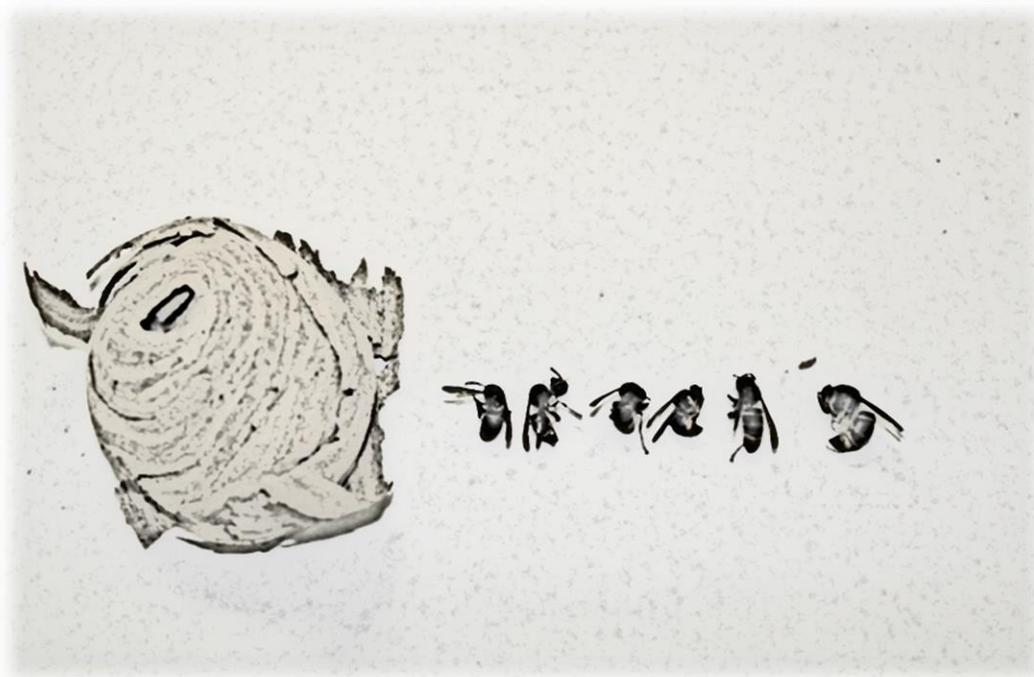


Progetto LIFE14 NAT/IT/001128 STOPVESPA
Realizzato con il contributo dello strumento LIFE della Commissione Europea



“Modello di sviluppo delle colonie di *Vespa velutina*” Azione C.3

***“Final version of the Vespa velutina
colony development model” Action C.3***



Luglio 2019



**POLITECNICO
DI TORINO**



Indice

<i>Introduzione</i>	3
<i>Ciclo biologico di Vespa velutina</i>	3
<i>Analisi sullo sviluppo delle colonie di Vespa velutina</i>	5
<i>Raccolta dei nidi</i>	5
<i>Analisi morfometriche</i>	6
<i>Analisi e quantificazione della popolazione dei nidi secondari</i>	7
<i>Stima della popolazione dei nidi secondari attraverso il metodo dei polinomi</i>	9
<i>Metodi di valutazione dello stato di attività di una colonia: indice di attività</i>	10
<i>Andamento stagionale della popolazione di immaturi e della dimensione del favo</i>	12
<i>Analisi della correlazione specifica dimensionale</i>	14
<i>Regine multiple in nidi primari</i>	17
<i>Conclusioni</i>	18
<i>Bibliografia</i>	19

Autori del report: Davide Cuttini, Aulo Manino, Daniela Laurino, Luca Carisio, Ettore Bianchi, Simone Lioy, Sandro Bertolino, Marco Porporato.

Citazione consigliata: Cuttini D, Manino A, Laurino D, Carisio L, Bianchi E, Lioy S, Bertolino S, Porporato M (2019) Modello di sviluppo delle colonie di *Vespa velutina* - Azione C.3. *Progetto Europeo LIFE14 NAT/IT/001128 STOPVESPA*. 19 pp.

Introduzione

Le specie aliene invasive possono provocare ingenti danni socio-economici e alla biodiversità indigena (European Union 2014). *Vespa velutina*, detta anche calabrone asiatico a zampe gialle, è una specie aliena invasiva introdotta in Francia nel 2004 che provoca danni all'apicoltura e alle comunità di insetti selvatici soggetti alla sua attività predatoria; inoltre, le sue punture possono essere pericolose per la salute umana in particolar modo per i soggetti allergici (Monceau et al. 2014). *V. velutina* si è ormai diffusa in gran parte dell'Europa continentale, insediandosi dal 2012 anche in Italia (Porporato et al. 2014). L'efficacia e la velocità di espansione di *V. velutina*, oltre ad essere imputabile alla sua capacità di dispersione, è connessa, come per altre specie di insetti invasivi, al tasso di crescita (nascite e morti) della popolazione (Sakai et al. 2001).

I danni provocati da *V. velutina* richiedono l'ideazione di piani di gestione e contenimento. Tali piani, per le specie invasive, richiedono di "conoscere il proprio nemico", ossia approfondire le conoscenze sulla biologia e sulle modalità di dispersione in modo da strutturare piani di contenimento specie-specifici. Dall'introduzione di *V. velutina* in Europa ad oggi, sono stati condotti alcuni studi volti ad approfondire le conoscenze relative alla biologia della specie nell'areale di introduzione (Villemant et al. 2011; Monceau et al. 2014; Rome et al. 2015; Monceau et al. 2017), tuttavia alcuni aspetti necessitano di ulteriori approfondimenti.

V. velutina ha un ciclo biologico simile a quello di altri imenotteri sociali appartenenti alla famiglia dei Vespidae. Gli individui sono organizzati in colonie con una suddivisione in casta di adulti fertili (regina e maschi) e casta sterile (operaie); ognuna di queste caste svolge compiti propri all'interno della colonia. I nidi di *V. velutina* rappresentano il fulcro della loro vita sociale, di conseguenza una loro analisi approfondita può fornire informazioni utili per comprendere meglio lo stato di sviluppo della colonia ed elementi utili per ideare piani di contenimento efficaci.

Ciclo biologico di *Vespa velutina*

Il ciclo biologico annuale di *V. velutina* (Fig. 1) inizia in primavera: le regine fondatrici sopravvissute all'inverno, circa a partire dal mese di marzo¹, costruiscono un nido primario cartaceo delle dimensioni di una palla da tennis. In questa prima fase, la regina, da sola, si occupa della costruzione del nido, della deposizione delle uova di operaie e di nutrire la prole.

Al raggiungimento dello stadio adulto del primo gruppo di operaie, la colonia, regina inclusa, può costruire un nuovo nido (definito in questo caso nido secondario), spesso collocato in un'altra posizione, solitamente più sopraelevata. Se il luogo di fondazione del nido primario risulta invece idoneo a proseguirne lo sviluppo, la colonia continuerà ad ampliare il nido costruito inizialmente dalla regina (Rome et al. 2015). I nidi secondari o quelli sviluppati nella posizione iniziale ospiteranno la famiglia di calabroni per il resto della stagione fino al sopraggiungere dell'inverno. Dopo la comparsa delle prime operaie la regina si occupa esclusivamente della ovo-deposizione.

¹ Il periodo di inizio di costruzione del nido varia in relazione alle condizioni climatiche.

Le operaie, invece, si occupano della costruzione del nido e delle cure parentali alla covata. Nel corso della stagione il nido aumenta di dimensione acquisendo una forma tonda o allungata caratteristica.

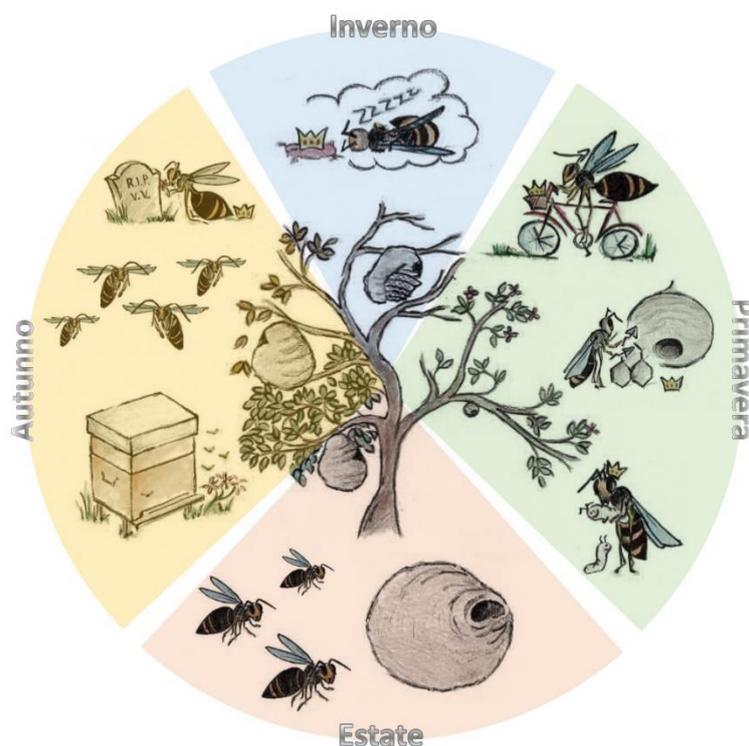


Figura 1. Ciclo biologico di *V. velutina*: in primavera viene fondato il nido e allevata la covata ad opera della regina fondatrice; in estate viene ampliato il nido e la colonia cresce di dimensioni; in autunno si constata la massima attività predatoria sugli alveari e la nascita dei riproduttori; in inverno la colonia collassa e le nuove regine svernano in luoghi riparati in uno stato di diapausa.

A partire da settembre compaiono i primi adulti fertili, i maschi, e successivamente le regine vergini. I maschi provvedono alla fecondazione delle nuove regine per poi morire. Il nido viene progressivamente abbandonato dalle regine da poco nate che, una volta fecondate, cercheranno un luogo dove svernare, mentre le operaie e la regina dell'anno muoiono progressivamente. Il nido si spopola definitivamente in inverno e non sarà riutilizzato. Il ciclo ripartirà nella primavera successiva, ad opera delle numerose regine svernanti nate da ogni colonia dell'anno precedente.

Internamente, il nido di *V. velutina* è costituito da favi orizzontali di materiale cartaceo, collegati tra loro da pilastri dello stesso materiale. I favi comprendono un numero variabile di cellette di forma esagonale nelle quali vengono deposte le uova da parte della regina e allevate le larve. I favi sono rivestiti da un involucro cartaceo impermeabile, con funzione protettiva dalle intemperie, dai predatori e dagli sbalzi di temperatura. Nella fase iniziale il nido contiene un solo favo, ma in base allo sviluppo della colonia può raggiungere, al termine della stagione, una dimensione tale da contenere fino a 11 favi.

Le larve si sviluppano nelle celle del nido con l'alimentazione fornita loro dagli adulti. Dopo circa 15 giorni la larva tesse un bozzolo e si trasforma in pupa per ultimare il suo sviluppo e raggiungere in ulteriori 20 giorni circa lo stadio adulto (Archer 2010).

Analisi sullo sviluppo delle colonie di Vespa velutina

Nel periodo 2015-2019, il progetto LIFE STOPVESPA (LIFE14 NAT/IT/001128 STOPVESPA “*Spatial containment of Vespa velutina in Italy and establishment of an Early Warning and Rapid Response System*”) ha raccolto in varie località della Liguria 160 nidi di *V. velutina*, al fine di incrementare le conoscenze sullo sviluppo delle colonie. In questo lavoro vengono presentati i risultati delle analisi effettuate sui nidi raccolti nell’attività di progetto e sono elaborati alcuni modelli utili per fornire maggiori informazioni sulle modalità di sviluppo delle colonie di *V. velutina* nella Liguria di ponente.

Raccolta dei nidi

Osservare in natura le attività svolte dalle colonie di *V. velutina* all’interno del nido per l’allevamento della prole è di difficile realizzazione, in quanto i favi nei quali vengono allevati gli individui in stato pre-immaginale (larve e pupe) sono ricoperti dall’involucro cartaceo che avvolge totalmente il nido. Il metodo più agevole per conoscere lo stadio di sviluppo di un nido è la neutralizzazione degli individui della colonia e il prelievo del nido stesso per una successiva analisi in laboratorio. Questa metodologia permette di valutare lo stato di sviluppo al momento del prelievo della colonia di *V. velutina*.

Dei 160 nidi di *V. velutina* prelevati in Liguria, 25 raccolti fra settembre 2015 e marzo 2016 (nidi costruiti nell’anno 2015), 60 fra aprile 2016 e marzo 2017 (nidi costruiti nell’anno 2016), 55 fra aprile e dicembre 2017, 20 fra marzo 2018 e luglio 2019, le indagini sono state condotte in laboratorio su 142 nidi che erano pervenuti in un buono stato di conservazione; di questi 47 sono risultati essere nidi primari e 95 nidi sviluppati. Essendo i nidi primari di piccole dimensioni e spesso abbandonati, non sono stati utilizzati per le successive analisi.

Dopo essere stati neutralizzati e prelevati, i nidi sono stati sigillati e trasportati presso i laboratori del Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari di Torino e conservati ad una temperatura di -10 °C. Le descrizioni morfometriche dei nidi sono state ottenute dall’analisi dei 95 nidi sviluppati, mentre le valutazioni relative al modello di sviluppo della colonia sono basate su 72 di questi nidi secondari.

Analisi morfometriche

Per le analisi morfometriche dei nidi di *V. velutina*, sono state registrate le seguenti caratteristiche:

1. *Peso del nido*, escludendo il peso di eventuali rami su cui il nido è stato costruito;
2. *Altezza*: corrisponde alla misura della verticale compresa fra il punto più basso e quello più alto del nido;
3. *Larghezza*: corrisponde al diametro maggiore della sezione di maggiore superficie del nido, considerando solo le sezioni perpendicolari rispetto all'altezza del nido;
4. *Circonferenza* maggiore del nido: perimetro della sezione orizzontale di maggiore lunghezza;
5. *Posizione del foro di entrata*: distanza dalla cima e dalla base del nido misurata rispetto alla verticale;
6. *Dimensione del foro di entrata*;
7. *Spessore del rivestimento esterno* in coincidenza della base, della sommità, della circonferenza maggiore e del foro di entrata.

I dati relativi alle caratteristiche morfometriche sono presentati in Tabella 1.

Tabella 1. Parametri morfometrici medi, massimi e minimi dei nidi secondari analizzati

Parametri	Caratteristiche generali del nido				Caratteristiche del foro d'accesso				Spessore del rivestimento			Caratteristiche e interne	
	Peso (g)	Altezza (cm)	Larghezza (cm)	Circonferenza (cm)	Distanza dal fondo (cm)	Distanza dalla sommità (cm)	Diametro massimo (cm)	Diametro minimo (cm)	Superiore (cm)	Intermedio (cm)	Inferiore (cm)	N° favi	N° celle totali
Media	1177	36,8	35,3	109,7	25,6	19,6	3,5	3,0	13,8	3,6	5,4	4,9	2982
Dev. ST.	1103	14,4	12,5	32,8	11,6	10,6	2,3	2,1	9,0	1,5	3,8	2,3	3254
Minimo	72	7,4	8,3	25,0	5,0	4,0	1,1	0,9	2,2	0,8	1,3	1	16
Massimo	3600	64,5	58,0	168,0	52,0	41,0	10,5	9,5	33,5	7,2	20,0	10	12919

Analisi e quantificazione della popolazione dei nidi sviluppati

Una volta rimosso il rivestimento esterno dei nidi, i favi sono stati analizzati per valutare lo sviluppo della colonia e la dimensione della popolazione. Ogni favo è stato numerato secondo un ordine numerico progressivo: il numero 1 corrispondente al favo posizionato più in basso, e quindi a quello di più recente costruzione, mentre al favo posto sulla sommità del nido, ovvero quello più vecchio che ha segnato l'inizio della costruzione del nido, è stato assegnato il numero più alto. Il numero dell'ultimo favo corrisponde anche al numero totale di favi presenti all'interno del nido.

I favi hanno una forma ellissoidale. Per ognuno di questi sono stati determinati la misura del diametro maggiore, di quello minore e il numero di celle. Il conteggio delle celle è stato effettuato attraverso un'analisi fotografica dei favi con il software ImageJ. È stato quindi conteggiato il numero di individui in stadio pre-immaginale presente per ognuno dei favi, suddividendoli in base allo stadio di sviluppo (uovo, larva e pupa). Per determinare il numero di individui adulti nati da ogni favo è stato effettuato il conteggio dei meconi. Il meconio è il residuo delle feci lasciate dalle larve prima di passare allo stadio di pupa (Fig. 2).



Figura 2. Sezione di favo di *V. velutina* con meconi visibili al fondo delle cellette.

I Vespidae non puliscono il fondo della cella dal meconio, ma possono continuare ad utilizzare la cella fino a quando questa sarà piena di residui e quindi non più utilizzabile. Osservando le celle è possibile distinguere il numero di meconi presenti, che corrispondono al numero di individui che vi si sono sviluppati. In ogni cella di *V. velutina* possono essere allevati in tempi successivi fino a 4 individui. Il conteggio del numero di meconi per singola cella è un'operazione che richiede molto tempo, di conseguenza il numero totale di meconi per favo è stato stimato a partire dal conteggio del numero di meconi presenti sulla diagonale maggiore del favo, assumendo che il numero medio di meconi (*mec*) per cella presenti in corrispondenza della diagonale sia uguale al numero medio di meconi del favo stesso. Moltiplicando il *mec* medio per favo per il numero di celle del singolo

favo è stato ottenuto il numero di *mec* totale per favo. Sommando i *mec* del favo con il numero di individui allo stadio di larva e uova contati per ognuno dei favi è stata ottenuta la stima totale della popolazione di 72 nidi secondari. I dati relativi alla popolazione media dei nidi, a secondo del mese in cui questi sono stati prelevati, mostrano un continuo aumento della popolazione con l'avanzare della stagione (Tab. 2). Fanno eccezione Il mese di settembre, dicembre e febbraio per i quali è stato registrato un numero medio di individui inferiore al mese precedente.

Tabella 2. Stima della popolazione rispetto al mese di prelievo del nido per 72 nidi secondari della Liguria.

Mese	N° nidi	Popolazione media	Dev. St.
Maggio	2	139	13
Giugno	7	323	235
Luglio	13	853	564
Agosto	6	3334	4012
Settembre	4	1046	390
Ottobre	10	4569	3133
Novembre	14	7628	4679
Dicembre	7	3279	2706
Gennaio	7	7809	3936
Febbraio	2	4039	2250

I dati relativi alla stima della popolazione di ognuno dei nidi analizzati sono stati trasformati con Log_{10} in modo da ottenere una distribuzione dei dati normale. Dal calcolo dei limiti fiduciarci di popolazione media per singolo mese risulta che la variabilità è alta: il limite fiduciario estremo al 95% è di 1,4 - 6 volte più grande della media mensile. La considerevole variabilità di popolazione dei nidi raccolti nello stesso mese è probabilmente dovuta ad una fondazione del nido in periodi diversi. Un nido il cui sviluppo è iniziato nel mese di marzo presenterà una popolazione sensibilmente più grande rispetto ad un nido il cui sviluppo è iniziato nel mese di maggio. Oltre a differenti periodi di fondazione, la variabilità è probabilmente associata anche a condizioni ambientali e/o di efficienza della colonia, che possono determinare livelli di crescita della popolazione diversi. La media di popolazione totale dei nidi analizzati, indipendentemente dal mese di raccolta, è di 3.883 individui con i limiti fiduciarci al 95% superiore di 4.636 e inferiore di 3.030 individui. I dati raccolti non sono uniformi e per alcuni mesi il numero di nidi analizzati è esiguo.

Stima della popolazione dei nidi secondari attraverso il metodo dei polinomi

La stima della popolazione presente nel nido attraverso il conteggio dei meconi richiede molto tempo, a causa della quantità di parametri che occorre conteggiare. Esistono tuttavia fattori facilmente misurabili e fortemente correlati al numero di individui del nido, che rendono maggiormente rapida la stima della dimensione della popolazione. Infatti, il diametro del favo di maggiore dimensione è stato identificato come *proxy* (carattere fortemente correlato) del numero di individui per i nidi di *V. velutina* (Rome et al. 2015). Tale parametro è stato verificato anche per i 72 nidi analizzati precedentemente, ed è stata riscontrata un'alta correlazione secondo una funzione polinomiale di secondo grado ($R^2=0,93$):

$$y = 10,627 x^2 - 178,9 x + 1006,9$$

dove x è il diametro del favo maggiore e y è la popolazione totale del nido.

In figura 3 è riportata la stima della dimensione della popolazione sulla base del diametro del favo maggiore, utilizzando sia l'equazione ottenuta dall'analisi dei nidi della Liguria (blu) sia l'equazione proposta da Rome et al. (2015; arancione):

$$y = 7,12 x^2 - 37,72 x - 9,68$$

È facilmente osservabile che l'andamento delle due curve polinomiali è simile, tuttavia i nidi con un diametro del favo superiore ai 30 cm, a parità di diametro, risulterebbero leggermente più popolosi utilizzando l'equazione ricavata dai nidi analizzati in Liguria piuttosto che quella proposta da Rome et al. (2015).

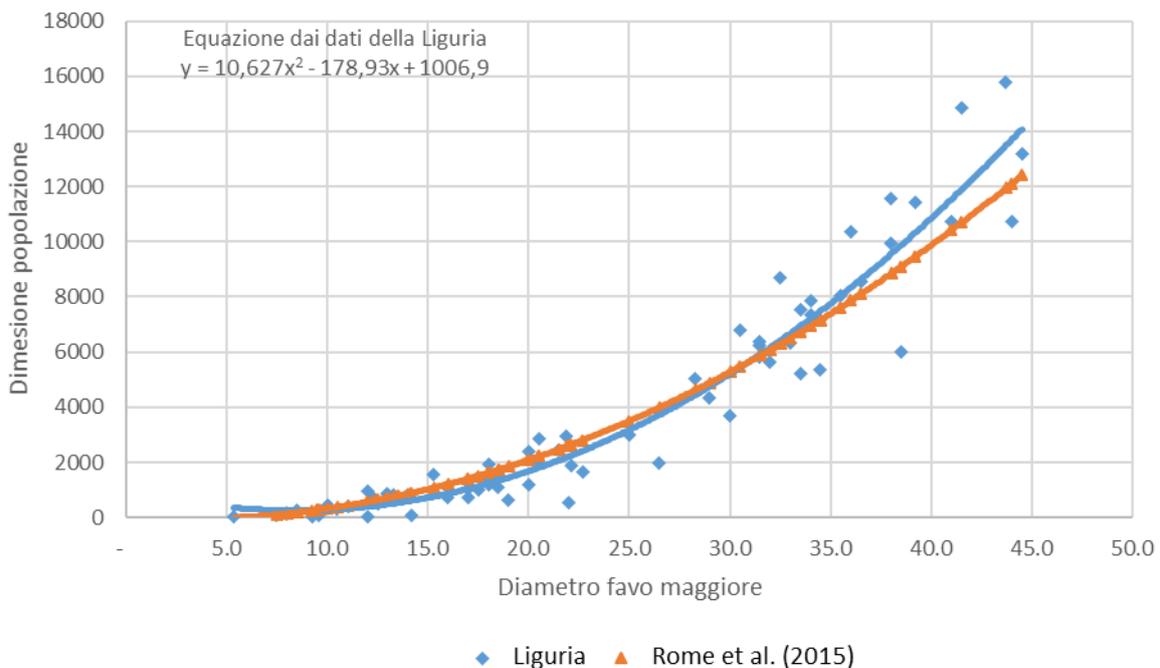


Figura 3. Correlazione tra il diametro del favo maggiore e la dimensione della popolazione: la linea di tendenza blu (Liguria) rappresenta l'andamento dell'equazione derivante dall'interpolazione dei dati dei nidi della Liguria, la linea arancione l'andamento dell'equazione di Rome et al (2015) applicata ai nidi analizzati.

Le due variabili analizzate, stima della popolazione e diametro del favo maggiore, non hanno un andamento normale. È stato quindi utilizzato il test non parametrico di *Wilcoxon* per verificare se sia presente una differenza significativa tra il dato stimato della popolazione con le analisi di laboratorio (conteggio di uova, larve, pupe e meconi) e il dato ottenuto dalle due formule precedentemente descritte. Il test di *Wilcoxon* evidenzia che non sono presenti differenze significative sia nel confronto fra i dati ottenuti con le analisi di laboratorio e quelli stimati con l'equazione ricavata dai nidi della Liguria ($V = 1486$, $p = 0,3358$) sia nel confronto con i dati stimati dal polinomio di Rome et al. (2015) ($V = 1395$, $p = 0,6515$). Ne consegue che, per la stima rapida della popolazione totale di un nido di *V. velutina*, è possibile utilizzare sia il polinomio individuato da Rome et al. (2015), sia un polinomio ottenuto dall'analisi di nidi recuperati in loco, in modo da tenere in considerazione eventuali variazioni dovute alle differenti condizioni ambientali.

Metodi di valutazione dello stato di attività di una colonia: indice di attività

Alcuni dei nidi analizzati presentavano all'interno un numero esiguo di individui in stato pre-immaginale. Una covata scarsa è indice di una colonia in cui le attività biologiche sono interrotte ed è solitamente una conseguenza dell'interruzione della ovo-deposizione della regina. L'interruzione della deposizione può essere una conseguenza della fine della stagione di crescita della colonia, dovuta agli abbassamenti di temperatura tardo autunnali, o ad una regina che ovo-depone con scarsa efficienza oppure che muore nel pieno della stagione. È stato quindi costruito un indice, definito indice di attività, per verificare quale dei nidi analizzati presentasse queste particolari condizioni. L'indice può essere utilizzato per definire quale è il valore soglia entro cui il nido analizzato può essere considerato ancora in attività. L'indice di attività è stato ottenuto dalla seguente equazione:

$$\text{Indice di Attività} = I/(N - I)$$

dove I è il numero di individui immaturi presenti nei favi (larve, pupe e adulti in fase di sfarfallamento) e N è il numero di individui totali della colonia.

Nell'applicazione dell'indice di attività ai nidi analizzati, il numero di individui N è stato ottenuto dal polinomio di Rome et al. (2015) e il numero di immaturi I dal conteggio di questi in laboratorio. È stato riportato graficamente l'andamento dell'indice di attività in relazione al tempo (Fig. 4); nella costruzione del grafico è stato considerato marzo come mese di inizio dell'attività biologica di *V. velutina*, in quanto tutti i nidi raccolti prima di questo mese sono associabili alla stagione di crescita dell'anno precedente. Fra maggio e settembre il nido e la colonia sono in piena fase di accrescimento e l'indice assume valori inferiori a 0,25. È in questa condizione di elevato sviluppo che la predazione a spese di *Apis mellifera* e di altri insetti raggiunge la sua massima intensità. Da agosto, la popolazione di individui adulti progressivamente cresce velocemente e l'indice tende velocemente a ridursi, in concomitanza con la nascita dei riproduttori, i maschi e le future regine.

I nidi analizzati con un indice di attività inferiore a 0,01 presentano tutti un numero di immaturi molto basso e un numero stimato di popolazione nata dal nido molto alto. Questi nidi compaiono

a partire dal mese di novembre e sono quelli a cui è associabile un'interruzione dell'attività biologica del nido.

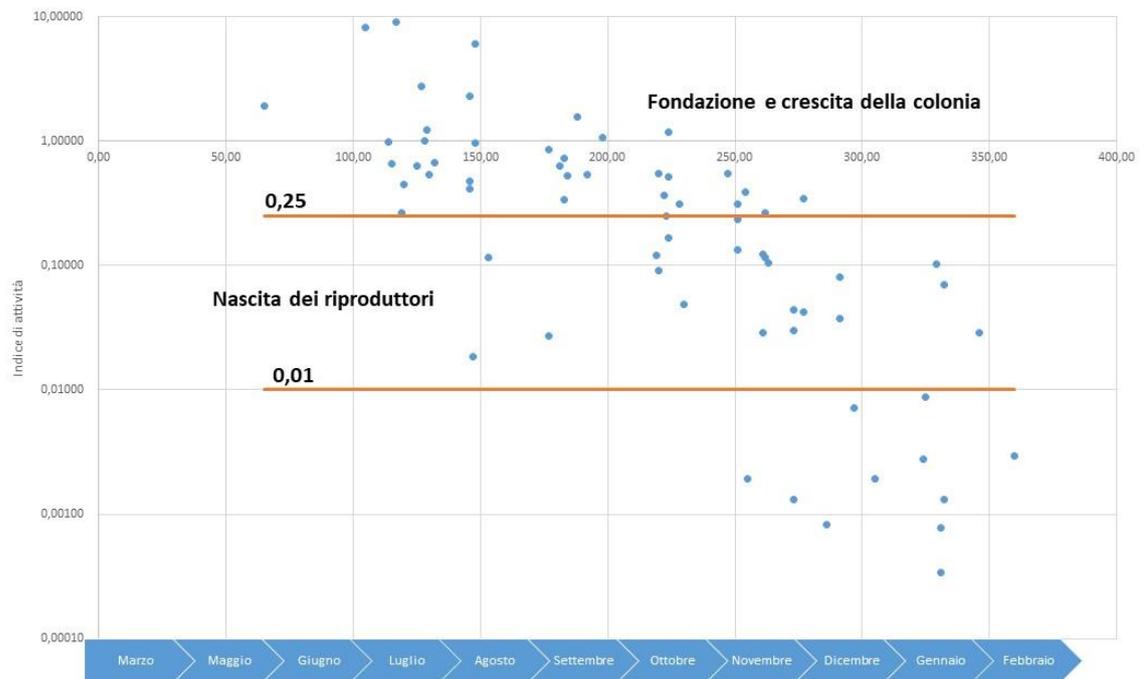


Figura 4. Indice di attività nel tempo per i nidi della Liguria analizzati dal progetto LIFE STOPVESPA.

Andamento stagionale della popolazione di immaturi e della dimensione del favo

Si può ipotizzare che nelle colonie di *V. velutina* la popolazione totale dei nidi, il numero di individui pre-immaginali e le dimensioni del nido stesso presentino un andamento simile durante la stagione. Dai dati dei nidi analizzati per la stima della dimensione della popolazione, si è verificato quanto la variabile esplicativa tempo sia correlata ai seguenti parametri:

- i. diametro del favo maggiore;
- ii. numero di individui immaturi presenti;
- iii. popolazione totale del nido.

La variabile dimensione del favo maggiore (i) è quella variabile che, attraverso un'analisi di regressione polinomiale, è risultata maggiormente correlata alla variabile tempo ($R^2 = 0,49$) (Fig. 5). Al contrario, il numero di individui in stadio pre-immaginale non appare correlato positivamente con il tempo ($R^2 = 0,20$), mentre la popolazione totale del nido ha una correlazione debole ($R^2 = 0,35$). La rappresentazione grafica dei tre parametri e le relative curve di regressione (Fig. 5) mostrano il loro andamento nel tempo.

La forte correlazione presente fra il tempo e il diametro del favo maggiore dimostra che la crescita del nido è continua, ma la velocità della crescita si riduce progressivamente nel tempo fino al mese di dicembre, a partire dal quale tutte le attività di accrescimento del diametro del favo maggiore del nido sono interrotte. Il grafico evidenzia inoltre che la popolazione totale dei nidi ha un andamento di accrescimento nel tempo simile a quello del diametro del favo maggiore; la variabilità nel tempo può essere causata da una fondazione in periodi differenti e/o ad una diversa capacità di crescita. Il numero di immaturi nel tempo non ha dei trend definiti e il numero può cambiare sensibilmente fra nidi presi nella medesima stagione. Tuttavia, come evidenziato dal grafico, a inizio stagione (giugno) e a fine stagione (gennaio) gli immaturi si riducono a pochi individui.

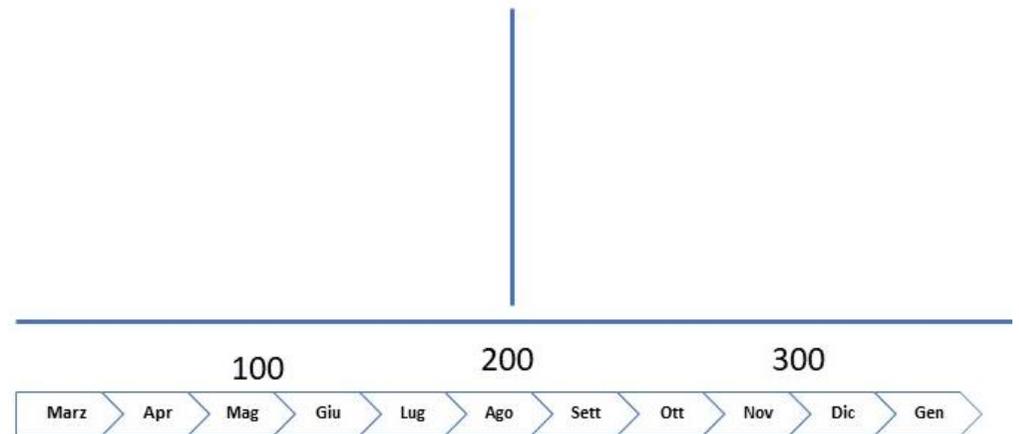
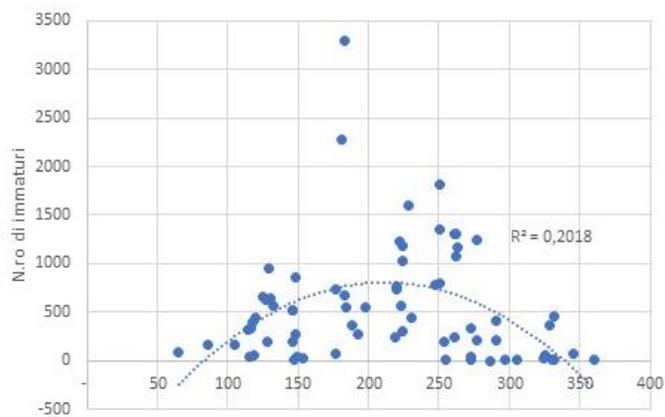
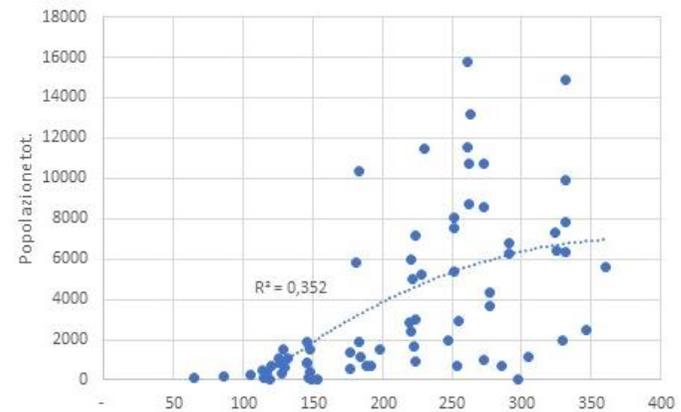
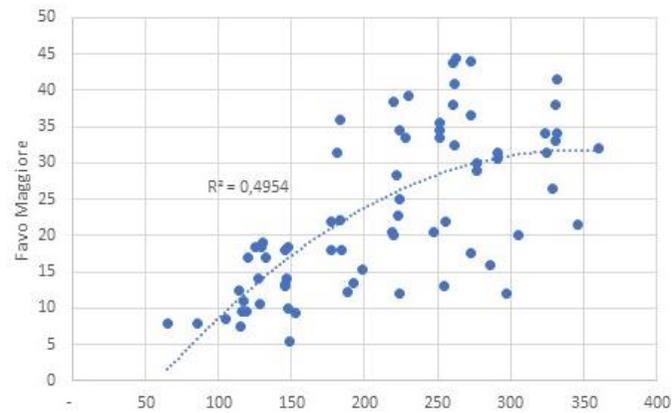


Figura 5. Parametri diametro del favo maggiore, popolazione totale del nido e numero di immaturi rispetto al periodo di prelievo del nido. Sulle ascisse è riportato il giorno dell'anno, considerando il mese di marzo come mese in cui è iniziata la fondazione delle colonie di *V. velutina*.

Analisi della correlazione specifica dimensionale

Gli imenotteri sociali, già durante lo stadio pre-immaginale, presentano dimensioni differenti associabili principalmente al dimorfismo sessuale e all'alimentazione ricevuta. Inoltre, in alcune specie, le celle in cui avviene lo sviluppo hanno dimensioni maggiori per gli individui fertili (maschi e regine). Per quanto riguarda *V. velutina*, le differenze tra le dimensioni degli individui nello stadio pre-immaginale e le dimensioni delle celle, a secondo del sesso dell'individuo, non appaiono evidenti come si riscontra in altri imenotteri. Tuttavia, non sono presenti lavori in letteratura che analizzino nel dettaglio questi aspetti.

Di conseguenza, è stata eseguita un'analisi approfondita su un limitato numero di nidi, per valutare la presenza di relazioni tra la dimensione degli individui (dimensione del torace delle pupe) e il diametro delle cellette che li ospitavano (diametro interno). Sono quindi state verificate le seguenti ipotesi:

- i) La dimensione del torace della pupa e il diametro della cella in cui si sta sviluppando dipendono dal sesso dell'individuo;
- ii) La dimensione del torace della pupa e il diametro della cella in cui si sta sviluppando dipendono dal nido analizzato;
- iii) La dimensione del torace e del diametro della cella sono correlati tra loro.

L'analisi è stata effettuata su un campione ristretto di 19 nidi, misurando 932 individui e la relativa cella in cui si stavano sviluppando. Per la misurazione è stato utilizzato un calibro sensibile fino a 0,05 mm. Per la dimensione delle celle è stata ricavata la misura della doppia apotema, mentre per gli individui si è misurata la larghezza del torace latero-laterale, all'altezza dell'innesto delle ali delle pupe con un avanzato stadio di sviluppo, le uniche con un esoscheletro già sufficientemente sclerificato da poter essere misurabile.

Per ogni nido misurato sono stati registrati i parametri sopraindicati per un campione di almeno 50 individui. Per ogni misurazione si è tenuto conto di: area di provenienza del nido, favo su cui è stata effettuata la rilevazione, sesso dell'individuo. Il test di *Shapiro-Wilk* ha evidenziato che i parametri larghezza del torace e diametro della cella non presentano un andamento normale dei dati ($p < 0,001$). È stato quindi utilizzato il test non parametrico di *Wilcoxon* per verificare la presenza di differenze significative tra i parametri analizzati: gli individui di sesso differente si sviluppano in celle significativamente diverse ($W = 95463$; $p < 0,001$) (Fig. 6); le pupe di individui di sesso differente sono risultate avere le medesime dimensioni del torace ($W = 83689$; $p > 0,05$) (i).

Con il test non parametrico di *Kruskal-Wallis* è stato verificato se le differenze nei diametri delle celle e nei diametri del torace delle pupe sono significativamente diversi per ognuno dei nidi analizzati (ii). In entrambi i casi sono presenti differenze statisticamente significative (diametro celle: $K = 434,01$, $p < 0,001$; diametro torace pupe: $K = 428,89$, $p < 0,001$) (Fig. 7 e 8).

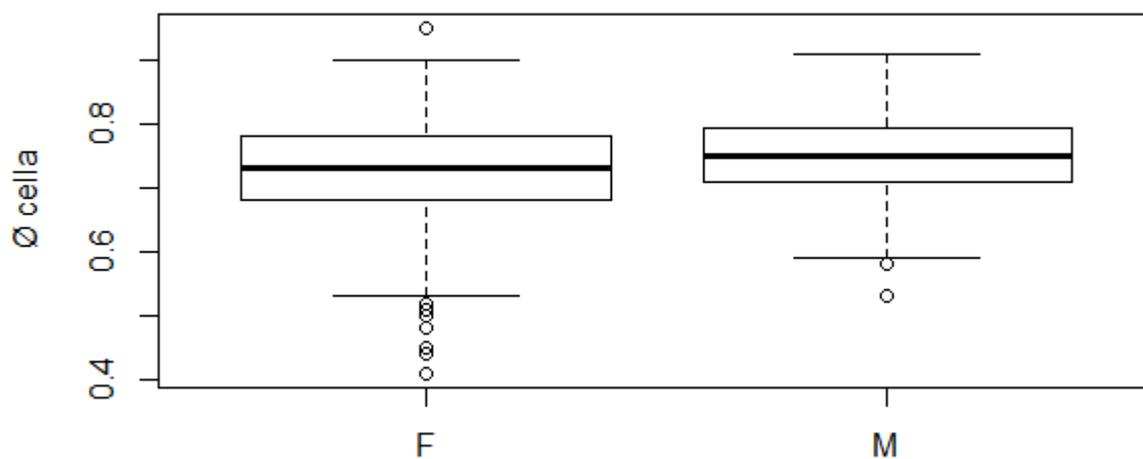


Figura 6. Doppia apotema (cm) delle celle suddivisa per il sesso dell'individuo presente all'interno della cella.

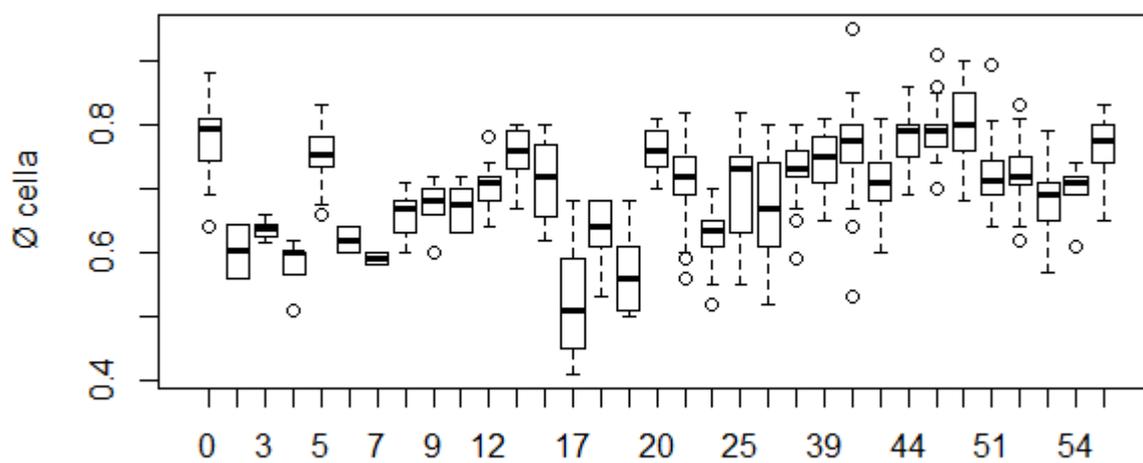


Figura 7. Doppia apotema (cm) delle celle di ciascun nido analizzato.

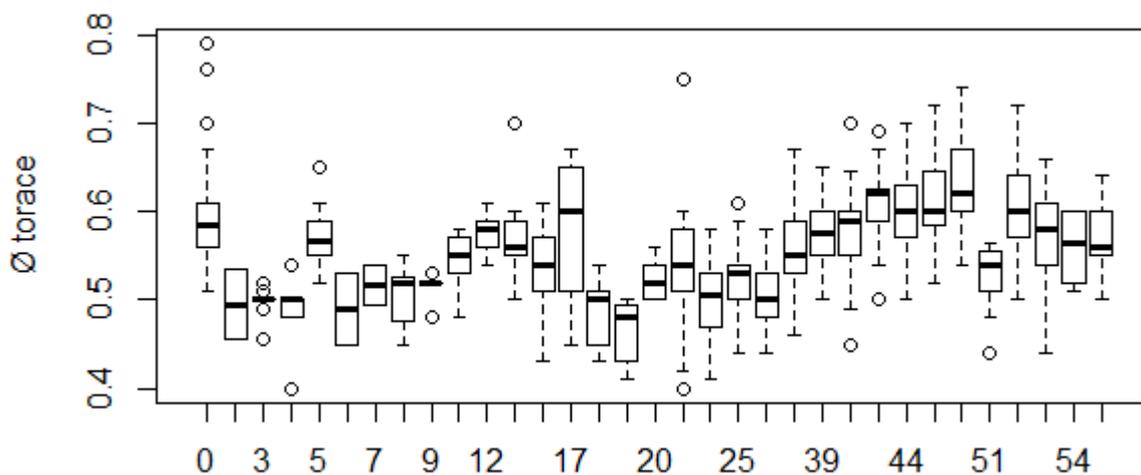


Figura 8. Diametri (cm) dei toraci delle pupe dei nidi analizzati.

Dalle figure 7 e 8 si nota un andamento simile nella distribuzione dei dati per i due parametri. Questo indica che, per nidi con celle di grandi dimensioni, sono presenti anche pupe con torace mediamente largo, e viceversa a nidi con celle di piccole dimensioni corrispondono pupe con torace mediamente poco largo.

Si è quindi osservato nel dettaglio l'andamento del diametro delle pupe in funzione di quello delle cellette (Fig.9), e si è verificata l'esistenza di correlazione tra le due variabili con il test di correlazione non parametrico di *Spearman*. Il test evidenzia una correlazione tra le due variabili positiva e statisticamente significativa ($Rho = 0,54$; $p < 0,001$). L'analisi di regressione evidenzia una leggera correlazione tra le due variabili, anche se il coefficiente di determinazione ha valori molto bassi ($R^2 = 0,29$; $p\text{-value} < 0,001$).

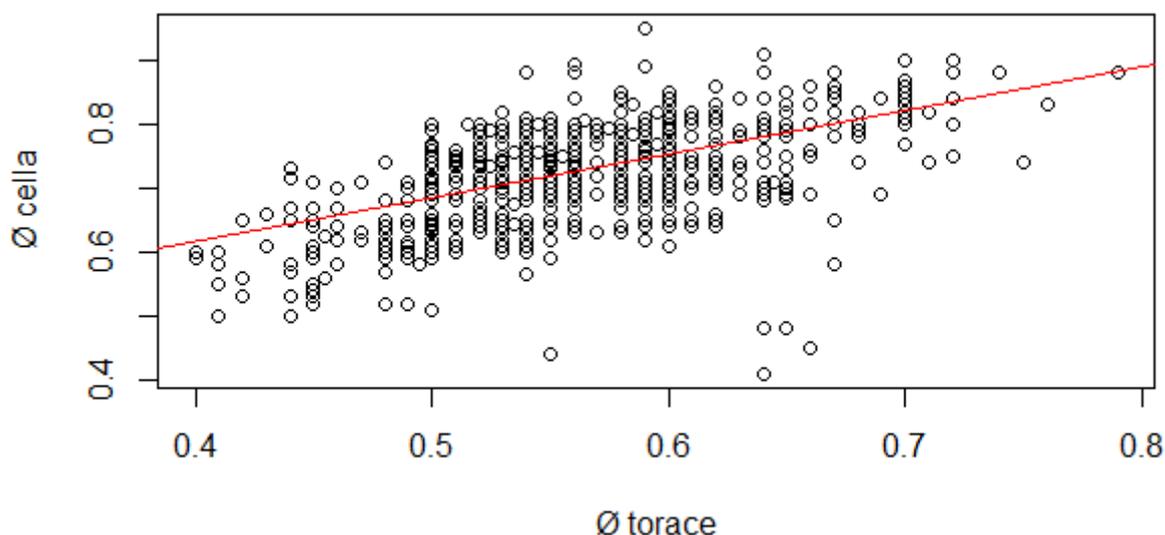


Figura 9. Interpolazione tra il diametro del torace della pupa (\varnothing torace) e la doppia apotema della cella (\varnothing cella) in cui questa si stava sviluppando.

Regine multiple in nidi primari

Analizzando un nido primario raccolto il 10 luglio 2019 nel comune di Camporosso (IM) sono stati osservati due individui (Fig. 10) di taglia nettamente maggiore (0,48 e 0,55 grammi di peso rispetto ad una media di 0,23 grammi). Dall'esame anatomico degli esemplari è risultato che entrambi gli individui erano regine feconde (Fig. 11). Le colonie con regine multiple o poliginiche sono segnalate per varie specie di calabroni tropicali (Archer 2008) ma non sono presenti segnalazioni precedenti per quanto riguarda *V. velutina* in zone temperate.



Figura 10. Esemplari adulti provenienti dal nido di Camporosso. Gli individui 1 e 2 sono risultati essere regine di *V. velutina*. L'individuo numero 3 è provvisto di tag, in quanto la colonia era oggetto di studio con l'utilizzo del radar armonico.

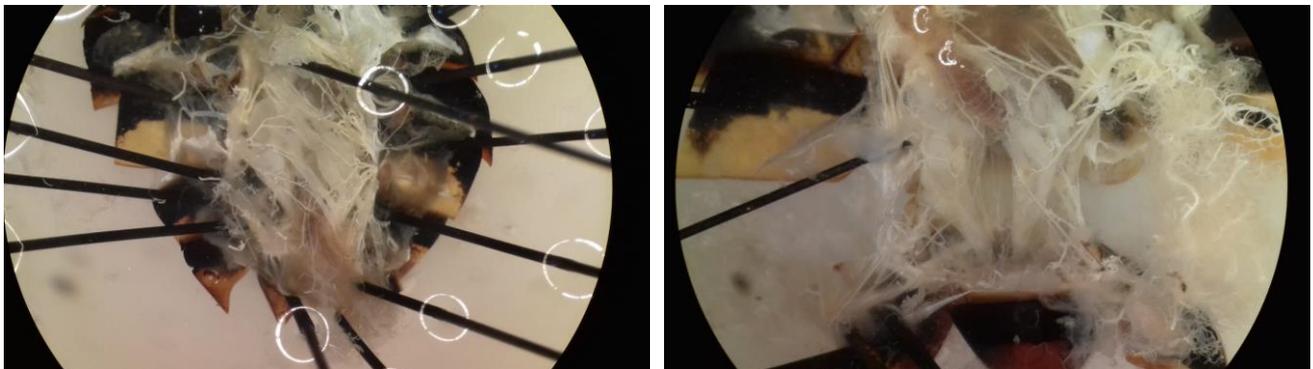


Figura 11. Preparati anatomici delle due regine atti a evidenziare gli ovari sviluppati.

Conclusioni

Le analisi effettuate sui nidi provenienti dalla Liguria di ponente hanno permesso di determinare che le caratteristiche dimensionali dei nidi e di popolazione di *V. velutina* dell'area di studio sono simili a quelle riportate per i nidi presenti in Francia. Le caratteristiche climatiche dei due paesi non sono sufficientemente dissimili per determinare un ciclo biologico differente. Malgrado la biologia sia simile nei due areali, la capacità di espansione dimostrata sul territorio ligure è differente, con una velocità di espansione di circa 18 km/anno in Liguria nel periodo 2013-2015 (Bertolino et al. 2016) che è diminuita a circa 3 km/anno al termine del progetto LIFE, mentre in Francia è stata evidenziata una velocità media di circa 78 km/anno (Robinet et al. 2017). Dalle analisi condotte si può concludere che la diversa velocità di espansione non è probabilmente associabile a possibili differenze nel ciclo biologico e capacità di sviluppo delle singole colonie di *V. velutina*.

Questo studio ha inoltre permesso di convalidare strumenti utili per l'analisi dei nidi come il polinomio per la stima della popolazione sulla base del diametro del favo maggiore. Ha inoltre permesso di ideare nuovi strumenti utili ad una più completa valutazione dello stato di attività di un nido. Oltre a questi elementi è stata individuata una correlazione fra le dimensioni delle celle del nido e le dimensioni degli individui immaturi. Quest'ultimo dato rappresenta una informazione inedita sul ciclo biologico di *V. velutina*, che richiede quindi maggiori approfondimenti e analisi. Il ritrovamento di un nido ospitante due regine è anch'esso una novità senza alcun precedente e sarà oggetto di indagini più approfondite.

Bibliografía

- Anonymous (2011) La amenaza de la avispa asiática para la producción apícola de la CAPV. Grupo Técnico en Apicultura del Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco, Diputaciones Forales de País Vasco, Servicios de Ganadería, Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. *Sustrai Revista Agropesquera* 95:78–83
- Anonymous (2014) Estrategia para la detección y control del Avispon Asiático o Avispa Negra (*Vespa velutina nigrithorax*) en el Principado de Asturias. Gobierno del Principado de Asturias, Consejería de Agroganadería y Recursos Autoctonos, Dirección General de Recursos Naturales, Oviedo
- Archer, M. E. (2008). Taxonomy, distribution and nesting biology of species of the genera *Provespa* Ashmead and *Vespa* Linnaeus (Hymenoptera, Vespidae). *Entomologist's Monthly Magazine*, 144(1727), 69.
- Archer M E (2010). The queen colony phase of vespine wasps (Hymenoptera, Vespidae). *Insect Soc* 57(2), 133-145.
- Balmori A (2015) Sobre el riesgo real de una expansión generalizada de la Avispa Asiática *Vespa velutina* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Vespidae) en la Península Ibérica. *Bull Soc Entomol Aragonesa* 56:283–289
- Bertolino S, Lioy S, Laurino D, Manino A, Porporato M (2016). Spread of the invasive yellow-legged hornet *Vespa velutina* (Hymenoptera: Vespidae) in Italy. *Appl Entomol Zool* 51: 589-597.
- European Union (2014). LIFE and Invasive Alien Species. Publications Office of the European Union, Luxembourg. <http://bit.ly/1xFleAN>. Acceso 01 giugno 2016.
- Monceau K, Bonnard O, Thiéry D (2014) *Vespa velutina*: A new invasive predator of honeybees in Europe. *J Pest Sci* 87: 1–16.
- Monceau K, Tourat A, Arca, M, Bonnard O, Arnold G, Thiéry D (2017). Daily and Seasonal Extranidal Behaviour Variations in the Invasive Yellow-Legged Hornet, *Vespa velutina* Lepeletier (Hymenoptera: Vespidae). *J Insect Behav* 30(2): 220-230.
- Porporato M, Manino A, Laurino D, Demichelis S (2014). *Vespa velutina* Lepeletier (Hymenoptera Vespidae): a first assessment two years after its arrival in Italy. *Redia*, 97, 189-194.
- Robinet C, Suppo C, Darrouzet E (2017). Rapid spread of the invasive yellow-legged hornet in France: the role of human-mediated dispersal and the effects of control measures. *Journal of Applied Ecology*, 54, 205-215
- Rome Q, Dambrine L, Onate C, Muller F, Villemant C, García-Pérez AL, Maia M, Carvalho Esteves P, Bruneau E (2013) Spread of the invasive hornet *Vespa velutina* Lepeletier, 1836, in Europe in 2012 (Hym., Vespidae). *Bull Soc Entomol Fr* 118:15–21
- Rome Q, Muller F J, Touret-Alby A, Darrouzet E, Perrard A, Villemant C. (2015). Caste differentiation and seasonal changes in *Vespa velutina* (Hym.: Vespidae) colonies in its introduced range. *J Appl Entomol*, 139(10): 771-782.
- Sakai A K, Allendorf F W, Holt J S, Lodge D M, Molofsky J, With K A, McCauley D E (2001). The population biology of invasive species. *Annu Rev Ecol Syst*, 32(1): 305-332.
- Villemant C, Muller F, Haubois S, Perrard A, Darrouzet E, Rome Q (2011). Bilan des travaux (MNHN et IRBI) sur l'invasion en France de *Vespa velutina*, le frelon asiatique prédateur d'abeilles. In: Barbançon JM, L'Hostis M (ed) Journée Scientifique Apicole, Oniris-Fnosad, 3–12.