagare il possibile impatto dell'interruzione forzata della covata in inverno sulla prevalenza virale e le relative fluttuazioni stagionali, a partire dall'autunno del 2021 e nelle successive stagioni primaverili ed estive del 2022 e 2023, sono stati diagnosticati e quantificati mediante qRT-PCR i complessi virali ABPV/IAPV/KPV e DWV (A/B), BQCV, CBPV, ed SBV in colonie italiane e francesi sottoposte a due trattamenti invernali anti-varroa sostenibili sul lungo termine: l'interruzione forzata della covata associata all'applicazione di acido ossalico (a confronto con l'esclusiva applicazione di acido ossalico).

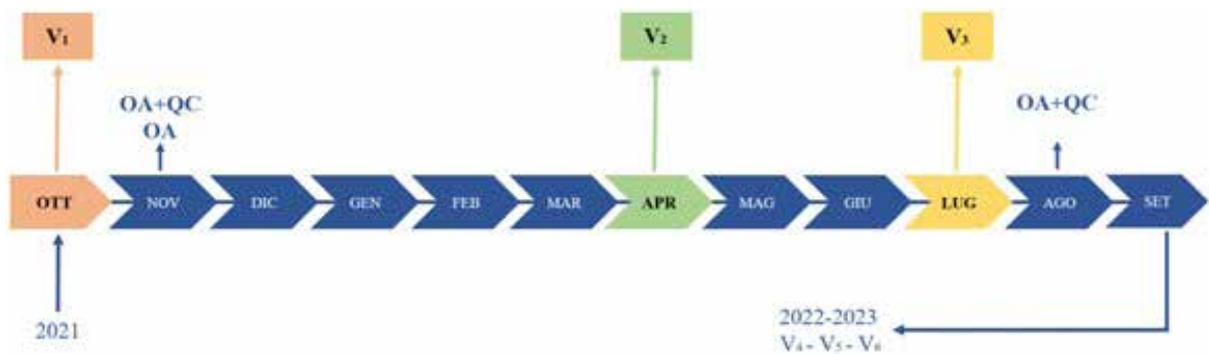


Figura 7.2 - Schema del protocollo sperimentale dall'autunno 2021 alla primavera 2023

MATERIALI E METODI

Il primo campionamento è stato condotto nell'ottobre 2021 (V1) presso due apicoltori italiani (Regione Piemonte) e due francesi (Région PACA). Nel mese successivo, tutte le colonie sono state sottoposte a tre cicli di trattamento con acido ossalico sublimato intervallati da sette giorni ciascuno ma, per ciascun apicoltore, prima del trattamento alcuni alveari sono stati sottoposti all'interruzione forzata della covata mediante l'ingabbiamento della regina (C: Cage) ed altrettanti sono stati considerati di controllo (NC: No Cage). Ad aprile e giugno 2022 sono stati effettuati due ulteriori campionamenti (V2 e V3) prima del trattamento estivo anti-varroa, effettuato in modo analogo al trattamento C invernale. Il programma è stato successivamente ripetuto dall'autunno all'estate successiva (V4-V6, Figura 7.2). Nel presente lavoro si mostrano i dati sulla presenza dei cinque virus nelle colonie italiane dei 6 campionamenti e in quelle francesi dei campionamenti compresi tra l'autunno 2021 e l'estate 2022 (V1-V3).

Per ciascun apicoltore e condizione, sono state selezionate 60 colonie da cui sono state prelevate circa 200 api (Figura 7.3A) che sono state immediatamente inserite in sacchetti codificati e riposte in ghiaccio secco. Una volta in laboratorio, i campioni sono stati conservati a -80°C (Figura 7.3B). Successivamente, 80 api intere di ciascuna colonia sono state omogenizzate in acqua utilizzando un trapano a testa rotante (Figura 7.3C), e dall'omogeneizzato si è estratto l'RNA totale (Figura 7.3D-F). Per la diagnosi di ciascun virus e la sua quantificazione si è utilizzato un protocollo con reagenti specifici che prevedeva la

retroscrittura a cDNA e successive real-time PCR virus-specifiche, ciascuna svolta in presenza di marcatori di specificità e di quantità.

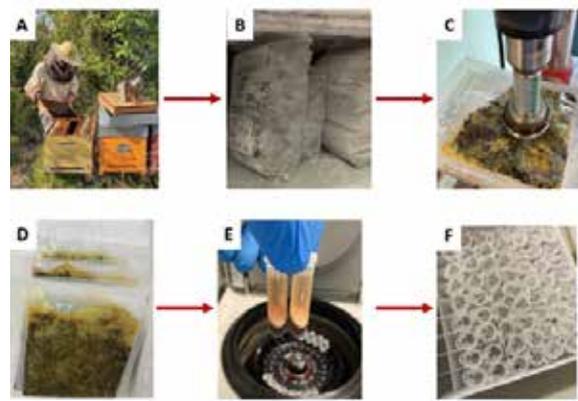


Figura 7.3 - A : la raccolta dei campioni. B : conservazione dei campioni in freezer a -80°C . C e D : omogenizzazione di 80 api in acqua mediante un trapano con testa rotante. E : centrifugazione per separare la fase organica da quella acquosa con l'RNA totale. F : conservazione dell'RNA totale di ciascuna colonia a ciascun punto di prelievo in freezer a -80°C .

RISULTATI

INCIDENZA DELLE COLONIE INFETTE DA ALMENO UN VIRUS E PREVALENZA DI OGNI VIRUS IN ITALIA E FRANCIA.

Delle colonie italiane, il 5% ed il 3,8% erano negative ai saggi diagnostici per tutti i virus analizzati nei campionamenti V1 e V2 (autunno 2021 e primavera 2022). Nel corso del 2022, tutte le colonie erano infette da almeno un virus in estate ed autunno (V3, V4), mentre in primavera ed estate 2023 il 3,9% e l'1% delle colonie erano nuovamente negative ai saggi diagnostici per i

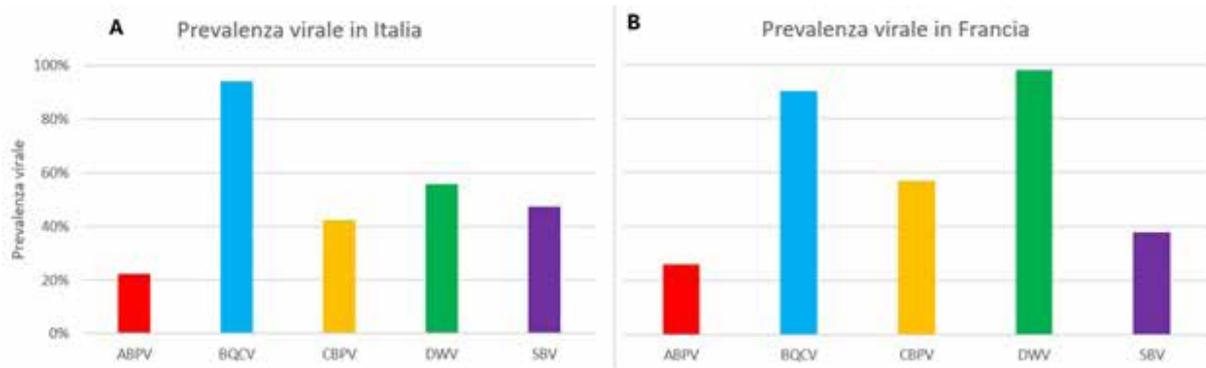


Figura 7.4 - Prevalenza dei cinque virus in Italia (A) e Francia (B).

cinque virus. Per quanto riguarda la distribuzione dei virus nell'insieme dei campionamenti effettuati in Italia, le 120 colonie erano in prevalenza infette da BQCV (94,2%), DWV (55,7%), SBV e CBPV (47,6% e 42,2%, rispettivamente), mentre ABPV era il virus meno presente (22,2%) (Figura 7.4A). Nel corso dell'autunno (V1) del 2021, l'1,7% delle colonie francesi è risultato negativo a tutti i virus saggiati. Nella primavera successiva (V2), nessuna colonia è risultata negativa mentre nell'estate seguente (V3), la percentuale di colonie negative è aumentata al 2,13%. I virus prevalenti erano il DWV (98%) e il BQCV (90%), seguiti da CBPV (57%), SBV (38%) e ABPV (26%) (Figura 7.4B).

PREVALENZA DEI DIVERSI VIRUS NELLE COLONIE CHE HANNO SUBITO L'INGABBIAMENTO DELLA REGINA.

In Italia, il trattamento di ingabbiamento invernale della regina ha ridotto complessivamente dal

33,4% al 22,8% la frequenza di colonie infette da ABPV nell'arco dell'intero progetto, ma è anche risultato associato ad un aumento del DWV (da 51,3% a 61,2%). La presenza degli altri virus non è stata influenzata dalla presenza di un trattamento di interruzione artificiale di covata. In Francia, l'ingabbiamento invernale della regina ha ridotto la prevalenza del BQCV dal 98% al 89% e del CBPV dal 78% al 62% nel periodo primaverile-estivo (V2-V3). Il trattamento non ha influenzato la prevalenza degli altri virus in analisi.

PREVALENZA DEI CINQUE VIRUS IN FUNZIONE DELLA STAGIONE.

In entrambi i paesi, le frequenze di ogni virus variavano in funzione della stagione (Figura 7.5A-B). In Italia, la frequenza di ABPV diminuiva in primavera per aumentare in estate con un picco massimo nel 2022 (V3: 53,7%). Andamento analogo era rilevabile nel caso dell'SBV per il primo anno di

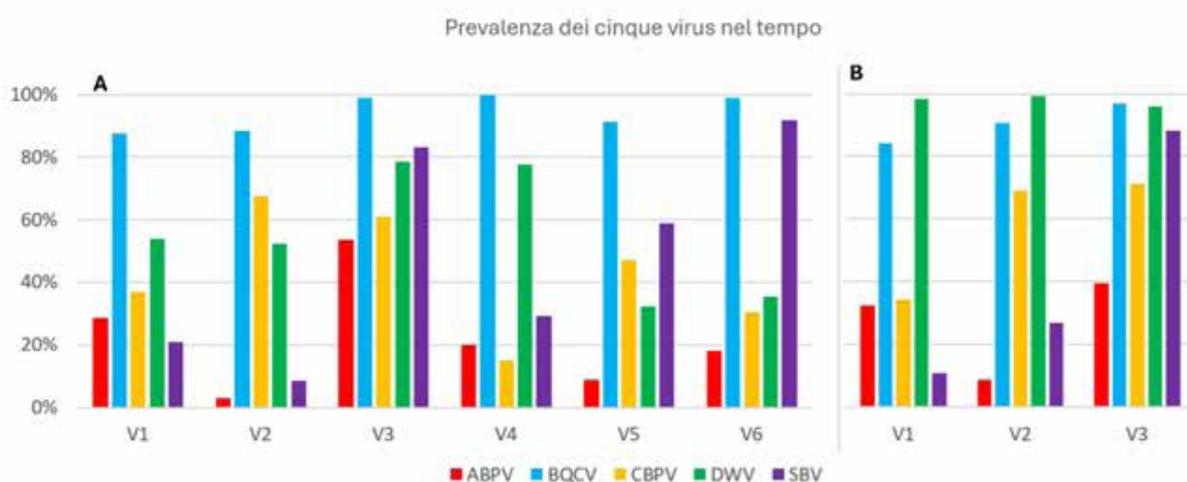


Figure 7.5 - Prevalence dei cinque virus ai diversi tempi di campionamento in Italia (A) e in Francia (B)



campionamenti (V1-V3), mentre nel successivo, la prevalenza incrementava dalla primavera fino ad un picco massimo nell'estate 2023 (V6: 91,9%). La presenza di colonie infette da BQCV era sempre superiore all'80%, con picchi prossimi al 100% nell'estate/autunno. Andamento analogo era osservabile per il DWV, tuttavia, questi oscillava tra un minimo del 32,4% (V5) e un massimo del 78,7% (V3). Diversamente, in entrambi gli anni, la prevalenza del CBPV aumentava dall'autunno alla primavera (V2: 67,6%; V5:47,1%), per poi diminuire nuovamente in estate. In Francia, l'ABPV

mostrava un andamento annuale analogo a quello italiano, con picco massimo in estate (V3: 39%). Diversamente, la prevalenza dell'SBV aumentava dal campionamento autunnale (V1:11%) a quello estivo (V3:88%). Analogamente all'Italia, la prevalenza di BQCV era sempre superiore all'80%, fino al 97% nell'estate 2022 (V3). Il DWV mostrava prevalenze superiori al 95% in tutte le stagioni fino quasi il 100% in primavera. La prevalenza del CBPV aumentava dall'autunno alla primavera e si manteneva su valori stabili in estate (V2-V3:70%).

CARICA VIRALE NEL TEMPO.

Sia in Italia che in Francia, i titoli di ciascun virus variavano rispecchiando l'andamento stagionale delle prevalenze (Figure 7.6 e 7.7).

In Italia (Figura 7.6), la carica virale dell'ABPV diminuiva al primo campionamento primaverile (V2), aumentava all'estate successiva (V3) e si manteneva bassa e stabile nei campionamenti successivi. La carica del BQCV diminuiva in primavera per aumentare in estate con lo stesso andamento in entrambi gli anni analizzati. Al contrario, la carica del CBPV mostrava un picco in primavera/estate di entrambi gli anni. Nel caso

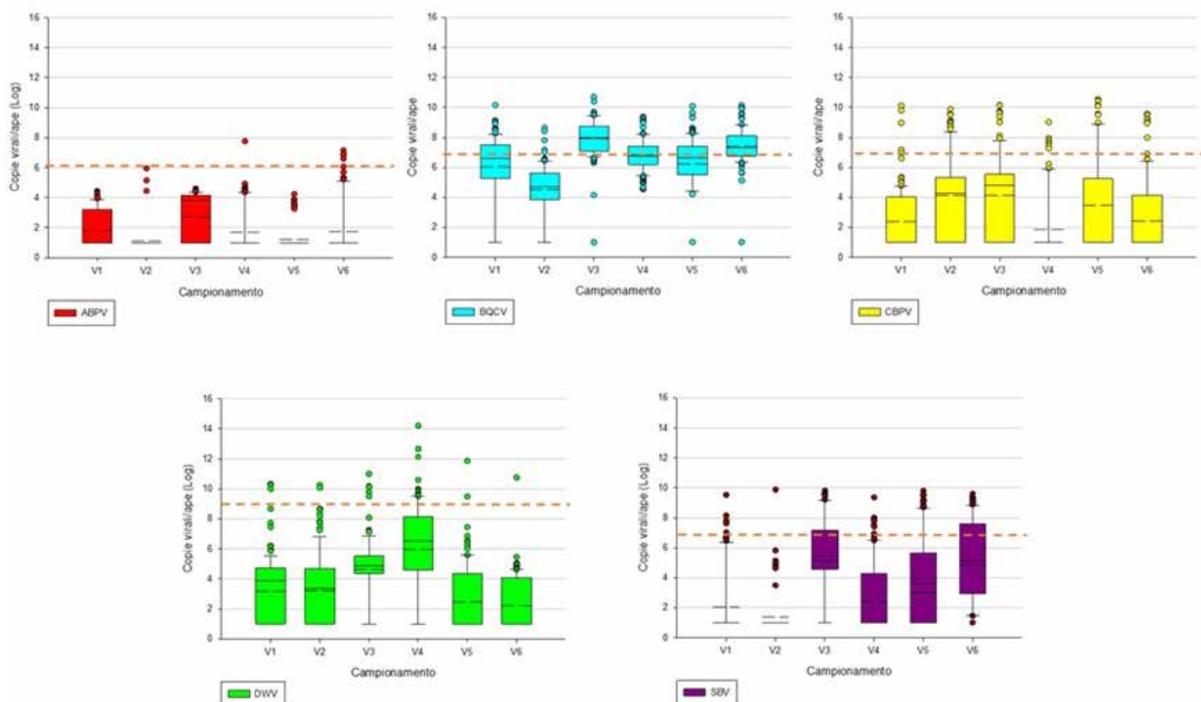


Figura 7.6 - Andamento della carica virale di ciascun virus nel tempo nelle colonie italiane. Linea tratteggiata nera: media; linea tratteggiata arancione: soglia di patogenicità (<https://doi.org/10.3390/v13071340>)

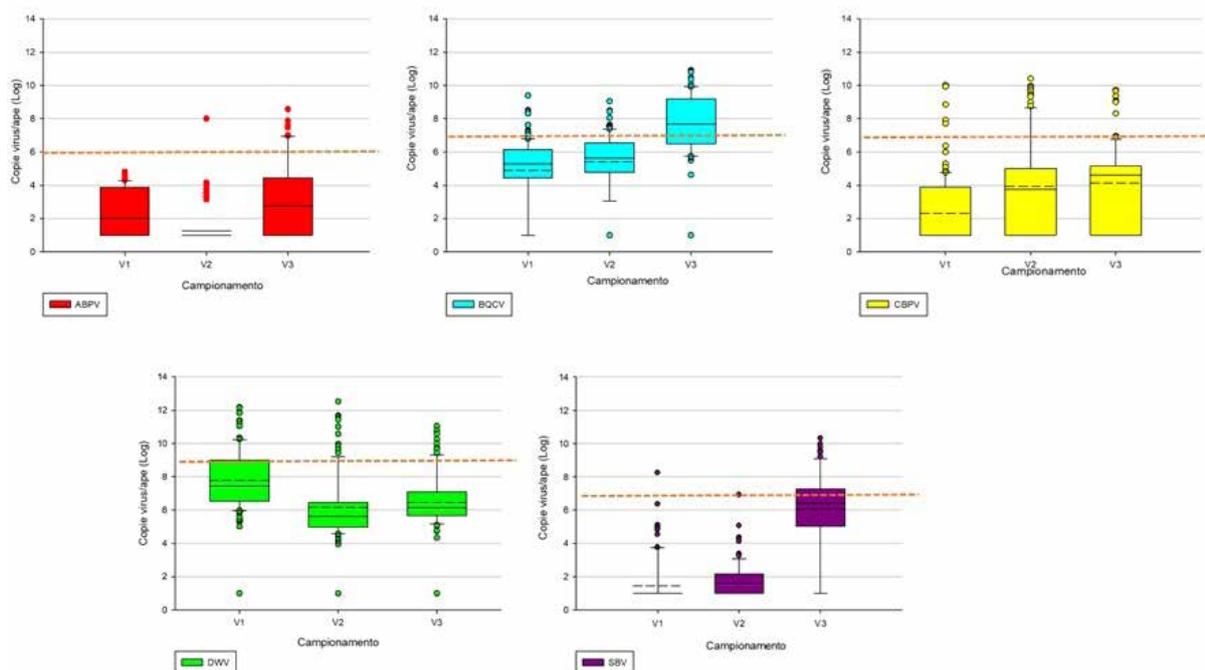


Figura 7.7 - Andamento della carica virale di ciascun virus nel tempo nelle colonie francesi. Linea tratteggiata nera: media; linea tratteggiata arancione: soglia di patogenicità (<https://doi.org/10.3390/v13071340>)

del DWV, la carica aumentava dall'estate del 2022 (V3) con un picco massimo nell'autunno dello stesso anno, per poi ritornare ai valori pre-estivi nel corso dei campionamenti successivi. Infine, la carica del SBV iniziava ad aumentare dall'estate per raggiungere il massimo in autunno in entrambi gli anni.

In Francia (Figura 7.7), le cariche di ABPV e BQCV erano diverse ad ogni data di campionamento (V1-V3), mentre per CBPV e DWV la carica virale al campionamento autunnale (V1) era diversa da quelle dei campionamenti primaverile ed estivo (V2, V3). Infine, nel caso di SBV la carica virale estiva (V3) era superiore a quelle delle stagioni precedenti.



CONCLUSIONE

Le analisi condotte hanno dimostrato che i cinque virus analizzati erano pressoché onnipresenti nelle colonie degli apiari investigati in Italia ed in Francia. Tuttavia, il BQCV era il virus più frequente nelle colonie italiane, mentre nelle colonie francesi il DWV era il più comune. In entrambi i paesi, sia la prevalenza che le cariche virali variavano nel tempo in maniera diversa per ciascun virus.

IL PUNTO DI VISTA DEGLI APICOLTORI

Nell'ambito del progetto APINVERNO gli esperimenti sono stati condotti sugli apiari di apicoltori professionisti grazie e con la loro partecipazione. Questa collaborazione consente alle strutture tecniche e di ricerca di essere più in linea con la realtà delle pratiche dell'apicoltura. Al termine dei due anni di studio, sono state poste 5 domande agli apicoltori per raccogliere le loro testimonianze sul progetto e sul loro coinvolgimento, e per catturare informazioni non misurate durante il monitoraggio.

QUALI ERANO LE TUE ASPETTATIVE ALL'INIZIO DEL PROGETTO? PERCHÉ HAI PARTECIPATO ?

Per quanto riguarda lo stato d'animo all'inizio del progetto, se alcuni apicoltori erano scettici riguardo all'ingabbiamento invernale, si sono impegnati grazie alla convinzione che la collaborazione tra ricerca e campo promuova innovazione e sviluppo.

« Ho partecipato al progetto con la convinzione che la collaborazione tra il mondo della ricerca e quello del territorio sia fondamentale per favorire sviluppo e innovazione. »



Tra le motivazioni espresse è emersa la necessità di mettere in discussione i propri metodi di lavoro, il desiderio di comprendere meglio cosa sta accadendo nelle colonie nonché la possibilità di individuare le colonie migliori per il lavoro di selezione grazie all'approccio scientifico, o semplicemente la curiosità riguardo alle soluzioni alternative ai trattamenti anti-varroa in inverno che possono essere molto lontane dalle loro pratiche (gli apicoltori tendono, nella gestione degli apiari, a ricercare apiari svernanti in ambienti più temperati e che favoriscono lo sviluppo delle colonie a fine inverno).

NELL'AMBITO DEL PROGETTO, QUALI AZIONI SPECIFICHE HAI EFFETTUATO SUGLI APIARI SVERNATI IN MONTAGNA E SU QUELLI SVERNATI IN PIANURA ? (Indipendentemente dal protocollo che si segue. Es : tipo di alimentazione ? Numero di visite ? Isolamento ?...)

In generale non vi è stata una gestione particolare degli apiari sperimentali. Dall'indagine è però emerso che i due apicoltori francesi avevano comunque effettuato un'alimentazione supplementare alle colonie svernate in montagna con una fornitura di 4-5 kg di zucchero per evitare carenze alimentari. L'indagine ha quindi evidenziato un potenziale costo di "alimentazione" della strategia di svernamento in montagna.

« Si tenga presente che non si tratta di un vero e proprio svernamento in zone montane che richiederebbe infatti una maggiore alimentazione e porterebbe ad una produzione leggermente inferiore. »

▶ **A LIVELLO AZIENDALE, QUALI POSSONO ESSERE GLI OSTACOLI O LE DIFFICOLTÀ ASSOCIATI ALLE STRATEGIE DI SVERNAMENTO IN MONTAGNA E ALL'INGABBIAMENTO DELLA REGINA ? (es. orario di lavoro ? Organizzazione ? Transumanza ? ...)**

SVERNAMENTO IN MONTAGNA O IN PIANURA :

Un rischio di costo aggiuntivo può presentarsi se l'operazione di svernamento è effettuata su un sito lontano dagli altri apiari. Questo costo si traduce in tempo di trasporto e spese di carburante. La manipolazione delle colonie durante l'inverno per trasumarle in zone più temperate per accelerare la ripresa fa temere la perdita di regine in un momento in cui il rinnovamento non è possibile. Tuttavia, durante i 2 anni di sperimentazione, nessuna perdita di colonie è stata attribuita alla transumanza invernale (nessuna differenza nella mortalità invernale).

INGABBIAMENTO DELLA REGINA :

Tra gli ostacoli individuati riguardanti l'ingabbiamento delle regine in inverno, la scelta della finestra meteorologica giusta per lavorare, il carico di lavoro con una pratica che richiede tempo e il rischio di perdita delle regine in un momento in cui il rinnovo non è possibile. Si noti per quest'ultimo freno che non è stata osservata alcuna perdita di regina durante i 2 anni di test. L'età delle regine ha sicuramente giocato un ruolo poiché la scelta degli apiari si è concentrata su apiari con giovani regine di meno di un anno.

« Molto più lavoro ma devi sapere cosa vuoi !
Magari chissà che tra un po' non diventi una
scelta obbligata ! »

▶ **CHE VALUTAZIONE PERSONALE TRAI DALLA TUA PARTECIPAZIONE? (Positivo e negativo)**

POSITIVO :

Tra i fattori valutati positivamente, la collaborazione/scambio tra le strutture di ricerca e sviluppo e la professione, l'approccio scientifico e tecnico nonché la validazione di 2 possibili strategie per la gestione della Varroa in inverno a seconda del percorso degli apiari e della loro geografia. Nell'ambito di un'operazione di diverse centinaia di colonie, una parte del parco api può essere svernato in montagna senza ingabbiamento e un'altra parte in pianura con ingabbiamento. Ciò può contribuire ad una buona organizzazione e una migliore distribuzione del carico di lavoro.



INRAE

UNAAPI

UNIVERSITÀ DI TORINO



NEGATIVO :

Un punto negativo individuato è il costo del coinvolgimento in un esperimento rigoroso con meno libertà nella gestione dell'apiario e il vincolo di non potersi discostare da un circuito di transumanza definito in anticipo con il team di ricerca e sviluppo.

« La collaborazione e il coinvolgimento sono stati elementi fondamentali per raggiungere gli importanti obiettivi del progetto. »

HAI QUALCHE CONSIGLIO DA DARE AGLI APICOLTORI CHE SI INTERROGANO SULLE STRATEGIE PER COMBATTERE LA VARROA IN INVERNO ?

- ✦ « Consiglio di sperimentare luoghi di svernamento in montagna per vedere cosa succede »
- ✦ « Un consiglio per combattere la varroa in inverno potrebbe essere quello di ingabbiare le regine senza necessariamente spostare le colonie in montagna. Questa strategia può aiutare a gestire efficacemente il parassita durante la stagione invernale, per mantenere un'infestazione bassa durante la stagione dell'apicoltura »
- ✦ « L'inverno è un aiuto da parte di Madre Natura per consentire a una colonia di tornare a tassi di varroa pari a zero ogni anno. Questo tasso e la frequenza dei trattamenti non dovrebbero più essere messi in discussione dagli apicoltori professionisti poiché l'inverno è un periodo più calmo per l'apicoltore e per la varroa... Quindi non ci sono più scuse ! »
- ✦ « Un apicoltore che non si mette in discussione è un apicoltore che subisce. »



RESISTENZA ALLA VARROA : IL PIN-TEST, UNO STRUMENTO DI VALUTAZIONE DEL COMPORTAMENTO IGIENICO

IL COMPORTAMENTO IGIENICO DELLE COLONIE

Nell'arsenale di difese immunitarie a disposizione delle api per combattere agenti patogeni e parassiti, le difese comportamentali sviluppate su scala della colonia svolgono un ruolo importante. Il comportamento igienico, che consiste nel rilevamento e nella pulizia delle celle contenenti covata malata o morta, è un meccanismo efficace contro le malattie che colpiscono la covata. Tra questi, l'infestazione da parte del parassita Varroa può avere conseguenze negative importanti per le colonie, che possono collassare rapidamente in caso di infestazione significativa. VSH (Varroa Sensitive Hygiene) è un comportamento igienico mirato specificatamente alle cellule di covata parassitate dalla Varroa. È stato dimostrato che l'espressione di VSH è legata alla capacità di resistenza delle colonie alla varroa. VSH è quindi un tratto di interesse nella selezione..

METODI PER VALUTARE IL COMPORTAMENTO IGIENICO

Sono stati sviluppati tre metodi per valutare il comportamento igienico, ciascuno dei quali valuta la risposta delle api alla covata danneggiata a diversi livelli³ :

- ✦ Il metodo della covata congelata (congelatore o azoto) consente di valutare la risposta alla covata morta.
- ✦ Il metodo della covata perforata (più comunemente chiamato Pin-Test) valuta la risposta alla covata danneggiata.
- ✦ Il metodo VSH (mediante infestazione naturale o artificiale) valuta la risposta delle api alla covata parassitata dalla varroa.

La risposta delle api a questi tre tipi di test non è equivalente e il legame più stretto tra comportamento igienico e resistenza alla varroa si ottiene con il test VSH. Tuttavia è stata osservata una correlazione negativa significativa tra il comportamento igienico valutato mediante il pin test e il carico di varroa a fine stagione. Data la facilità di realizzazione del pin test sul campo (a differenza del test VSH) che rende il metodo accessibile agli apicoltori, è proprio questo metodo che è stato implementato nell'ambito del progetto Apinverno.

Il metodo Pin-Test consiste nel pungere l'intera ninfa attraverso l'opercolo utilizzando un ago. Viene bucato contemporaneamente un blocco di 50 celle (timbro fotografico). La percentuale di celle aperte e/o pulite viene contata dopo un determinato periodo di tempo (figura 9.1). Negli esperimenti APINVERNO questo periodo di tempo è stato fissato a 3 ore 30 minuti.

IL PROTOCOLLO DEL PIN-TEST

Le misurazioni sono state effettuate su due apiari di 30 colonie ciascuno (uno in Italia, uno in Francia), seguendo un protocollo di test ripetuti. Sono state effettuate due serie di pin-test ripetuti 3 volte in autunno e poi nella primavera successiva (6 misurazioni per colonia), con un intervallo di 10 giorni (+/- 3 giorni) tra ciascuna misurazione della ripetizione. Per ciascuna delle due stagioni, la prima e la terza misurazione sono state accompagnate da un ColEval (stima della quantità di api e covata), stima del carico di varroa (campionamento di varroa foretica con detergente). Durante la seconda misurazione è stata effettuata anche una stima della carica virale.

³ Büchler, R., Andonov, S., Bernstein, R., Bienefeld, K., Costa, C., Du, M., ... & Wilde, J. (2024). Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens 2.0. *Journal of Apicultural Research*, 1-57.



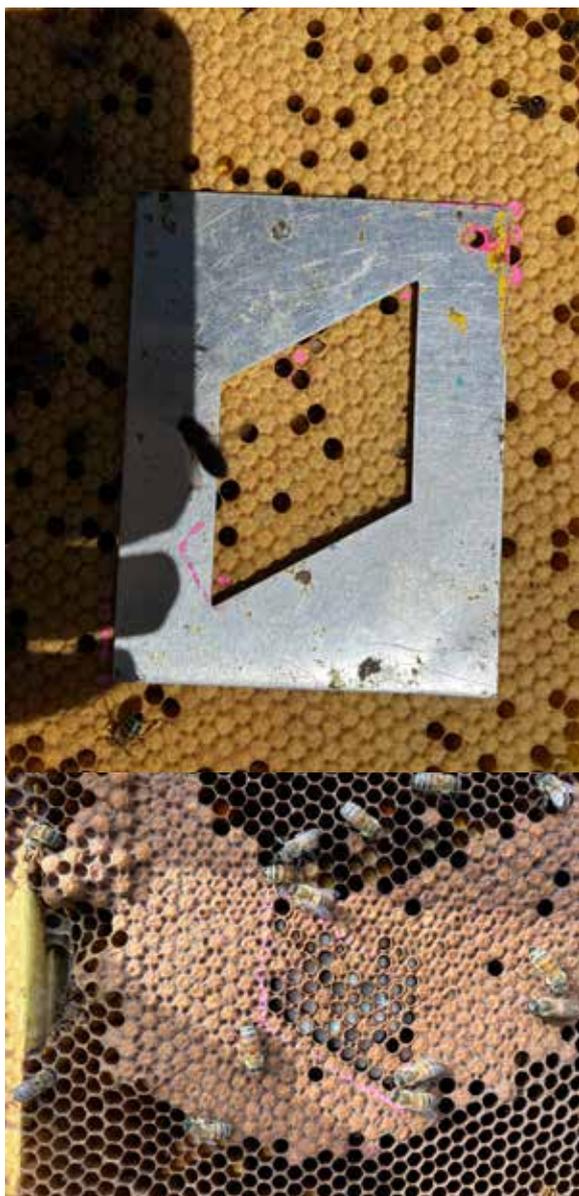


Figura 9.1 - Il Pin-Test. In alto, 50 opercoli di covata chiusa sono bucati con un ago. In basso, la zona di interesse è cerchiata per facilitare la visualizzazione e la lettura dei risultati.

Questo collegamento significa che potremmo prevedere la risposta di una colonia conoscendone il comportamento 10 giorni prima. Ma questa previsione è valida solo per una percentuale compresa tra il 5 e il 25% delle colonie. Pertanto, la ripetibilità della misura non è la regola generale.

La ripetibilità del Pin-Test è ancora inferiore dopo 3 mesi; tra tutte le combinazioni possibili nella nostra esperienza, solo 3/24 presentano una relazione in due Pin-Test misurati a 3 mesi di distanza l'uno dall'altro.

Da questo risultato non possiamo quindi dedurre se ciò che conta è che una colonia mostri almeno una volta un'ottima risposta al Pin-Test o che la sua risposta sia sempre allo stesso livello.

CI SONO COLONIE CHE NON CAMBIANO E RESTANO AI VERTICI DELLA CLASSIFICA ?

La risposta al Pin-Test può dipendere non solo dal comportamento della colonia ma anche dalle condizioni ambientali. È quindi possibile che il livello di risposta di una colonia vari a seconda di queste condizioni esterne.

In questo caso sarebbe più rilevante sapere se una colonia è ancora tra le migliori colonie in termini di risposta al Pin-Test (figura 9.2).

A	0	1	2	3
France Automne	14	15	6	1
France Printemps	15	13	7	1
Italie Automne	13	17	5	1
Italie Printemps	17	10	7	2

B	0	1	2	3	4	5	6
France	6	10	13	6	0	0	1
Italie	6	11	10	7	2	0	0

Figura 9.2 - Esempio di classifica delle famiglie a seconda dei risultati del Pin-Test

Nella tabella in alto (A), una sola colonia si trova tra le prime 10 nei tre Pin-Test successivi in autunno in Francia. Lo stesso risultato si osserva negli altri casi ad eccezione della misurazione primaverile in Italia dove si trovano due colonie nelle prime 10. Invece, circa 5-7 colonie rientrano nelle 10 migliori in due casi su tre.

Nella tabella (B), che riporta il numero di colonie trovate tra le migliori 10 per i 6 Pin-Test a 3 mesi, vediamo che solo una è stata ritrovata 6 volte in Francia; è ovviamente la stessa che abbiamo osservato nella tabella in alto (A).



Ancora una volta, l'esistenza, anche rara, di colonie che rispondono in modo piuttosto coerente al Pin-Test, solleva la questione se dovremmo cercare colonie che producano il risultato migliore una volta o colonie che producano un risultato più volte, anche se questo che potrebbe non essere il miglior risultato.

RELAZIONE TRA COMPORTAMENTO IGIENICO, CARICO DI VARROA E QUANTITÀ DI COVATA.

Per completare lo studio sul Pin-Test, possiamo cercare di correlare la risposta al Pin-Test alle caratteristiche di funzionamento della colonia: numero di celle di covata e quantità di Varroa foretica. Analizziamo queste relazioni tenendo conto di tutte le misurazioni ma considerando che il paese (Italia o Francia) e la stagione (autunno o primavera) sono fattori che possono produrre ciascuna una parte di questa variabilità.

Solo la quantità di Varroa foretica ha un effetto significativo sulla risposta al Pin-Test. Questo effetto è negativo, il che suggerisce che quando ci sono molte varroe in fase foretica, la popolazione di varroa nella covata è bassa e che le api sono meno indotte a manifestare un comportamento igienico.



Bisogna però sottolineare che la variabilità individuale delle colonie è molto grande e che, se non ci sono molte differenze tra i due paesi, d'altro canto la risposta al Pin-Test è molto grande tra le due stagioni.

In sintesi, poco più del 5% della risposta al Pin-Test dipende dal carico di varroa foretica e il 20% della variazione della risposta al Pin-Test è dovuta all'effetto della stagione e in misura minore per effetto del paese.

CONCLUSIONE

Valutare il comportamento igienico espresso dalle colonie implica effettuare delle misurazioni caratterizzate da un grado pronunciato di variabilità e di instabilità nel tempo. Ciò non sorprende dato che si tratta di una misura comportamentale.

La questione non è ancora risolta, cioè non siamo ancora in grado di stabilire se ciò che meglio ci informa sul comportamento igienico di una colonia sia rispondere almeno una volta con un valore Pin-Test elevato o se sia il fatto che una colonia è sempre in un "buon posto" rispetto alle altre nella classifica ottenuta mediante misurazioni ripetute.

Un punto pratico: la misurazione del Pin-Test è una misura costosa in termini di tempo e di sviluppo delle pratiche apistiche; sembra che adottare diverse misure durante l'anno, coerentemente con l'effetto importante di questo fattore, sia una strategia migliore.

APINVERNO

UNA TRANSIZIONE RIUSCITA

Il progetto APINVERNO fa parte del programma dei progetti TRANSITION ALCOTRA che sono stati inaugurati all'inizio della fase 2021-2027.

A seguito del progetto Innov'Api, dopo aver validato i metodi di popolazione per il controllo della varroa a fine stagione, è stata chiaramente evidenziata la necessità di trattamenti invernali. Le implicazioni del cambiamento climatico nella gestione di questa fase della lotta alla varroa hanno portato al programma APINVERNO.

Ricordiamo che la questione principale affrontata da questo progetto è sapere se l'assenza di blocco naturale di covata in inverno, a causa dei cambiamenti climatici nelle zone costiere delle regioni piemontesi in Italia o delle Alpi provenzali in Francia, potrebbe essere aggirata svernando in montagna o usando l'ingabbiamento nelle zone costiere.

Nei risultati presentati nelle schede precedenti è stata fornita una risposta chiara a questa domanda: lo svernamento in montagna o l'ingabbiamento nelle zone costiere sono una risposta efficace alla preparazione dei trattamenti invernali contro la varroa.

Le conclusioni principali sono le seguenti :

- ✦ Lo svernamento in montagna consente di approfittare di un blocco precoce della deposizione e offre quindi l'opportunità di un trattamento efficace contro la Varroa in assenza di covata ;
- ✦ Tuttavia, lo svernamento in montagna può dar luogo, all'inizio della primavera, a delle famiglie più piccole rispetto a quelle svernate in pianura, cosa che può costituire un limite per le raccolte su fioriture precoci ;
- ✦ Lo svernamento in pianura, che offre la possibilità di una ripresa primaverile più rapida, incontra una difficoltà dovuta agli inverni miti dovuti ai cambiamenti climatici. L'ingabbiamento della regina associato a un trattamento al momento dello sgabbiamento è una soluzione che permette di rimuovere questo ostacolo ;
- ✦ Il trattamento della varroa in inverno, che sia fatto in montagna o in pianura con ingabbiamento, consente un controllo efficace del carico di varroa e, per tutte le modalità di questo protocollo, il decorso delle infestazioni di varroa durante la stagione è stato identico ;
- ✦ Indipendentemente dal luogo di svernamento (in montagna o in pianura con ingabbiamento), le



Figura 10.1 - Apiario in quota

popolazioni hanno uno sviluppo normale durante la stagione, hanno popolazioni di api e densità di covata equivalenti e raggiungono produzioni simili ;

✦ infine, questi risultati sono validi sia in Francia che in Italia.

Possiamo aggiungere che lo svernamento in montagna protegge le colonie dalla pressione del calabrone asiatico (*Vespa Velutina*) in autunno, che sulla costa può essere molto forte.

Il progetto APINVERNO, integrando i risultati ottenuti nel programma Innov'Api, ha offerto inoltre l'opportunità di ampliare il pannello di soluzioni per il controllo della varroa. In questo settore, i recenti progressi della ricerca hanno dimostrato il vantaggio di sviluppare popolazioni di api tolleranti o resistenti alla varroa. Per misurare questa caratteristica nelle api, il test del comportamento igienico (Pin-Test) ha proprietà incoraggianti. Il progetto APINVERNO ha fornito una migliore comprensione della dinamica e della stabilità di questo test.

Questo test sarà utilizzato in particolare nel nuovo progetto Melior'Api (ottobre 2023 – aprile 2027), dedicato allo sviluppo di un metodo applicabile nelle aziende apistiche per guidare il rinnovamento del parco api e contribuire al miglioramento della risposta delle api nei confronti della varroa.



Figura 10.2 - Apiario sul litorale

APINVERNO ha quindi contribuito, oltre ai risultati specifici sulle condizioni del trattamento invernale contro la varroa e sugli adattamenti ai cambiamenti climatici, a creare un collegamento tra lo sviluppo di metodi di popolazione nella lotta contro la varroa e lo sviluppo di metodi di miglioramento del parco api : un passaggio tecnico di successo.



APINVERNO

Interreg  Cofinancé par l'Union Européenne

France – Italie ALCOTRA