



UNIVERSITÀ DI PISA

FACOLTÀ DI AGRARIA

Corso di Laurea in Scienze Agrarie

Tesi di laurea

**Indagine inerente l'appetibilità dei fiori di kiwi
(*Actinidia deliciosa* Chev.) per l'Apoideo *Osmia rufa* L.
mediante l'analisi entomopalnologica delle scorte
polliniche prelevate da nidi artificiali.**

Relatore:
Prof. Mauro Pinzauti

Candidato:
Bruno Cartolano

Correlatore:
Dott. Antonio Felicioli

Anno accademico 2007-2008

a mio figlio Domenico

INDICE

1	INTRODUZIONE	1
1.1	IL PROCESSO DELL'IMPOLLINAZIONE	4
1.1.1	<i>Impollinazione in pieno campo delle piante da frutto. .</i>	<i>13</i>
1.1.2	<i>L'impollinazione del kiwi</i>	<i>17</i>
1.1.3	<i>L'importanza degli Apoidei selvatici nel mantenimento dell'Agro-ecosistema</i>	<i>19</i>
1.2	IL POLLINE E PALINOLOGIA	20
1.2.1	<i>L'entomopalinologia</i>	<i>23</i>
1.2.2	<i>La Melissopalinologia.....</i>	<i>25</i>
1.2.3	<i>Cenni sulla nomenclatura palinologica Persano Oddo e Ricciardelli D'Albore(1989)</i>	<i>28</i>
1.3	OSMIA RUFA (L.)	30
1.3.1	<i>Caratteri generali.....</i>	<i>30</i>
1.3.2	<i>Ciclo biologico</i>	<i>31</i>
1.3.3	<i>Rilascio e allevamento delle osmie</i>	<i>39</i>
1.3.4	<i>L'impiego delle osmie nel servizio d'impollinazione ...</i>	<i>45</i>
1.4	IL KIWI (ACTINIDIA DELICIOSA A. CHEV.)	47
1.4.1	<i>Origine, cenni storici, diffusione e caratteristiche</i>	<i>47</i>
1.4.2	<i>Classificazione botanica</i>	<i>49</i>
1.4.3	<i>Ciclo vegetativo e produttivo</i>	<i>50</i>
1.4.4	<i>Biologia fiorale.....</i>	<i>54</i>
1.4.5	<i>Struttura del frutto.....</i>	<i>58</i>
2	SCOPO DEL LAVORO	60

3	MATERIALI E METODI.....	61
3.1	AZIENDE SCELTE PER LE PROVE	61
3.2	TIPOLOGIE DI NIDI USATI.....	64
3.3	SISTEMAZIONE DEI NIDI IN PIENO CAMPO	65
3.4	LE OSMIE	67
3.5	PRELEVAMENTO DEI NIDI PEDOTROFICI	67
3.6	APERTURA DEI NIDI.....	68
3.7	ANALISI ENTOMOPALINOLOGICHE.....	69
4	RISULTATI.....	71
4.1	ANALISI ENTOMOPALINOLOGICHE DEI CAMPIONI RACCOLTI NELLE AZIENDE DELLA PROVINCIA DI VERONA	71
4.2	NIDIFICAZIONE NELLE AZIENDE DELLA PROVINCIA DI VERONA	82
4.3	ANALISI ENTOMOPALINOLOGICHE AZIENDA AGRICOLA PACINI RIGOLI (PISA)	83
5	DISCUSSIONE.....	87
6	CONCLUSIONI	94
7	RINGRAZIAMENTI.....	96
8	BIBLIOGRAFIA.....	97

1 Introduzione

La pratica dell'impollinazione guidata finalizzata ad ottenere dalle piante una maggiore resa quantitativa e qualitativa, ha suscitato vivo interesse fin dalle civiltà più antiche. E' dato per certo che in Cina e in Giappone tale pratica era anticamente già usata: fiori come la rosa, la peonia, il crisantemo e la camelia sono stati ottenuti, nel tempo, attraverso incroci effettuati depositando il polline su stigmi di fiori di specie diverse (Kerner, 1897). Già nel 1500 a.C. gli ebrei furono istruiti da esperti babilonesi ed egiziani sull'impollinazione manuale del dattero (Goor, 1967). La suddetta pratica, era conosciuta ancora prima all'epoca della civiltà assira, lo testimonia un bassorilievo raffigurante due divinità recanti in mano le infiorescenze maschili e femminili del dattero sovrapposte (Faegri e Van der Pijl, 1966). Nei secoli seguenti la pratica dell'impollinazione non ha avuto alcun supporto teorico o verifica scientifica; niente era stato scoperto, circa la riproduzione sessuale delle piante. Risalgono solamente alla fine del 17° secolo le prime importanti osservazioni; il botanico Grew, nel 1682, verificò che una pianta era in grado di sviluppare il seme solo dopo il trasporto dei granuli di polline sugli stigmi fiorali. Nel 1694 Camerarius in "De sexu plantarum epistole" ripeté quanto già riportato nel 300 a.C. dal filosofo greco Teofrasto sulla funzione sessuale del pistillo e degli stami nel fiore. Durante il secolo successivo, fu approfondita la ricerca sulla sessualità delle piante, individuando con precisione i caratteri morfologici maschili e femminili (Grant, 1949).

In seguito Sprengel (1773) affermò che nelle essenze vegetali si incrementava notevolmente la qualità e il vigore tramite

l'impollinazione incrociata e che gli insetti ne erano in gran parte i diretti responsabili.

Nel 1800 Darwin fu senza dubbio il più assiduo sperimentatore: fece numerose prove trasferendo il polline da fiore a fiore sia manualmente sia usando gli insetti pronubi. Le sue considerazioni su alcune specie vegetali rimangono ancora valide e sono raccolte nel libro "The various contrivances by which orchids are fertilized by insects" pubblicato nel 1877 e "Effects of cross and self fertilization in the vegetable kingdom" stampato nel 1899. La sua teoria evolutiva, elaborata negli anni precedenti, fu ulteriormente confermata da queste accurate osservazioni; egli pose l'accento più volte sull'importanza dell'impollinazione incrociata ai fini della conservazione della specie e per il mantenimento della vigoria. Negli Stati Uniti d'America la ricerca sull'argomento, era progredita di pari passo al vecchio continente (Crane, 1876; Muller, 1883; Hutchinson, 1886). La svolta decisiva in ogni modo si ebbe nel 1895 con gli studi di Waite sull'autosterilità del pero, alla quale si poteva ovviare solo con polline proveniente da varietà diverse e trasportato da insetti. Fin dal primo momento fu sostenuta la necessità di poter avere un numero considerevole d'insetti impollinatori nell'ambito di uno stesso frutteto e si scelsero colonie di api mellifiche collocate in prossimità dei filari (Bentos, 1896). Risale alla prima decade del secolo successivo, il primo servizio d'impollinazione nei frutteti svolto da apicoltori specializzati. Negli anni successivi vari autori (Clements e Long, 1923; Hooper, 1921) presero in considerazione altre colture di interesse economico, valutando anche il numero e la forza delle colonie di api necessarie ai fini di una corretta impollinazione (Farrar, 1931).

Negli anni quaranta è stato fondato negli Stati Uniti d'America un istituto di ricerca (USDA Legume Seed Research Laboratory, Logan Utah) per ovviare alla crescente domanda di semi selezionati di leguminose. Ottimi risultati sono stati ottenuti per quanto riguarda la produzione d'erba medica (*Medicago sativa*) utilizzando in un primo momento esclusivamente le api mellifere (Utah Agricultural Experiment Station, 1950). In seguito sono stati inseriti con successo i primi Apoidei selvatici: *Noema melanderi* (Bohart, 1950), *Megachile rotundata* (Stephen e Torchio, 1961). Con la serie di studi condotti in America e in Europa durante i due decenni successivi siamo attualmente arrivati ad incrementare la produzione e la qualità di numerose piante arboree e oleaginose come il girasole (*Helianthus annuus*) e la soia (*Glicine max*) e a introdurre in campo altri insetti sociali e solitari appartenenti alla superfamiglia degli Apoidei (*Bombus*, *Osmia*, *Megachile*, *Melipona*). Per quanto riguarda la letteratura, risalgono sempre agli anni settanta i primi due testi di base scritti da Free (Insect pollination of cultivated crops, 1970) e da Mc. Gregor (Insect pollination of crops, 1976); entrambi, elencano numerose specie coltivate che beneficiano dell'impollinazione entomogama e per ciascuna di loro, delineano il reale fabbisogno di impollinazione e il corretto impiego degli insetti pronubi (api mellifiche e/o Apoidei selvatici).

1.1 Il processo dell'impollinazione

Nel processo riproduttivo si distinguono due fasi: l'impollinazione (pre-gamia) e la fecondazione (gamia) (Frediani, 1993; Pinzauti, 1991a). L'impollinazione consiste nel trasporto del polline dalle antere in cui è stato prodotto, allo stigma; la fecondazione consiste nella fusione dei nuclei spermatici con l'oosfera e con il nucleo secondario (Cappelletti, *et al.*, 1940). Il polline si forma nelle antere da uno strato sporigeno contenente cellule madri che in seguito a divisioni meiotiche, danno origine ad un granulo apolide. Il granulo, una volta giunto sulla cima dell'apparato sessuale femminile, in condizioni ottimali germinerà producendo il tubetto pollinico (Biondi, 2000). Il progressivo allungamento del tubetto pollinico avviene per mezzo delle formazioni trofiche del nucleo vegetativo; una volta percorsa l'intera lunghezza dello stilo permette il transito dei due nuclei generativi fino a raggiungere l'oosfera penetrandovi attraverso il micropilo, o passando dalla calaza, consentendo così la fecondazione (Cappelletti *et al.*, 1940) (fig. 1).

In tutte le Angiosperme in realtà avviene una doppia fecondazione. La prima avente carattere sessuale, è l'unione dell'oosfera con un nucleo spermatico, la seconda consiste nell'unione di due o più nuclei secondari con l'altro nucleo spermatico (Gerola, 1992).

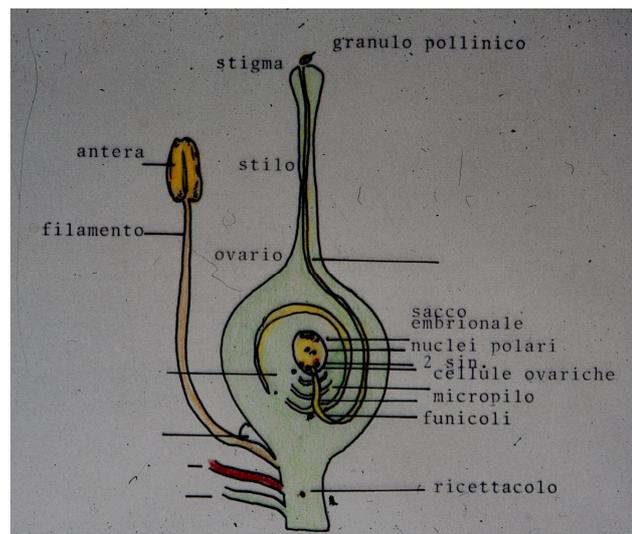


Fig. 1 – struttura floreale.

Dalla fecondazione dell'oosfera si forma uno zigote (apolide), che per successive divisioni genererà l'embrione. Dalla fecondazione del nucleo secondario si forma un nucleo triploide che per successive divisioni origina un tessuto detto endosperma secondario (Cappelletti, *et al.*, 1940).

Gli agenti principali responsabili del trasporto del polline in natura sono essenzialmente tre: **l'acqua, il vento e gli animali.**

Nel primo caso l'impollinazione è detta idrogama, nel secondo caso anemogama e nell'ultimo zoogama.

Questa ultima si distingue in entomogama (fig. 2), vale a dire l'impollinazione compiuta dagli insetti, ornitogama nella quale il vettore è rappresentato dagli uccelli e in chiropterogama, quando è compiuta dai pipistrelli (Frediani, 1993).



Fig. 2 - Impollinazione entomofila

Alle nostre latitudini le principali forme d'impollinazione sono l'anemogama e l'entomogama.

Specie considerate ad impollinazione prevalentemente anemofila, sono caratterizzate da un polline molto leggero talvolta dotato di sacche aeree (es, conifere), che ne facilitano la dispersione anche per più chilometri; specie considerate ad impollinazione prevalentemente entomofila, sono caratterizzate da un polline generalmente pesante e talvolta vischioso che, aderendo al corpo peloso dell'insetto, può essere facilmente trasportato da un fiore ad un altro (Pinzauti, 1991a) (fig. 3).



Fig. 3 – (a sinistra): esempio di granulo pollinico di pianta ad impollinazione prevalentemente entomofila (*Helianthus annuus* L.). (a destra): esempio di granulo pollinico di pianta ad impollinazione anemofila (*Zea mays* L.).

Fra le colture d'interesse agrario strettamente anemogame ricordiamo molte graminacee, fra quelle strettamente entomogame il mandorlo e il ciliegio, tra quelle prevalentemente, ma non esclusivamente, anemogame la vite, l'ulivo e il kiwi. Le piante possono adottare diverse strategie per favorire l'impollinazione e l'incrocio dei gameti. Per autogamia si intende il processo mediante il quale l'elemento germinale maschile va a fecondare l'ovulo di uno stesso fiore o di un altro fiore appartenente al medesimo individuo; per allogamia, o impollinazione incrociata si intende il processo in base al quale l'elemento germinale maschile va a fecondare l'ovulo di un

fiore che appartiene a individui differenti della medesima specie con altre caratteristiche genetiche (Frediani, 1993).

Nelle piante superiori vi sono specie a fiori ermafroditi portanti entrambi i sessi e a fiori unisessuali, nelle quali il fiore maschile e femminile sono separati. In questo caso si distinguono le piante definite monoiche, portanti fiori femminili e maschili sullo stesso soggetto come ad esempio mais e zucca, da quelle dioiche in cui i due sessi sono separati, come ad esempio kiwi, asparago e pistacchio (Frediani, 1993). Da quanto detto si potrebbe pensare che solo nelle piante dioiche l'autogamia risulti impossibile, mentre nelle piante monoiche e in quelle con fiori ermafroditi l'autogamia dovrebbe risultare possibile o addirittura rappresentare la norma. In effetti esistono fiori ermafroditi che non possono autofecondarsi e tale fenomeno può attribuirsi a cause di natura fisiologica, come l'asincronismo nello sviluppo degli apparati sessuali, autoincompatibilità, scarsa germinabilità del polline, sterilità maschile o anatomica, come ad esempio la diversa lunghezza di stami e pistilli presenti nello stesso fiore. In entrambi i casi rimane la possibilità di autogamia fra fiori diversi dello stesso soggetto vegetale (Gerola, 1992; Pinzauti, 1991; Pinzauti, 2000) Comunque in natura tutto concorre a favorire la fecondazione incrociata che comporta la possibilità di nuove combinazioni genetiche, presupposto dell'evoluzione. In effetti, molte caratteristiche positive, tra le quali l'allegagione e il colore, risultano favorite se il frutto è conseguenza della fecondazione incrociata (Pinzauti e Frediani, 1997). Nell'ultimo decennio in diverse colture autofertili si sono sempre più frequentemente verificati fenomeni di scarsa allegagione con conseguente scarsa produttività (Guerriero e Monteleone, 1988).

I migliori frutti si ottengono da combinazioni inter-varietali e i migliori risultati si ottengono con una corretta impollinazione alla base della quale stanno due principi (Pinzauti, 1991):

1) il polline deve provenire da un soggetto con un altro patrimonio genetico.

2) il polline deve arrivare all'apparato femminile del fiore in rilevante quantità al fine di esercitare il cosiddetto "effetto massa".

Questo ultimo risulta essere un fenomeno importante, è infatti indispensabile che sullo stigma arrivino sempre numerosi granuli pollinici, anche nel caso che l'ovario contenga un solo ovulo e questo abbia come di norma, una sola ovocellula. Per esempio, in alcune piante è stato riconosciuto (Kroh 1964) che per ottenere una fecondazione normale sono necessari almeno 350 granuli di polline sullo stesso stigma. Ulteriori ricerche di fiori di molte brassicacee (Krott, 1984), hanno evidenziato che 200-300 granuli non erano sufficienti per la fecondazione di una singola ovocellula, ma ne occorrevano molti di più; il motivo di ciò deriva dal fatto che la secrezione enzimatica e proteica esercitata dal polline deve essere rilevante per interagire con quella emessa dallo stilo.

Spesso è stato constatato in laboratorio che anche del polline autoincompatibile, se presente in soprannumero sullo stigma, può germinare e fecondare la cellula uovo dando avvio alla formazione del frutto. Le due condizioni suddette, avvengono in seguito alle ripetute visite di insetti pronubi e una condizione indispensabile per un costante rapporto pianta insetto è la presenza nel fiore di merce di scambio utile per l'insetto, come la presenza di polline e nettare, alimenti comunque necessari alla vita dell'insetto stesso. Tale merce spesso è reclamizzata dal fiore mediante colori e profumi.

Da molti anni anche in Italia, il ruolo degli insetti pronubi nelle specie fruttifere è stato ampiamente riconosciuto e documentato da approfondite ricerche scientifiche (Clark, 1959; Kurennoi e Kurennoi, 1976; Farkas, 1981; Balana *et al.*, 1983; Accorti, 1988). E' importante considerare che un terzo dell'alimentazione umana dei paesi della CEE è da attribuire direttamente e indirettamente all'azione degli insetti impollinatori (Remaole, 1990). Quindi gran parte delle colture agricole dipende dall'attività pronuba degli insetti appartenenti ai vari ordini ed in particolare agli Imenotteri, Ditteri, Lepidotteri e Coleotteri (Pinzauti, 1991). Nonostante ciò, negli ultimi cinquantanni, nei paesi industrializzati, l'ambiente agrario ha subito una profonda trasformazione. Fino agli anni settanta, nel nostro paese allegazione dei frutticini era in qualche modo assicurata da una sufficiente presenza di insetti pronubi nell'ambiente. Perciò qualsiasi investimento economico nell'organizzazione di un servizio di impollinazione da parte degli agricoltori italiani risultava sovente superfluo (Clark, 1959; Farkas, 1981; Accorti, 1988). A seguito dell'avvento in numerose regioni italiane di moderne tecniche agrarie, spesso indirizzate all'impiego eccessivo ed errato, nei tempi e nei modi, d'erbicidi e antiparassitari è avvenuta una profonda alterazione dell'ambiente agrario e conseguente rottura degli equilibri biologici, con ripercussione soprattutto sulla popolazione degli insetti pronubi. In questo modo è stata resa evidente l'effettiva importanza di tali insetti nel processo d'impollinazione, rendendo più necessario il ricorso ad un vero e proprio servizio d'impollinazione (Krunic *et al.*, 1991; Pinzauti, 1991; Krunic *et al.*, 1995).

A tutto oggi, la pratica di tale servizio prevede essenzialmente l'impiego dell'ape mellifica (*Apis mellifera L.*) e in alcune zone dove l'assenza dei pronubi è più evidente, l'introduzione degli alveari al momento della

fioritura di determinate colture, ha assunto il valore di una normale tecnica agraria come ad esempio la potatura o la concimazione (Pinzauti e Rondinini, 1991; Rondinini *et al.*,2000). Risulta quindi facile comprendere come l'assenza di insetti pronubi al momento della fioritura possa causare contrazioni produttive talvolta rilevanti dal punto di vista economico (Pinzauti, 1991).

Affinché la fecondazione dei fiori possa avvenire è di fondamentale importanza che ci sia una perfetta sincronizzazione degli eventi che la caratterizzano. Deve essere rispettata la sequenza di:

- 1) Apertura dei fiori
- 2) Rilascio del polline vitale
- 3) Disponibilità di fattori che disperdono il polline.
- 4) Recettività dello stigma
- 5) Germinazione del polline
- 6) Successiva fertilizzazione

La durata e la periodicità di ogni singolo evento influenza molto la dinamica dell'intero processo: se per esempio si prende in considerazione il momento dell'antesi, è di fondamentale importanza sia la durata dell'intero periodo in cui i fiori espongono la recettività dello stigma e la deiscenza delle antere sia il periodo del giorno in cui il fiore è aperto.

Possiamo dire, infatti, che nella maggior parte dei casi, questo intervallo può sovrapporsi al periodo di attività del rispettivo impollinatore. Le piante coltivate fioriscono per lo più di mattino presto e il periodo d'antesi diurna può variare da 5 ore per la lattuga, 8 per la patata, 10 per il cotone, 14 per il cavolo. Ai fini dell'impollinazione, non solo è importante che i fiori siano aperti, ma è indispensabile che lo siano per un periodo sufficientemente

lungo (1 giorno per molte piante anemofile e per il melone due per il papavero e lino, pochi giorni per il cotone e il melo, fino a 80 giorni per alcune orchidee). Normalmente le piante che producono un maggior numero di granuli di polline, tendono ad avere (nella maggioranza dei casi delle piante anemofile) fiori con una minore persistenza, mentre invece si mantengono più a lungo quelli con una piccola quantità di antere appartenenti a piante entomofile (Frankel e Galun, 1977). Durante il periodo favorevole all'impollinazione è indispensabile che gli apparati riproduttori abbiano raggiunto la maturità: nel caso dell'apparato maschile questa si esplica con la deiscenza delle antere e la successiva liberazione del polline mentre nell'apparato femminile si ottiene con la recettività dello stigma (facilmente riconoscibile per la secrezione di un liquido vischioso sulla superficie stigmatica). Secondo Percival (1955) la durata della deiscenza può variare secondo la specie: può avvenire, quando ancora il fiore è in pre-antesi (nella maggior parte delle leguminose) oppure appena si apre (ribes nero, cavolo, granturco).

In tali specie gli stami maturano contemporaneamente, mentre invece la deiscenza del numero totale delle antere termina in due giorni nel ravanello (*Raphanus sativus*), in tre nel ciliegio (*Prunus avium*), albicocco (*Prunus armeniaca*), melo (*Pyrus malus*); in una settimana nel pero (*Pirus communis*). La persistenza della recettività dello stigma è una caratteristica di ogni singola specie e può durare da un minimo di alcune ore ad un mese intero.

Nelle piante entomofile si possono notare due condizioni diverse: ci sono piante come il melo che mantengono la recettività per alcuni giorni (Williams, 1977) altre invece come il melone (*Cucumis melo*) che presentano un tempo di recettività minimo (Pinzauti, 1981); poche ore al mattino con tendenza a diminuire con l'aumentare della temperatura.

L'intervallo giornaliero di massimo rilascio del polline e quello della massima recettività dello stigma può variare nell'ambito delle specie. Percival (1955) ha seguito durante la fioritura circa novanta piante per lo più spontanee. I fiori appartenenti alle specie osservate, pur mantenendo un'emissione di polline nell'intervallo giornaliero, presentavano dei massimi di rilascio molto variabili da specie a specie. Da ciò è nato il tentativo dell'autore di dividere le piante in gruppi secondo la fascia oraria in cui si verifica il picco di emissione. Il primo di questi include piante che rilasciano il polline il mattino presto (*Helianthus annuus*) il secondo fino a circa mezzogiorno (*Triticum* sp, *Ribes nigrum*, *Fragaria* sp), altre piante rilasciano il polline durante tutto l'arco del giorno (*Allium porrum*, *Allium coepa*) ed infine altre coltivazioni concentrano il rilascio del polline nel pomeriggio (*Vicia faba*, *Trifolium repens*). Il caso della pianta *Ceiba pentandra* rappresenta un esempio di sovrapposizione del periodo di rilascio del polline con l'attività del principale impollinatore (un Chiroterro che si nutre esclusivamente di polline e nettare). Anche la recettività dello stigma di alcune piante può subire delle variazioni giornaliere: ad esempio le piante che rilasciano il polline durante tutto l'arco del giorno presentano generalmente una diminuzione della recettività durante le ore centrali della giornata (Frankel e Galun, 1977).

I fattori ambientali possono influenzare ampiamente la dinamica dell'intero processo di impollinazione. La **luce** (fotoperiodo, intensità e qualità della luce), la **temperatura** (termoperiodo, temperature massime e minime), le caratteristiche legate al **terreno** (umidità e elementi minerali con particolare riferimento alla quantità di azoto presente) ed infine l'**epoca di potatura** condizionano complessivamente l'intero andamento e l'effettiva durata della fioritura. Le variazioni che influenzano l'impollinazione hanno un andamento giornaliero o stagionale e i cambiamenti possono avvenire in

modo graduale o repentino. Oltre ai fattori individuati in precedenza altre variabili atmosferiche possono giocare un ruolo molto importante: il **vento**, **l'umidità**, **la pioggia** hanno, infatti, un notevole impatto sulla dispersione del polline modulando l'entità dei vettori abiotici; per quanto riguarda invece i fattori biotici (animali antofili), questi possono essere influenzati direttamente dalle suddette variabili climatiche, nella loro attività pronuba (distanza di foraggiamento, quantità raccolta, ecc), inoltre la variazione degli stimoli di cui le piante dispongono per attrarre gli insetti come la secrezione nettarifera o la quantità di polline, sono legate direttamente all'andamento climatico giornaliero e stagionale (Corbet, 1978; Percival, 1955).

1.1.1 Impollinazione in pieno campo delle piante da frutto.

In Italia la gran parte delle piante da frutto, fioriscono nel periodo compreso tra i primi di febbraio e la metà di aprile. Questo periodo dell'anno è generalmente caratterizzato da condizioni meteorologiche instabili con frequenti ritorni di freddo e da gelate tardive che interagiscono negativamente con la biologia della pianta e con l'attività degli insetti pronubi.

Osservando le caratteristiche morfologiche e fenologiche delle piante da frutto possiamo constatare che la maggior parte di loro, sono da considerare autosterili (autoincompatibili nell'ambito della medesima cultivar).

Piante come il mandorlo, il melo, il ciliegio e il susino cinogiapponese, per esempio, per essere produttive richiedono sia di piante impollinatrici, vale a dire altre cultivar della medesima specie in fioritura concomitante nello stesso appezzamento colturale, sia di un agente del trasporto del polline, che garantisca l'impollinazione incrociata (Pinzauti, 1991). In particolari

meccanismi d'inter-autoincompatibilità, propri d'alcune colture come il ciliegio e il mandorlo, creano problemi di fecondazione degli organi femminili del fiore, perciò solo alcuni particolari pollini di cultivar di piante dette "impollinatori", consentono lo sviluppo del tubetto pollinico e quindi la fecondazione con una maggiore possibilità d'allegagione dei frutticini (Felicioli e Pinzauti, 1999). In base a quanto detto è opportuno che gli agricoltori prevedano un corretto servizio d'impollinazione con gli insetti pronubi e la presenza di un adeguato numero di piante impollinatrici. In caso di assenza di tali piante, l'agricoltore può sopperire dislocando nell'appezzamento diversi rametti fioriti, chiamati "bouquet" provenienti da altre cultivar (Pinzauti, 1999). Fino agli anni ottanta il servizio d'impollinazione era affidato completamente alle api mellifiche quindi la presenza sul territorio nazionale di molti apicoltori garantiva comunque produzioni vegetali abbastanza remunerative (Pinzauti e Frediani, 1978; Kuhn e Ambrose, 1984). Le api bottinatrici di una famiglia popolosa riescono a visitare, sul territorio limitrofo all'alveare, anche milioni di fiori al giorno viaggiando a una velocità anche di oltre 20 km/ora. La presenza contemporanea di fioriture spontanee può determinare competizione tra piante di specie diverse.

La competizione può essere d'interferenza (o competizione attuata per mezzo della presenza dell'insetto impollinatore) e di esplorazione (o competizione attuata mediante trasferimento di polline interspecifico da parte dell'insetto) (Jones e Little, 1983). La prima si manifesta, quando una determinata specie botanica è capace di attrarre gli insetti impollinatori, a scapito di altre. La seconda accade, quando un insetto impollinatore visita senza preferenza un insieme di specie botaniche comportando il trasferimento di un complesso di granuli pollinici appartenenti a specie diverse su di una sola pianta. Ai fini dell'attivazione del servizio

d'impollinazione nelle aziende è importante usare colture a fioritura scalare e provvedere al taglio dei fiori spontanei prima dell'inizio della fioritura degli alberi (Pinzauti, 1991). In generale le condizioni atmosferiche condizionano l'attività svolta dalle api bottinatrici all'esterno dell'alveare. Infatti, le api mellifiche si attivano per la raccolta solo a temperature superiori a 11-12 gradi e a temperature molto elevate (sopra i 30 °C) le loro attività di raccolta sono disincentivate, perché reclutate nelle attività di termoregolazione all'interno della colonia, quando la velocità del vento supera i 30 km/ora, l'attività di volo si riduce molto fino a cessare del tutto (Pinzauti, 1986). Per questo è importante soprattutto nelle zone costiere dove spesso è presente il vento, introdurre frangivento naturali (cipressi, eucalipto) o artificiali che consentono l'attività di volo delle api anche alla presenza in forti venti. Infine da alcuni (1981) anni in Italia la comparsa dell'acaro ectoparassita delle api "*Varroa destructor*" ha causato la perdita di gran parte del patrimonio apistico e sul territorio nazionale si sono registrate flessioni produttive tanto notevoli da far emergere il problema dell'assenza dell'impollinazione entomofila. Molti apicoltori, sono stati indotti a considerare la possibilità di allevare anche altri Apoidei pronubi (Rondinini e Pinzauti, 1994).

In diversi paesi dell' Europa settentrionale e degli USA si sono recentemente sviluppati studi sulla possibilità di impiego nell'impollinazione incrociata di Imenotteri, Apoidei selvatici, in alternativa alle api mellifiche. Gli insetti più idonei sono risultati essere il Megachilide (*Megachile rotundata*), impiegato per l'impollinazione dell'erba medica e trifoglio, i Bombi (*Bombus terrestris*) nelle colture di pomodoro in serra e le osmie (Torchio, 1987; Torchio *et al.*, 1987; Maeta, 1987; Kitamura e Maeta, 1986; Pinzauti, 1991a-b; Pinzauti, 1992-1993; Felicioli e Pinzauti, 1994).

Il *Megachile rotundata* ha acquisito notorietà tra gli agricoltori nord-americani negli anni cinquanta, quando è stata evidenziata la sua importanza come impollinatore dei fiori di erba medica (Hobbes e Lilly, 1954; Bohart, 1962). In Italia, la riproduzione del *M. rotundata*, finalizzata all'impollinazione guidata dell'Erba Medica è iniziata nel 1987 (Pinzauti e Rondinini, 1991; Rondinini e Pinzauti, 1994; Pinzauti, 2000). Inoltre in Italia, l'impiego di tale insetto si è dimostrato idoneo oltre che nell'impollinazione dell'Erba Medica anche sul trifoglio (Martinello e Pinzauti, 1991). Dal 1987, presso il Laboratorio d'Apicoltura della Sezione d'Entomologia Agraria del Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose dell'Università di Pisa, sono stati avviati studi inerenti l'etologia, la fisiologia, la biochimica e la morfologia di *Osmia cornuta* (Latr.) e *Osmia rufa* (L.) (Pinzauti, 1991). Questi insetti mostrano la massima attività di volo e di foraggiamento durante la primavera e riescono ad essere attive a condizioni meteorologiche anche avverse e a temperature relativamente basse (5-8 gradi), normalmente proibitive per le api mellifiche (Lundie, 1925; Pinzauti, 1991).

Osservando l'attività pronuba dell'insetto, è emerso che ogni femmina può arrivare a raccogliere fino a 6 grammi di polline pari circa a 9 cm di polline nell'arco della propria vita, tanto da poter considerare tale insetto un efficace impollinatore. L'impiego dell'*Osmia* nell'impollinazione ha assunto particolare importanza da circa un decennio nell'ambito di diverse colture praticate in pieno campo e in coltura protetta. Nell'impollinazione dell'albicocco coltivato in pieno campo, con fioritura già presente a fine febbraio, non esiste competitività di altri insetti ed altre fioriture concomitanti (Pinzauti, 1999). Le altre colture nelle quali è stata verificata l'azione pronuba svolta dalle osmie sono il mandorlo, il melo e il susino, in particolare il susino cino-giapponese. (Felicioli e Pinzauti, 2000) In questo

ultimo caso l'utilità delle osmie scaturisce dal fatto che tale pianta ha una scarsa secrezione nettarifera risultando poco attrattiva per le api, mentre le prime che vanno in cerca prevalentemente di polline ne sono maggiormente attratte (Pinzauti e Felicioli, 1994).

1.1.2 L'impollinazione del kiwi

Il kiwi (*Actinidia deliciosa* Chev.) è una specie dioica, vale a dire presenta piante con soli fiori maschili, separate da quelle che recano fiori pistillari. I fiori penduli maschili, del diametro di circa 5 cm bianchi con petali viranti al giallo a seconda dell'età del fiore, presentano un ovario abortito e numerosi stami con antere contenenti polline fertile; i femminili hanno un ovario con circa 1400 ovuli, numerosi stigmi recettivi (40) e molti stami con antere che producono polline sterile. La fioritura dura circa un mese (Free, 1993). Tale differenziazione sessuale dei fiori consente alla pianta, ai fini della produzione, di avvalersi dell'impollinazione entomofila svolta occasionalmente dalle api mellifiche (*Apis mellifera* L.) e da altri Apoidei pronubi normalmente presenti in natura (Pinzauti, 1992; Pinzauti e Biondi, 1988). Osservazioni condotte presso l'Università di Pisa (Pinzauti, 1987, 1988) hanno dimostrato che un'adeguata presenza di piante con fiori maschili tra i filari, consente alla cv. Haiward una soddisfacente allegagione, anche senza l'apporto di pronubi, anche se i frutti così ottenuti rimangono poi di dimensioni ridotte con pochi semi e quindi poco commerciabili. Altri studi sempre condotti in Italia (Piazza e Intoppa, 1988, 1989; Manino et al., 1996) hanno evidenziato anch'essi il positivo ruolo svolto dalle api mellifiche ai fini della produzione di kiwi. È stato accertato inoltre (Pinzauti, 1988) che l'impiego delle api mellifiche, utilizzate attraverso un adeguato "servizio di impollinazione" consente, una

volta diradati i fiori o i frutticini, di ottenere un'elevata produttività per pianta con frutti sempre di dimensioni di pregio (anche fino a 150 g). Ovviamente per il fatto stesso che i fiori di kiwi, non producono nettare risultano di norma, poco attrattivi per le api mellifiche. Infatti, le bottinatrici appartenenti all'evoluta società delle api sono prevalentemente finalizzate alla raccolta del nettare. Sappiamo infatti, che circa l'80% delle api bottinatrici raccoglie nettare e solo poco più del 10% raccoglie polline (Free, 1977). Sui fiori del kiwi le bottinatrici generalmente tendono a raccogliere polline solo nei primi giorni dopo l'introduzione dell'alveare nell'apezzamento per poi disertare quasi completamente la fioritura. La tecnica di introdurre in campo, ogni 2-3 giorni, 3 forti alveari (totale 6-9 ad ettaro) fornisce indubbiamente ottimi risultati ai fini di una corretta impollinazione dei circa 25 organi femminili presenti in ogni fiore pistillare di kiwi. Dal 1987 presso il settore entomologico della Facoltà di Agraria dell'Università di Pisa vengono allevate diverse specie di api appartenenti alla superfamiglia Apoidei (Pinzauti, 1991b, 1996, 2000a, 2004), ed in particolare alcune specie di api solitarie del genere *Osmia* (Pinzauti, 1991a). Queste api solitarie che nidificano, però in forma gregaria, non producono né gelatina reale né miele per cui sono fortemente finalizzate alla raccolta del polline, unica sostanza proteica idonea a garantire lo sfarfallamento della loro prole. Di norma l'attività pronuba delle osmie è garantita per circa 100 giorni, iniziando a volare naturalmente i primi di febbraio, con la fuoriuscita dell'*Osmia cornuta* Latr. dai nidi dell'anno precedente e proseguendo con il rilascio programmato dei bozzoli della stessa specie a metà di marzo (Pinzauti *et al.*, 2007). Di nuovo con lo sfarfallamento dell'*Osmia rufa* L. dai nidi vecchi e il rilascio programmato dei bozzoli anche di questa seconda specie di osmi

1.1.3 L'importanza degli Apoidei selvatici nel mantenimento dell'Agro-ecosistema

Nell'ultimo mezzo secolo si è assistito ad una radicale trasformazione dell'agricoltura tradizionale. In particolare il diffondersi della monocoltura specializzata su vasta area con conseguente eliminazione delle essenze spontanee (fig. 4) e l'impiego spesso irrazionale ed eccessivo degli antiparassitari, hanno causato la rarefazione e in talune zone la scomparsa dei pronubi selvatici (Pinzauti, 1991; Pinzauti e Rondinini, 1991). Da qui la necessità dell'impiego di colonie di api per il "Servizio di Impollinazione" o anche di altri Apoidei sulle colture che dalla visita di questi ultimi traggono maggior vantaggio (*Trifoglio pratense*, *Medicago sativa*, *Vicia faba*, *Lycopersicon esculentum* ecc.) (Corbet, 1996).



Fig. 4 -: Panorama di un agroecosistema.

1.2 Il Polline e Palinologia

Il polline può essere considerato il veicolo attraverso il quale, nel processo di fecondazione del fiore, il patrimonio genetico maschile è trasferito all'interno dell'ovario dove darà origine a tutte le informazioni che porteranno alla formazione del frutto. Il fenomeno ha come conseguenza la produzione del seme che in condizioni opportune germinerà dando origine ad un altro individuo della medesima specie (Faegri e Pjil, 1979). Il polline si forma nelle antere da uno strato sporigeno delle cellule madri che, in seguito a divisioni meiotiche, danno origine ad un granulo apolide. Il granulo, una volta maturo liberato dalle antere in deiscenza, è in grado di essere trasportato soprattutto per opera degli insetti pronubi oppure dall'azione del vento sullo stigma di un fiore della medesima coltura vegetale (Faegri e Pjil, 1979). Il polline giunto in cima all'apparato sessuale femminile, in condizioni adeguate e solo dopo essere stato riconosciuto come della stessa specie del fiore femminile germinerà producendo il tubetto pollinico (fig. 5). Questo percorrendo tutto lo stilo arriverà a fecondare la cellula uovo presente nell'ovario, trasferendo così il proprio materiale genetico (Faegri e Iversen, 1964; Musmarra, 1996).

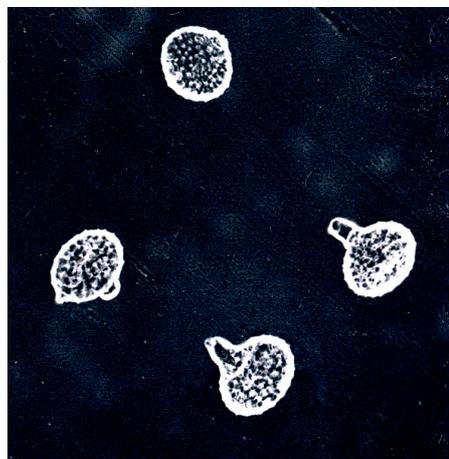


Fig. 5 – Inizio sviluppo del tubetto pollinico.

Il singolo granulo di polline è costituito da un involucro esterno, l'esina, contenente un polimero, la sporopollenina, che conferisce resistenza all'involucro stesso (Faegri e Iversen, 1964). La superficie del granulo pollinico, all'analisi microscopica, può apparire liscia, accidentata, rugosa reticolata, munita di spine o di creste ecc..

Dove la sporopollenina è assente si costituiscono le aperture da dove transiterà il tubetto pollinico. Sotto l'esina c'è uno strato più interno detto intina, costituito da cellulosa e sostanze peptidiche. Ancora più in profondità si trova il complesso citoplasmatico ed il materiale genetico tipico della specie. I pollini più adatti ad essere trasportati dal vento, quelli considerati di tipo anemofilo, in genere di piccola dimensione e prodotti nell'antera in rilevante quantità, di solito sono particolarmente secchi e pulverulenti. Di solito, questi pollini anemofili appartengono a fiori che non secernono nettare o dove è del tutto assente il richiamo olfattivo. Inoltre, questi fiori sono poco appariscenti, con colori sbiaditi e spesso riuniti in infiorescenze (Biondi, 2000). I pollini che hanno coevoluto rapporti stretti con gli insetti pronubi sono quelli appartenenti a fiori con perianzio evidente e ben colorato, con nettari spesso rigonfi ed emananti profumi adescanti (Ricciarelli D'Albore e Persano Oddo, 1989). I pollini di questi fiori considerati di tipo entomofilo spesso si presentano umidicci, se non addirittura appiccicosi per la presenza di sostanze zuccherine (Biondi, 2000).

Sovente presentano l'esina spinulata in modo da aderire con facilità allo stigma e nello stesso tempo rimanere attaccati il più possibile alla peluria dell'insetto tanto da essere trasportato agevolmente da un fiore all'altro (Ricciarelli D'Albore e Persano Oddo, 1989). Il granulo di polline per le sue dimensioni può essere riconosciuto attraverso la valutazione delle varie caratteristiche che presenta all'osservazione microscopica.

In un normale microscopio ottico la visione può essere effettuata a 100, 400, 600, 1000 ingrandimenti. Attraverso il microscopio a scansione (SEM) si può con una certa facilità, giungere a diverse migliaia d'ingrandimenti riuscendo ad evidenziare anche le singole scalfitture dell'esina. Già a 400 ingrandimenti, molte specie di polline possono essere riconosciute con certezza (Biondi, 2000). Nello studio dei pollini il criterio di discriminazione più immediato è la dimensione del granello. I granuli infatti, hanno dimensioni variabili che vanno da pochi micron ad oltre 200 micron (Sawier, 1988). Un altro criterio di classificazione è dato dalla forma del granulo. Nella valutazione della forma più specificatamente ci si aiuta osservando il polline al microscopio da due diverse posizioni: la prima in vista polare, quando l'asse ottico coincide con quello polare; la seconda, in vista equatoriale, quando l'asse ottico è perpendicolare all'asse polare. Salvo nel caso di pollini sferici si osservano forme diverse utili alla classificazione. Guardando il singolo granello di polline in vista polare e sezione ottica equatoriale, si possono riscontrare forme circolari, triangolari, sub-rotonde ecc.. Per contro, vedendo il granello in vista equatoriale e sezione ottica mediana, si possono avere forme rotonde, ovali ellissoidali, ecc.. Nel primo caso si ha modo di valutare la dimensione del diametro equatoriale e nel secondo dell'asse polare. Quando, l'asse polare è più lungo, del diametro equatoriale si parla di pollini prolatti, nel caso contrario di pollini oblatti. Quando il diametro equatoriale e l'asse polare sono uguali ci troviamo alla presenza di pollini sferici (Moore P.D., et al., 1991). I granuli di polline presentano alla germinazione, aperture da cui si diparte il tubetto pollinico dove il materiale genetico transita verso la cellula uovo. Le aperture possono essere di forma e numero variabile. Le aperture rotonde sono denominate pori, quelle a solco sono dette colpi, quindi, in genere avremmo granelli porati, colpiti, colorati, ecc..

Secondo il numero delle aperture presenti possiamo avere pollini inaperturati, con un'apertura, due aperture, tre aperture o con più aperture. Riassumendo, si potranno avere pollini Monoporati (es. *Graminacee*) con una sola apertura in forma di poro, Monocolpati (es. *Liliacee*) con una sola apertura a forma di colpo, Tricolpati (es. *Quercus ilex*) con tre aperture a forma di colpo, tricolporato (es. *Lotus*) con tre aperture formate da solco con poro Triporati con tre aperture a forma di poro; Periporati (es. *Malvacea*) con molte aperture a forma di poro. Riguardo alla particolarità della forma delle aperture si possono evidenziare solchi stretti, solchi in parte a barca, solchi lunghi. Le aperture possono essere fornite d'opercoli, di granulazioni ed i bordi più o meno evidenti (Ricciarelli D'Albore, 1989). Un'altra importantissima caratteristica discriminativa tra i pollini è la natura della loro superficie che, secondo le ornamentazioni dell'esina, risulta, importante per il riconoscimento (Biondi, 2000). Possiamo avere pollini con superficie liscia oppure con piccole scabrosità costituite da minuti processi o granulazioni oppure con processi simili a verruche. Inoltre la superficie può essere striata con strutture più o meno evidenti che possono essere spine (es. *Heliantus*) oppure creste come nel caso del *Taraxacum*. La combinazione e la valutazione di tutte le varie caratteristiche citate, consentono di determinare il polline oggetto di studio secondo gruppi, generi, o specie di appartenenza, seguendo nomenclature unificate (Ricciarelli D'Albore e Persano Oddo, 1989).

1.2.1 L'entomopalinologia

Riguarda lo studio della dieta di tutti gli insetti impollinatori al fine di conoscerne l'etologia. Dall'analisi dei pollini si risale a quali e quante piante sono state visitate dall'insetto; se queste sono poche o una sola,

l'insetto può essere interessante per una sua utilizzazione come impollinatore di una pianta specifica (Ricciarelli D'Albore *et al.*, 1994). L'analisi pollinica, che consente di risalire alle piante visitate da un insetto impollinatore, si può fare in modo diretto o indiretto sull'insetto. Nel primo caso il prelievo diretto del polline sul corpo di un insetto si esegue generalmente con un ago; il polline è diluito con poche gocce d'acqua distillata, recuperato su un vetrino ed esaminato al microscopio. Generalmente si rileva un solo tipo di polline; alcuni Apoidei, tuttavia hanno anche l'abitudine di raccogliere più pollini in un solo viaggio, come ad esempio i bombi (Ricciarelli D'Albore, 1997). Nel caso in cui un insetto è privo di polline, si prelevano i pollini che aderiscono al corpo e ai peli dell'insetto lavandolo con etere etilico su un vetrino da orologio. Un sistema molto valido, che consente di stabilire di cosa si è cibato il pronubo nelle ultime 24 ore, è l'estrazione dell'intestino che viene poi preparato su un vetrino per l'esame dei pollini ingeriti. Il metodo indiretto invece si basa sull'esame dei raccolti di polline prima e dopo l'immagazzinamento da parte dell'insetto. Per le api (*Apis mellifera*) si usa il ben noto metodo delle trappole per polline, che sottraggono all'alveare una certa quantità di pallottoline che sono prima selezionate in base al colore e poi esaminate al microscopio (Ricciarelli D'Albore e Persano Oddo, 1978). Un altro metodo è quello di esaminare il polline estratto dalle celle del nido. Nel caso delle osmie, si aprono i nidi pedotrofici appena terminati e si estrae una piccola quantità di cibo, effettuando una selezione in base ai colori (gli insetti solitari depositano in una singola celletta fino a 5-6 pollini diversi).

Un altro aspetto applicativo dell'Entomopalinologia è fornito dal monitoraggio ambientale. Da tempo ci si dedica all'utilizzazione dell'ape come insetto-test per valutare lo stato di salute di un territorio: l'ape vola per un raggio d'alcuni chilometri, bottina polline, nettare, propoli e acqua e

pertanto può fornire utili indicazioni se un frutteto è avvelenato con fitofarmaci, se un fiume è inquinato ecc. (Ricciarelli D'Albore et al., 1993).

1.2.2 La Melissopalinologia

Oltre all'Entomopalinologia, un'altra branca della palinologia è la Melissopalinologia che studia l'origine botanica e geografica dei mieli sulla base dell'analisi microscopica del loro sedimento per il riconoscimento dei pollini e degli altri elementi figurati che vi sono contenuti. Seppure non esente da errori, l'analisi melissopalinologia è il principale mezzo per formulare giudizi obiettivi sull'origine botanica dei mieli. Il nettare dei fiori contiene sempre quantità più o meno grandi di polline, che si ritrova poi nel sedimento del miele che da tale nettare deriva: sulla base del riconoscimento di tali pollini, del calcolo delle percentuali in cui essi compaiono e dell'identificazione di eventuali elementi indicatori di melata, è possibile risalire alle specie botaniche bottinaie con una precisione molto maggiore di quella consentita dalle osservazioni dirette, che permettono di stabilire solo se una specie è più o meno intensamente visitata dalle api, ma non in che misura essa da luogo a produzione di miele.

Attraverso la melissopalinologia si può risalire anche all'origine geografica di un miele, in quanto il suo spettro pollinico, vale a dire l'insieme dei pollini che compaiono nel suo sedimento, rispecchia la situazione floristica del luogo in cui è stato prodotto (Ricciarelli D'Albore e Persano Oddo, 1978). Secondo i metodi proposti dalla Commissione Internazionale di Botanica Apistica (Loveaux *et al.*, 1970 e 1978), l'analisi melissopalinologica si distingue in qualitativa e quantitativa.

L'analisi melissopalinologica qualitativa

Consiste nel riconoscimento dei granuli pollinici e dei vari elementi figurati presenti nel sedimento e il calcolo della loro percentuale. Nell'espressione dei risultati vengono anche conteggiati distintamente i pollini appartenenti a piante anemofile o non nettariifere, quelli appartenenti a piante nettariifere e i cosiddetti *elementi indicatori di melata*, in altre parole alghe, ife e spore fungine. Secondo questo tipo d'analisi se un polline di una determinata specie botanica supera il 45%, si definisce dominante e il miele è definito uniflorale. In ogni caso è da notare che sono presenti anche *pollini iperappresentati* (Tab. 1) per i quali la percentuale del 45% non è sufficiente a garantire quel miele come uniflorale e un esempio è il miele di Castagno in cui la percentuale di polline di quella specie deve essere almeno il 90% per poter essere definito miele uniflorale e *pollini iporappresentati* (Tab. 1) come nel caso del miele di Robinia in cui è sufficiente che contenga il 36% di polline di quella specie per essere definito uniflorale.

Specie a polline iperrappresentato	Specie a polline iporappresentato
<i>Myosotis</i>	<i>Lavandola</i>
<i>Castanea sativa</i>	<i>Salvia</i>
<i>Cynoglossum</i>	<i>Rosmarinus</i>
<i>Mimosa pudica</i>	<i>Thymus</i>
<i>Lotus</i>	<i>Robinia</i>
<i>Hedysarum coronarium</i>	<i>Medicago</i>
<i>Eucalyptus spp.</i>	<i>Tilia</i>
	<i>Citrus</i>

Tab. 1 - Esempi di piante con polline iper e ipo rappresentato (Sabatini, 2007a).

Giacché le fioriture sono molteplici è impossibili ottenere mieli derivanti da una sola specie botanica e quindi si considerano mieli uniflorali, quelli in cui è presente la prevalenza di una fonte nettarifera rispetto alle altre.

Nel caso in cui il polline non raggiunge determinate percentuali si parla di mieli multiflorali (Ferrazzi, 1994; Pinzauti e Frediani, 1998). Dunque, i pollini sono suddivisi in classi di frequenza:

- Dominante: superiore al 45%;
- D'accompagnamento: da 16 al 45%;
- Isolato importante: da 3 a 15%;
- Isolato: inferiore al 3% (Sabatini, 1995a)

Questo tipo d'analisi consente di giungere alla definizione di uno spettro pollinico complesso, identifica la presenza d'impurità e corpi estranei, permette di raccogliere informazioni sulle origini floreali dei mieli esaminati (quindi confermare o meno una denominazione botanica), riconoscere la zona di provenienza e quindi l'origine geografica dei mieli. In particolare i pollini isolati e isolati importanti sono i più indicativi per la determinazione dell'origine geografica (Ferrazzi, 1994; Sabatini, 1995a).

L'analisi melissopalnologica quantitativa

Tale analisi consente di rilevare il tenore di elementi figurati vegetali presenti in 10 grammi di miele e tali valori, oltre a confermare i risultati dell'analisi qualitativa, consentono di accertare in quale modo il miele è stato ottenuto nonché la presenza di eventuali corpi estranei, evidenziando irregolarità o sofisticazioni (Ferrazzi, 1994; Pinzauti e Frediani, 1998).

1.2.3 Cenni sulla nomenclatura palinologica Persano Oddo e Ricciardelli D'Albore(1989)

Con i mezzi ordinari della palinologia (M.O. 400x e 1000x immersione) non sempre è possibile determinare la specie botanica da cui proviene il granello pollinico. Ci sono specie che hanno granelli in tutto simili o con differenze non visibili al M.O. Quando non è possibile determinare la specie botanica d'appartenenza del granello pollinico, si usa associarlo a **gruppi, forme o tipi** palinologici noti. Nel caso in cui non si è certi della specie, ma vi è sicurezza del genere botanico di provenienza, si usa utilizzare il nome del *gruppo palinologico* corrispondente di riferimento. Se si scrive, *Trifolium repens* gr. (gruppo), vuol dire che siamo in presenza di un granello proveniente da una specie appartenente al genere *Trifolium* con granulo pollinico simile a quello del *Trifolium repens*.

Per quanto riguarda il genere *Trifolium*, infatti, possiamo avere oltre al gruppo del *T. repens* anche quello del *T. pratense* (i due gruppi hanno caratteristiche di diversificazione, es. natura della superficie). Quando si scrive *Genista* f. (forma), si vuol significare che il granello pollinico in esame è sicuramente appartenente alla famiglia botanica delle leguminose, ma non vi è certezza del genere d'appartenenza; infatti, i pollini appartenenti alla *forma Genista*, possono provenire ad esempio dai generi, *Cytisus*, *Genista*, *Ulex*, ecc..

Quando si scrive *tipo*, ad esempio *Moraceae* type, vuol dire che non si è certi nemmeno della famiglia botanica di provenienza, ma sicuramente il granello in esame, assomiglia al polline delle moracee. Ci sono famiglie botaniche numerose per specie e con forme polliniche che raggruppano settori di queste. Ovviamente i gruppi, le forme o le sezioni sono determinate in base alle caratteristiche strutturali dei granelli (forma, scultura dell'esina, aperture, ecc.).

Per la grande famiglia delle *Compositae* si usa suddividere, tra l'altro, i granelli in alcune delle seguenti *forme palinologiche* (categoria superiore alla **f.**):

Compositae H: comprendono i granelli che presentano scultura dell'esina caratterizzata da spine più o meno lunghe e fini (es: lunghe e fini per *Helianthus* e più corte per *Senecio*).

Compositae C: comprendono granelli con esina molto spessa, spine più corte e piccole.

Compositae S: comprendono granelli relativamente grandi, con spine più larghe e grosse (es: *Carduus*).

Compositae A: comprende pollini con esina spessa spine abbastanza grosse (es: *Matricaria*).

Compositae T: comprendono pollini che hanno la scultura dell'esina strutturata in creste spinose (es: *Taraxacum*).

1.3 *Osmia rufa* (L.)

1.3.1 Caratteri generali

Le Osmie sono Imenotteri Apocriti Aculeati appartenenti alla superfamiglia Apoidea, famiglia Megachilidae. Il genere *Osmia* Panzer, comprende circa 213 specie. Esse sono diffuse tra il vecchio e il nuovo mondo nelle regioni Palearctica, Neoartica ed etiopica e risultano assenti nelle regioni Indo-Australiana e Neotropicale (Sinha, 1958). In Italia fino ad oggi sono state rinvenute 40 specie e 19 sottospecie (Pagliano, 1994). Le Osmie sono Apoidei gastrilegidi (fig. 6) che utilizzano, la parte ventrale del gastro per raccogliere il polline essendo costretti a adoperare la scopa addominale per “raschiare”, con le setole colleriche, il polline in deiscenza nelle antere prima di portarlo al nido pedotrofico (Feliccioli, 2000).



Fig. 6 – Particolare del gastro ripieno di polline di una femmina di *Osmia*.

1.3.2 Ciclo biologico

L'*Osmia rufa* L. presenta uno spiccato dimorfismo sessuale (Mello e Garofano, 1986) e un ciclo biologico di tipo monovoltino obbligatorio (Corbelli, 1888; Felicioli, 2000). Per quanto riguarda la femmina, essa è lunga 9-14 mm, mentre il maschio è 9-13 mm (fig. 7).



Fig. 7 – *Osmia rufa* L.: Femmina con relativo bozzolo (sx) e maschio con relativo bozzolo (dx).

La loro colorazione è sensibilmente più chiara rispetto a quella dell'*Osmia cornuta*. Il torace è piuttosto tendente al grigio o al marrone chiaro, mentre l'addome si presenta di colore ruggine meno intenso. *L'Osmia rufa* (L.) come *L'Osmia cornuta* (Latr.) sono Apoidei solitari che, pur non avendo nessuna organizzazione sociale, presentano un comportamento di nidificazione di tipo gregario (Holm, 1973; Torchio *et al.*, 1987; Kronic *et al.*, 1989).

Per spiegare questa tendenza al gregaismo sono state formulate cinque ipotesi (Rosenheim, 1990). La prima tende a spiegare questo modo di nidificazione come conseguenza della concentrazione, in determinate aree dell'ecosistema d'alcune risorse chiave (Batra, 1978). La seconda e la terza individuano il gregaismo rispettivamente come risultato di una migliore efficienza di foraggiamento ottenuto da più femmine assieme (Brown, 1986) e miglior difesa e protezione contro predatori e parassiti (Alcock, 1974). La quarta vede alcune femmine già nidificanti come fattore guida alla scelta di un buon sito di nidificazione da parte di altre (Eickwort et al., 1977). La quinta, infine, spiega tale fenomeno come risultato del riutilizzo di cavità abbandonate dagli individui della stessa specie o dalle generazioni precedenti (Myers e Loveless, 1976).

Recentemente è stato rilevato, come la presenza di una femmina d'*Osmia* nidificante in una certa area possa costituire uno stimolo visivo per altre femmine che sono indotte a nidificare nella stessa zona (Felicioli *et al.*, 1996). Esse trascorrono l'inverno all'interno di un bozzolo, all'interno di una cella pedotrofica, sottoforma d'*imago* in diapausa fino al completo sviluppo immaginale (Batra, 1984). I nidi delle osmie sono ricavati nelle cavità dei muri, in vecchi gusci di Gasteropodi terrestri, in vecchi nidi di altri insetti, nel comparto cavo di canne, di parti di ramo o di steli ormai seccati (Linsley, 1958; Neff e Simpson, 1992) e in altri luoghi. La nidificazione, in ogni modo, avviene sempre in cavità preesistenti e con modo odale (con serie lineari ed ordinate di celle) e allocela (la femmina nidificante si appropria di una cavità senza contribuire alla sua formazione). Nel caso dell'*Osmia coerulescens* però la nidificazione può essere anodale, vale a dire di tipo indipendente. In primavera, generalmente nei mesi compresi tra febbraio e maggio, gli adulti fuoriescono dal bozzolo.

La fuoriuscita degli adulti dal bozzolo avviene in senso proterandrico, cioè i maschi tendono ad anticipare la fuoriuscita di circa una settimana rispetto alle femmine. Una volta, usciti i maschi (fig. 8), sempre restando in prossimità del sito di fuoriuscita vanno alla ricerca di un idonea risorsa trofica. Spesso al sopraggiungere della notte i maschi ritornano al nido di fuoriuscita, per ricoverarsi.



Fig. 8 – Maschi di *Osmia rufa* (L.): in prossimità del nido.

Questo comportamento gli permette d'essere presente al momento dell'uscita dal bozzolo delle femmine e quindi possono procedere immediatamente all'accoppiamento (Raw, 1972; Felicioli, 2000). L'accoppiamento può avvenire su di un fiore, sul terreno, nei pressi del nido, in ogni caso sempre su un substrato e mai in volo, come invece accade per l'ape regina delle api mellifiche (Felicioli e Pinzauti, 1994 a-b; Rossi *et al.*, 1996).

Con il termine accoppiamento (fig. 9) s'intende riferirsi all'intero periodo durante il quale il maschio rimane addossato alla femmina, mentre con il termine copula, s'intende l'atto sessuale vero e proprio, cioè l'introduzione dell'edeago del maschio nelle prime vie genitali femminili (Alcock, 1980).

Questa precisazione nasce dal fatto che il maschio delle osmie può compiere più copule in occasione di un singolo accoppiamento.



Fig. 9 – Maschio e femmina di *Osmia rufa* L. durante l'accoppiamento.

Le osmie traggono l'energia per le proprie attività vitali (volo, riproduzione, ecc.) dal nettare prodotto dai nettari fiorali e/o extrafiorali mentre per il rifornimento alimentare delle proprie celle pedotrofiche si avvalgono del polline prodotto dai diversi fiori, in particolare quelli delle Rosacee (Ricciarelli D'Albore Pinzauti, 1993), presenti nell'ambiente colonizzato (una femmina arriva a raccogliere fino a 6 g di polline durante la propria vita) (Felicioli e Pinzauti, 1994 b).

Occorrendo notevoli quantità di polline per lo sviluppo d'ogni singola larva (fino ad 1 cm³ per un numero di viaggi che va da cinque a trenta), le osmie tendono, dove sia possibile, a prediligere quei fiori caratterizzati dalla

produzione di grandi quantità di polline nell'unità di tempo, ne risulta quindi un comportamento di raccolta diffusamente di tipo poliletico (Ricciarelli D'Albore e Pinzauti, 1993).

Una volta fuoriuscite dal bozzolo, accoppiatesi o meno le femmine di osmia si mettono alla ricerca di una cavità idonea per la costruzione del nido (Bosch, 1994; Felicioli e Pinzauti, 1994). Tale comportamento si esplica attraverso un caratteristico volo ondeggiante davanti ad ogni cavità potenzialmente idonea alla nidificazione, associato a continue visite al suo interno. Il diametro ottimale dell'entrata alla cavità prescelta varia spesso in funzione della specie presa in considerazione (Rust, 1993a).

L'*Osmia cornuta* tende a prediligere diametri oscillanti da 8 a 12 millimetri, mentre *Osmia rufa* e *O. coeulescens* tendono a scegliere diametri variabili da 6 a 8 millimetri (Felicioli e Pinzauti, 1994) (fig. 10).

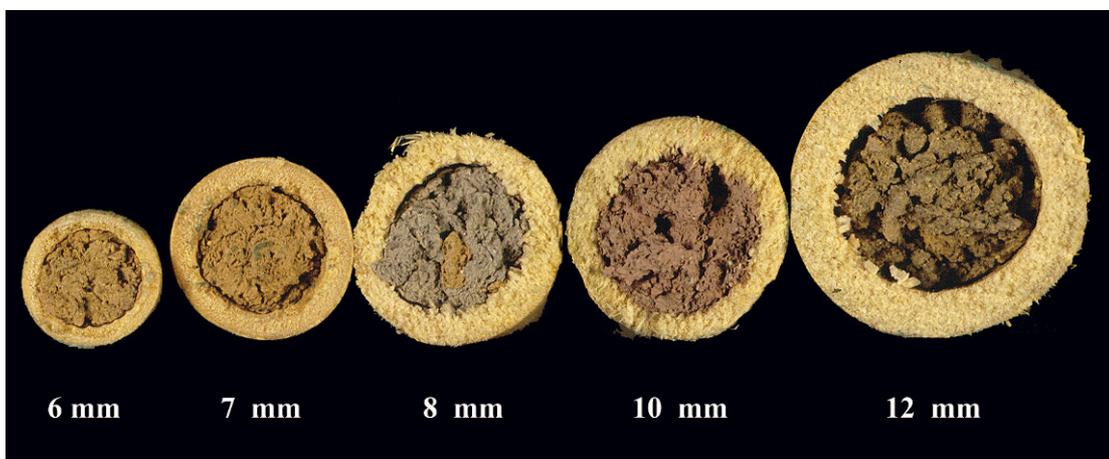


Fig. 10 – Segmenti di canna (*Arundo donax* L.) di diametro idoneo per la nidificazione di *O. rufa* (6/8mm) e *O. cornuta* (8/12mm).

Il nido d'osmia contiene, nella generalità dei casi, una serie lineare di celle pedotrofiche, costruite con un ritmo di una cella al giorno per circa un mese; non mancano però giorni in cui un osmia riesca a completare più celle in una sola giornata. Il completamento di una singola cella prevede la costruzione di un setto basale in fango addizionato con secrezioni

mandibolari (Heroin-Delauney, 1966; Tasei, 1973a) e la predisposizione di un ulteriore setto definito intercellulare che prende il nome di soglia. Nello spazio tra il setto basale e la soglia, è collocato il polline raccolto durante il foraggiamento (Parker e Tepedino, 1989).

La femmina di osmia una volta rientrata al nido con il nuovo carico, provvede a rigurgitare una piccola quantità di nettare elaborato che è mescolata al polline del viaggio precedente, e a pressare il tutto con il clipeo sul fondo della cella. A questo punto se il diametro del tunnel lo consente, essa si capovolge in modo da presentare l'addome carico verso la scorta di polline e con le zampe posteriori provvede a scaricare il polline. Se invece il diametro del tunnel risultasse piccolo la femmina di osmia guadagna l'apertura del nido a marcia indietro, esce, si gira e sempre retrocedendo torna verso la scorta pollinica per procedere allo scarico (Felicioli, 2000). Completato il rifornimento della cella, la femmina di osmia depone sopra il polline un uovo, leggermente ricurvo, di colore ialino, di circa 4 mm, affondato in parte nel polline in modo tale che una volta schiusa la larva si troverà immersa nel cibo con la parte posteriore del corpo. Deposito l'uovo, l'osmia termina la costruzione del setto intercellulare, per poter passare alla costruzione della successiva cella. Completato l'intero nido, sempre usando del fango, costruisce un tappo terminale più consistente dei precedenti. Terminatolo, costruisce altri nidi (Felicioli, 2000). Come nella maggior parte degli Imenotteri, anche le osmie sono partenogenetiche arrenotoche, vale a dire le femmine derivano da uova fecondate e i maschi, da quelle non fecondate.

Le femmine sono di solito, più grandi e all'interno del nido pedotrofico tendono ad occupare le posizioni più interne. Inoltre le celle delle femmine contengono più polline di quelle dei maschi. La schiusura delle uova avviene nell'arco di una settimana dall'ovodeposizione. Attraverso quattro

stadi larvali ed uno di pupa, l'osmia raggiunge lo stadio d'adulto nel periodo agosto-settembre (Tasei, 1973b; Rust *et al.*, 1989) entra in un periodo di diapausa che le consente di giungere, senza più alimentarsi, alla primavera successiva. In circa dieci giorni di tempo dalla schiusura dell'uovo, l'osmia compie i primi tre stadi larvali e dal decimo giorno in poi essa è già nel quarto stadio. E' proprio durante questa fase che si ha l'espulsione delle feci e dopo circa un mese, la tessitura del bozzolo per circa cinque giorni. Dopo circa sessanta-settanta giorni dalla schiusura, quando ormai le scorte sono esaurite ed il bozzolo è al termine, l'osmia si impupa per sfarfallare in immagine circa un mese dopo (Tasei, 1973a; Rust *et al.*, 1989a). L'*Osmia rufa* (L.) trascorre la diapausa sottoforma di imago ed è capace di tollerare anche temperature inferiori ai 20 °C sotto lo zero. Al contrario la mancata esposizione dei bozzoli a temperature che non superano i 15°C è causa di una mortalità superiore al 75% degli individui (Felicoli, 1995).

La disposizione lineare delle celle dentro il nido pedotrofico (fig. 11) obbliga gli insetti contenuti nei rispettivi bozzoli ad uscire in senso inverso all'ovodeposizione; in pratica le più giovani devono uscire prima delle osmie più anziane (Pinzauti e Lepore, 1992).



Fig. 11 – *Osmia rufa* (L.): sezione di nido canna con massarelle polliniche, uova e bozzoli sericei

Considerando, che la disposizione dei bozzoli all'interno del nido vede le femmine occupare le parti più profonde del nido ed i maschi quelle più vicine all'apertura, il problema è facilitato data la spiccata proterandria che permette ai maschi di fuoriuscire prima delle femmine. Il periodo di volo delle osmie in primavera generalmente non supera il mese e mezzo (Felicioli, 2000). La relativa facilità con la quale si possono indurre le osmie a nidificare in nidi predefiniti e il forte gregaismo di nidificazione stanno alla base del loro allevamento e nell'utilizzo di questi insetti nell'impollinazione controllata.

Particolare successo è stato riscontrato, nell'impollinazione di piante in pieno campo (Accorti, 1988) specialmente per frutteti in fioritura precoce (Lepore e Pinzauti, 1994) quali il mandorlo e il susino cino-giapponese (Balana *et al.*, 1983; Asensio, 1984; Torchio e Asensio, 1985; Krunic *et al.*, 1989).

1.3.3 Rilascio e allevamento delle osmie

I Megachilidi, in generale, possono essere divisi in tre gruppi in base alla modalità di nidificazione: gli scavatori, i muratori e coloro che, invece abitano locazioni precostituite (Felicioli, 2000).

Tutti quei generi che appartengono a quest'ultima categoria, tra cui rientrano anche gli insetti del genere *Osmia* hanno come principale fattore limitante le proprie popolazioni, la disponibilità di cavità idonee alla costruzione del nido (Raw, 1992). E' per questo motivo che tali insetti tendono a colonizzare anche strutture artificiali poste nelle loro aree di azione; pertanto la relativa facilità con la quale si può indurre le osmie a nidificare in nidi predisposti ad arte e il forte gregaismo di nidificazione, stanno alla base della gestione e moltiplicazione di questi insetti nell'impollinazione controllata (Accorti, 1988).

Nell'ultimo secolo, molti studi sono stati compiuti su Apoidei solitari grazie alla tecnica del trappolaggio (nest-trapping), con nidi artificiali (Krombein, 1967, Free e Williams, 1970; Felicioli, Pinzauti, 1994a).

Il nido trappola artificiale (NTA), consiste nell'affastellamento di un certo numero di segmenti di canne (*Arundo donax* o *Phragmites australis*) legate insieme in un fascio e appese su qualunque supporto. Possono essere utilizzati anche semplici blocchi di legno di vario tipo ove sono stati praticati preventivamente fori per una profondità di 15 cm.

I nidi artificiali vanno collocati a circa 1.5-2 m d'altezza con i tunnels in posizione orizzontale. La dislocazione dei nidi, deve essere condotta a fine inverno-inizio primavera, essi rimangono poi in loco fino all'autunno successivo. In questo modo possono essere indotte alla nidificazione le osmie presenti durante la primavera precoce, quella tardiva, oppure durante l'estate fino alla fine di settembre (Williams, 1972).

I nidi artificiali, una volta colonizzati possono essere rimossi, aperti e il loro contenuto analizzato. Le osmie all'interno del loro bozzolo (se il loro ciclo preimmaginale è giunto al termine) possono essere a loro volta raccolte divise per specie e riunite in appositi contenitori, per poi essere liberate nella primavera successiva.

L'operazione centrale per l'allevamento o meglio "Releasing and rearing", sta nel collocare un certo numero di bozzoli pronti alla fuoriuscita degli insetti presso delle centraline (Pinzauti, 1991). La centralina è composta da una struttura protettiva ove al proprio interno si trovano i nidi artificiali. Tali strutture possono essere mobili o fisse. Il tempo ed il luogo di posizionamento delle centraline in pieno campo sono in funzione della specie del genere *Osmia* che si vuole moltiplicare (Torchio, 1985; Pinzauti, 1991). Ai fini di una buona produzione, è importante scegliere luoghi caratterizzati da una notevole risorsa trofica (Maeta, 1987; Marquez *et al.*, 1984). I bozzoli, provenienti da operazioni di nest-trapping, vengono sottoposti ad una più o meno prolungata esposizione a basse temperature (basse temperature si intendono quelle comprese fra 0°C e 10°C). Normalmente la temperatura di 4°C è sufficiente a garantire un'ottima sopravvivenza alla diapausa e buon vigore delle popolazioni d'*Osmie* impiegate. L'integrazione tra la lunghezza e la temperatura d'esposizione consente di modulare e anche di sincronizzare l'intervallo della fuoriuscita dal bozzolo dell'insetto con l'epoca delle fioriture.

Tale meccanismo consente di predisporre un numero di rilasci molteplici nel tempo in un singolo luogo oppure un singolo rilascio in più luoghi. L'intervallo regolare per il rilascio degli insetti, quindi, varia in funzione della combinazione tempo-temperatura d'esposizione e della specie di *Osmia* presa in considerazione.

Nel caso dell'*Osmia rufa* (L.) è importante non tardare oltre il primo di

dicembre ad esporre i bozzoli a bassa temperatura, come pure non collocare i bozzoli nell'ambiente oltre un periodo successivo al quindici di maggio (Felicioli, 1994).

Ai fini di una buona riuscita nella moltiplicazione delle osmie bisogna sempre tenere conto del rapporto “femmine/maschi” della popolazione presa in considerazione (sex-ratio) e del numero dei tunnels disponibili per la nidificazione. Una buona regola è quella di predisporre almeno quattro tunnels di diametro idoneo per femmina rilasciata (Felicioli, 2000).

A stagione di nidificazione terminata (settembre) i nidi artificiali vengono rimossi, aperti e i bozzoli, in essi contenuti una volta selezionati da eventuali parassiti, vengono immagazzinati a temperatura ambiente fino al periodo dell'introduzione in cella termostatica. La selezione dei bozzoli durante l'apertura dei nidi è un'operazione sicuramente laboriosa e dispendiosa nei tempi ma indispensabile per un proficuo contenimento di alcuni dei più dannosi parassiti che limitano le popolazioni di *Osmia*. Sia la selezione dei bozzoli che eventualmente una precedente ispezione dei nidi (NTA) possono, rappresentare un mezzo di lotta fisico contro le avversità biotiche nell'allevamento delle osmie.

La presenza, infatti, di parassiti e parassitoidi principalmente, è una delle problematiche, più incidenti nella gestione della tecnica del “releasing and rearing”.

I cleptoparassiti sono sostanzialmente artropodi che si cibano delle provviste alimentari della larva ospite. Particolarmente diffuso e pericoloso per il genere *Osmia* risulta essere il Dittero Drosofilide *Cacoxenus indagator* Loew. (Krunic *et al.*, 1991). Questa mosca misura circa 2-3 mm di lunghezza e trascorre il suo stadio larvale nei nidi pedotrofici delle osmie e di altri Apoidei. Le larve di questo dittero, poco prima dell'impupamento, riescono a migrare dalle varie cellette più interne fino al vestibolo del

tunnel, forando i setti separatori grazie agli uncini del loro apparato boccale. Tali larve preparano poi la fuoriuscita dell'adulto forando anche il setto di fango sigillante il tunnel (Juillard, 1948). Una volta, raggiunto il vestibolo, le larve si impupano e sfarfallano in concomitanza della fuoriuscita delle osmie dal nido. La parassitizzazione da parte della femmina di questo dittero avviene durante la nidificazione, nelle celle non ancora sigillate, con la deposizione ripetuta di uova direttamente sulla provvista di polline dell'osmia mentre questa è assente per foraggiamento (Juillard, 1948; Coutin e Desmier de Chenon, 1983). Lo sviluppo delle larve di *Cacoxenus indagator*, il cui numero per ogni singola cella parassitizzata può variare da uno a dieci, è molto rapido ed avviene essenzialmente a spese della scorta di polline, cosa che determina l'impovertimento o addirittura la scomparsa delle provviste alimentari necessarie al normale sviluppo del suo ospite, il quale pertanto il più delle volte soccombe. La convivenza tra le larve di osmia e le larve del dittero fino all'età adulta di entrambi è possibile raramente e solo qualora la presenza di larve del dittero non superi i due o tre individui, ed anche in questo caso se la larva dell'ospite sopravvive, gli esemplari adulti che ne risultano sono di taglia particolarmente ridotta (Juillard, 1948; Raw, 1972). Nei nidi pedotrofici le cellette parassitizzate da quest'ectoparassita, si riconoscono per la presenza di lunghi e fini filamenti color giallo-brunastro, intrecciati tra loro, appiccicosi e in mezzo ai quali, si trovano ammassate le larvette. Il modo più efficace per combattere quest'ectoparassita, come già detto, è quello di ricorrere all'ispezione dei tunnels praticando una selezione dei bozzoli delle osmie dalle larve della mosca. E' un mezzo che richiede tempo ma utile per non far proliferare un agente così dannoso, che nella maggior parte dei casi, porta a morte più della metà dei bozzoli presenti in un tunnel. Altra precauzione che si può prendere per limitare i

danni, soprattutto su *Osmia cornuta* (Latr.) è quella di anticipare il rilascio degli agenti impollinatori a fine febbraio, inizio marzo in modo da disincronizzare l'attività ovodepositrice del megachilide da quella del dittero che invece risulta essere particolarmente dannoso a fine marzo. Tra gli artropodi cleptoparassiti deve essere menzionato anche l'acaro Tiroglifide *Chaetodactylus osmiae* Duf., causa di notevoli perdite nelle popolazioni dei due pronubi. Esso si diffonde mediante foresia, ossia facendosi trasportare aggrappato alla peluria dell'osmia adulta (Fain, 1966; Raw, 1972). Giunto al nido dell'osmia, l'acaro si ciba del polline per il sostentamento della propria larva. L'incidenza di parassitizzazione da parte di quest'acaro tende ad aumentare d'anno in anno all'interno dei nidi artificiali se non sono rinnovati almeno ogni due anni.

L'acaro una volta insediatosi sulla scorta alimentare e dopo essersene cibato, sverna come deutoninfa, immobile fino al momento della fuoriuscita dai bozzoli delle osmie, a quel punto il parassita è pronto per essere trasportato dalle nuove osmie.

La vita per le osmie non è più facile, quando si considerano i parassitoidi. I parassitoidi del genere *Osmia*, sono insetti che si comportano da agenti dannosi solo nel loro stadio larvale, mentre da adulti conducono vita libera (fig. 12).



Fig. 12 - *Chaetodactylus osmiae* Duf.

Particolarmente frequente e dannoso è l'Imenottero Torimide *Monodontomerus obscurus* West. (fig. 13). Questo è un parassitoide dello stadio pre-immaginale delle osmie. Nella tarda primavera-inizio estate, quando l'ospite ha oramai costruito il bozzolo, l'Ime-



Fig. 13 - *Monodontomerus obscurus* West.

nottero Torimide, mediante il lungo ovodepositore di cui sono dotate le femmine, inietta numerose uova all'interno del bozzolo stesso dove l'ospite una volta raggiunto lo stadio di pupa viene attaccato (Eves, 1970; Raw, 1972; Holm, 1973). Le larve del parassitoide che si sviluppano a spese dell'ospite, sono generalmente una ventina.

Recentemente, notevoli perdite alle popolazioni di osmie allevate, sono state causate dal Dittero Bombolide *Anthrax anthrax* Schrank. (fig. 14).

La larva di questo dittero, il planidio, arriva ai tunnel infiltrandosi tra le uova e le scorte polliniche prima che la femmina di osmia riesca a chiudere il nido. Una volta nella cella, il planidio è capace di non alimentarsi per molto tempo in attesa che l'ospite raggiunga lo stadio idoneo per essere parassitizzato.



Fig. 14 - *Anthrax anthrax* Schrank. Adulto nei pressi di un potenziale nido di osmia.

L'attacco vero e proprio avviene, quando l'ospite ha raggiunto lo stadio di larva matura ed ha già tessuto il bozzolo. Questa mosca risulta essere diffusa in molti degli ecosistemi toscani (Feliccioli e Pinzauti, 1998).

E' diretto in quanto ciascuna cella parassitizzata è un osmia in meno, indiretto in quanto questo dittero mostra una certa predilezione a parassitizzare le celle pedotrofiche poste in profondità nei tunnel, causando così la morte principalmente delle femmine e spostando quindi la “*sex-ratio*” in modo drammatico verso i maschi. La mortalità delle osmie, dovuta ad *Anthrax anthrax* può raggiungere in certi anni anche il 95% (Felicioli, 2000).

1.3.4 L'impiego delle osmie nel servizio d'impollinazione

L'allevamento e l'impiego delle osmie nel servizio d'impollinazione delle piante da frutto è pratica oramai nota da tempo in Italia (Pinzauti, 1991 a,b; Krunic *et al.*, 1995; Pinzauti e Rondinini, 1991; Felicioli, 2000; Cenori *et al.*, 2004). Ovviamente le fioriture precoci, quali mandorlo, albicocco, melo, susino cino-giapponese, ciliegio, ecc. presentano, com'è noto, i fiori prima delle foglie: peculiarità questa che favorisce notevolmente l'attività pronuba svolta dagli insetti facilitando non poco il loro orientamento sul territorio.

Inoltre, sempre a loro vantaggio, le fioriture precoci hanno nell'ambiente poche fioriture competitive (essenzialmente fiori di poche piante spontanee) che se adeguatamente sfalciate non distolgono quasi per niente le api dall'effettuare il servizio di impollinazione. Viceversa alla fine di maggio inizio di giugno, molte sono le piante in fioritura e tutte molto competitive per le osmie rispetto ai fiori del kiwi. Le tre specie d'*Osmia* allevate presso l'Università di Pisa sono l'*O. cornuta* Latr., *Osmia rufa* L. e l'*Osmia coerulescens* (Felicioli, 2000): la prima sostanzialmente precoce (febbraio-marzo), la seconda mediana (fine marzo) e la terza tardiva (aprile- maggio).

La gestione di queste tre specie d'api solitarie, nella pratica del servizio d'impollinazione, è relativamente semplice (Pinzauti, 1991a; 1992-93, 1996, 2000 b; Pinzauti ed altri, 1996; Lepore e Pinzauti, 1994; Felicioli e Pinzauti, 2000; Pinzauti e Felicioli, 2002; Cenori ed altri, 2004; Rondinini *et al.*, 2000; Santini *et al.*, 2000) e consente di utilizzarle in qualsiasi periodo dell'anno andando a regolare la lunghezza della diapausa (Felicioli, 2000). Infatti, ogni femmina fertile raccoglie polline sui fiori per oltre un mese in modo da giungere a deporre 30-35 uova. Dalle uova sgusceranno le larvette che attraverso 5 stadi pre-immaginali raggiungono la forma adulta e come immagine, entrano in diapausa. Questa fase di riposo invernale, lunga in natura circa 150 giorni, è gestita completamente attraverso la camera fredda (distribuendo più o meno freddo). Con tale programmazione è possibile predeterminare, al giorno, già dal mese di novembre, la fuoriuscita degli insetti dal bozzolo nell'anno successivo, in relazione alle necessità d'impollinazione che si vorranno adottare.

Le strutture usate per allevare le osmie sono delle “centraline d'impollinazione” in cui queste api solitarie tendono a nidificare in forma gregaria (Felicioli e Pinzauti, 1994a).

Queste centraline sono disposte in modo randomizzato (a non più di 300 m l'una dall'altra), e sono formate da una struttura di legno in grado di ospitare e proteggere i nidi. Questi nidi artificiali sono realizzati o con canne d'*Arundo donax* o *Phragmites australis* o in faesite (elementi lavorati alla fresa e assemblati) (Felicioli e Pinzauti, 1994 b). Di norma l'attività pronuba delle osmie è garantita per circa 100 giorni, iniziando a volare naturalmente i primi di febbraio, con la fuoriuscita dell'*O. cornuta* (Latr.) dai nidi dell'anno precedente e proseguendo con il rilascio programmato dei bozzoli della stessa specie a metà marzo.

1.4 Il kiwi (*Actinidia deliciosa* A. Chev.)

1.4.1 Origine, cenni storici, diffusione e caratteristiche

Actinidia spp., fu scoperta da Robert Fortune nel 1847 in Cina, durante uno dei suoi viaggi per conto della Royal Horticultural Society (Porcelli, 1973). La pianta è originaria della valle dello Yong-Tze nella Cina meridionale.

In Gran Bretagna fu introdotta nel 1900, in Francia nel 1903 e in Italia è citata nel catalogo del Giardino Allegra di Catania nel 1934, ma l'interesse per la sua coltivazione è recente. I primi impianti consistenti, infatti, risalgono al 1968/69 nel centro e nord dell'Italia. Nel 1906, alcuni semi furono introdotti dalla Cina in Nuova Zelanda da James McGregor. Le piante nate da questi semi diedero i primi frutti nel 1910 e tutte le cultivar oggi conosciute derivano da questo nucleo di semenzali ottenuti dai semi importati da McGregor. Fino al 1940, anno in cui fu messa in coltura, anche in Nuova Zelanda questa specie fu praticamente trascurata. L'interesse per questa pianta fruttifera si ebbe solo, quando furono costruiti i primi impianti commerciali nella zona di Te-Puke, nella Baia di Plenty sulla costa orientale della Zelanda del nord. In tutti gli altri paesi l'interesse per l' *Actinidia deliciosa* è arrivato sull'onda del successo neozelandese (Youssef e Bergamini, 1989). Oggi, a livello internazionale il mercato è dominato dall'Italia, seguono la Nuova Zelanda, Cile e la Francia.

In Italia, la produzione totale si aggira sui 500.000 tonnellate, con una media di 150 q/ha. In Italia il kiwi è coltivato su una superficie di circa 26,700 ettari distribuiti su 1794 impianti. Gran parte della produzione è destinata al mercato estero (CSO, 2007). L'Italia risulta essere quindi il primo produttore mondiale di frutti di kiwi (fig. 15).

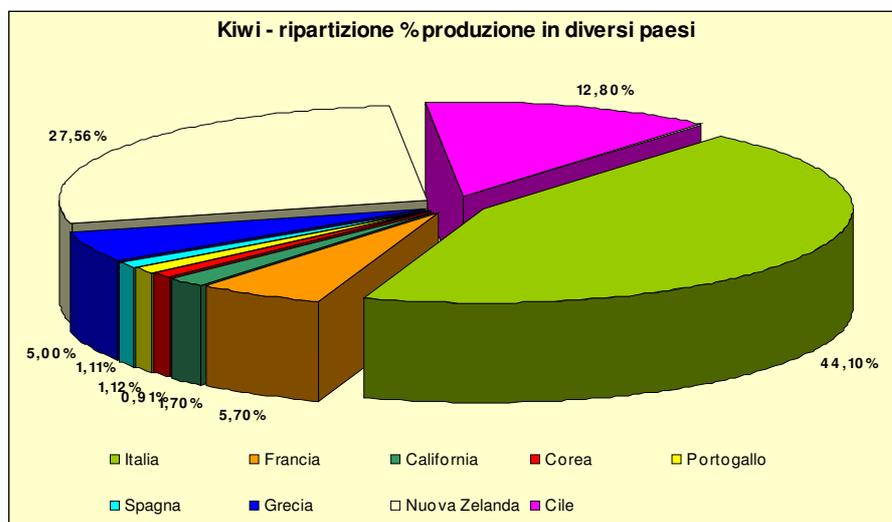


Fig. 15 – Ripartizione percentuale produzione kiwi nel mondo

In Italia gli impianti (fig. 16) sono distribuiti per il 31% nel Lazio, per il 21% in Piemonte, per il 15% in Emilia Romagna, per il 13% in Veneto e per il restante 20% nelle altre regioni (Trentino Alto Adige, Calabria) (CSO, 2007).

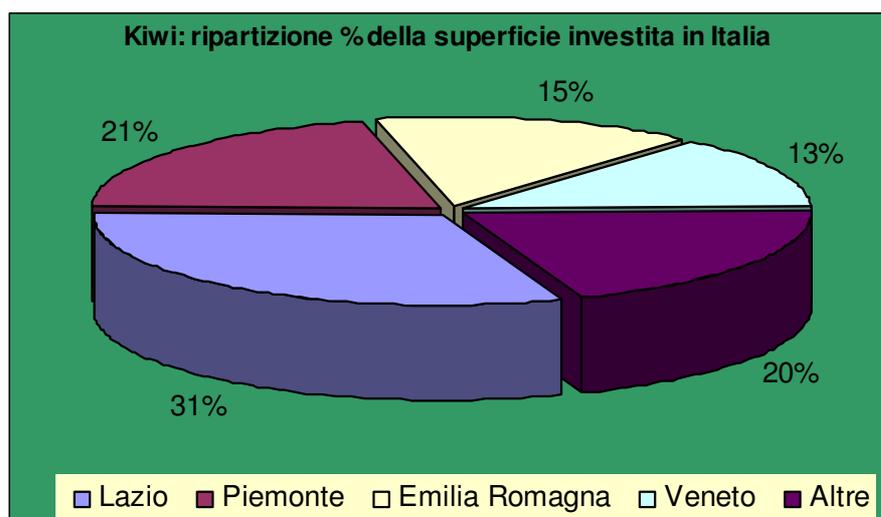


Fig. 16 - kiwi: ripartizione % della superficie investita nelle diverse regioni

1.4.2 *Classificazione botanica*

Il genere *Actinidia* fa parte della famiglia delle Actinidiaceae, arbusti rampicanti e stellati, senza stipole. I fiori riuniti in cime o fascetti ascellari, sono ermafroditi, poligami o dioici, pentameri a simmetria radiata costituiti da cinque petali, cinque sepali, dieci stami o più, l'ovario è supero e contiene numerosi ovuli anatropi, gli stili sono cinque o più. Il frutto è una bacca o una capsula con numerosi semi, senza arillo, con grande embrione e molto endosperma. Nel genere *Actinidia* esistono 36 specie suddivise in 4 sezioni: *Strigosae*, *Laiocarpae*, *Maculatae*, *Stellatae* e in quest'ultima sezione è compresa l'*Actinidia deliciosa* Chev.. Questa specie è conosciuta con nomi volgari quali Yang-Tao, Goosberry, Kiwi. Il nome "*Actinidia*" è derivato dal greco Aktis (raggio) in riferimento alle numerose divisioni radiali dello stilo, piuttosto permanenti dal principio alla fine dell'accrescimento del frutto (Porcelli, 1973). La pianta è tomentosa con foglie pelose sulla pagina inferiore, tomentosità dovuta a peli stellari. Le foglie sono ampie, giungendo fino a 30 cm di diametro, cuoriformi e coriacee. La pianta è dioica, anche se i fiori sono apparentemente ermafroditi; infatti, nelle piante maschili l'ovario è sterile e nelle piante pistillari lo è il polline. I fiori color bianco crema, piuttosto grandi sono raggruppati in infiorescenze, di un massimo di sette fiori inserite all'ascella delle prime sette/otto foglie del germoglio dell'anno. I frutti del kiwi sono bacche ellissoidali e il loro peso varia da 30 grammi nelle cultivar Monty a 120/150 grammi nella Hayward, se diradati (Palmer e Clinch, 1974). L'epidermide di colore dal bruno al nocciola è coperta di peluria fine e corta. La polpa dei frutti, succosa, molle zuccherina, acidula, è color verde smeraldo, porta intorno alla columella centrale. Il picciolo del frutto è lungo 3-7 cm di color bruno. I semi, ellissoidali e piatti, sono nerastri, situati su due file, concentricamente attorno alla columella e il loro numero

varia da poche centinaia ad oltre il migliaio (Palmer e Clinch, 1974). Le radici sono carnose, grosse e rampicanti; è stato osservato che l'attività, la conformazione e lo sviluppo dell'apparato radicale sono influenzati dai fattori climatici e podologici (Youssef *et al*, 1983). Il tronco negli alberi adulti può raggiungere dimensioni notevoli (anche 20 cm di diametro in piante di 30-40 anni) ed è di color tendente al grigio-ferro. Nei primi anni si hanno facilmente diversi germogli e poi rami, che si sviluppano dalla zona del colletto, questi hanno bisogno di un tutore, essendo il kiwi una pianta sormontosa, se si abbandona a se stessa tende a mantenere un aspetto arbustivo. I germogli si accrescono rapidamente e possono arrivare a 8 metri di lunghezza in un anno. I giovani germogli sono erbacei, pelosi, verdastri (Youssef e Bergamini, 1980). I rami sono di due tipi: rami vegetativi e rami misti con fiori, possono esistere però anche rami vegetativi con gemme miste e rametti corti (che in genere portano gemme miste) con tutte gemme a legno. I rami di un anno sono di color marrone-olivastro ed hanno internodi lunghi da 4-5 cm a 15-20 cm in relazione alla vigoria della pianta. In genere gli internodi sono più lunghi nei succhioni.

1.4.3 Ciclo vegetativo e produttivo

La messa a frutto in ogni modo avviene dopo cinque sei anni se le piante sono propagate per seme, se derivano da innesto o da talea i fiori compaiono al terzo anno. Le gemme sono a legno o miste, queste ultime contengono un ramo preformato con mazzetti di fiori all'interno. Le gemme, si trovano all'ascella delle foglie e a livello dei nodi, sono presenti anche sottogemme coperte da foglioline stipolati (Bergamini e Youssef, 1980). Il meristema di una gemma a legno dovrebbe dare un numero predeterminato di foglie e nodi variabili da un minimo di nove a un massimo di 19/22 strutture fogliari.

La differenziazione delle gemme (fig. 17) inizia nei giorni precedenti il germogliamento e si completa nel corso di esso (Brundell, 1975; Zuccherelli, 1981).



Fig. 17 – Kiwi: gemma in differenti stadi del germogliamento.

Lo stato dell'«Orceolo» (Testolin e Messina, 1983), in corrispondenza del quale si stabilisce convenzionalmente iniziato il processo, è stato osservato 35 giorni prima della schiusura delle gemme e la differenziazione degli organi fiorali, dei sepali, dei petali è stata riscontrata in corrispondenza del rigonfiamento delle gemme 4 giorni prima del germogliamento (Brundell, 1975). La differenziazione dei fiori poco prima del germogliamento risulta un comportamento atipico per una pianta da frutto a foglia caduca, che trova riscontro in condizioni eccezionali nella vita. Riguardo all'induzione essa avverrebbe invece circa due mesi prima della caduta delle foglie quindi, nei nostri climi in autunno (Brundell, 1976). In ogni caso l'induzione avviene ai primi d'ottobre per le piante femminili e ai primi di novembre per le piante maschili.

In gennaio-febbraio, quasi tutte le gemme sono differenziate, alla fine di marzo i fiori sono completi. Infatti, il germogliamento, preceduto dal “pianto” piuttosto copioso in questa specie, avviene nel nord dell'Italia circa nella seconda metà del mese di marzo. Sul germogliamento

influiscono vari fattori tra cui molto importanti è la temperatura media dell'aria; lo zero vegetativo del kiwi è intorno agli 8 gradi. Tra gli altri fattori influenti sul germogliamento vi sono: la latitudine, le cultivar, il vigore, il freddo invernale e la potatura; la non potatura può provocare il mancato germogliamento di un certo numero di gemme che restano latenti (nella cultivar Hayward anche il 50%). Tali gemme, potranno servire nel caso di gelate tardive. In questo frangente, le gemme latenti rimaste garantirebbero la sopravvivenza delle piante. I germogli crescono molto rapidamente, e si dividono in germogli fioriferi e vegetativi; questi ultimi derivano da gemme basali di rami che hanno fruttificato o fiorito l'anno precedente (a seconda che siano piante femminili o maschili) o da gemme pronte (dette femminelle). I germogli fioriferi derivano da gemme miste. La fioritura avviene al Nord nella seconda metà di maggio e dura circa 10 giorni. Il kiwi presenta fioritura scalare più accentuata nelle piante maschili. Essendo una pianta dioica occorrono piante maschili e femminili (pistillari) e il polline, deve essere trasportato sui fiori pistillari per avere l'impollinazione, che avviene copiosamente quasi esclusivamente per opera dei pronubi (Pinzauti, 1991). Per l'impollinazione anemofila esiste la difficoltà di disseccamento durante il trasporto del polline e conseguente perdita di germinabilità. Quindi è necessario disporre di 3 o 4 alveari per ha alla fioritura. Importante ai fini della tecnica colturale è sapere il rapporto piante femminili /piante maschili che varia con la forma d'allevamento, ma nel 85% dei casi è di otto a uno (Pinzauti, 1992).

Inoltre si ha uno sfruttamento degli impollinatori tanto migliori, quanto più questi sono equidistanti tra loro. Infatti, nelle forme di allevamento a parete fruttificante (per esempio nella contropalliera) i pronubi hanno difficoltà ad attraversare i filari. Dopo l'allegazione non avviene colatura fisiologica e la fecondazione degli organi femminili è determinante per la pezzatura. Il

frutto si sviluppa in tutta l'estate e matura in autunno dopo 21-23 settimane dalla fecondazione, cioè, quando raggiunge la pezzatura e il grado zuccherino finale e i semi si distaccano dalla polpa.



Riposo invernale



Ingrossamento gemme



Schiusura gemme



Accrescimento germogli



Bottoni fiorali



Fioritura



Allegagione



Ingrossamento frutto



Invaitura



Maturazione

1.4.4 *Biologia florale*

Il kiwi, come la maggior parte delle specie appartenenti al genere *Actinidia*, è una pianta funzionalmente dioica. Si hanno piante femminili portanti fiori femminili (pistillifere) e piante maschili (staminifere) portanti soli fiori maschili. Il fiore del kiwi è actinomorfo e ipogino qualche volta, tetrametro, ma di solito pentamero (Li, 1952); nelle cultivar femminili in genere ha un diametro che va da 5 fino a 7 cm. Il peduncolo florale è lungo da 5 a 7 cm. (Ferguson, 1984). I sepali (generalmente 5 ma possono qualche volta essere anche 3 o 4 oppure di più) sono ricoperti da un tomento bruno e sono fusi solo alla base. Dopo l'impollinazione non cadono subito, ma hanno uno sviluppo molto limitato. La corolla è a forma di tazza con cinque petali (fig. 18). Questi hanno una lunghezza e una larghezza doppia rispetto ai sepali e sono alternati con essi.



Fig. 18 – Kiwi (*Actinidia deliciosa*): sezione di fiore maschile.

La forma dei petali va dalla rotonda all'ellittica, con la punta sempre arrotondata e con la presenza, sulla base di una piccola unghia che può avere un colore che va dal verde al rosa in funzione della cultivar. I petali sono glabri e fini, di colore bianco all'apertura che diviene giallo sporco con il passare del tempo. Sia nei fiori delle cultivar staminifere che in quelle pistillifere, ci sono sempre stami ipogini e liberi che sono disposti secondo una spirale che diverge dal ricettacolo (Li, 1952; Schmid, 1978). Ogni fiore maschile libera circa 2.000.000 di granuli pollinici, la cui germinabilità è intorno all'80-90% (Blancllet e Guirbal, 1984). La più ovvia differenza tra fiori pistilliferi e staminiferi è nello sviluppo del gineceo. Nei pistilliferi la parte più bassa dei numerosi carpelli si fonde e forma un ovario supero e sincarpo. Nei fiori staminiferi il gineceo è considerevolmente piccolo e non sviluppa ovuli. Gli stili sono generalmente piccoli e rudimentali, hanno un canale stilare cavo e mancano di stigmi. Sia i fiori pistilliferi che quelli staminiferi emanano un distinto profumo che non è molto forte, ma non secernano nettare (Schid, 1978). Per avere una buona produzione, con frutti d'adeguate dimensioni è necessaria un'elevata impollinazione (Chinch, 1981, Hopping, 1980; Ferguson, 1984) e effettuare un adeguato diradamento (Pinzauti, 1989). Vi è infatti, una forte correlazione tra il numero dei semi e le dimensioni del frutto (Hopping, 1976; Costa e Ryugo, 1978), ed un frutto per avere dimensioni commerciali deve contenere più di 1000 semi (Hopping, 1976). La causa più comune della produzione di frutti piccoli e non commerciabili è un'inadeguata impollinazione (Ferguson, 1984). Nel kiwi l'impollinazione efficiente dal punto di vista economico è fondamentalmente entomofila.

Infatti, si è visto che, se si impedisce agli insetti di raggiungere i fiori si ha una riduzione delle dimensioni dei frutti, ed in alcuni casi una diminuzione dell'allegagione (Palmer-Jones, 1974; Hopping, 1976; Marletto, 1980; Pinzauti, 1988). I frutti che provengono dalle zone d'ombra o esposte al vento del frutteto, dove l'attività dei pronubi è ridotta sono spesso più piccoli (Hopping e Ierran, 1980). Le piante che si trovano vicino agli impollinatori hanno frutti più larghi e contenenti più semi rispetto ai frutti di piante più distanti (Clinch, 1981, 1982). Per comprendere l'importanza dell'impollinazione entomofila si deve ricordare che per avere un frutto con almeno 1000-1200 semi, che sono quelli necessari per raggiungere una dimensione commerciale è necessario che arrivino sullo stigma di un fiore femminile non meno di 2000-3000 granuli pollinici provenienti da piante maschili (Hopping, 1976). La struttura generale del fiore del kiwi (largo, con le diverse parti fiorali ben in vista, profumato e con le antere di un giallo brillante) è quella tipicamente preferita dagli insetti impollinatori (McGregor, 1976; Schmid, 1978). In realtà questo fiore non è molto attrattivo: non produce nettare ed il polline tende ad agglutinarsi in masse piuttosto secche che vengono ad esempio trasportate con difficoltà dai pronubi (Sale, 1978). Il polline di kiwi è più attrattivo per gli insetti il mattino, quando vi è la rugiada e dopo una pioggia, in ogni caso quando vi è un'alta umidità (Clinch e Palmer-Jones, 1974; Palmer e Clinch, 1974, 1975). Sembra, anche che gli insetti siano confusi dal polline non vitale e poco attrattivo prodotto dai fiori pistilliferi (Schmid, 1978). A questo proposito può essere significativo che gli insetti visitano maggiormente le piante staminifere rispetto a quelle pistillifere (Palmer-Jones e Clinch, 1974; Marletto, 1980). I fiori pistilliferi possono essere impollinati ed allegare il frutto fino al 7°-9° giorno dalla loro apertura (Sale, 1983;

Stevens e Forsyth, 1982). Questo è vero anche se dopo 2 o 3 giorni i petali e gli stami divengono marroni ed iniziano ad appassire.

Sebbene tali fiori possono essere ugualmente visitati dagli insetti essi sono sicuramente poco attrattivi e la loro recettività non ha un grande significato per l'impollinazione tipicamente entomofila. Il ruolo degli insetti impollinatori è fondamentale specialmente immediatamente dopo che il fiore si è aperto, in seguito, quando sono caduti i petali, può avere una certa importanza il trasporto del polline da parte del vento (Mac Farlane, 1981). In condizioni adatte una larga quantità di polline può essere trasportata dal vento. Dopo che il fiore è stato impollinato gli stigmi, generalmente divengono di colore marrone ed appassiscono; invece se non vi è stata impollinazione il fiore rimane bianco e gli stigmi non cambiano (Stevens e Forsyth, 1982). Le piante staminifere producono polline vitale soltanto per 2 o 3 giorni dalla loro apertura (Sale, 1981). Sui fiori di kiwi sono stati trovati molti insetti diversi; in Nuova Zelanda, è stata accertata la presenza su questi fiori di ben 150 specie diverse di insetti, di questi i più importanti per l'impollinazione sono le api, i bombi, le osmie e alcune specie di *Leioproctus* (Mc Farlane, 1981). In ogni modo in Italia si ritiene che possono avere un ruolo importante nell'impollinazione anche alcuni Ditteri (Marletto, 1980). Le varie cultivar di kiwi, sia pistillifere che staminifere, hanno durata e periodi di fioritura diversi (Brundele, 1975). Considerando che i fiori femminili divengono meno attrattivi per gli insetti dopo solo 2 giorni dall'apertura, e che il polline prodotto dai fiori maschili è vitale per un ugual periodo di tempo, si capisce come fu necessario, per avere un'adeguata impollinazione, un periodo di fioritura coincidente nei due sessi. Questo fa capire quanto sia importante per la coltivazione del kiwi la posizione e il numero delle piante maschili e femminili.

Appare senza dubbio utile la rimozione dei fiori di altre specie particolarmente attrattive presenti come infestanti o consociate nell'actinidieta e l'introduzione di apiari non appena è iniziata la fioritura ed eventualmente un'impollinazione artificiale.

1.4.5 Struttura del frutto

I frutti di kiwi hanno forma che in sezione longitudinale varia dalla cilindrica all'ellissoidale fino ad arrivare all'ovata ed in sezione trasversale passa dalla rotonda all'ellittica. La buccia, è ricoperta con peli, la polpa è mediamente succosa, profumata, acidula o zuccherina; nella parte centrale di color bianco crema con molte file di semi marroni-neri e nella maggior parte del suo volume verde paglierino brillante o traslucido. I sepli sono persistenti durante l'accrescimento del frutto, aumentano il loro contenuto in tannini ed eventualmente disseccano (Schmid, 1978). Anche, le vestigie disseccate degli stili sono persistenti fino alla raccolta. Sulla superficie del frutto ci possono essere due tipi di peli. Uno è costituito da peli multiseriati, rigidi, di colore marrone ruggine che possono superare i 3 mm di lunghezza. L'altro tipo è costituito da peli uniseriati, corti, di morfologia irregolare (Schmid, 1978). Il frutto, che di solito troviamo in commercio è quello della cultivar "Hayward", che da sola fornisce oltre il 90% della produzione totale di kiwi. Esso è generalmente piuttosto grosso sopra i 100 g di forma ellissoidale-ovata (fig. 19) in sezione longitudinale, ellittica in sezione trasversale. La buccia è di colore bruno con fondo verde-grigio, ricoperta da pochi peli sottili e fini, mentre la polpa è di colore verde paglierino brillante, mediamente succosa.



Fig. 19 – Kiwi: frutti