

A close-up photograph of a honeycomb with many bees on it. The bees are densely packed on the hexagonal cells of the comb, which is a warm, golden-brown color. The bees are in various orientations, some facing the camera and others with their backs to it. The lighting is bright, highlighting the intricate details of the bees' bodies and the texture of the honeycomb.

# Caratterizzazione delle sottospecie di *Apis mellifera*

Progetto BEENOMIX

Rimini, AIAAR 2017



**PSR**  
2014 2020

**LOMBARDIA**  
L'INNOVAZIONE  
METTE RADICI



**Regione  
Lombardia**

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

**Programma di Sviluppo Rurale 2014 - 2020**

# Progetto BEENOMIX PSR 14-20

- Misura 16 “Cooperazione”
- Sottomisura 16.2 - Sostegno a progetti pilota e allo sviluppo di nuovi prodotti, pratiche, processi e tecnologie
- Operazione 16.2.01 - *Progetti pilota e sviluppo di innovazione*
- **TITOLO DEL PROGETTO:**

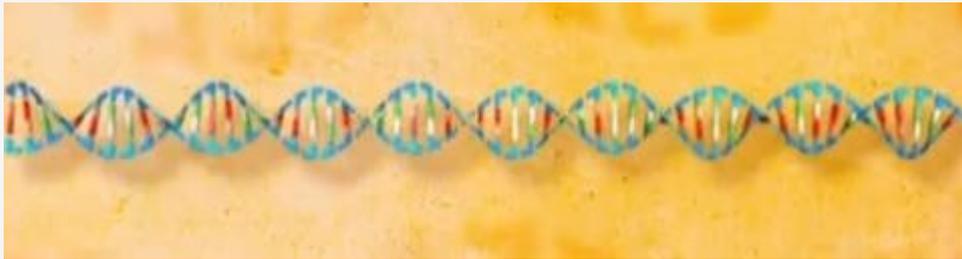
**INNOVAZIONE IN APICOLTURA:  
LA GENOMICA PER LA SELEZIONE E LA  
BIODIVERSITA’**

# Obiettivi:

1. **Riconoscimento razziale** individuale con la possibilità di identificare il grado di mescolanza genetica presente in singoli individui.
2. Rilascio di un prototipo di valutazione genetica basata su fenotipi precisamente definiti e misurati. ...definire modalità standard di rilievo ..
3. Riconoscimento delle strutture di parentela e somiglianza genomica tra individui

- Il riconoscimento razziale si è basato in passato soprattutto su metodi multivariati che analizzavano fenotipi con capacità discriminante tra i diversi tipi genetici (ad es. F. Ruttner, 1988)
- Successivamente si sono utilizzati marcatori genetici (enzimi, antigeni ...). Questi non risentono dell'ambiente, ma possono essere oggetto di selezione.
- In tempi recenti la genomica ha reso disponibili marcatori genetici anonimi (**SNP**) in numero esagerato e a costi sempre più bassi per tutte le specie domestiche.
- Il genoma di *Apis mellifera* è stato tra i primi ad essere sequenziato (2006), ma a livello operativo è poco utilizzato

Il DNA di *Apis mellifera* è lungo circa 0,25 Gb (Giga basi, ossia 250 milioni di paia di basi)



Il DNA dei mammiferi è lungo circa 3 Gb, circa 12 volte più lungo. Il genoma di *Apis m.* è diviso in 16 cromosomi che portano poco più di 10.000 geni

Per poter essere utilizzato per il riconoscimento razziale o a fini selettivi dovremmo disporre di *chip* per il riconoscimento di marcatori (SNP)

Col progetto BEENOMIX abbiamo avuto la copertura economica per sequenziare il genoma di circa 120 individui diploidi (wb)

Dalla sequenza completa usciranno molti SNP (milioni) che utilizzeremo per il riconoscimento razziale delle api campionate. E per molte altre cose...

Selezioneremo poi un sub-set di SNP (poche decine o centinaia) per disporre di uno strumento economico e agile di riconoscimento razziale

Tutto si basa quindi sugli SNP... Ma di cosa stiamo parlando?

Ogni individuo porta due genomi (uno paterno e uno materno) che sono praticamente uguali, ma possono presentare qua e là delle differenze

...ACCCACATTT ATCAT**T**TATG GCCATTCCAT...  
...TGGGTGTAAA TAGTAAATAC CGGTAAGGTA...

...ACCCACATTT ATCAT**A**TATG GCCATTCCAT...  
...TGGGTGTAAA TAGTATATAC CGGTAAGGTA...

Queste differenze sono spesso delle *mutazioni puntiformi*: SNP= Single Nucleotide Polymorphism  
Nella larga maggioranza dei casi gli SNPsi trovano in regioni del DNA non codificanti (marcatori anonimi). Solo raramente determinano un cambiamento di fenotipo

Questi SNP sono sparsi in tutto il genoma e il *locus* interessato determina il formarsi di genotipi diversi.

ATCATATATG

ATCATATATG

ATCATATATG

ATCATTTATG

ATCATTTATG

ATCATTTATG

Così, se in una razza campioniamo 1000 individui avremo 2000 genomi. Contando quelli A e quelli T potremo stabilire per quella razza la frequenza dell'allele A e del T

Genotipo	Frequenza
AA	500
AT	400
TT	100

Frequenza dell'allele A =  $(500 \cdot 2 + 400) / 2000 = 0,7$ ; Frequenza dell'allele B =  $(1 - 0,7) = 0,3$

Razze diverse possono avere, allo stesso SNP, frequenze diverse.

Dalla differenza tra le frequenze si possono descrivere distanze genetiche e somiglianze tra razze.

Ad esempio, la razza 1 e 2 sono tra loro vicine e la massima distanza si osserva tra la 2 e la 3:

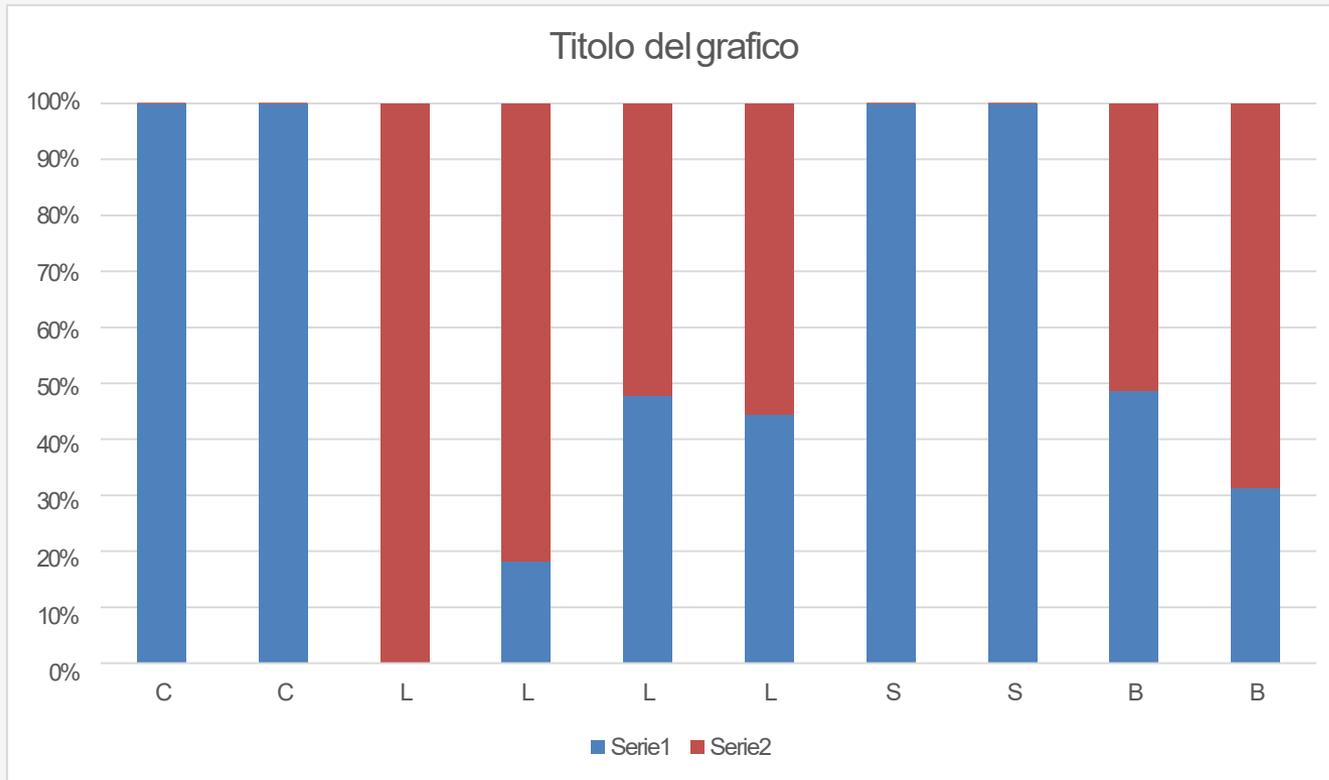
	Razza 1	Razza 2	Razza 3
Frequenza allele A	0,7	0,9	0,2

- Se l'accoppiamento è casuale e la popolazione è molto numerosa, **le frequenze alleliche restano stabili nel tempo.**
  - Se la dimensione della popolazione si riduce fortemente (si avvicina all'estinzione) le frequenze possono oscillare da una generazione alla successiva in modo casuale e ampio. Questo fenomeno si chiama **deriva genetica**
  - Le frequenze alleliche possono cambiare tra popolazioni a causa della deriva genetica, ma anche a causa della **selezione**
  - Le differenze tra razze di una stessa specie possono essere quindi studiate a partire dal comportamento di SNP

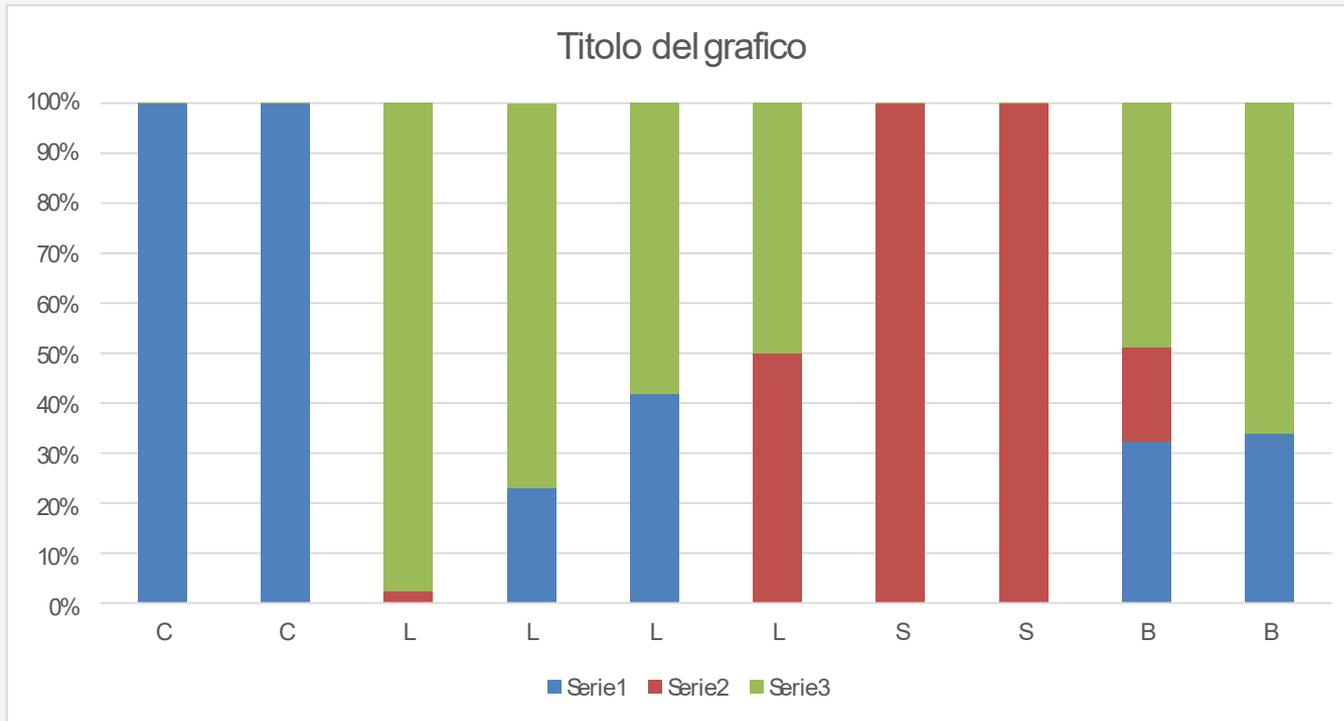
# Un esempio.

10 individui, ciascuno genotipizzato a 5 SNP. Quanti tipi genetici (k) descrivono la variabilità complessiva?

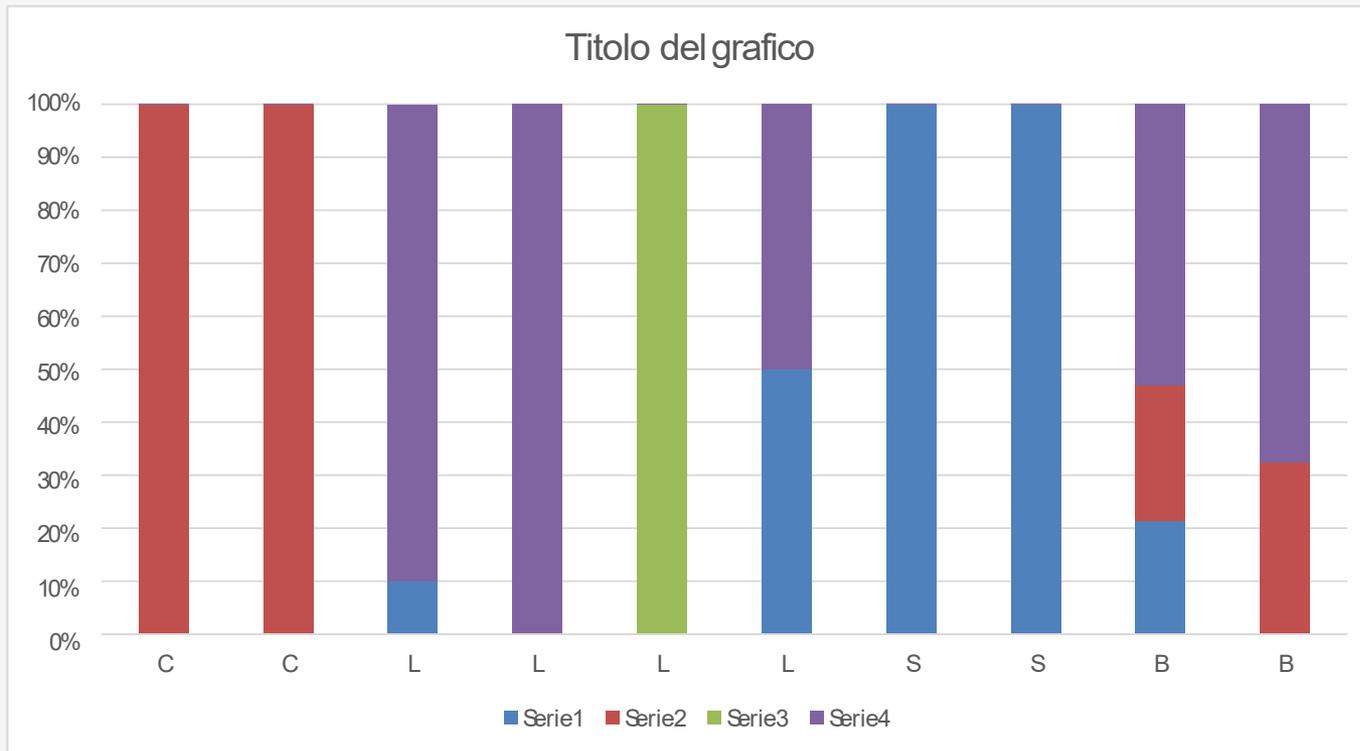
RAZZA	individuo	SNP 1	SNP 2	SNP 3	SNP 4	SNP 5
C	1	A	C	C	T	G
C	2	A	C	G	T	G
L	3	T	G	G	A	A
L	4	T	C	G	A	T
L	5	T	G	C	A	A
L	6	A	C	G	A	A
S	7	A	C	G	A	G
S	8	A	C	G	A	G
B	9	A	C	G	A	T
B	10	A	G	G	A	T



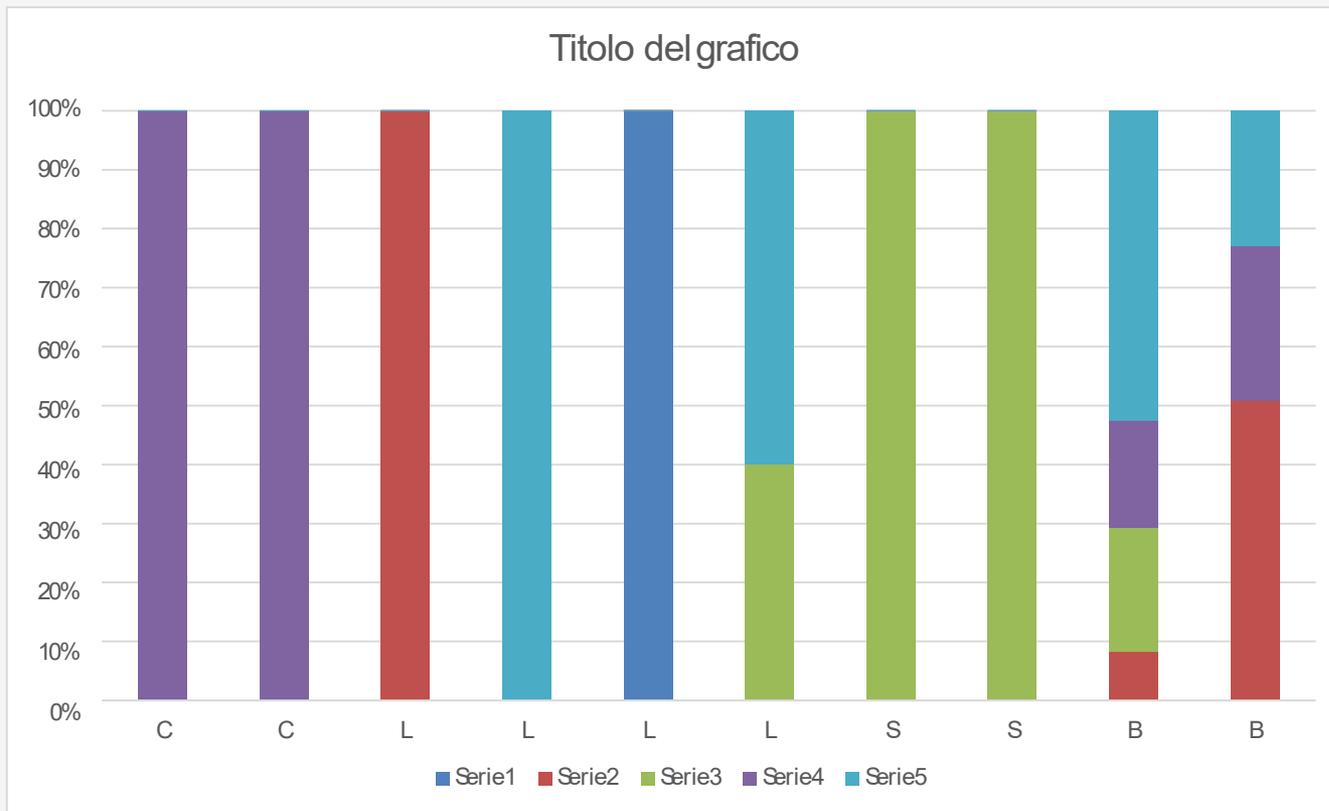
K=2. Se supponiamo che la variabilità complessiva sia riducibile a due tipi genetici diversi allora Carnica e Sicula per la loro omozigosi sembrano essere una «cosa» sola. «Cosa» che si mescola ad «altro» in Ligustica e Buckfast



K= 3. Se supponiamo che la variabilità sia riconducibile a 3 diversi tipi genetici allora Carnica e Sicula sono due razze diverse. Appare poi una terza componente che si mescola alle due precedenti a formare Ligustica e Buckfast



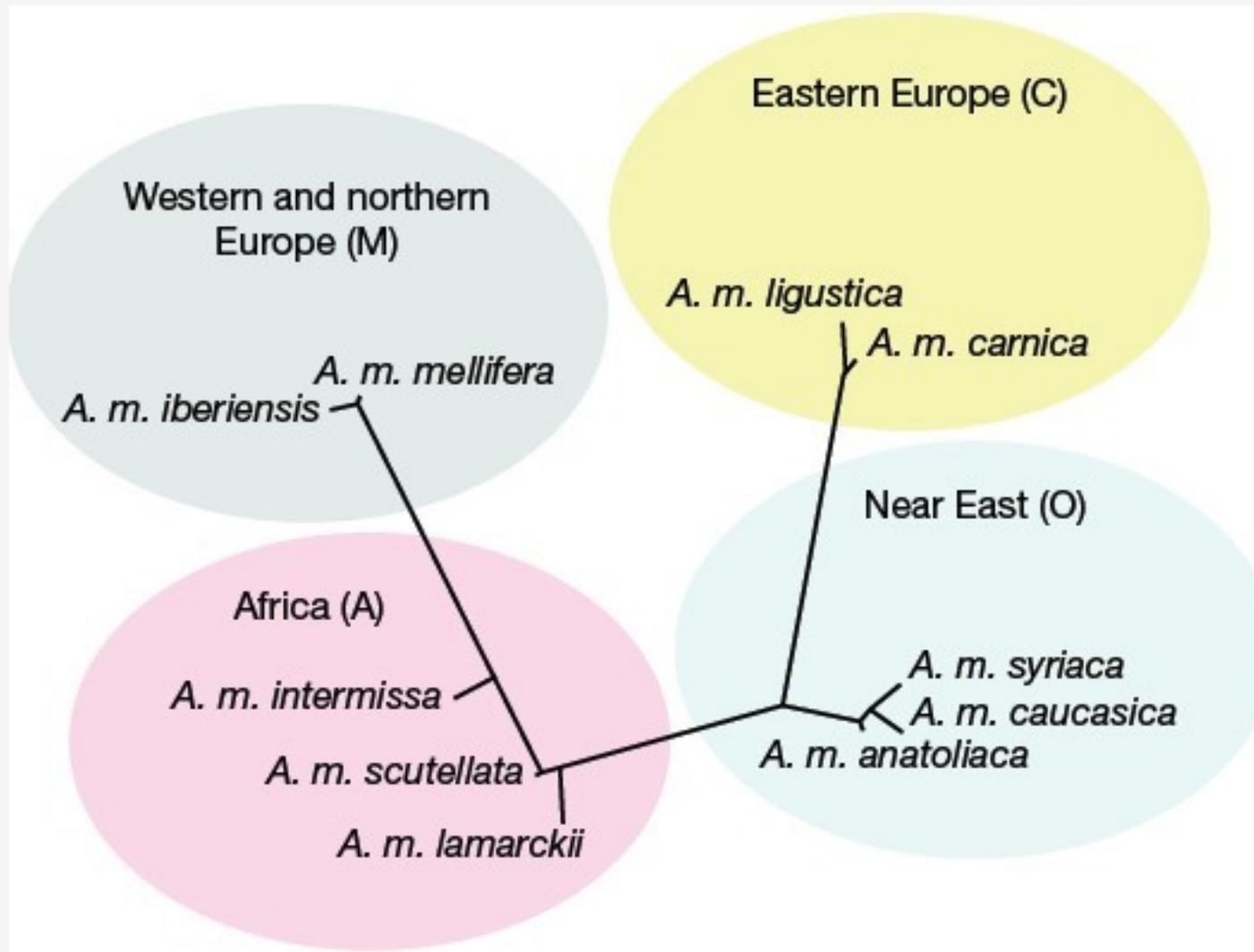
K=4. Con 4 componenti Carnica e Sicula restano distinte, la Ligustica acquisisce una sua fisionomia ma tradisce una composizione mista. Composizione mista che si vede ancora di più nella Buckafast



K=5. Sei tipi genetici fossero 5 si confermerebbe la natura «ibrida» della Buckfast e la composizione eterogenea della Ligustica

# Razze di *Apis mellifera*

Da *Nature*, 2006



Oltre 8,3 milioni di SNP trovati dal sequenziamento di 140 insetti

Molti SNP “privati” dei 4 taxa analizzati

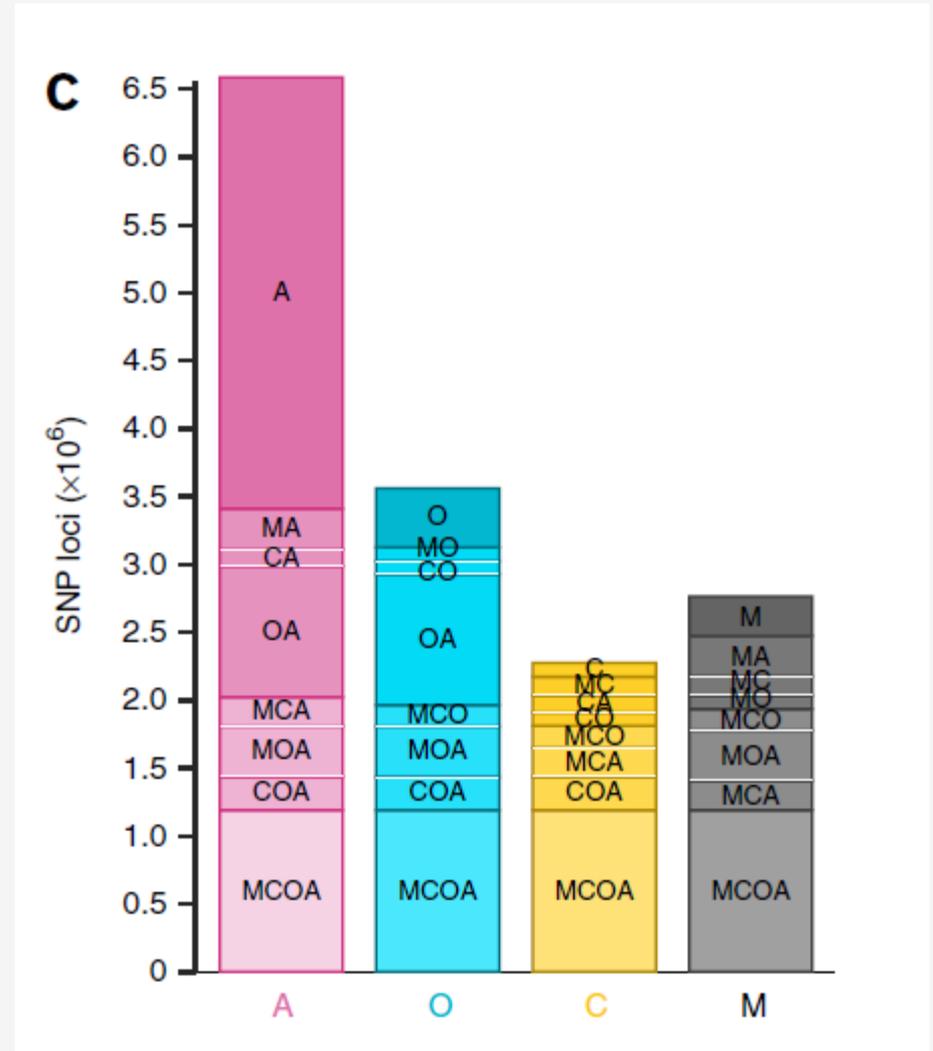
A= Africa;

O= Vicino Oriente;

C= Europa orientale;

M = Europa occidentale.

Oltre un milione condivisi tra tutti i taxa





Col progetto Beenomix abbiamo visitato e campionato 42 apicoltori del Centro-Nord. A questi si sono aggiunti altri 6 tra Puglia e Sicilia.

Abbiamo trasmesso un primo lotto di campionial laboratorio in Germania che provvederà all'intero sequenziamento di 93 api operaie.

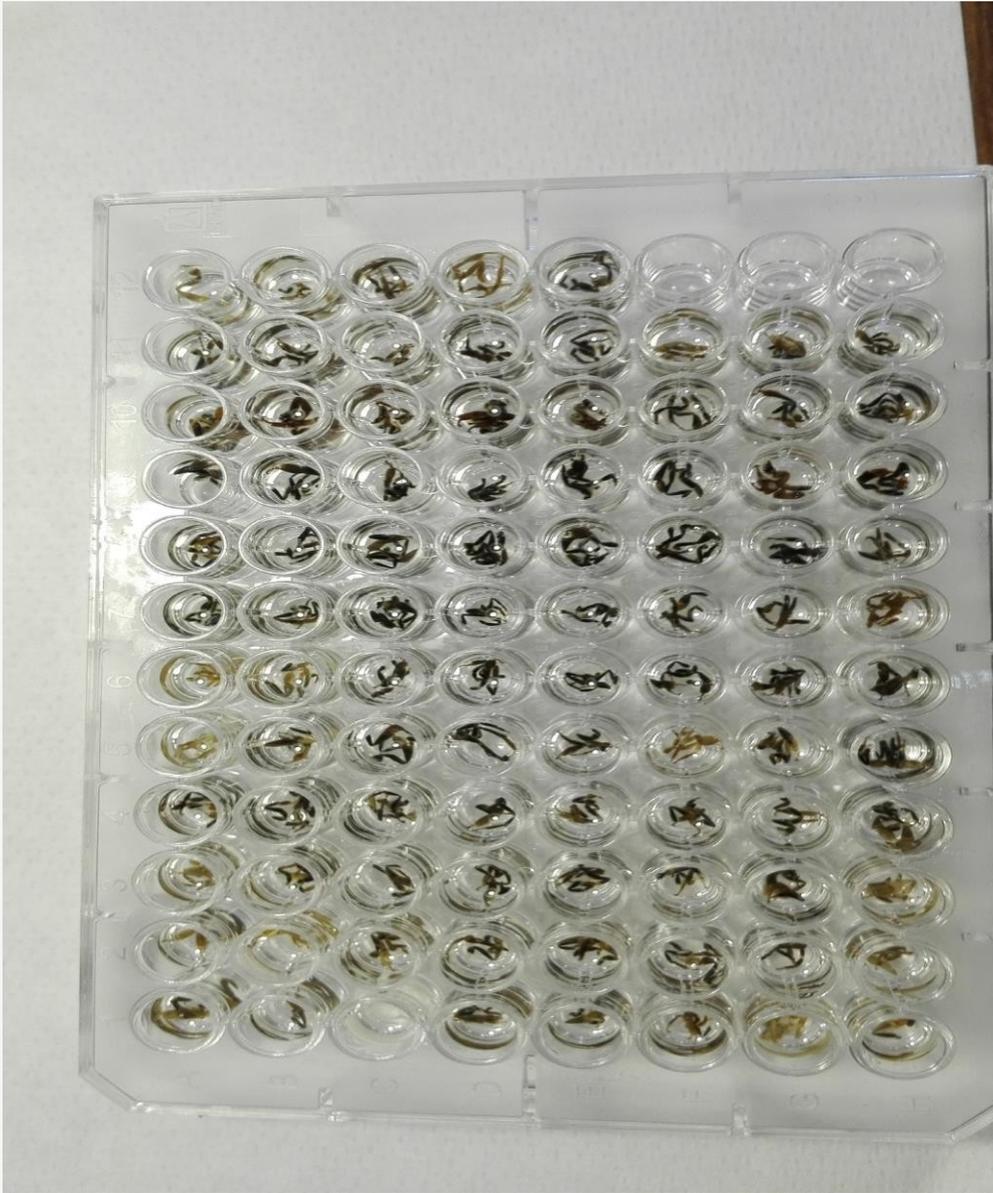


Simultaneamente al campione raccolto per la genotipizzazione, abbiamo raccolto in un tubo 40/50 operaie per l'analisi morfometrica standard

In questo modo disporremo, per la stessa famiglia, di genoma e fenotipo per tutti i confronti e le deduzioni del caso



- |    |                       |    |                      |
|----|-----------------------|----|----------------------|
| 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   |



La piastra coi 93  
campioni inviata per  
il sequenziamento  
Ci aspettiamo di  
trovare 2 – 3 milioni  
di SNP

L'analisi bioinformatica permetterà di dare una lettura della genomica delle api italiane riconoscendo con chiarezza (si spera) i tipi genetici dichiarati inclusi nel campione

7	Carnica in purezza
2	Carnica x locale
1	Cecropia
58	Ligustica in purezza e x locale
4	Mellifera, ecotipo Liguria occidentale
8	Buckfast
6	Sicula
7	Selezione <i>Bonfanti - Mandelli 2017</i>
<b>93</b>	<b>TOTALE</b>

*Il problema del riconoscimento delle diversità tra razze di una stessa specie è di grande rilevanza negli animali domestici.*

...

*Forse non ci si rende conto che molte razze e varietà sono gradualmente ma sicuramente destinate ad estinguersi a causa del diffondersi dell'ibridazione*

...

Frate Adam

Visitate il sito web: [www.beenomix.it](http://www.beenomix.it) per ogni aggiornamento sul progress dei lavori