

Differenze nel fenotipo delle colonie in funzione della differente origine e collocazione: evidenze di interazioni genotipo-ambiente nell'ape italiana (*Apis mellifera ligustica*) ?

di Cecilia COSTA, Marco LODESANI, Kaspar BIENEFELD

Articolo originariamente pubblicato in inglese su Apidologie, Novembre 2012, Volume 43, N° 6, pp 634-642

Le sottospecie di api endemica della penisola italiana, *Apis mellifera ligustica* Spinola (1806), ha un ruolo centrale nello sviluppo dell'apicoltura di tutto il mondo. La sua grande produttività, la sua docilità e la bassa propensione alla sciamatura, insieme alla sua adattabilità ad una vasta gamma di condizioni climatiche hanno favorito il suo utilizzo in tutto il mondo. La diffusione di *A. mellifera ligustica* è stata agevolata per oltre 150 anni dalla massiva produzione e commercializzazione di api regine. In Italia è riconosciuto risaputo che vi sia un notevole mercato di api regine, ma non esistono dati ufficiali circa il numero e la destinazione commerciale delle regine prodotte, oltre alle stime dell'Albo Nazionale degli Allevatori di api regine (circa 60.000 regine all'anno da circa 27 allevatori nel 2011) che rappresenta solo una parte degli allevatori esistenti. È inoltre difficile ottenere dati sull'apicoltura nomade e quindi sul suo impatto sulla biodiversità locale. Secondo uno studio basato su marcatori molecolari (DNA micro satelliti), *A. mellifera ligustica* sembra assomigliare ad una singola grande popolazione. Tuttavia i dati riportati dagli apicoltori hanno suggerito che regine provenienti da diverse fonti di *A. mellifera ligustica* in Italia hanno risposto in modo diverso in diversi ambienti, indicando che possono ancora esistere ecotipi di *A. mellifera ligustica*. Ci si aspetta che ecotipi diversi varino nelle interazioni che hanno con l'ambiente: cioè gli stessi genotipi dovrebbero essere associati a fenotipi diversi in ambienti diversi e inoltre genotipi diversi non dovrebbero avere lo stesso modello di risposta fenotipica all'interno degli stessi ambienti. La rappresentazione grafica del valore fenotipico tratto in funzione della variazione dell' ambiente è chiamato "Regola di reazione" e può essere usato per dedurre la presenza di interazioni genotipo - ambiente (GxE).

Le interazioni genotipo - ambiente sono note negli insetti: la nutrizione, la temperatura, la lunghezza del giorno e altri fattori ambientali possono influire in modo differenziale sugli stessi genotipi producendo diversi fenotipi. Per esempio, diverse specie di farfalle cambiano il colore dell'ala con il cambiare della stagione, agli scarabei stercorari vengono le corna oppure no a seconda della loro dieta. GxE sono note anche per le caratteristiche comportamentali degli insetti, come la risposta olfattiva in *Drosophila melanogaster* e il comportamento di guardia nelle api. GxE sono state osservate nelle api a livello individuale, in studi sugli effetti di uno stesso ambiente "colonia" su uno stesso genotipo "ape", in cui è stato osservato che GxE hanno un effetto sul comportamento di bottinamento e di guardia.

In questo lavoro si sono studiate le api di tre aree d'Italia per determinare se, nonostante la lunga storia di estesa distribuzione di regine in tutta la penisola, a livello locale fossero rimasti fenotipi adattati nell'ambito della popolazione generale. Ciò è stato verificato andando ad indagare se fossero presenti interazioni genotipo-ambiente quando si sono analizzate la prestazioni di sotto-popolazioni di api non associate a intensa selezione e/o distribuzione in massa di regine. Sono state considerate la

produzione di miele e lo sviluppo delle colonie in primavera, caratteristiche che sono note per essere ereditarie.

MATERIALI E METODI

Per testare questa ipotesi, sono state selezionate tre aree sulla penisola italiana con diverse latitudine, clima e vegetazione (Tabella I). Le aree, comprendenti da tre a sette apiari ciascuno, erano situate in Piemonte (provincia di Biella), Lazio (provincia di Latina) e Basilicata (provincia di Potenza) (Figura 1). Sono stati raccolti dati meteorologici giornalieri (temperatura massima, minima e media, umidità relativa e precipitazioni) dal sito ufficiale delle stazioni meteorologiche delle autorità regionali agro-meteorologiche più vicine agli apiari delle prove.

In ogni area sono stati selezionati apicoltori che hanno dichiarato che non avevano acquistato regine commerciali nei 3 anni precedenti. Inoltre, in ogni area è stato formato un gruppo di 3-7 apicoltori per prestazioni effettuare le valutazioni e la raccolta dati (da qui in poi chiamati "apicoltori esperti"). Nell'estate del 2006 sono stati formati tre gruppi di regine di *A. mellifera ligustica* provenienti dalle regine madri degli apicoltori selezionati (Tabella II). Le sotto-popolazioni originarie di ogni zona sono state costituite partendo da 4-6 regine non imparentate, le cui figlie sono state fecondate in 2-6 areali nella stessa zona di origine. Un campione di api provenienti da ogni regina madre è stato sottoposto ad analisi morfometrica per confermare l'appartenenza ad *A. m. ligustica*. Le regine prodotte sono state marcate con colori specifici per ogni area, diversi dai colori convenzionali, per facilitare la distinzione delle colonie di prova. Un terzo delle regine di ogni gruppo è stato mantenuto nella zona di origine, mentre gli altri due terzi sono stati inviati alle altre zone di prova (tabella II). Un coordinatore per ognuna delle tre aree ha ricevuto le regine dalle altre due aree, e ha distribuito le regine casualmente tra gli apicoltori esperti. Le regine sono state inserite in regina nuclei orfani appositamente costituiti, con tre telai di covata e due telai di miele e polline, in alveari Dadant-Blatt, con un'aggiunta di 0,5 kg api operaie. In base allo sviluppo delle colonie e al flusso di nettare della zona sono stati aggiunti alle colonie uno o due fogli cerei. Le colonie testate sono state trattate contro la *Varroa* con i metodi standard adottati dall'apicoltore. Le colonie sono state preparate per l'inverno nello stesso modo in ogni apiario della prova.

La valutazione delle colonie si è svolta nel periodo Aprile-Agosto 2007. Gli apicoltori esperti hanno valutato lo sviluppo primaverile delle colonie durante la prima settimana di aprile 2007 nel seguente modo: per ogni colonia è stato registrato il numero di favi con covata ed è stato assegnato un punteggio per ogni lato di ciascun telaino come stima della superficie di covata, cosicché si potesse esprimere numericamente la quantità totale di covata per ogni colonia nella prima settimana di aprile. Ogni apicoltore aveva un grafico con esempi di diverse aree di covata e il punteggio relativo, per facilitare la valutazione. La resa in miele è stata valutata come la differenza di peso dei telaini prima e dopo l'estrazione del miele.

I dati meteorologici sono stati analizzati mediante analisi della varianza seguita dal test di Scheffé. Le differenze sono state considerate significative con $P < 0,05$. Le differenze tra l'accettazione delle regine e la sopravvivenza delle colonie sono state valutate utilizzando Test chi-quadro (quando le frequenze attese erano < 10 è stata

applicata la correzione di Yates). Per queste analisi è stato utilizzato un apposito software (ver. 8, StatSoft Inc.).

I dati delle colonie sono stati analizzati usando una procedura SAS (2003) ANOVA secondo il seguente modello:

$$Y_{ijkl} = \mu_{ijkl} + a(t)_i + t_j + o_k + (ot)_{jk} + e_{ijkl}$$

Dove i simboli rappresentano:

Y_{ijkl} : osservazioni

μ_{ijkl} : media generale

$a(t)_i$: effetto dell'apiario (annidato all'interno della regione test), dove le colonie sono state testate

t_j : effetto della regione nella quale le colonie sono state testate

o_k : effetto della sotto-popolazione

$(ot)_{jk}$: interazioni tra la regione testata e la sotto-popolazione

e_{ijkl} : errore

Il test di Turkey è stato applicato per la comparazione multipla delle medie. I valori sono stati riportati come media \pm ES..... e considerati significativi con $P < 0,05$.

RISULTATI

Differenze climatiche

L'analisi statistica dei dati meteorologici riferiti al periodo del test hanno dimostrato che vi erano differenze significative nelle temperature medie mensili tra le regioni. Durante il periodo di prova, il Lazio era la regione con la temperatura media annua più alta, come previsto dai dati storici (Tabella I). Infatti le temperature mensili più elevate sono state registrate nel Lazio in tutti i mesi ad eccezione di Luglio e Agosto 2007, quando le temperature erano più alte in Basilicata. Il Piemonte era la zona più fredda con la temperatura media annua più bassa durante il periodo di test (Tabella I).

Sottospecie di api

Le analisi morfometriche hanno confermato che tutte le regine madri utilizzate potevano essere classificate come *Apis mellifera ligustica*.

Accettazione e sopravvivenza delle colonie nelle diverse postazioni di prova

Il tasso di accettazione delle regine e la loro sopravvivenza (presenza nella colonia) fino alla fine del periodo della prova non hanno mostrato differenze in base all'origine anche se è interessante notare che le colonie della Basilicata avevano il più alto tasso di sopravvivenza (88%) nella loro regione di origine e il più basso in Piemonte (53%), anche se queste sono state le regioni con il più alto e più basso tassi di sopravvivenza a livello globale (Tabella III).

Interazione genotipo-ambiente per lo sviluppo primaverile e la produzione di miele

I risultati hanno dimostrato che c'è stata una significativa interazione tra l'origine delle api e la zona di valutazione, per entrambi i caratteri considerati (sviluppo in primavera e produzione di miele). La presenza di GxE è graficamente evidente grazie all'incrocio delle linee di "Regola di reazione" (Figure 2-3). È interessante notare che nel Lazio e in Basilicata le colonie locali si sono sviluppate più rapidamente rispetto a quelle non locali, mentre in Piemonte non è stato osservato nessun vantaggio nello sviluppo primaverile delle colonie locali. Si è osservato che lo sviluppo primaverile delle colonie era positivamente correlato alla produzione di miele in tutte le postazioni di prova. Nel Lazio e in Basilicata la più alta produzione di miele è stata ottenuta dalle sottopopolazioni locali (in Lazio, la differenza era statisticamente significativa; Figura 3). Inoltre, le sottopopolazioni della Basilicata e del Piemonte hanno realizzato la quantità media di miele più alta nella loro zona di origine.

DISCUSSIONE

Le differenze climatiche nel periodo di prova, e soprattutto durante i mesi della stagione produttiva, non erano estreme; comunque è risaputo che esistono notevoli differenze nei periodi di fioritura delle piante lungo la penisola italiana. In tutte e tre le regioni, la temperatura media durante il periodo delle prove sembrava essere maggiore rispetto al periodo di 1971-2000. Questo è forse un sintomo del cambiamento climatico in corso (in Italia questo è stato dimostrato per esempio in Emilia Romagna, dove è stato registrato un significativo aumento delle temperature medie, in confronto agli anni 1961-1990 e 1991-2008). Tuttavia, nonostante la presenza di temperature leggermente più alte rispetto ai dati storici, nel periodo di prova è conservata la classificazione delle zone, con la zona nel Lazio come area più calda e la zona del Piemonte come più fredda. Lo sviluppo delle colonie in primavera sembra essere legato alla progressione della primavera stessa, che a sua volta sembra essere legata alla latitudine anziché alla temperatura. Infatti, è probabile che le differenze nello sviluppo primaverile siano legate alla fioritura delle specie ricche di polline, in quanto è noto che la prima fioritura in primavera con abbondante produzione di polline corrisponde all'inizio dell'attività intensa di allevamento della covata nella colonia. I risultati hanno mostrato che lo sviluppo delle colonie era significativamente influenzato dalle interazioni tra l'origine delle api e l'ambiente dei test. Tuttavia, se si considerano le differenze all'interno di ogni ambiente, uno sviluppo significativamente più spinto delle api locali è stato osservato solo nel Lazio, lasciando aperto il dubbio se questo si sia verificato perché le colonie erano più in grado di utilizzare il polline della flora locale.

Nel caso della produzione di miele, sia l'interazione tra origine e ambiente sia la sola origine delle api erano significative. Mentre lo sviluppo primaverile è stato misurato in un unico momento, la resa in miele delle colonie rappresenta la loro attività per tutta la stagione. Questa è un'informazione particolarmente importante perché il miele prodotto può essere considerato una misura di adattamento all'ambiente, in quanto rispecchia la capacità di una colonia ad ottenere il massimo profitto da tutte le fonti vegetali nettariifere presenti nei suoi dintorni per tutta la primavera e l'estate. La produzione di miele può anche fornire una misura della potenziale forza della colonia per affrontare agenti patogeni esistenti nell'ambiente, in quanto una colonia malata possiede meno api adulte e quindi produrrà meno miele.

Precedenti studi sulla struttura genetica di popolazioni italiane di *Apis mellifera ligustica* hanno dimostrato l'assenza di sottopopolazioni sulla base di marcatori micro satelliti, ma è noto che queste tecniche forniscono poche informazioni sui meccanismi biochimici che hanno un ruolo nell'adattamento. Tuttavia le interazioni significative tra l'origine e l'ambiente delle prove, che sono state osservate in questo studio sulle prestazioni delle colonie, indicano l'esistenza di popolazioni locali adattate di *A. mellifera ligustica* in Italia. Nelle api un adattamento specifico per l'ambiente è stato osservato 50 anni fa, in uno studio di campo su una popolazione di api francese (*A. mellifera mellifera*).

L'interazione significativa tra l'origine e il luogo delle prove riscontrata nel nostro studio fornisce l'indicazione che il trasferimento delle caratteristiche delle regine madri a tutta la popolazione non avviene su larga scala, e infatti, le informazioni tratte da allevatori iscritti all'Albo Nazionale degli Allevatori dicono che il loro allevamento punta a un mercato prevalentemente locale e regionale. Inoltre è probabile che l'acquisto sistematico di regine selezionate si verifichi solo in caso di apicoltori professionisti o semi-professionisti, che secondo l'Osservatorio Nazionale della Produzione e del Mercato del Miele (2007) sono 11,5% dei circa 75.000 apicoltori italiani. Per quanto riguarda gli apicoltori amatoriali generalmente la sostituzione delle regine avviene su base locale, tramite acquisto da piccolo allevatore locale o partendo da celle naturali. Le sotto-popolazioni testate sono state costituite scegliendo regine madri scelte come rappresentative delle popolazioni locali, tuttavia a causa al sistema di accoppiamento dell'ape e il fatto che solo l'origine materna era certa, è possibile che le regine si siano accoppiate con fuchi di origine non locale, prodotti da regine commerciali usate nell'apicoltura nomade e non solo.

Per concludere, i nostri risultati indicano che deve essere dedicata particolare attenzione alla scelta delle postazioni per i test sulle prestazioni delle colonie di api, in quanto vi è il rischio che le colonie testate solo al di fuori della loro regione di origine possano ricevere una valutazione negativa a causa delle significative interazioni genotipo-ambiente. Queste interazioni rappresentano un problema per gli allevatori professionisti il cui mercato è di tipo nazionale ed internazionale, in particolare nel caso in cui le regine possono essere destinate a paesi con condizioni climatiche molto diverse (dalla Finlandia alla Siria). Gli allevatori che mirano al mercato internazionale hanno bisogno di api regine con elevata plasticità e un buon adattamento a una vasta gamma di condizioni ambientali; così, in questo caso, è importante che i test delle prestazioni e la selezione vengano effettuati in diverse condizioni ambientali. Dal punto di vista applicativo, i nostri risultati forniranno utili informazioni per i programmi di valutazione nazionali, in termini di scelta delle stazioni di prova, ma anche per le politiche regionali di sviluppo agricolo e per le strategie di conservazione della biodiversità.