



Progetto Beenomix

Biodiversità

di *Apis mellifera* in Italia

Piacenza Apimell 2019
Convegno finale del progetto
Dr. Giulietta Minozzi



Il Progetto

Il progetto BEENOMIX è finanziato da Regione Lombardia con la Misura 16 del Programma (FEASR) di Sviluppo Rurale 2014 – 2020 (Progetti Pilota e sviluppo di innovazione, Operazione 16.2.01)



PSR LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTE RADICI
2014 2020



Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Programma di Sviluppo Rurale 2014 - 2020

**Il progetto è iniziato nel 2016
e si concluderà a Marzo 2019**



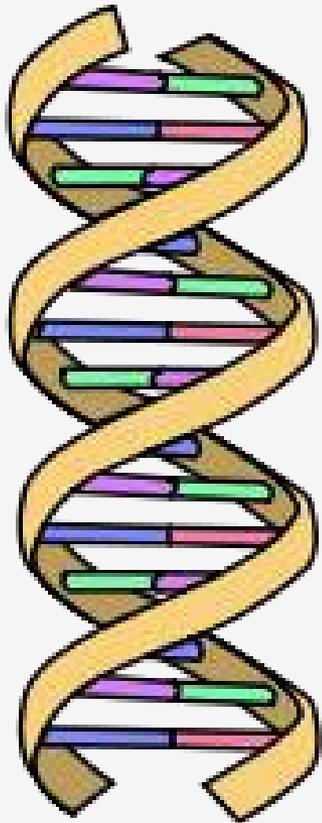
IL GENOMA

Con una minima approssimazione possiamo dire che nelle api ogni individuo porta **due genomi**: uno di origine paterna ed uno della **regina**

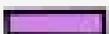
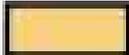
Ogni genoma è un lungo filamento di DNA di circa
250.000.000 di paia di basi

(A, T, G, C) = **250 Mb**

LE BASI DEL DNA



DNA

-  = Adenina
-  = Timina
-  = Citosina
-  = Guanina
-  = Struttura laterale
(gruppo fosfato
e 2-deossiribosio)

Col termine di paia di basi si intende l'accoppiamento di una A con una T oppure di una C con una G.

A, T, C e G sono i nucleotidi



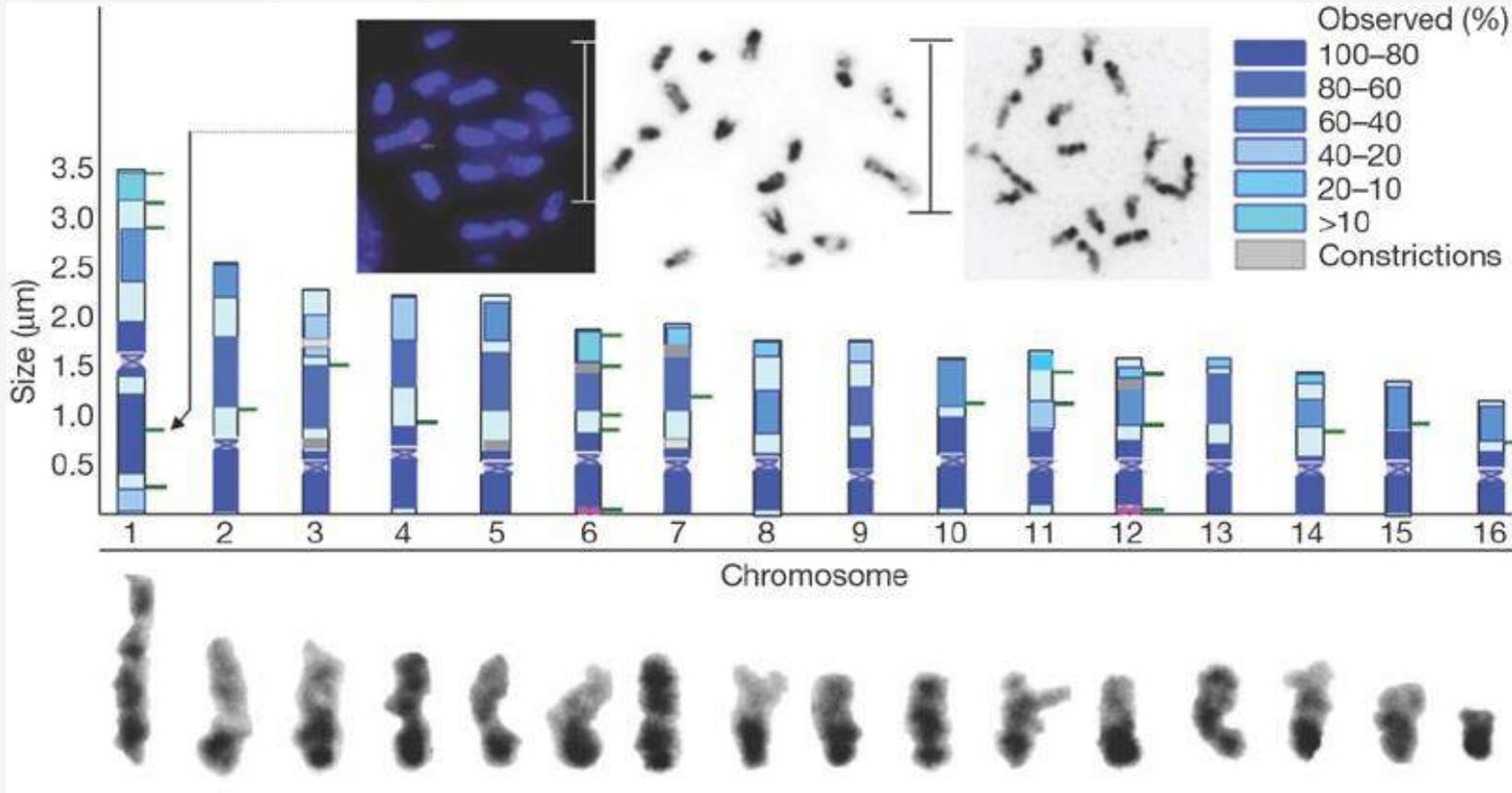
I CROMOSOMI

Il genoma è interrotto in segmenti che in particolari momenti della vita della cellula si vedono anche al microscopio ottico:
i cromosomi.

Nelle api ci sono **16 cromosomi**



- Per ogni cromosoma, operaie e regina hanno 2 copie (sono diploidi).
- Invece i fuchi hanno una sola copia.



L'ideogramma rappresenta la lunghezza dei singoli cromosomi, e le bande in blu a diversa intensità indicano la percentuale di eterocromatina presente nei singoli cromosomi durante la profase del ciclo cellulare. Il cariotipo dell'ape è rappresentato inferiormente all'ideogramma, ed è stato eseguito con la tecnica FISH.



SNP

I due genomi di ogni individuo **sono molto simili ma non identici**. Le differenze sono di varia natura, la più semplice è quella di una singola base differente.

Chiamata anche SNP.



SNP

Cromosoma proveniente dal fuco

...ACCCACATTT ATCATTTATG GCCATTCCAC...

...TGGGTGTAAA TAGTAAATAC CGGTAAGGTG... (Allele T)

Cromosoma proveniente dalla regina

...ACCCACATTT AGCATTTATG GCCATTCCAC...

...TGGGTGTAAA TCGTAAATAC CGGTAAGGTG... (Allele G).

Potremo avere individui con genotipo omozigote TT, GG o eterozigote TG come quello dell'esempio precedente.

Si stima che circa ogni poche centinaia di paia di basi ci sia una base diversa, uno **SNP** (Single Nucleotide Polymorphism).



BEENOMIX E GENOMICA

Dalla sequenza completa di circa 250 Mb in 125 individui (api) sono stati selezionati **oltre 1 milione di SNP** coi quali è possibile caratterizzare ogni individuo.

L'enorme variabilità multidimensionale viene riorganizzata con metodi statistici complessi per renderla più leggibile (PCA).

Ogni individuo diventa così un punto in un piano bidimensionale. Le prime due dimensioni sono quelle che spiegano la maggior parte della variabilità complessiva (circa 20% nel nostro caso)

Il piano tiene conto solo di 2 dimensioni.



La distanza tra due punti definisce la **distanza genetica** tra due individui

- **Punti aggregati** in un piccolo spazio denotano un gruppo di individui simili, ad es. un tipo genetico omogeneo, una razza..
- **Punti molto vicini** si ottengono campionando individui parenti o famiglie con origine comune
- **Punti tra loro lontani** indicano individui geneticamente «diversi». La diversità può dipendere da due ragioni:
 - A. La selezione
 - B. La deriva genetica



RISULTATI DEL PROGETTO BEENOMIX ANALISI GENETICA DI 125 API



GENOMICA e MORFOMETRIA

Per ogni arnia campionata abbiamo preso:

un'ape per la genomica (UNIVERSITA')

e

circa 50 api per la morfometria (CREA)





La biodiversità misurata da 1,4 milioni di SNP in 125 api

In questa e in alcune delle diapositive successive i risultati presentati sono stati oscurati per non compromettere l'originalità delle pubblicazioni scientifiche attualmente in fase di preparazione.

Grazie per la comprensione!



GENOMICA e MORFOMETRIA

Per ogni arnia campionata abbiamo preso:

un'ape per la genomica (UNIVERSITA')

e

circa 50 api per la morfometria (CREA)





GENOMICA

CREA	Genomica	Dichiarata
19 LIG	58 LIG	63 LIG
36 LIG*		
3 BUC		



CREA	Genomica	Dichiarata
25 BUC	39 BUC	33 BUC
		5 LIG
9 LIG*		
2 CAR		1 CAR
1 NC		
2 ibridi		



CREA	Genomica	Dichiarata
6 CAR	7 CAR	7 CAR
1 LIG*		
	2 CAR IBR	2 CAR IB
2 CAR		



CREA	Genomica	Dichiarata
3 MEL	4 MEL	4 MEL
1 SIC		
6 SIC	6 SIC	6 SIC



1	Casali Annalisa	25	Alessio Cardini
2	Marzi Gabriele	26	Stefano Tenerini
3	Colombo Michela	27	Bonizzoni Luca
4	Linda Chiletti	28	Veneroni Marco
5	Matarozzi Adriano	29	Elisabetta Tagliabue
6	Fausto Ridolfi	30	Chiara Concari
7	Manuele Cantoni	31	Cauda Claudio
8	Massimo Maccarelli	32	Cavagna Stefano
9	Ruben Facciani	33	Alessandro Massone
10	Fabrizio Asioli	34	Tognela Paolo
11	Dettori Angelo	35	Baroni Francesco
12	Antonella Francesconi	36	Bonfanti Elio
13	Sergio cocciarini	37	Fabrizio Zagni
14	Adelmo Calamante	38	Nuccio Lanteri
15	Sebastiano Mancini	39	Agostini Modesto
16	Carlo Petrella	40	Zambotti Peterlana
17	Larcinese Giuseppe	41	Romeo Festi
18	Gianni Crescia	42	Montanari Matteo
19	Alvaro Caramanti	43	Petruzzelli Savino
20	Tiziano Gardi	44	Greco Daniel
21	Valentini Lorenzo	45	Colletta Franco
22	Gabriele Milli	46	Amodeo Carlo
23	Alain Mouraret	47	Sapienza Sergio
24	Duccio Pradella	48	La Mantia Giuseppe
	Acerbi Giacomo		Poletti



Attribuzione razziale su base morfometrica

- Insieme completo di **29 caratteri alari**
- Sottoinsieme più snello di **15 caratteri alari**

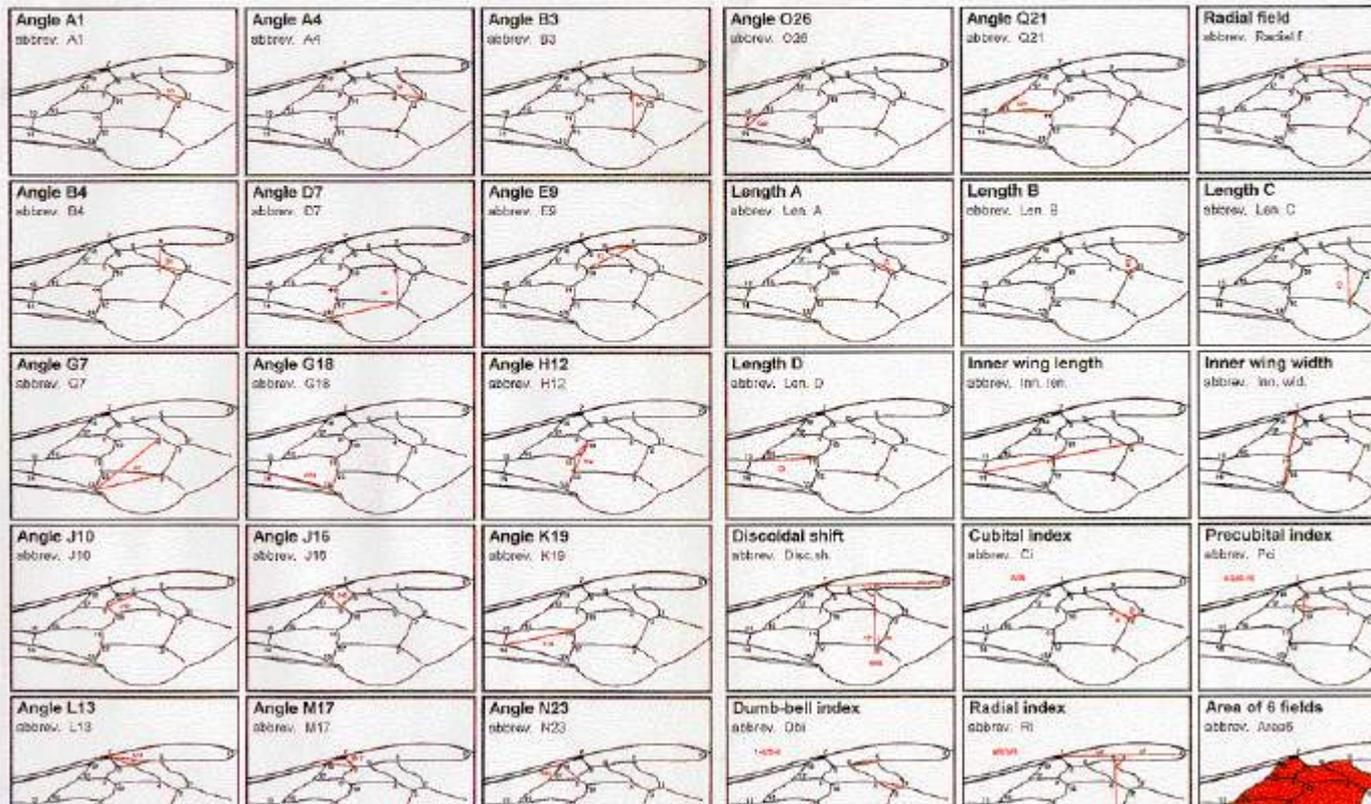
Analisi multivariata preliminare su una **popolazione di riferimento** (20 o 30 individui per TG) di sicura definizione razziale.

La popolazione di riferimento è composta da sottospecie varie e non solo nazionali. È possibile includere nella popolazione di riferimento solo TG di interesse (nel nostro caso sono state incluse *ad hoc* **solo L, C, B, M, S**).

Identificazione dei cluster razziali sul piano cartesiano

Misurazioni

Disegni della nervatura alare: differenze costanti riconducibili a determinate regioni geografiche o a ceppi diversi.





Attribuzione razziale su base morfometrica

Un nuovo campione in esame viene confrontato sul piano cartesiano con le popolazioni di riferimento e attribuito ai vari cluster in ragione della maggiore o minore vicinanza (funzione discriminante...

Ad es, utilizzando il sottoinsieme di **15 caratteri**:

carnica	buckfast	ligustica	mellifera	siciliana	TG CREA
0,1%	0,0%	95,5%	0,0%	4,4%	L

Ma, stesso campione analizzato con 29 caratteri.....

carnica	buckfast	ligustica	mellifera	siciliana
0,1%	0,0%	1,6%	0,0%	98,3%

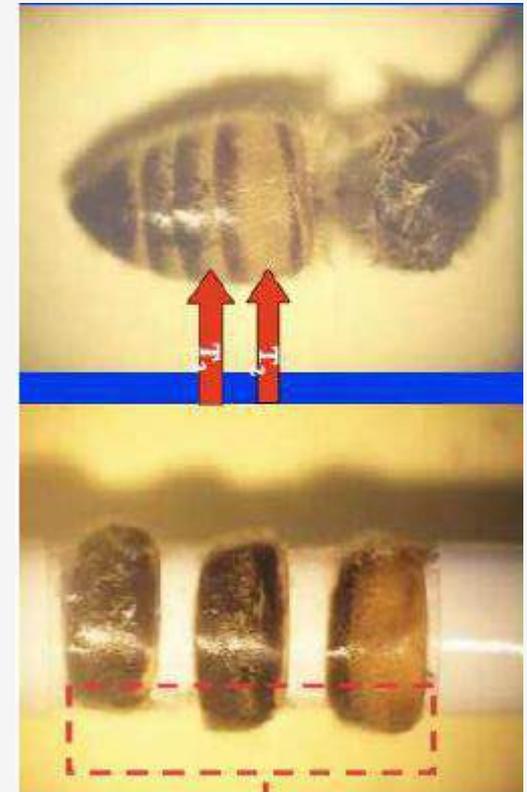
La valutazione del terzo tergite

COLORE tergite T3 (classi di Goetze)	
media	ds
7,61	0,98

Distribuzione casi per classe	
0	
1	
2	
3	
4	1
5	
6	
7	3
8	14
9	

COLORE tergite T3 (classi di Goetze)	
media	ds
8,11	0,76

Distribuzione casi per classe	
0	
1	
2	
3	
4	
5	
6	1
7	1
8	11
9	5



Oltre ai caratteri alari viene valutato il colore dei tergiti espresso in % di tergiti gialli

% tergiti gialli	frequenza		% tergiti gialli	frequenza
100	85		50	1
99	1		33	1
98	1		30	1
95	1		28	1
90	2		20	1
80	1		10	4
70	1		5	1
67	1		0	13
60	1		TOTALE	117



*L'attribuzione della sottospecie viene fatta sulla base del **valore prevalente della funzione di classificazione** (calcolata sui valori alari) e in seconda battuta sul colore. Si tratta in realtà di una interpretazione.*

*In caso di classificazione come **carnica**, il colore lo si considera prioritario, per cui si preferisce classificarlo **ligustica** (ligustica con *).*

*Così per la **siciliana**.*

Per la Buckfast è preferibile considerare solo la % e ignorare il colore.

*Il problema è che l'ala di per se non risulta sufficientemente discriminante soprattutto tra **ligustica** e **carnica**.*



29 CARATTERI

15 CARATTERI

carnica	buckfast	ligustica	mellifera	siciliana		% Tergiti Gialli		carnica	buckfast	ligustica	mellifera	siciliana	TG CREA
0,1%	0,0%	1,6%	0,0%	98,3%		100		0,1%	0,0%	95,5%	0,0%	4,4%	L
100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%		100		32,6%	0,0%	67,4%	0,0%	0,0%	L
100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%		100		0,2%	0,0%	99,8%	0,0%	0,0%	L
5,6%	0,0%	94,4%	0,0%	0,0%		100		0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	L
99,9%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%		100		75,7%	0,1%	23,4%	0,0%	0,9%	L



CREA	Genomica	Dichiarata
19 LIG	58 LIG	63 LIG
36 LIG*		
3 BUC		



CREA	Genomica	Dichiarata
25 BUC	39 BUC	33 BUC
		5 LIG
9 LIG*		
2 CAR		1 CAR
1 NC		
2 ibridi		



CREA	Genomica	Dichiarata
6 CAR	7 CAR	7 CAR
1 LIG*		
	2 CAR IBR	2 CAR IB
2 CAR		



CREA	Genomica	Dichiarata
3 MEL	4 MEL	4 MEL
1 SIC		
6 SIC	6 SIC	6 SIC



Conclusioni

1. L'analisi genomica dimostra con 1.380.000 SNP una grande potenza di discriminazione
2. La Ligustica è una razza omogenea in tutta l'area appenninica senza differenze regionali e ben caratterizzata e distinta dagli altri tipi genetici osservati
3. La Buckfast ha simili caratteristiche di omogeneità al suo interno anche se sono debolmente riconoscibili alcune linee di origine.
4. Buckfast e Ligustica sono perfettamente discriminabili su base genomica.