

Caracterización molecular en poblaciones de abejas (*Apis mellífera* L.) de Argentina

José Galián¹, Alberto Abramovich², Fernando Cánovas¹, Osvaldo Atela³

1) Departamento de Biología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30071 Murcia, España.

2) Departamento Científico de Entomología, Museo de La Plata, Universidad Nacional de La Plata, Paseo del Bosque, 1900 La Plata, Argentina. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (Conicet).

3) Director de la Cabaña Apiario "Pedro J. Bover", Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, provincia de Buenos Aires.

La actividad apícola en Argentina se viene desarrollando desde principios del siglo pasado y se ha ido incrementando hasta situar al país como uno de los principales productores y exportado-

Hasta nuestros días el productor apícola a seguido la corriente con la incorporación de abejas híbridas de linaje europeo, principalmente híbridos de *A. m. ligústica*. Estos son los más usa-

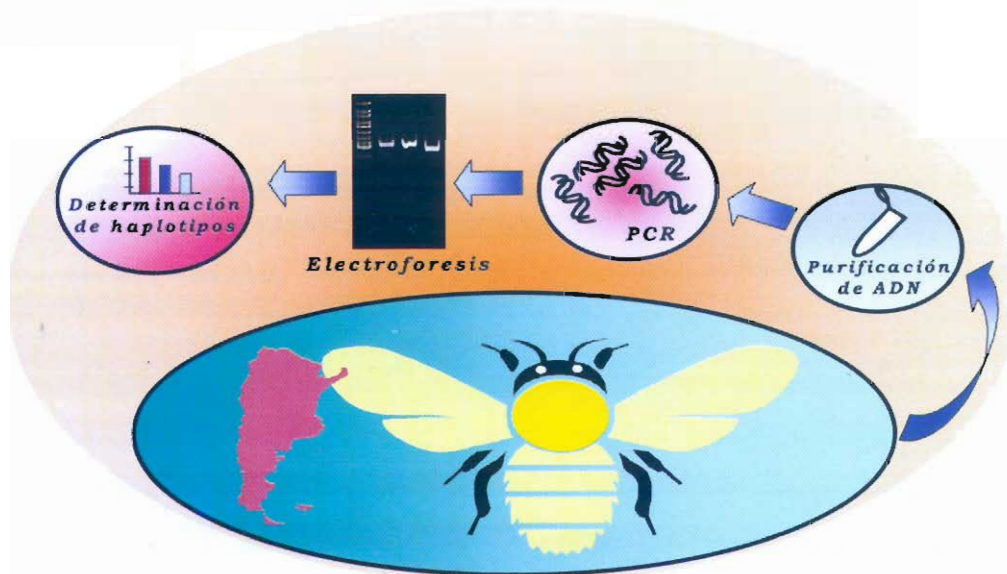


Figura 1. Esquema del método empleado para el estudio del ADN mitocondrial en *A. melíferas* de Argentina

res de miel del mundo, siendo en la actualidad el 95% de su producción total vendida en el exterior.

La práctica de la apicultura está extendida en las diferentes regiones del país, favorecida por las características naturales y diversidad de climas existentes. A estas características se agrega la buena adaptación que experimentaron las reinas de reinas de diferentes subespecies de origen europeo utilizadas en la producción: *A. mellífera mellífera*, *A. m. cárnica*, *A. m. caucásica* y *A. m. ligústica*. En particular, la introducción de esta última también llamada abeja italiana contribuyó significativamente al avance de la industria apícola, con el incremento observado en la producción.

dos comercialmente por los apicultores, que adoptados por laboriosidad y mansedumbre se expandieron rápidamente a todas las regiones apícolas de Argentina. Además de estas razas europeas actualmente se registra el avance, desde aproximadamente el año 1968, de híbridos africanizados provenientes de Paraguay y el sur de Brasil, empezando por la región norte del país y llegando hasta otras zonas productivas en la actualidad.

Actualmente entre las necesidades del productor resulta de especial interés, contar con planes adecuados de selección y mejoramiento de las líneas mejor adaptadas a las condiciones

de la flora y la resistencia a enfermedades. Estos planes están sustentados en el estudio de las poblaciones locales de abejas mediante la caracterización molecular, con el fin de delimitar y preservar las razas o líneas más aptas para cada región.

La caracterización molecular se basa en el ADN mitocondrial que es una pequeña molécula que se hereda por vía materna. Dicha molécula es muy útil en el estudio de los linajes o grupos de subespecies de *Apis mellífera*, ya que el análisis de una abeja obrera nos permite caracterizar a la reina y a la colmena que gobierna. Esta

missa, *A. m. scutellata*; y finalmente el linaje M que incluye las subespecies del Mediterráneo occidental, entre ellas *A. m. mellífera* y *A. m. ibérica*. Hay que indicar que *A. m. ibérica* es una subespecie híbrida que se encuentra en la península Ibérica y que presenta ADN mitocondrial de dos tipos: en la mitad norte es de linaje M (como *A. m. mellífera*) y en la mitad sur es de linaje A (como *A. m. intermissa*).

El material estudiado en el presente artículo procede de los apiarios señalados en la figura 2, localizados en distintas regiones donde la actividad apícola es intensa y que se caracterizan por



Figura 2. Localización de las muestras de abejas que se han empleado en este estudio

molécula se ha utilizado extensivamente en el estudio de *Apis mellífera* en los últimos 10 años y ha permitido conocer el origen y parentesco entre las subespecies y razas.

Así, se han descrito al menos tres linajes de *Apis mellífera*: el linaje C que incluye las subespecies de Europa Oriental, entre ellas la subespecie *Apis mellífera ligústica*, o abeja italiana, *cárnica* y *caucásica*; el linaje A que incluye las subespecies africanas, entre ellas *A. m. inter-*

el cuidado y control genético de sus colmenas. Se han analizado 26 colonias de abejas, constando cada muestra de 10 abejas obreras elegidas aleatoriamente de cada colmena.

Las abejas fueron preservadas en envases con etanol al 100% y posteriormente mantenidas en congelación hasta su estudio.

De estas muestras, 21 proceden de colmenas con historial de selección e incorporación genética de abeja italiana. Por el contrario 5 mues-

tras proceden de enjambres silvestres, es decir de colmenas formadas a partir de enjambres localizados en el área de producción, como por ejemplo en el hueco de un tronco.

La purificación del ADN se realizó siguiendo los protocolos habituales y posteriormente se hicieron copias del fragmento del ADN mitocondrial que permite caracterizar los linajes de *Apis mellifera*. La amplificación u obtención de numerosas copias de este fragmento se realizó mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (abreviada como PCR, de sus siglas en inglés).

Tras realizar la copia de los fragmentos se realizó una electroforesis para separarlos según su tamaño. Una vez comprobado éste, se realizó una digestión de los fragmentos mediante una enzima de restricción (tijera molecular) que permite cortar el fragmento por lugares específicos. Tras la digestión se realizó otra electroforesis de manera que se obtiene un patrón de bandas mediante el cual se caracterizan los marcadores moleculares, llamados haplotipos (tipos de ADN mitocondrial), y en consecuencia el linaje al que pertenecen (Figura 3). En el presente estudio se han encontrado tres marcadores. Dos pertenecientes al linaje A y uno perteneciente al linaje C.



Figura 3. Patrón de bandas observado tras la digestión con la enzima DraI del fragmento amplificado y separación electroforética de los fragmentos resultantes. Las dos líneas laterales M corresponden al marcador de tamaño, la línea 1 corresponde al marcador A4, la línea 2 corresponde al marcador A1 y las líneas 3, 4 y 5 corresponden al marcador C1

El más abundante es el tipo C1 al que pertenecen 21 de las 26 muestras analizadas. Este marcador es el que caracteriza a las abejas italianas, incluidas en la subespecie *Apis mellifera ligustica*. Este resultado indica por lo tanto que el 90% de las colmenas analizadas están gobernadas por una reina de procedencia italiana. Solamente 4 de las 26 colmenas analizadas son del subtipo A4 y sólo una de ellas es del subtipo A1, ambos de origen africano (Figuras 4 y 5).

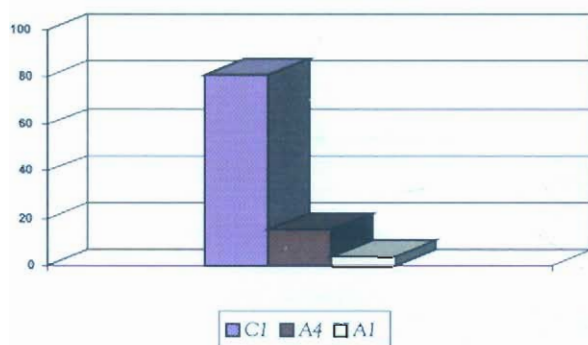


Figura 4. Diagrama de las frecuencias de cada marcador

Todas las abejas caracterizadas pertenecientes al linaje C proceden de las colmenas con selección e incorporación genética de abeja italiana. Por el contrario las 5 muestras de linaje A (africano) proceden de los enjambres silvestres. La presencia de estos haplotipos africanos puede interpretarse en parte como el resultado de la africanización (ADN mitocondrial procedente de *scutellata*) y en parte como el resultado de la introducción de abejas del sur de la península ibérica, donde el ADN mitocondrial predominante es el tipo *intermissa*, también de origen africano. El presente análisis no permite discriminar entre estas dos subespecies africanas, *intermissa* en el norte de África y *scutellata* en el sur, pero otros estudios han estimado que un 25% de los haplotipos africanos en Argentina no derivan de *scutellata*.

No se ha encontrado ningún marcador del linaje M, por lo que no hay evidencias de que hayan sido introducidas abejas de origen europeo occidental. El hecho de que ninguna de las muestras procedentes de colmenas silvestres sea del

tipo italiano parece indicar que esta subespecie sólo sobrevive en condiciones controladas de manejo por el apicultor, mientras que las abejas con haplotipo africano parecen tener mayor capacidad de adaptación a las condiciones climáticas locales y por tanto con mayor capacidad de supervivencia por sí mismas. Esto podría explicar en parte la rápida expansión de la africanización en el continente americano.

Con el presente estudio iniciamos el análisis

molecular de abejas melíferas de Argentina y como paso fundamental para establecer esta moderna técnica en la caracterización de las poblaciones de abejas en las distintas regiones, en el marco de un proyecto conjunto entre investigadores de la Universidad Nacional de La Plata-Conicet, de Argentina, de la Universidad de Murcia de España y el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación de la provincia de Buenos Aires, Cabaña Apiario "Pedro J. Bover".

Localidad	Haplotipos		
	Abejas italianas	Abejas africanas	
	C1	A1	A4
Gualeguaychú	*		*
Junín	*		
Tres Arroyos	*		
Malabrigo	*		*
Justo Daract	*		
General Belgrano	*		
Villa Dolores	*		*
Campana	*		
Santa Sylvina	*	*	
Buena Esperanza	*		*
Médanos	*		
Isla de Las Lechiguanas	*		

Figura 5. Localización de los haplotipos de ADN mitocondrial hallados

Agradecimientos:

Agradecemos la colaboración a la Asociación Cooperadora Cabaña Apiario "Pedro J. Bover" y a los apicultores que proporcionaron las muestras, y al Sr. Fabio Knell, Coordinador Programa Miel Bonaerense, por el interés demostrado para este emprendimiento. También agradecemos a los doctores Pilar De la Rúa y José Serrano de la Universidad de Murcia, España, sus valiosos comentarios y ayuda en este trabajo.

Bibliografía

- Cornuet J.M., Garnery, L., (1991). Mitochondrial DNA variability in honeybees and its phylogenetic implications. *Apidologie* 22: 627-642.
- De la Rúa, P., Serrano, J., Galián, J. (1998). Mitochondrial DNA variability in the Canary island honeybees (*Apis mellifera*). *Molecular Ecology* 7: 1543-1547.
- De la Rúa, P., Galián, J., Serrano, J., (1999). Variabilidad del ADN mitocondrial en poblaciones de abejas de la miel (*Apis mellifera* L.) de la Región de Murcia. *Invest.Agr.Prod. Sanid. Anim.* 14:41-49.
- De la Rúa, P., Galián, J., Moritz, R.F.a. 2001. Genetic structure and distinctness of *Apis mellifera* L. populations from the Canary Islands. *Molecular Ecology*. 10: 1733-1742.
- De la Rúa, P., Serrano, J., Galián, J. 2001. Biodiversity of *Apis mellifera* populations from Tenerife (Canary Islands) and introgressive hybridisation with East European races. *Biodiversity and Conservation* 10: (En prensa)
- Sheppard, W.S., Rinderer, T.E., Garnery, L., Shimanuki, H. 1999. Analysis of africanized honey bee mitochondrial DNA reveals further diversity of origin. *Genetics and Molecular Biology* 22: 73-75.