



SESIUNEA ANIVERSARĂ " 95 DE ANI DE LA ÎNFIINȚAREA ICAR,, București 31 mai 2022

Titlul comunicării:

MORFOMETRIA GEOMETRICĂ – UN INSTRUMENT UTIL IN EVALUAREA MODIFICĂRILOR TEMPORALE ÎN POPULAȚIA DE ALBINE MELIFERE DIN ROMÂNIA

GEOMETRIC MORPHOMETRY - A RELIABLE TOOL IN ASSESSING TEMPORAL CHANGES IN THE ROMANIAN HONEY BEE POPULATION

Autorii: ELIZA CĂUIA

Instituția/Instituții:

Laboratorul de Genetica și Ameliorarea Albinelor, Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru Apicultură, Blv. Ficusului, Nr. 42, Sector 1, 013975 București, Romania. Tel: +40769077408, e-mail: eliza.cauia@icdapicultura.ro

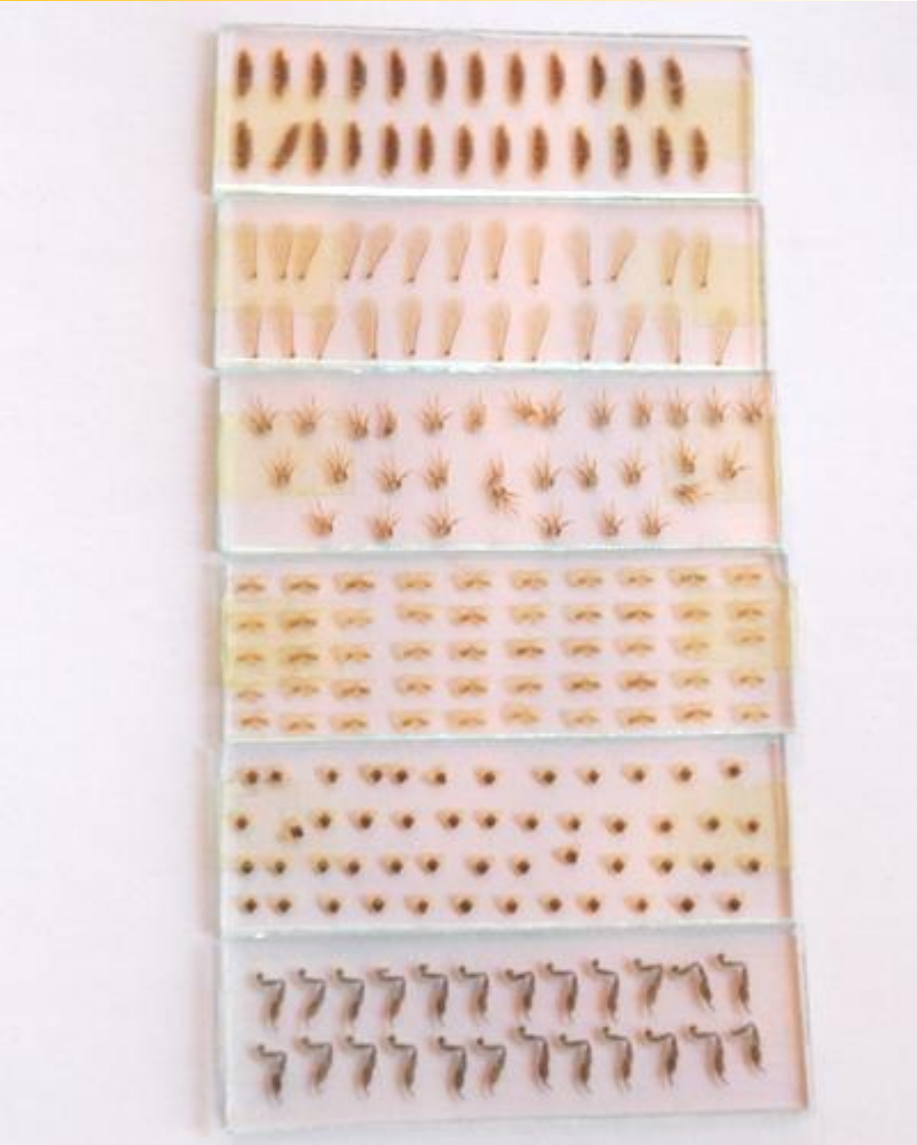
Scurtă introducere

- **Ameliorarea însușirilor valoroase la albine presupune selecția în populație curată**
- **Diversitatea populațiilor de albine (rase și ecotipuri) trebuie protejată întrucât reprezintă resurse genetice valoroase pentru adaptare**
- **Studiile arată ca populațiile de albine locale sunt cele mai adaptate la condițiile locale (mediu, boli) – Büchler, 2014**
- **Hibridarea conduce la metisare rapidă și la dispariția raselor – cu efecte asupra diversității, ameliorării, dar și economice (dependența apicultorilor de material biologic)**
- **Hibridii interraciali la albine, prin vigoarea hibridă, induc în eroare apicultorul privind calitatea materialului biologic**
- **Populațiile de albine sunt populații deschise (imperechere liberă, roire, număr mare de reproducători, etc)**
- **Protecția raselor este o necesitate (trebuie sprijinită prin legislație și educație)**
- **Pentru a le proteja sunt necesare metode de lucru și instrumente în diferențierea raselor. Diverse instrumente s-au dezvoltat de-a lungul timpului: morfometrie (clasică, geometrică), analize genetice.**
- **Morfometria geometrică a aripilor are ca scop evaluarea configurației nervurii aripilor ca amprentă de rasă.**
- **Avantaje:**
 - este o metodă **sigură** de identificare a raselor la albine (chiar și subpopulații/ecotipuri)
 - **nu necesită echipament sofisticat**, putând fi aplicată chiar și de apicultori.
 - **nu presupune o manoperă complexă** așa cum presupune morfometria clasică care se bazează pe un număr mare de măsurători pe multe părți anatomice

Morfometrie clasică

- Cercetările științifice mai vechi privind populația de albine din România (*Apis mellifera carpatica*) prin **MORFOMETRIE CLASICĂ** pe diverse piese anatomice montate pe lame microscopice
- **Publicații la nivel internațional**
 1. **Foti N. și colaboratorii în 1965** prezintă cercetările care stabilesc existența unei populații locale și o denumesc *A.m. carpatica* în prima lucrare științifică:
 - *Researches on morphological characteristics and biological features of the bee population in Romania. In Proceedings of the XXth Jubiliar International Congress of Beekeeping Apimondia, Bucharest, Romania, 15–18 February 1965; pp. 171–176*
 2. **Ruttner F., 1988**, conturează distribuția raselor în lume (consideră că în România există 2 rase *A.m. carnica* și *A.m. macedonica*). Nu prezintă studii proprii, baza o reprezintă un număr de probe foarte mic, nu ia în calcul decât 13 variabile din 36 (fără indice cubital).
 - *Biogeography and Taxonomy of Honeybees, Springer Verlag, Berlin*

Colecția istorică de probe de albine pentru studii morfometrice existentă la nivel de ICDA - 1982-1997



Articol științific - morfometrie geometrică pe aripă

10 iunie **2021** - <https://doi.org/10.3390/insects1206054>

Jurnalul **Insects** (factor de impact 2.769), volum 12, no. 6: 542

Titlu: **Historical changes in honey bee wing venation in Romania** (Evoluția temporală a nervurilor aripilor la albinele melifere din Romania)

Primautor și autor corespondent: **Tofilski Adam** (Departmentul de Zoologie și Bunăstare a Animalelor, Universitatea de Agricultură din Cracovia),

Coautori din Romania: **Eliza Căuia, Adrian Siceanu, Gabriela O. Vișan, Dumitru Căuia** (Institutul de Cercetare Dezvoltare pentru Apicultură).

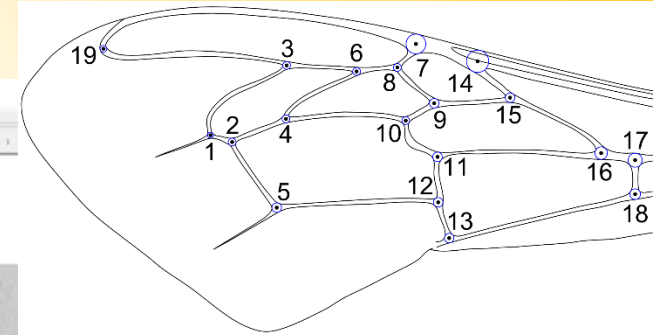
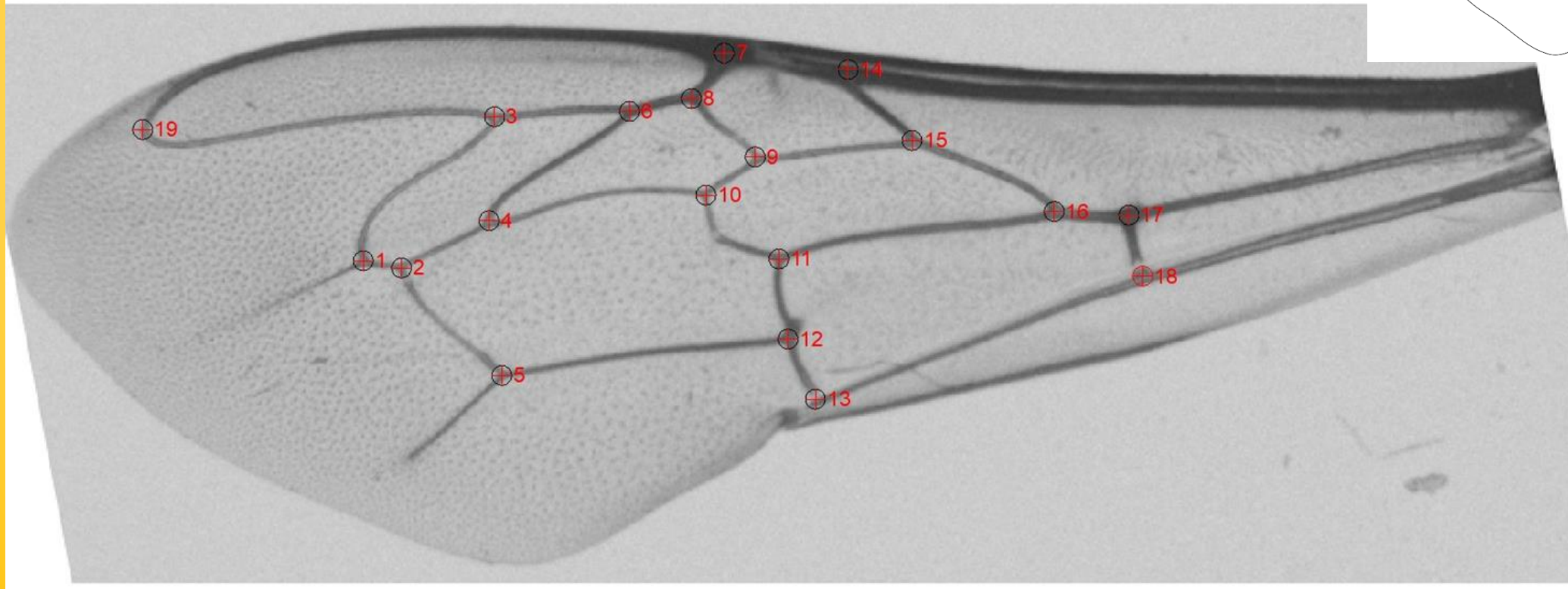
The screenshot shows the MDPI Insects journal article page. At the top, there is a navigation bar with links for Journals, Information, Author Services, Initiatives, and About, along with Sign In / Sign Up and Submit buttons. Below this is a search bar with fields for Title / Keyword, Author / Affiliation, and a dropdown menu for Insects, followed by a Search button and an Advanced search option. The breadcrumb trail reads: Journals / Insects / Volume 12 / Issue 6 / 10.3390/insects12060542. The article title is "Historical Changes in Honey Bee Wing Venation in Romania", marked as Open Access. The authors listed are Adam Tofilski, Eliza Căuia, Adrian Siceanu, Gabriela Oana Vișan, and Dumitru Căuia. The article is published in Insects 2021, 12(6), 542. The journal logo and "insects" branding are visible on the left side of the page.

Proiecte de cercetare:

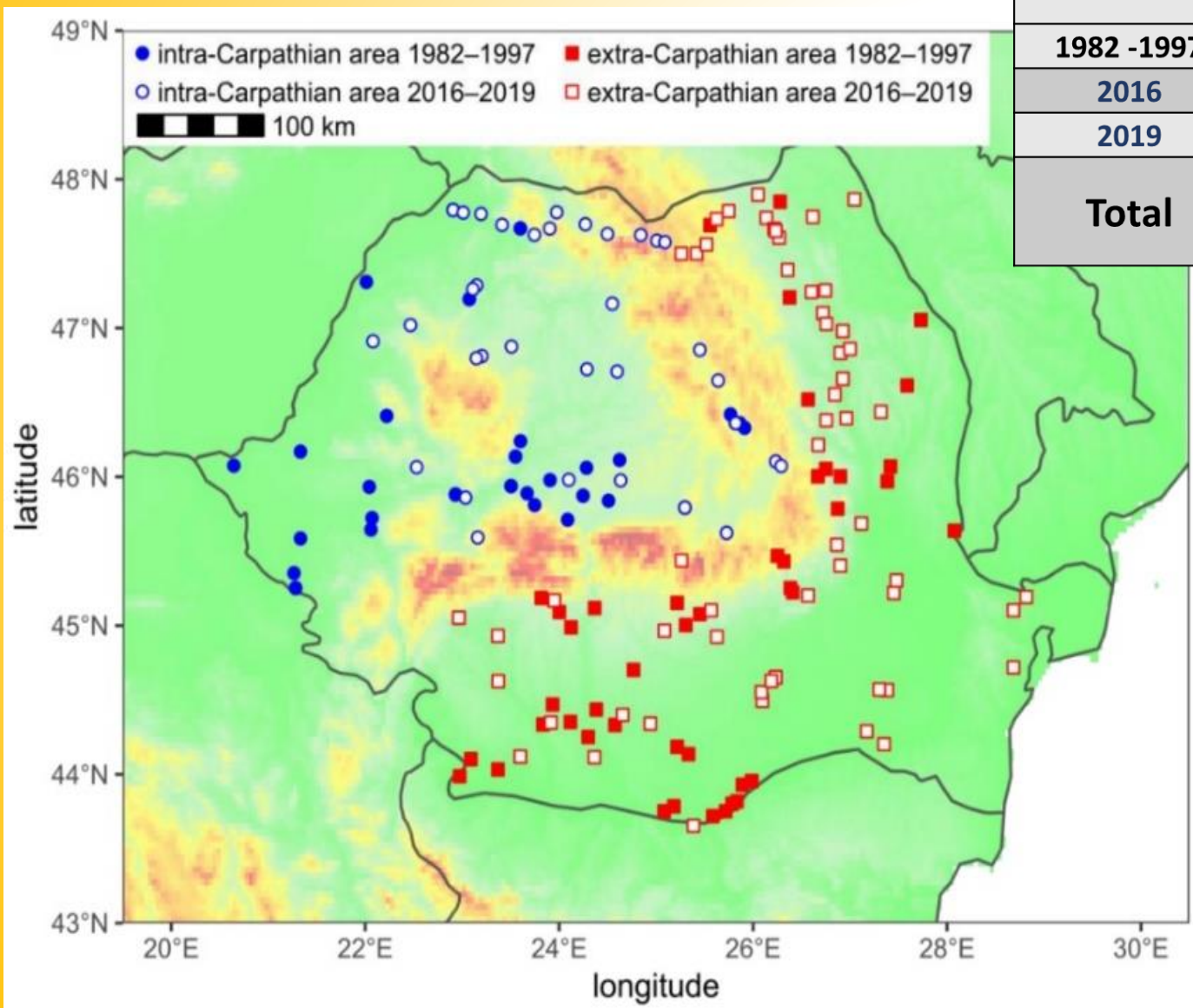
1. Proiectul european Smartbees – grant nr 613960/ 2014-2018
2. Proiectul ADER 9.1.1 finanțat de MADR 2015-2018

Metoda de lucru:

- **Aripa reprezintă o amprentă** de identificare a speciilor si raselor (chiar și subpopulații ale raselor)
- **Morfometria geometrică** a aripilor albinelor prin măsurare automată a configurației nervurii aripii anterioare prin 19 puncte
- **Instrument: Programul Drawing-Identify** dezvoltat de profesorul Adam Tofilski de la Universitatea de Agricultură din Cracovia: <http://drawing.org/identify>



Material biologic utilizat în studiu



Anul	Număr de probe de albine din:		Număr de aripi analizate din:	
	Zona intra-Carpatica	Zona extra-Carpatica	Zona intra-Carpatica	Zona extra-Carpatica
1982 -1997	52	50	1813	1676
2016	24	40	660	1138
2019	12	19	514	697
Total	88	109	2987	3511
	197		6498	

Figura 1. Harta provenienței probelor de albine marcată prin puncte, colorate în roșu (arealul extracarpatic) și albastru (arealul intracarpatic). Culorile de fundal de la verde la roșu indică nivelul de elevație al reliefului.

Analize efectuate

Variabile

- Forma și mărimea aripii+ indice cubital (19 repere, 38 variabile, rezoluția imaginilor 2400 dpi)

Grupe:

- Areale: intra și extracarpatic
- Perioade de colectare probe: istorică - 1982-1997 și contemporană - 2016-2019

Referințe:

A. m. carnica și *A. m. macedonica*.

Factori de influență:

- Temperatura anuală: de peste și de sub 9°C (<http://www.worldclim.org/>)
- Altitudine, latitudine, longitudine

Metode de statistică și software:

- analiza generalizată Procrustes (aliniera de coordonate a reperelor)
- analiza componentelor principale, analiza multivariată a varianței (MANOVA) (forma aripii)
- logaritm natural al mărimii centroidului (mărimea aripii)
- Centroidul=rădăcina pătrată a sumei distanțelor pătrate dintre centrul aripii și reperele sale
- regresia multivariată (relația dintre forma aripii și altitudine, latitudine, longitudine și temperaturile anuale)
- corelația Pearson (relația univariată, de ex. temperatura și latitudinea)
- analiza de varianță (ANOVA) – mărimea aripii și indicele cubital
- analiza canonică (CVA) / distanțe Mahalanobis – diferențe între grupe
- programul MorphoJ 1.06software-ul Past 3.11
- Statistica v. 13
- <http://drawing.org/identify> versiunea 1.6 sau mai avansată

Rezultate

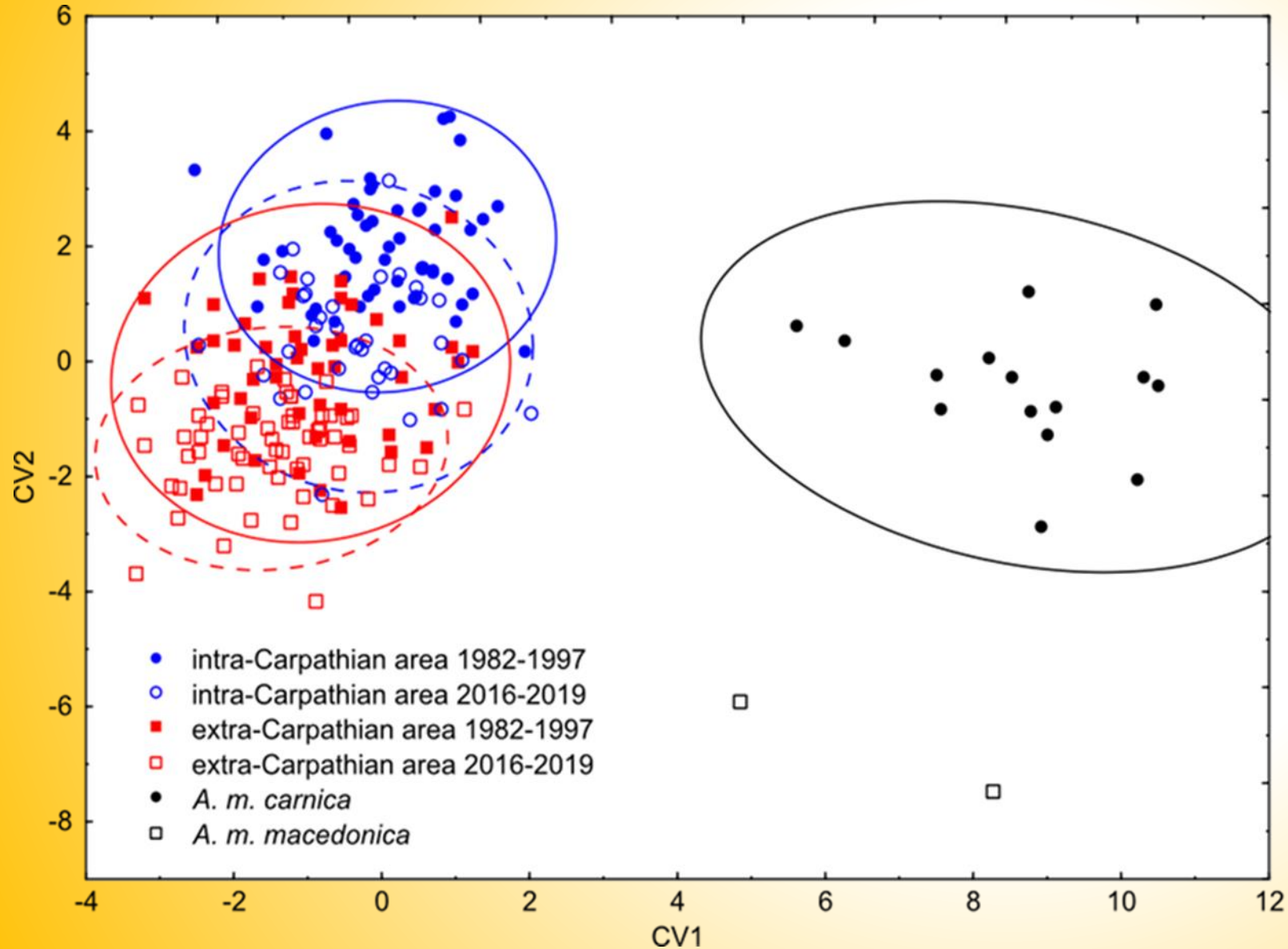


Figura 2. Diferențele privind forma (configurația) aripilor, dintre probele colectate, grupate pe areale și perioade, și probele de referință prin utilizarea metodei de analiză canonică a variației mărimii aripilor.

Diferențe foarte semnificative:

- între populația de albine din România și rasele de referință *A.m. carnica* și *A.m. macedonica*

Diferențe semnificative:

- între probele din cele două areale: intra și extracarpatic
- Între probele din cele două perioade 1982-1997 și 2016-2019

Rezultate

Grupe de probe de albine colectate din/perioada:	Arealul intracarpatic/ 1982-1997	Arealul extracarpatic/ 1982-1997	Arealul intracarpatic/ 2016-2019	Arealul extracarpatic/ 2016-2019	Referința <i>A. m. carnica</i>	Referința <i>A. m. macedonica</i>
Arealul intracarpatic/1982-1997		***	***	***	***	***
Arealul extracarpatic/1982-1997	9.28		***	***	***	***
Arealul intracarpatic/2016-2019	6.92	11.59		***	***	***
Arealul extracarpatic/2016-2019	15.68	7.79	8.00		***	***
Referința <i>A. m. carnica</i>	81.03	96.22	85.33	104.45		***
Referința <i>A. m. macedonica</i>	151.34	135.31	140.40	136.41	92.67	

Tabel 1. Distanțele Mahalanobis la pătrat (triunghiul inferior) între grupele investigate și semnificația comparațiilor de perechi (triunghiul superior). *** — $p < 0.0001$.

Diferențele dintre probele intra- și extracarpatică colectate înainte de anul 2000 (9.28) sunt mai mari față de cele dintre probele de dată mai recentă (8.00). aceste diferențe au fost mai mari decât diferențele dintre probele mai vechi și mai noi, dintre cele două zone studiate (6.92, respectiv 7.79)

Rezultate

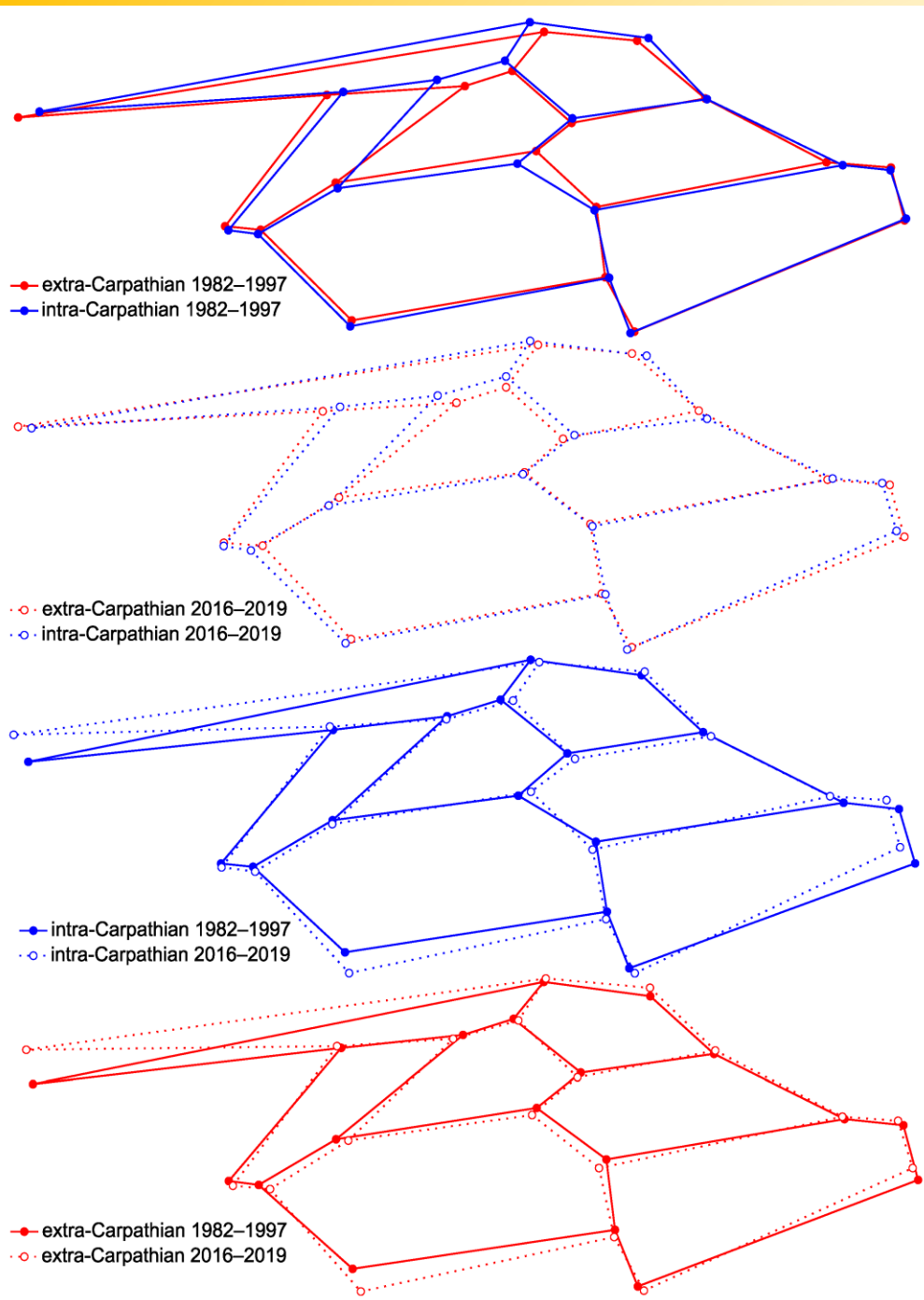
Figura 3. Diferențele dintre grupele de probe de albine intra- și extracarpatică colectate în anii 1982–1997 și 2016–2019. Diferențele au fost mărite de 5 ori.

Diferențele dintre probele provenite din cele două zone (intra- și extracarpatică) sunt localizate mai mult în partea de mijloc și în cea anterioară a aripii.

Diferențele dintre probele mai vechi de anul 2000 față de cele mai noi s-au identificat în partea distală, posterioară și proximală a aripii

S-a stabilit o relație semnificativ pozitivă între:

- forma aripii și latitudine (regresia multivariată: Wilks' lambda = 0.39, $p < 0.0001$),
- forma aripii și longitudine (regresia multivariată: Wilks' lambda = 0.60, $p < 0.0001$)
- forma aripii și altitudine (regresia multivariată: Wilks' lambda = 0.69, $p = 0.0011$)
- forma aripii și temperatura medie anuală (regresia multivariată: Wilks' lambda = 0.62, $p < 0.0001$)



Rezultate

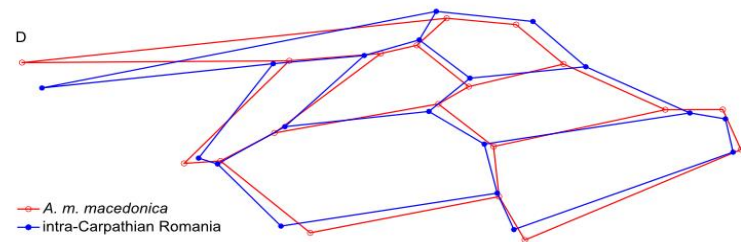
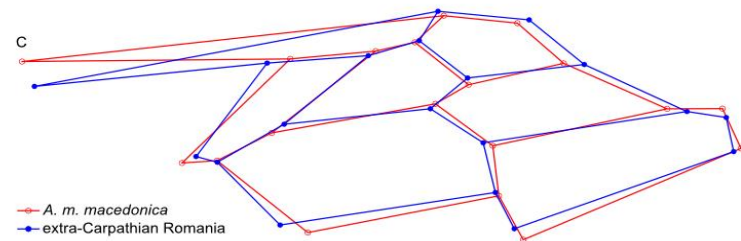
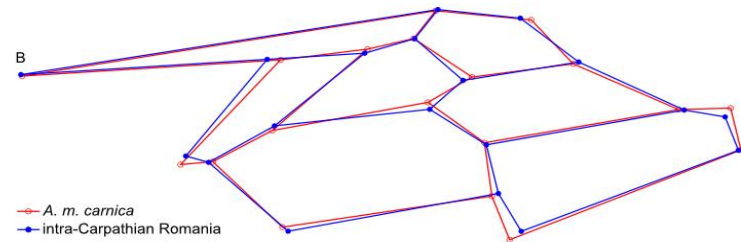
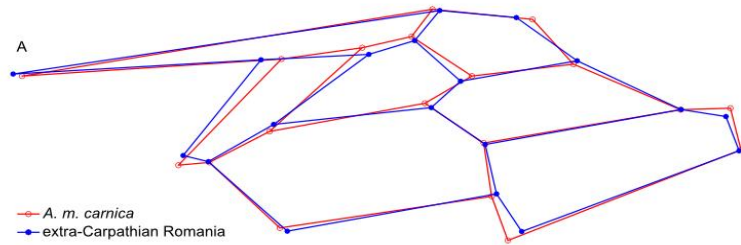


Figura S2: Diferențele dintre aripi în probele grupate în funcție de arealul de proveniență din România (intracarpatic și extracarpatic) și rasă (*A. m. carnica* și *A. m. macedonica*). Diferențele au fost mărite de 5 ori.

Diferențe foarte semnificative între *A.m. carpatica* și rasele de referință: *A.m. carnica* și *A.m. macedonica*.

Rezultate

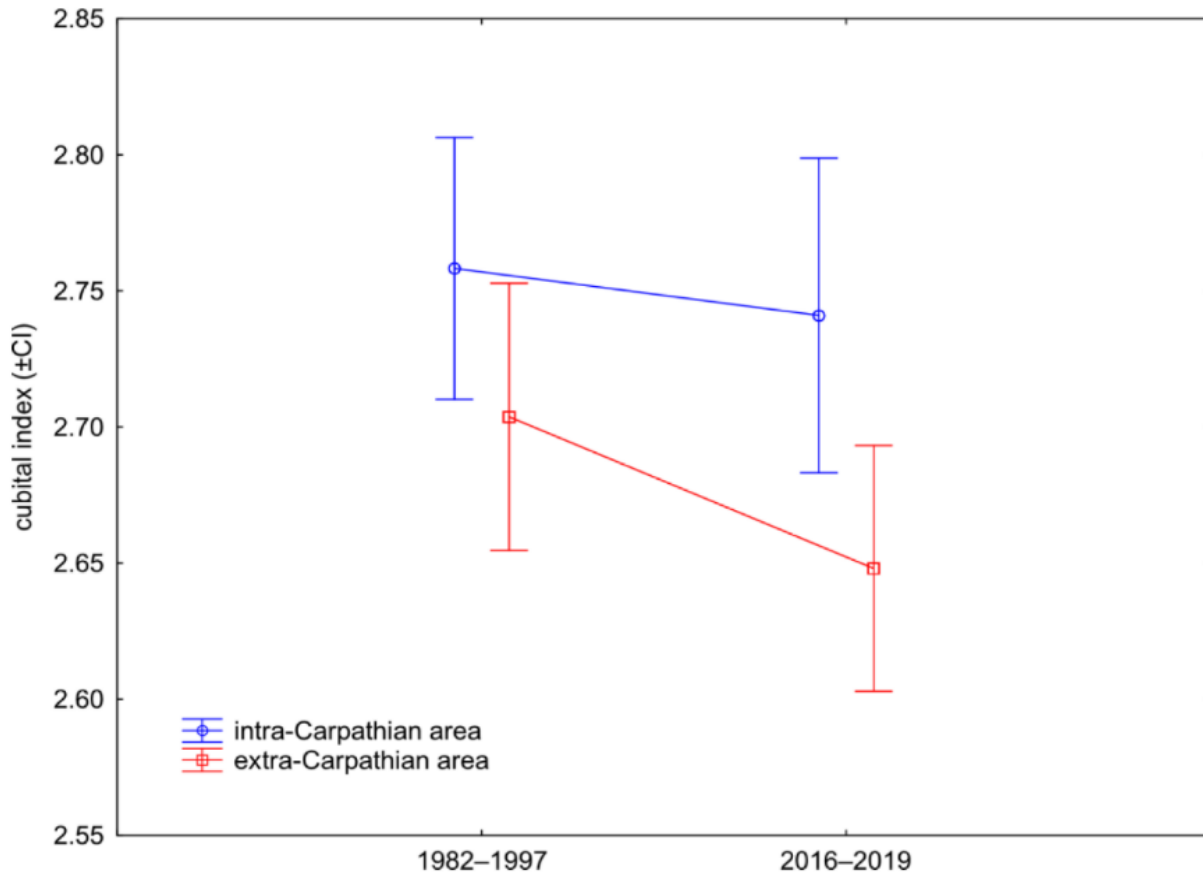


Figura 4. Diferențele privind indicele cubital (interval de încredere $\pm 95\%$) între cele două areale (intra- și extra-carpatic) și între cele două perioade (1982–1997 și 2016–2019).

Indicele cubital a fost diferit în mod semnificativ între cele două areale intra- și extracarpatic;

Nu s-au înregistrat diferențe semnificative între albinele colectate înainte și după anul 2000

Rezultate

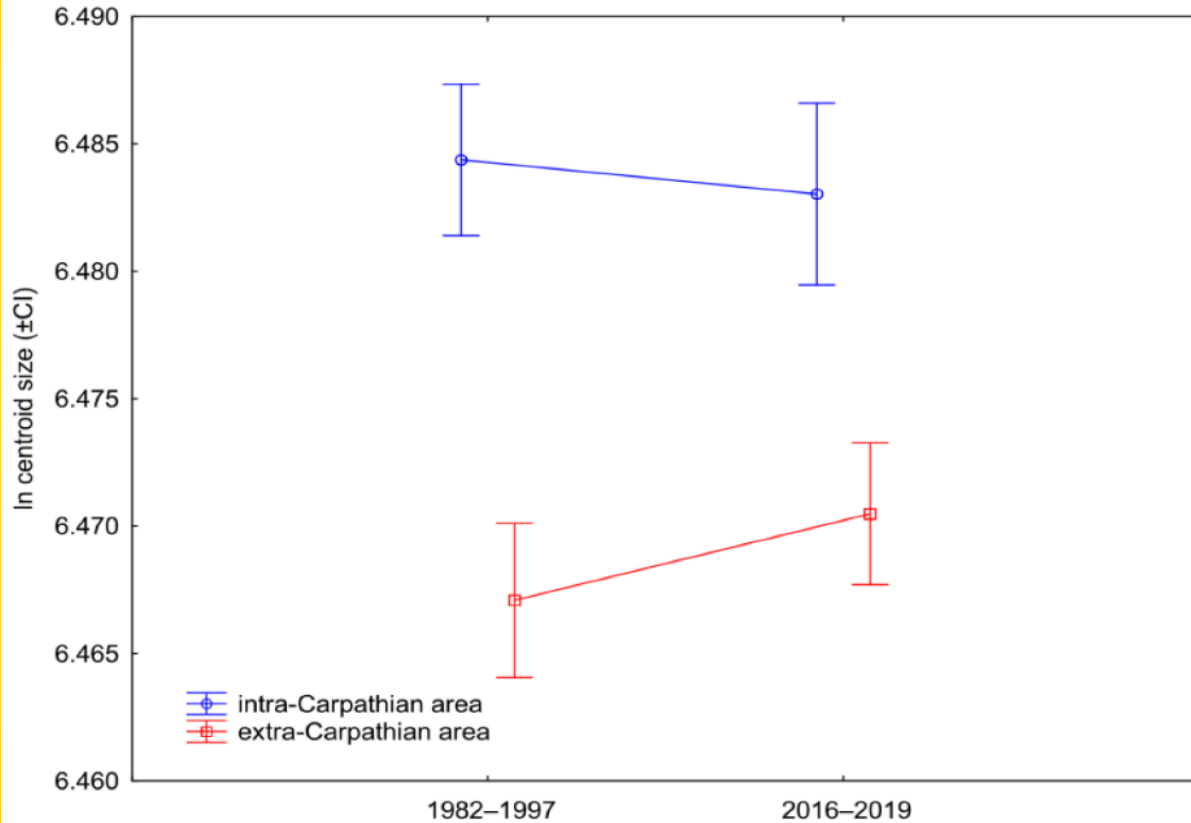


Figura 5. Diferențe privind mărimea aripii (interval de încredere $\pm 95\%$) între probele colectate din cele două areale (intra- și extracarpatic) și între probele colectate în cele două perioade (1982-1997 și 2016-2019).

Mărimea aripii (reprezentată de mărimea centroidului) a fost semnificativ diferită între cele două areale intra- și extracarpatic

Mărimea aripii a fost nesemnificativ diferită între probele istorice și cele mai recente

Rezultate

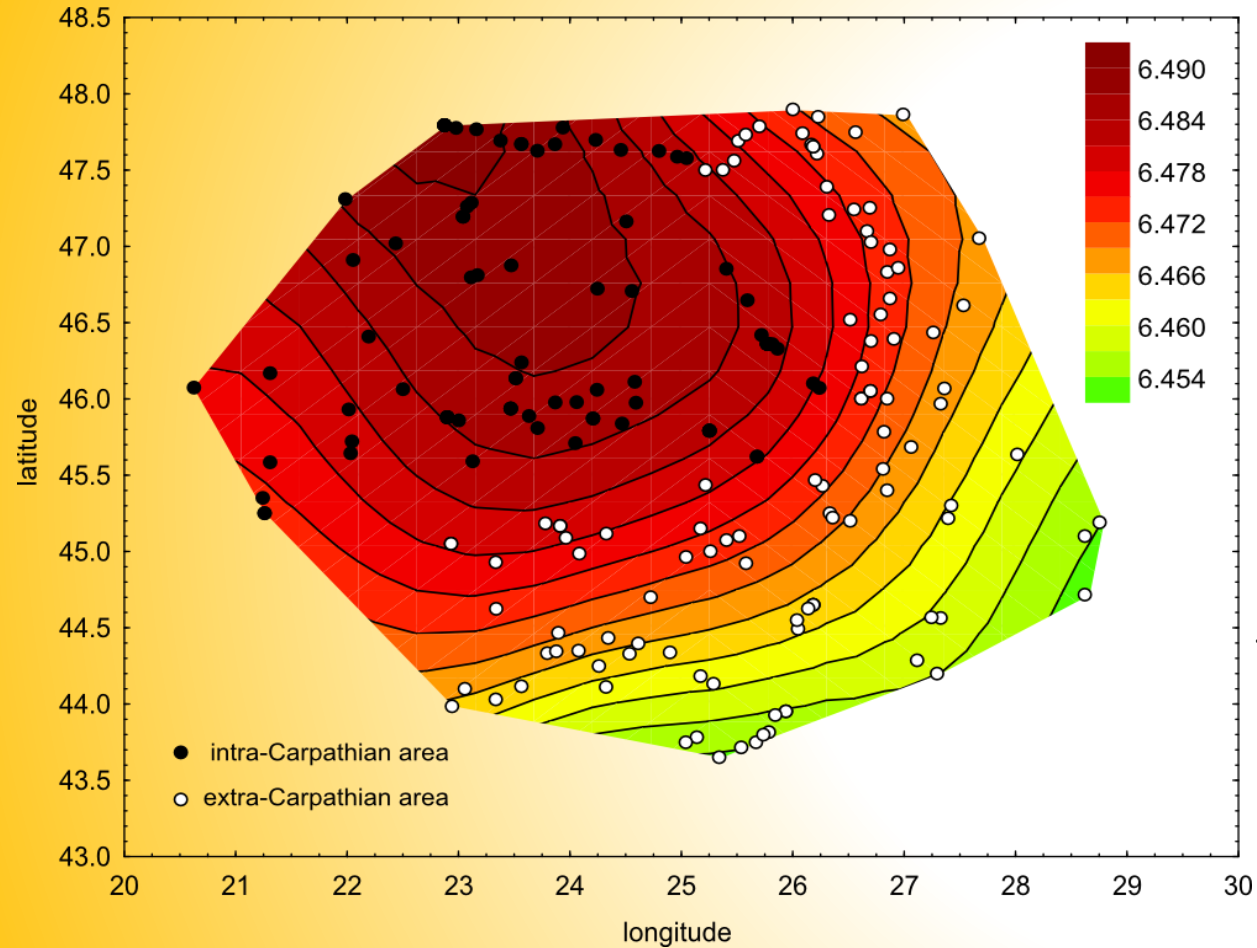


Figura 6. Mărimea aripii interpolată cu longitudinea și latitudinea. Culoarea de la verde la roșu reprezintă valoarea logaritmică a mărimii centroidului.

Mărimea aripii s-a corelat pozitiv cu latitudinea și altitudinea;

Mărimea aripii s-a corelat negativ cu longitudinea și cu temperatura medie anuală.

Rezultate și concluzii

1. Lucrarea de față reprezintă **primul studiu comparativ pe albina românească** care utilizează **metoda de morfometrie geometrică pe aripa anterioară** la albine;
2. **Configurația nervurii aripilor anterioare (forma aripii) s-a schimbat semnificativ în ultimele patru decenii, dar aceste modificări nu a modificat structura taxonomică unitară a populației locale – *A. m. carpatica*, fiind astfel reconfirmată existența rasei**; cea mai probabilă explicație a acestor modificări este introducerea de albine din afara țării, de către apicultori, albine care s-au hibridizat cu cele autohtone; în ciuda modificărilor temporale observate, albina locală *A. m. carpatica* este relativ bine conservată
3. S-a observat și o oarecare **omogenizare a formei aripilor în zona de studiu**, care ar putea fi explicată de transportul în pastoral și de comerțul cu mătci;
4. Rezultatele prezentate arată că **este necesară revizuirea la nivel internațional a conceptului distribuției raselor la albine (Ruttner, 1988)**, rasa *A. m. carpatica* fiind o unitate taxonomică distinctă de alte rase din regiune (*A.m. carnica* și *macedonica*)
5. Prin probele studiate **s-au putut pune în evidență și două ecotipuri (subpopulații)** – din cele două areale, intracarpatic și extracarpatic, pentru care s-au realizat referințele;
6. **Pentru identificarea albinelor din România este necesar să se utilizeze software-ul IdentiFly** (<http://drawwing.org/identify>), în conformitate cu explicațiile furnizate de Nawrocka et al, 2018. Datele de identificare cu privire la acest studiu au fost incluse în cele două fișiere: “*apis-mellifera-carpatica-classification.dw.xml*” și “*apis-mellifera-carpatica-subpopulation-classification.dw.xml*”. Primul fișier permite diferențierea dintre *A. m. carpatica* și alte rase din linia filogenetică C și din liniile A, M și O. Cel de-al doilea fișier permite diferențierea dintre subpopulațiile intracarpatică/extracarpatică ale rasei *A. m. carpatica* și rasa *A. m. carnica*.
7. **La nivel de ICDA există aparatura și s-a realizat o procedură internă pentru analize**. Pentru a limita erorile se recomandă utilizarea de către personal specializat