



UNIONE EUROPEA



REPUBBLICA ITALIANA



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA

REGIONE AUTONOMA DELLA
SARDEGNA

ASSESSORADU DE SA PROGRAMMATZIONE, BILANTZU, CRÈDITU E ASSENTU
DE SU TERRITORIU

ASSESSORATO DELLA PROGRAMMAZIONE, BILANCIO, CREDITO E ASSETTO
DEL TERRITORIO

CENTRO REGIONALE DI PROGRAMMAZIONE

LEGGE REGIONALE 7 AGOSTO 2007, N. 7
“PROMOZIONE DELLA RICERCA SCIENTIFICA E
DELL’INNOVAZIONE TECNOLOGICA IN SARDEGNA”

TITOLO DEL TENDER

Strategie di contenimento in apiario delle infezioni batteriche (Peste Americana e altri batteri) in Sardegna per la salvaguardia della qualità delle produzioni dell'alveare in regime di agricoltura biologica e per la tutela del patrimonio apistico regionale.

DESCRIZIONE

L'obiettivo della ricerca è quello di approfondire le conoscenze scientifiche sulla gestione delle infezioni batteriche negli apiari, individuando strategie ecocompatibili di contenimento che limitino il potenziale infettivo al di sotto delle soglie di tolleranza espresse dalle capacità immunitarie intrinseche all'alveare, a livello individuale, di colonia e mediante la stessa azione antibatterica naturale dei prodotti dell'alveare. In riferimento agli agenti sporigeni, alla base delle più gravi patologie, si propone l'individuazione di molecole di origine naturale da applicare con modalità e formulazioni innovative, anche attraverso l'incorporazione nell'alimentazione stimolante o di supporto, al fine di coadiuvare l'azione igienica espressa a livello morfo-fisiologico dalle stesse nel canale alimentare, sede di germinazione e sviluppo di tali spore.

OBIETTIVI GENERALI

Migliorare le condizioni di vita e il benessere delle api attraverso il miglioramento delle condizioni igienico sanitarie degli apiari, mediante il controllo delle batteriosi, limitando le pratiche che comportano conseguenze negative a livello biologico per le stesse api e tossicologico per i prodotti dell'alveare.

OBIETTIVI SPECIFICI

Gli obiettivi specifici sono:

ATTI PROGRAMMATICI E RIFERIMENTI LEGISLATIVI COMUNITARI E NAZIONALI CHE IDENTIFICANO LA TEMATICA TRA LE PRIORITA' IN AMBITO REGIONALE E RELATIVE MOTIVAZIONE CHE SOTTENDONO ALLE PRIORITA' DELLA STESSA.

I Regolamenti comunitari specifici e le norme sanitarie nazionali e regionali in materia di apicoltura evidenziano la priorità degli interventi di controllo dei patogeni e dei parassiti delle api, come una condizione essenziale per la conveniente gestione tecnico-produttiva degli alveari, la loro stessa sopravvivenza e la salvaguardia della salubrità delle produzioni apistiche.

Il programma di sviluppo rurale 2007-2013 REG. (CE) N. 1698/2005, pone il settore apistico fra i settori prioritari, nell'analisi SWOT riportata nel regolamento viene messa in evidenza come l'interesse del comparto sia altissimo ma anche come siano estremamente carenti le condizioni igienico sanitarie ed organizzative del comparto.

La delibera G.R. n. 7/15 del 18.2.2010, pone come obiettivi specifici: - favorire una efficace azione di prevenzione e lotta delle patologie dell'alveare, diminuire le spese per l'applicazione dei trattamenti agli alveari; - aumentare l'efficacia della produzione e della commercializzazione, grazie anche al ricorso a migliori tecniche;

Viste le indicazioni legislative comunitarie nazionali e regionali gli obiettivi specifici che si intende perseguire sono i seguenti.

- 1) Monitoraggio relativo alla diffusione e incidenza delle principali malattie delle api: peste americana, peste europea, altre batteriosi emergenti.
- 2) Identificazione, caratterizzazione e formulazione di molecole ad azione antibatterica o batteriostatica da utilizzare nella lotta alla Peste americana e alle altre batteriosi in regime biologico.
- 3) Studio in apiario dell'efficacia nel contenimento della Peste americana e di altre batteriosi di nuove strategie di gestione sanitaria integrata dell'alveare.

STATO DELL'ARTE

Nell'Unione Europea l'apicoltura è considerata un'importante attività strettamente legata all'agricoltura, le cui funzioni principali sono riconducibili non solo all'attività economica e allo sviluppo rurale, con le specifiche produzioni di miele e di altri prodotti dell'alveare, ma anche ad un importante contributo all'equilibrio biologico negli ecosistemi naturali e alla produttività degli agroecosistemi.

La Sardegna con la sua particolare condizione di insularità costituisce un territorio unico nel suo genere, permettendo di avere una produzione molto varia e di elevata qualità. La produzione nel 2010 si è attestata a 1.878 Tonn., al quarto posto in Italia.

L'apicoltura sta vivendo una situazione drammatica sotto il profilo sanitario a livello mondiale, che mette a rischio la sopravvivenza stessa delle api. Tra i fattori patologici più indagati spiccano la Varroa e le virosi connesse, ma un ruolo determinante è attribuito anche alle batteriosi.

In particolare, la Peste americana è la malattia batterica, il cui agente causale è il *Paenibacillus larvae*, che colpisce le larve e le pupe delle api mellifiche nelle zone temperate e sub-tropicali di tutti i Continenti; sono considerate resistenti alla malattia le razze di api di origine tropicale. È quindi una malattia praticamente endemica. In Italia, è largamente diffusa ed è considerata la più pericolosa e grave malattia delle api. Il Regolamento di Polizia Veterinaria (D.P.R. 320/54), la include tra le malattie infettive soggette ad obbligo di denuncia e prevede per la medesima la distruzione degli alveari, mancando misure profilattiche e terapeutiche adeguate. Controlli e conseguenti limitazioni sono disposti nell'ambito dell'area sospetta definita in un raggio di 3 chilometri attorno all'apiario infetto.

La situazione in Sardegna è di una patologia endemica degli apiari, anche se non sempre sono manifesti i sintomi clinici. La gravità è attestata dal fatto che in ogni cella del favo contenente una larva o pupa di ape colpita da peste americana sviluppa fino a 2,5 mld di spore.

Non sono disponibili al momento cure efficaci, l'unica soluzione è l'eliminazione delle api, tutto il materiale (api telaini e favi) deve essere bruciato. I mezzi chemioterapici come l'uso di antibiotici è vietato in tutta Europa, salvo prescrizione "fuori etichetta" del medico veterinario, comunque esplicano una semplice azione batteriostatica non risolutiva.

Date le misure di Polizia Veterinaria fortemente restrittive prima richiamate, il comportamento degli apicoltori è tendenzialmente quello di mascherare la presenza della malattia nonostante recentemente, una modifica dell'art. 155 del Reg. di Pol. Vet. ha chiaramente orientato la diagnosi al solo caso di presenza di sintomi clinici e non semplicemente di spore.

Dopo oltre un secolo di ricerche, solo negli ultimi anni sono state individuate molecole o miscele di molecole naturali, ad azione battericida e sporicida, in grado di ridurre la diffusione della malattia anche in regime di biologico (salvaguardia animale, ambientale e della salute umana). Su questa base scientifica, che ha coinvolto direttamente le Università sarde, si apre un interessante prospettiva, ovvero la possibilità di sviluppare ricerche applicate mirate all'impiego di sostanze naturali, che consentano, considerati i vincoli di legge, di attuare strategie biologiche di contenimento delle batteriosi, con un potenziale impatto sull'apicoltura a livello internazionale, che consentirebbe di salvaguardare il patrimonio apistico e di garantire sul mercato produzioni di alta qualità

Bibliografia

BAILEY L., BALL B.V., 1991 – Honey Bee Pathology. Academic Press London: 193 pp.

BAMRICK J. F., ROTHENBUHLER W. C., 1961.- Resistance to American foulbrood in honey bees. IV. The relationship between larval age at inoculation and mortality in a resistant and in a susceptible line.- Journal of Invertebrate Pathology, 3: 381-390.

BEVERIDGE T. J., 2001.- Use of the Gram stain in microbiology.- Biotechnic & Histochemistry, 76: 111-118.

CHEN Y. W., WANG C. H., AN J., HO K. K., 2000.- Susceptibility of the Asian honey bee, *Apis cerana*, to American foulbrood, *Paenibacillus larvae* larvae.- Journal of Apicultural Research, 39: 169-175.

D'ALESSANDRO B., KARINA A., PICCINI C., ZUININO P., 2007.- DNA extraction and PCR detection of

Paenibacillus larvae spores from naturally contaminated honey and bees using spore-decoating and freeze-thawing techniques.- World Journal of Microbiology and Biotechnology, 23: 593-597.

DINGMAN D. W., STAHLY D. P., 1983.- Medium promoting sporulation of Bacillus larvae and metabolism of medium components.- Applied and Environmental Microbiology, 46: 860-869.

FERNÁNDEZ N. J., GENDE L. B., EGUARAS M. J., 2010.- Advances in Paenibacillus larvae and American foulbrood monitoring in honey bee colonies from Argentinean apiaries.- Journal of Apicultural Research, 49: 287-289.

GENERSCH E., 2010.- American foulbrood in honeybees and its causative agent, Paenibacillus larvae.- Journal of Invertebrate Pathology, 103: 10-19.

GENERSCH E., ASHIRALIEVA A., FRIES I., 2005.- Strain- and genotype-specific differences in virulence of Paenibacillus larvae subsp. larvae, a bacterial pathogen causing American foulbrood disease in honeybees.- Applied and Environmental Microbiology, 71: 7551-7555.

GILLARD M., CHARRIERE J. D., BELLOY L., 2008.- Distribution of Paenibacillus larvae spores inside honey bee colonies and its relevance for diagnosis.- Journal of Invertebrate Pathology, 99: 92-95.

HANSEN H., 1984.- Methods for determining the presence of the foulbrood bacterium Bacillus larvae in honey.- Tidsskrift for Planteavl, 88: 325-328.

HANSEN H., BRODSGAARD C. J., 1999.- American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control.- Bee World, 80: 5-23.

HEYNDRIKX M., VANDEMEULEBROECKE K., HOSTE B., JANSSEN P., KERSTERS K., DE VOS P., LOGAN N. A., ALI N., BERKELEY R., 1996.- Reclassification of Paenibacillus (formerly Bacillus) pulvifaciens (Nakamura 1984) Ash et al. 1994, a later subjective synonym of Paenibacillus (formerly Bacillus) larvae (White 1906) Ash et al. 1994, as a subspecies of P. larvae, with emended descriptions of P. larvae as P. larvae subsp. larvae and P. larvae subsp. pulvifaciens.- International Journal of Systematic Bacteriology, 46: 270-279.

HORNITZKY M. A. Z., 1998.- The spread of Paenibacillus larvae subsp. larvae infections in an apiary.- Journal of Apicultural Research, 37: 261-265.

HORNITZKY M. A. Z., KARLOVSKIS S., 1989.- A culture technique for the detection of Bacillus larvae in honeybees.- Journal of Apicultural Research, 28: 118-120.

KILWINSKI J., PETERS M., ASHIRALIEVA A., GENERSCH E., 2004.- Proposal to reclassify Paenibacillus larvae subsp. pulvifaciens DSM 3615 (ATCC 49843) as Paenibacillus larvae subsp. larvae. Results of a comparative biochemical and genetic study.- Veterinary Microbiology, 104: 31-42.

LINDSTRÖM A., 2006.- Distribution and transmission of American foulbrood in honey bees. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.

LINDSTRÖM A., 2008.- Distribution of Paenibacillus larvae spores among adult honey bees (Apis mellifera) and the relationship with clinical symptoms of American foulbrood.- Microbial Ecology, 56: 253-259.

LINDSTRÖM A., FRIES I., 2005.- Sampling of adult bees for detection of American foulbrood (Paenibacillus larvae subsp. larvae) spores in honey bee (Apis mellifera) colonies.- Journal of Apicultural

Research, 44: 82-86.

LINDSTROM A., KORPELA S., FRIES I., 2008a.- The distribution of *Paenibacillus* larvae spores in adult bees and honey and larval mortality, following the addition of American foul- brood diseased brood or spore-contaminated honey in honey bee (*Apis mellifera*) colonies.- *Journal of Invertebrate Pathology*, 99: 82-86.

LINDSTROM A., KORPELA S., FRIES I., 2008b.- Horizontal transmission of *Paenibacillus* larvae spores between honey bee (*Apis mellifera*) colonies through robbing.- *Apidologie*, 39: 515-522.

MOMOT J. P., ROTHENBUHLER W. C., 1971.- Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees VI. Interactions of age and genotype of bees, and nectar flow.- *Journal of Apicultural Research*, 10: 11-21.

NORDSTROM S., FORSGREN E., FRIES I., 2002.- Comparative diagnosis of American foulbrood using samples of adult honey bees and honey.- *Journal of Apicultural Science*, 46: 5-12.

MORSE R.A., NOWOGRODZKI R., 1990 – *Honey Bee Pest, Predators and Diseases*. Cornell University Press London: 474 pp.

PICCINI C., ZUNINO P., 2001.- American foulbrood in Uruguay: isolation of *Paenibacillus* larvae from larvae with clinical symptoms and adult honeybees and susceptibility to oxytetracycline.- *Journal of Invertebrate Pathology*, 78: 176-177.

PICCINI C., D'ALESSANDRO B., ANTUNEZ K., ZUNINO P., 2002.- Detection of *Paenibacillus* larvae subspecies larvae spores in naturally infected larvae and artificially contaminated honey by PCR.- *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18: 761-765.

RITTER W., 2003.- Early detection of American foulbrood by honey and wax analysis.- *Apiacta*, 38: 125-130.

ROTHENBUHLER W. C., THOMPSON V. C., 1956.- Resistance to American foulbrood in honey bees. I. Differential survival of larvae of different genetic lines.- *Journal of Economic Entomology*, 49: 470-475.

SCHAAD N. W., 2001.- I. Initial identification of common genera. D. Diagnostic media and tests, pp 7-14. In: *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*, third edition (SCHAAD N. W., JONES J. B., CHUN W., Eds).- APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.

SHIMANUKI H., 1997.- Bacteria, pp. 35-54. In: *Honey bee pests, predators, and diseases* (MORSE R. A., FLOTTUM K., Eds).- A.I. Root Company, Medina, Ohio, USA.

SPIVAK M., REUTER G. S. 2001.- Resistance to American foul- brood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior.- *Apidologie*, 32: 555-565.

STATGRAPHICS PLUS, 2001.- *Statgraphics Plus user's guide*, standard ed. version 4. Manugistics Inc., Rockville, MD, USA.

ZUUR A. F., GENDE L. B., IENO E. N., FERNÁNDEZ N. J., EGVARAS M. J., FRITZ R., WALKER N., SAVELIEV A. A., SMITH G. M., 2009.- Mixed modelling applied on American foulbrood affecting honey bees larvae, pp. 447-459. In: *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. (ZUUR A. F., IENO E. N., WALKER N., SAVELIEV A. A., SMITH G. M., Eds).- Springer, New York, USA.

IMPATTO SUL TERRITORIO E RISULTATI ATTESI NEL BREVE PERIODO

Il principale impatto sul territorio è naturalmente derivante dalla migliore gestione igienico sanitaria degli apiari. Questo si riflette in un maggiore benessere delle api e quindi in un'attività produttiva maggiore, in

termini di efficienza impollinatrice, e di incremento quali-quantitativo delle produzioni dell'alveare.

Tutto questo si riflette sulle aziende apistiche che potranno avere maggiori ricavi anche nel breve periodo, poiché il beneficio è immediato, ma anche, più in generale, sull'aziende agricole, soprattutto orto-frutticole e sementiere, che potranno beneficiare di un'adeguata e costante azione pronuba delle api.

MODALITÀ DI SVOLGIMENTO DELLA RICERCA

La ricerca deve riguardare l'intero territorio regionale considerando un numero congruo di aziende (alcune decine) e di alveari (alcune migliaia), rappresentativo delle realtà produttive più importanti, espresse dalle Organizzazioni di Produttori (OP) e dalle Associazioni di apicoltori attive a livello regionale. In particolare dovranno essere prelevati campioni di materiale biologico (api, miele, cera, ecc.) per monitorare durante tutto l'arco dell'anno il livello di contaminazione degli alveari e il livello (nelle api e nel miele) di spore o cellule batteriche. Sulla base di tali dati acquisiti preliminarmente verranno predisposti dei gruppi sperimentali e pianificati delle prove estensive per valutare l'efficacia delle nuove strategie proposte e definire così un modello di gestione sanitaria integrate da estendere all'intero comparto.

LOCALIZZAZIONE SUL TERRITORIO DELLA SARDEGNA

Le aziende devono essere localizzate in tutto il territorio regionale della Sardegna

SCADENZE E TEMPISTICHE DA RISPETTARE

La ricerca deve concludersi entro 24 mesi.