



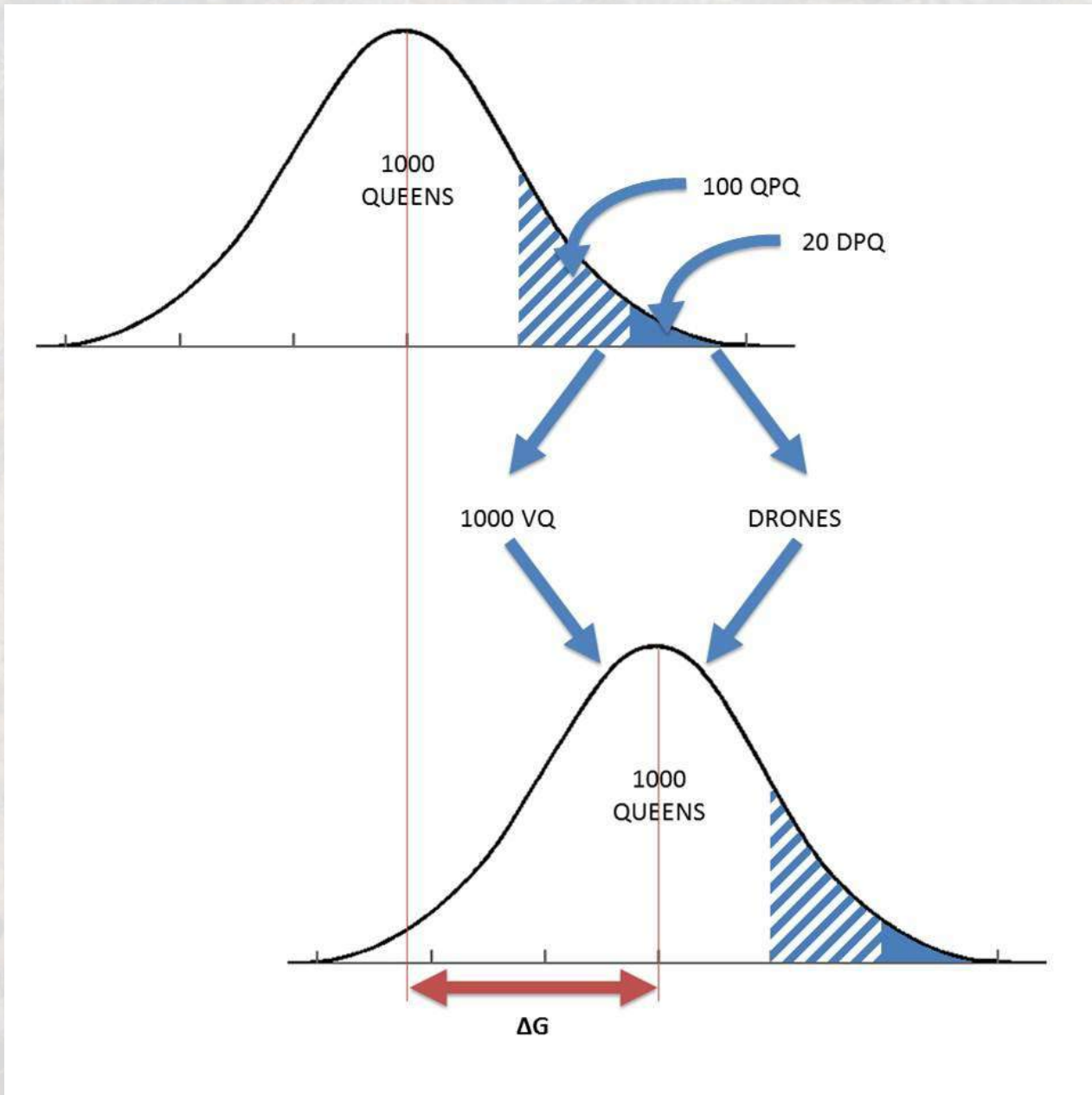
Selezione in *Apis mellifera* Confronti e Prospettive

Commissione tecnica Albo

15 novembre 2017

Il progresso genetico ΔG 1

- Se si fa selezione la media genetica della popolazione cresce
- La variazione annuale della media è il ΔG
- Possiamo esprimere ΔG come percentuale della media, un incremento annuo del 1% della media è un risultato di successo
- Ad esempio nei bovini da latte (Frisona Italiana) con una media di 90 quintali di latte all'anno il $\Delta G/y$ è di 100 kg



Il progresso genetico ΔG 2

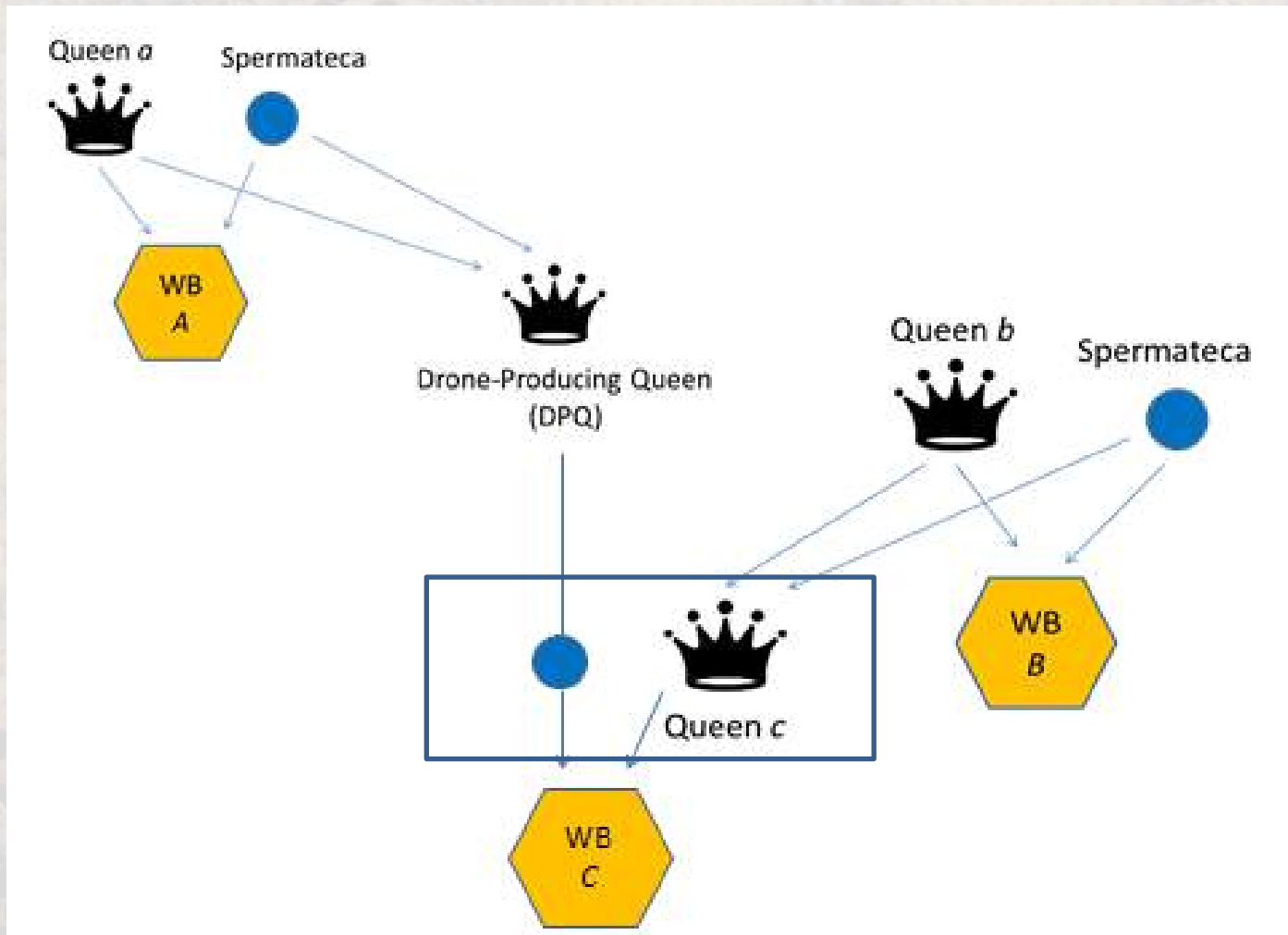
- Nella Carnica il $\Delta G/y$ per il miele fino al '94 è stato dello 0,04%
- Dopo l'introduzione della valutazione BLUP il $\Delta G/y$ è stato dello 0,54% (13 volte tanto)
- Se ad es. la media della produzione di miele è 37 kg, l'incremento oggi è di 200 g/y (prima era 15 g)
- Inoltre l'ambiente può cambiare, ma *genetics is forever!*

$$P = \mu + G + E$$

Il progresso genetico ΔG 3

- Conclusione:
 - Non può esserci ΔG senza selezione
 - Selezionare significa scegliere
 - Per scegliere ci vuole un indice (di selezione) che ordini i candidati dal migliore al peggiore
- La selezione nella Carnica può essere un ottimo modello
- Ma ci sono differenze importanti che vanno capite e se possibile risolte

Esempio semplice 1



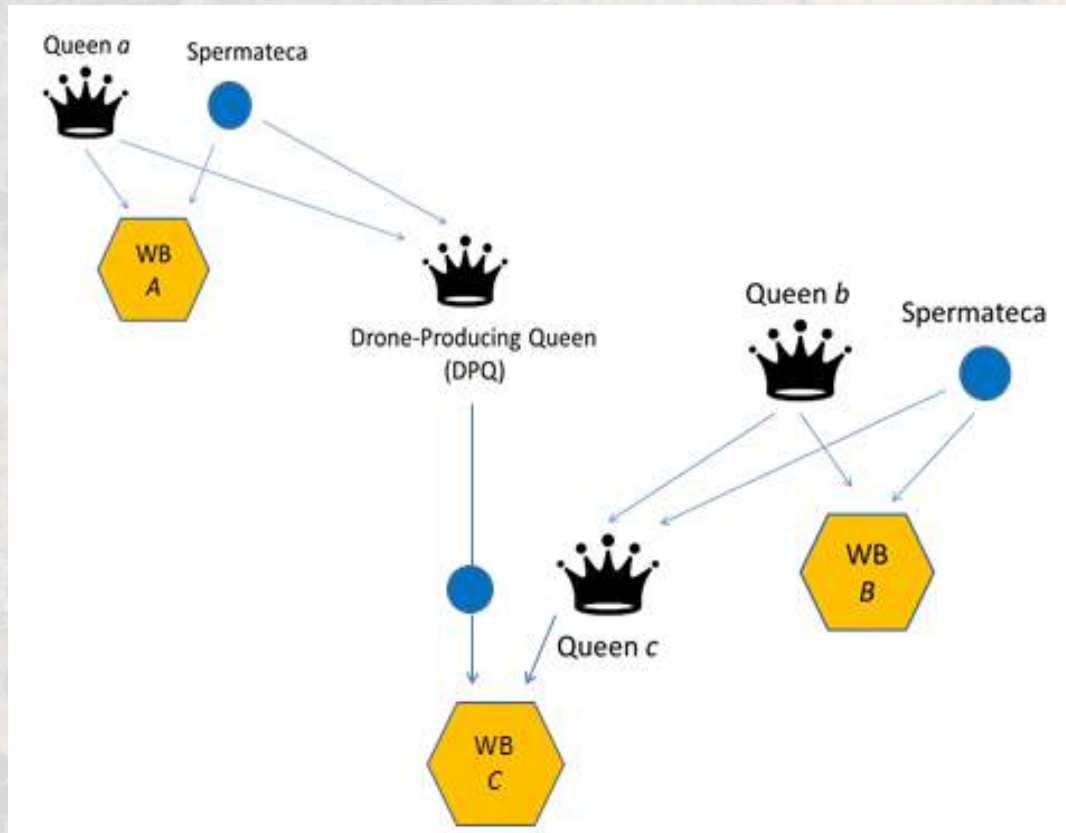
Esempio semplice 2

- Queste informazioni anagrafiche possono essere codificate in un «pedigree file» in cui per ogni famiglia o regina sia indicato «padre» e «madre»
- Il problema sono i fuchi che sembrano i padri, ma dal punto di vista genetico sono dei *pacchetti di spermatozoi volanti*
- Il vero padre in realtà è la/le DPQ
- Questo naturalmente se l'accoppiamento è in qualche modo controllato (**sito di fecondazione**)
- Se l'accoppiamento è invece casuale, la parte «padre» del pedigree è sconosciuta e quindi tronca

Esempio semplice 3

- Se vogliamo controllare la componente paterna allora:
 - Dobbiamo disporre di un sito di fecondazione in cui diverse famiglie (le DPQ) saturino di fuchi l'ambiente
 - Le DPQ inoltre devono **essere tutte figlie di una sola regina** con caratteristiche ottimali. Se sono figlie di più regine la possibilità di un pedigree paterno è preclusa
 - Se le DPQ sono i «padri», la madre delle DPQ è la nonna paterna
 - Possiamo a questo punto costruire un pedigree «semplificato» con individui reali, tutte femmine, madre e nonna paterna

Esempio semplice 4



Regina	Madre	Nonna paterna
a	-	-
b	-	-
c	b	-
A	a	-
B	b	-
C	c	a

Esempio semplice 5

- Da questo pedigree file è possibile costruire una *Matrice di Parentela Additiva*: **A**

	a	b	c	A	B	C
a	1	0	0	0,5	0	0,25
b	0	1	0,5	0	0,5	0,25
c	0	0,5	1	0	0,25	0,5
A	0,5	0	0	1	0	0,125
B	0	0,5	0,25	0	1	0,125
C	0,25	0,25	0,5	0,125	0,125	1

- Questa matrice è fondamentale per calcolare gli indici BLUP

BLUP 1

La valutazione genetica della Carnica si basa su un sistema di equazioni dalla cui soluzione si stimano:

- Gli effetti ambientali (anno, apicoltore, apiario...) \mathbf{b}
- Gli effetti genetici materni delle regine \mathbf{u}_1
- Gli effetti genetici diretti delle operaie \mathbf{u}_2

Le equazioni contengono tutte le informazioni circa le produzioni (\mathbf{y}) delle famiglie nei diversi ambienti, varianze e covarianze genetiche e ambientali, ma soprattutto le relazioni di parentela in \mathbf{A} .

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z_1 & X'Z_2 \\ Z'_1X & Z'_1Z_1 + A^{-1}a_1 & Z'_1Z_2 + A^{-1}a_{12} \\ Z'_2X & Z'_2Z_1 + A^{-1}a_{21} & Z'_2Z_2 + A^{-1}a_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{b} \\ \mathbf{u}_1 \\ \mathbf{u}_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'\mathbf{y} \\ Z'_1\mathbf{y} \\ Z'_2\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

BLUP 2

- Nel modello BLUP della carnica sono inclusi:
 - L'effetto diretto delle operaie (w) sulla produzione di miele (o su qualsiasi altro carattere): u_2
 - L'effetto materno della regina (q) madre delle operaie sugli stessi caratteri: u_1
- Il genotipo delle w infatti non è lo stesso della q loro madre: $a_{w,q} = \frac{1}{2}$
- Quindi la valutazione complessiva di una famiglia è data dalla somma dell'effetto di w e di q di ogni famiglia

BLUP 3

- Inoltre il modello utilizza varianze per gli effetti delle q e delle w nonché la covarianza tra i due effetti. Questa covarianza è negativa.
- In altri termini, un gene che «fa bene» al miele se ce l'ha la regina, «fa male» al miele se l'hanno le operaie. Che però l'hanno ricevuto dalla madre
- La ragione di questo intoppo è la seguente:
 - Geni che fanno bene sia in q che in w vengono rapidamente selezionati e portati alla fissazione.
 - Continuano a segregare invece i geni che vengono «tirati» in direzioni opposte e che quindi non arrivano mai a fissazione
- Per questa ragione la selezione fa fatica ad avanzare

Nel concreto dei numeri....

Brascamp et al. Apidologie 2016

$V(A)_w$	334
$V(A)_q$	174
$Cov(w,q)$	-190
$V(e)$	160
$V(t)$	478
$V(w + q)$	128
h^2_w	0,70
h^2_q	0,36
h^2	0,27
r	-0,79

Varianze della produzione di miele

Sebbene h^2 misurata sulle operaie sia elevata e sia buona anche quella sulle regine, a causa della covarianza negativa tra w e q la varianza utile per la selezione è più contenuta: **0,27**

Un recente lavoro di Andonov et al. stima per i dati italiani una covarianza molto vicina a zero!

1. Parentela tra due individui i e $j = a_{ij}$

Questa sezione analizza le relazioni di parentela nelle particolari condizioni determinate dalla aploidia dei fuchi a dalla poliandria dell'accoppiamento

Verranno analizzate le relazioni di parentela tra due femmine (w oppure q) in diverse situazioni di accoppiamento naturale, senza e con sito di fecondazione:

1. Mezze sorelle materne (stessa madre, fuchi diversi, diversi siti)
2. Sorelle piene (stessa madre, stessi fuchi stesso sito)
3. Mezze sorelle paterne (madri diverse, stessi fuchi nello stesso sito)

Il ragionamento necessario parte dal seguente semplice principio:

Probabilità di geni materni identici in i e $j = \varphi_m$

Probabilità di geni paterni identici in i e $j = \varphi_p$

$$a_{ij} = \frac{\varphi_m + \varphi_p}{2}$$

2. Parentela tra due individui i e $j = a_{ij}$

Due regine (i e j) figlie della stessa madre, ma di padri diversi.

La madre ha genotipo ad es. AB.

La probabilità che le due figlie abbiano entrambe A è $\frac{1}{2} * \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$.

Che abbiano entrambe B è ancora $\frac{1}{4}$. Quindi $\varphi_m = 0,5$.

Mentre $\varphi_p = 0$.

$$a_{ij} = \frac{\varphi_m}{2} = \frac{0,5}{2} = \frac{1}{4} = 0,25$$

Sono mezz sorelle materne: stesso traslarvo, ma fecondate in siti differenti, oppure nello stesso sito da parte di fuchi casuali provenienti dal circondario.

In questo caso è necessario fare un assunto su quanti fuchi in media fecondano una vergine. Qui assumeremo 10 fuchi: $d = 10$

3. Parentela tra due individui i e $j = a_{ij}$

Se una regina si accoppia con 10 fuchi avremo $\frac{1}{10}$ di probabilità che i e j siano figlie di uno stesso fuco (due spermatozoi identici) e $\frac{9}{10}$ di probabilità che gli spermatozoi provengano da fuchi differenti.

Nei due casi φ_p è molto diverso: nel primo è pari a 1, nel secondo è pari a zero:

$$\varphi_p = 1 \times \frac{1}{d} + 0 \times \left(1 - \frac{1}{d}\right)$$

Con 10 fuchi e fecondazione casuale la parentela tra due regine figlie della stessa madre è 0,30. E la parentela dipenderà da d .

d (drone)	$\frac{1}{d}$	$1 - \left(\frac{1}{d}\right)$	φ_p	Parentela media: a_{ij}	
1	1,00	0,00	1,00	0,75	super sorelle
2	0,50	0,50	0,50	0,50	sorelle piene
10	0,10	0,90	0,10	0,30	
15	0,07	0,93	0,07	0,28	
20	0,05	0,95	0,05	0,28	
infiniti	0,00	1,00	0,00	0,25	mezze sorelle

4. Parentela tra due individui i e $j = a_{ij}$

Nuova situazione: la regina viene fecondata in un sito di accoppiamento appositamente istituito.

Nel sito è presente una sola DPQ che satura l'ambiente di fuchi. La DPQ è evidentemente una famiglia che ha dato ottima prova di se per i caratteri desiderati.

La situazione è simile alla precedente ma ora i fuchi (gli spermatozoi) sono prodotti da un normale organismo diploide (la DPQ) e $\varphi_p = 0,5$. Di conseguenza:

$$\varphi_p = 1 \times \frac{1}{d} + 0,5 \times \left(1 - \frac{1}{d}\right) = 0,55$$

Con 10 fuchi e una sola DPQ nel sito di fecondazione la parentela tra due regine figlie della stessa madre è:

$$a_{ij} = \frac{\varphi_m + \varphi_p}{2} = \frac{0,5 + 0,55}{2} = \mathbf{0,525}$$

5. Parentela tra due individui i e $j = a_{ij}$

Ultima situazione (*Carnica*): la regina viene fecondata in un sito di accoppiamento appositamente istituito. Nel sito sono presenti più di una DPQ. Queste DPQ, in numero pari a q , sono tra loro tutte ugualmente parenti in quanto figlie di una stessa madre. La madre, a suo tempo, è stata fecondata in un sito di fecondazione con le stesse caratteristiche del presente (d fuchi per accoppiamento e q DPQ).

$$\varphi_p = \frac{7q + 3d + dq - 3}{2(q + d + 3qd - 1)} = 0,382 \text{ (con } d = 10 \text{ e } q = 3)$$

Quindi con 10 fuchi e 3 DPQ nel sito di fecondazione:

$$a_{ij} = \frac{\varphi_m + \varphi_p}{2} = \frac{0,5 + 0,38}{2} = \mathbf{0,44}$$

6. Parentela tra due individui i e $j = a_{ij}$

Resta da definire la parentela tra i e j quando queste sono figlie di regine diverse ma fecondate nella stessa stazione di fecondazione con le caratteristiche che abbiamo visto. Con formulazioni analoghe, fatti gli opportuni calcoli

$$\varphi_p = \frac{2q + 3d + dq - 2}{2(q + d + 3qd - 1)} = 0,3137 \text{ (con } d = 10 \text{ e } q = 3)$$

Quindi con 10 fuchi e 3 DPQ nel sito di fecondazione:

$$a_{ij} = \frac{\varphi_m + \varphi_p}{2} = \frac{0 + 0,31}{2} = \mathbf{0,157}$$

Bienefeld, Reinhardt, Pirchner (1989) Apidologie 20, 439-450

Bienefeld, Ehrhardt, Reinhardt (2007) Apidologie 38, 77-85

Parentela tra due individui, conclusioni 1

Le stazioni di fecondazione Carnica si basano su **12d** e **8q**. Questo permette di generare un *dummy father* costruendo quindi una genealogia completa.

Carnica: la parentela tra due regine figlie della stessa madre fecondata in stazione è **0,40 (FS)**

Ligustica: situazione FS, ignorando la componente paterna (mancanza di sito di fecondazione); 0,25

Carnica: la parentela tra due regine di madri diverse, ma fecondate nello stesso sito hanno parentela **0,12 (HS)**

Ligustica: situazione HS (mancanza di siti di fecondazione); 0

Se si utilizzassero siti di fecondazione, anche con un numero di DPQ indefinito, ma almeno figlie della stessa unica madre, la parentela sarebbe **0,325 (FS)** e **0,0625 (HS)**

Parentela tra due individui, conclusioni 2

- Senza un sito di fecondazione controllata la matrice **A** di casa nostra è quindi **fortemente sottostimata** e di conseguenza gli indici sono *biased*
- Inoltre senza siti di fecondazione controllata le parentele sono solo materne e quindi sono «entro apicoltore». Ossia gli indici **non sono confrontabili** «tra apicoltori»
- Il problema è in parte corretto dall'uso di Centri di valutazione in cui convergono figlie di più madri
- Per la Ligustica, su www.beebreed.eu (anno 2015) i pedigree hanno per circa $\frac{3}{4}$ solo la madre e per $\frac{1}{4}$ anche la nonna materna. Manca troppa informazione!

Parentela tra due individui, conclusioni 3

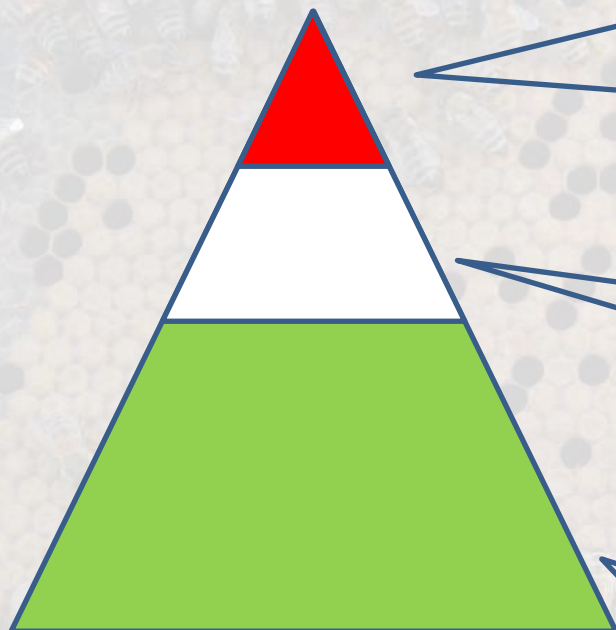
- Il sito di fecondazione quindi, oltre a meglio **connettere** gli apicoltori rispetto ad una stessa base genetica, permette di fecondare un gran numero di ottime VQ con ottimi fuchi generando reale ΔG . Oltre naturalmente a un maggior reddito per i breeder...
- Senza sito di fecondazione e quindi con una genealogia solo materna non avremo mai indicazioni circa **l'incremento di consanguineità**
- Senza un sito di fecondazione è impossibile costruire uno **schema selettivo** efficiente che passa necessariamente attraverso accoppiamenti programmati tra i migliori padri e le migliori madri

Conclusioni 1

- Nella realtà della selezione per la *Carnica* i siti di fecondazione sono pratiche consolidate e standard
- Questo permette di ricostruire relazioni di parentela (**A**) tra tutti gli individui complete e ragionevolmente accurate utilizzando un «*dummy father*»
- Inoltre ogni individuo è riconosciuto grazie ad una identificazione matricolare codificata e standard
- I dati raccolti in campo oltre alle parentele consentono una elaborazione statistica dei caratteri che tiene conto di effetti ambientali e genetici
- Gli indici genetici elaborati per la *Carnica* regolarmente dal 1994 permettono un ΔG di tutto rispetto

Conclusioni 2

- La superiore produttività e qualità della Carnica attira nuovi apicoltori e mette a rischio il mantenimento in purezza di altre razze (i.e. Ligustica), infatti i fuchi volano e fecondano...
- È determinante capire che la difesa della Ligustica passa esclusivamente attraverso una sua **valorizzazione selettiva efficiente**
- Trincerarsi dietro una sua presunta innata superiorità è il presupposto di un fallimento certo
- Il colore chiaro, biondo o cuoio, della ligustica può essere l'effetto di pochi geni... e tutti gli altri?
- Una valorizzazione efficiente garantirebbe tra l'altro un incremento del reddito da genetica (vendita regine) di tutto rispetto



Selezionatori, massima disciplina, ID, Raccolta dati, Siti di fecondazione, BLUP, schema selettivo, produzione di Top Queen per i moltiplicatori

Moltiplicatori, acquistano Top Queen dai selezionatori e producono regine in fecondazione casuale

Produttori, fanno miele non genetica, acquistano se vogliono regine dai moltiplicatori

NB. Un imprenditore capace può sviluppare anche due o tutte e tre le funzioni simultaneamente

Conclusioni 3

- I selezionatori (breeder) dovrebbero
 - Utilizzare un comune metodo di identificazione matricolare e condividere uno schema selettivo preciso
 - Tenere rigorose registrazioni dei caratteri da selezionare con una metodologia comune
 - L'accertamento delle performance può essere fiduciale (affidato allo stesso breeder) oppure basato su «controllori» esterni
 - Disporre attraverso un ente di riferimento (CREA) di valutazioni genetiche periodiche
 - Attivare e mantenere congiuntamente siti di fecondazione controllata

Conclusioni di fantasia...

- Supponiamo 20 breeder coinvolti
- Ciascuno seleziona al suo interno secondo protocolli comuni (ID, obiettivi, dati, schema selettivo...)
- 5 dei 20 breeder attivano altrettanti siti di fecondazione che saturano coi loro fuchi migliori
- Nei siti si fecondano le loro stesse VQ e le VQ di altri breeder che lo desiderano
- Chi non ha un sito feconda le sue VQ in almeno due siti differenti
- In questo modo si stabilisce una connessione ad una stessa base di tutti i breeder che utilizzano i siti (Centri di valutazione inclusi)
- Periodicamente una valutazione genetica BLUP attribuisce un valore genetico agli individui
- Accoppiamenti programmati tra i migliori individui secondo uno schema preciso avviano un virtuoso incremento delle medie dei caratteri selezionati

Conclusioni finali

- Selezionare è un impegno gravoso in termini di tempo, denaro e meticolosa attenzione a quello che si fa
- Non basta la pratica, ci vuole anche la grammatica, cioè conoscenze specialistiche di genetica, teoria della selezione e analisi statistica
- Sono presupposto essenziale per un ΔG sostanzioso:
 - A) Identificazione individuale,**
 - B) Corretta misura del fenotipo con standard comuni**
 - C) Registrazione completa delle genealogie (madri e «padri»)**
 - D) Schema selettivo**

**GRAZIE PER LA
PAZIENZA**

