

**CONSANGUINIDAD DE *Apis mellifera* EN EL APIARIO DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES
APÍCOLAS, CUBA**

CONSANGUINITY OF *Apis mellifera* IN THE BEE RESEARCH CENTRE APIARY, CUBA

Autor(es): Lic. Lisandra Benítez Álvarez¹, Lic. Adriana Artiles Valor², Tec. Alberto Morales Martínez¹,
Lic. Víctor Pérez², Lic. Georgina Espinosa López³

¹Centro de Investigaciones Apícolas. Carretera El Cano a El Chico, Km 0, La Lisa, La Habana. C.P. 19190. Teléfono: (537) 202-0890

²Centro de Investigaciones Pesqueras. Calle 246 No. 503 e/ 5ta Avenida y Mar, Reparto Barlovento, Playa, La Habana, C.P 19100. CUBA. Teléfono (537) 209-7081

³Facultad de Biología Universidad de La Habana. Calle 24 e/J e I. Plaza de la Revolución, La Habana. C.P. 10400. CUBA. Teléfono (537) 830-9821

genetica@ciapi.minag.cu

Recibido: enero 2014

Aprobado: febrero 2014

RESUMEN

Las poblaciones de abeja de la miel destinadas a la producción en Cuba han sido sometidas a un programa de mejoramiento genético durante más de 20 años, con el objetivo de seleccionar y fijar caracteres de interés productivo. Sin embargo, la cría de reinas a gran escala y la propagación extendida de un lote seleccionado puede llevar a la disminución del tamaño efectivo de las poblaciones, haciéndolas más susceptibles a los efectos deletéreos de la consanguinidad. El apiario del Centro de Investigaciones Apícolas de Cuba (CIAPI) constituye un apiario de referencia nacional para la cría de abejas reinas. Dado esto, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar el grado de consanguinidad existente en apiario del CIAPI mediante el uso de *loci* microsatélites. Se tomaron 10 abejas de cada colmena, las cuales fueron conservadas en etanol al 70% hasta su posterior análisis. El ADN fue extraído a partir de tejido torácico mediante el método del Chelex. Se amplificaron tres *loci* microsatélites; A7, A24 y A113. Las muestras amplificadas se corrieron en gel de Poliacrilamida al 6% en condiciones desnaturalizantes. La media del coeficiente de relación genética indicó que más de la mitad de los individuos analizados no tiene relación de parentesco, mostrando un grado de consanguinidad bajo. Este resultado avala el buen manejo que se ha mantenido en este apiario.

Palabras claves: *Apis mellifera*, consanguinidad, Cuba

ABSTRACT

Populations of honey bee for the production in Cuba have been subjected to a breeding program for over 20 years, with the aim of selecting and setting production phenotypes. However, queen rearing large scale and widespread propagation of a selected batch can lead to decreased effective population size, making them more susceptible to the deleterious effects of inbreeding. The apiary Bee Research Center of Cuba is a national reference apiary for rearing queen bees. Given this, the present study aimed to determine the degree of inbreeding in this apiary using microsatellite *loci*. 10 bees from each hive, which were preserved in 70% ethanol were taken. The DNA was extracted from tissue chest by the Chelex method. Three microsatellite *loci* were amplified; A7, A24 and A113. The amplified samples were run on 6% polyacrylamide gel under denaturing conditions. The mean relatedness indicated that over half of all individuals tested have no family relationship, showing a low degree of inbreeding. This result supports good management and has been maintained in this apiary.

Key words: *Apis mellifera*, consanguinity, Cuba

INTRODUCCIÓN

La abeja de la miel, *Apis mellifera*, fue introducida en Cuba en 1774 por los colonos españoles inmigrantes desde La Florida. Primeramente se introdujo la subespecie *A. m. mellifera* ([Pérez-Piñeiro, 2007](#)), la de mayor distribución natural ([Carreck, 2008](#)). Posteriormente, en las décadas de 1940-1950 se introdujo la subespecie *A. m. ligústica*, correspondiente a un linaje diferente y proveniente de Italia ([Pérez-Piñeiro, 2007](#)). También se han reportado pequeñas introducciones de *A. m. cárnica* y *A. m. caucásica* ([Genaro, 2008](#)).

Actualmente en Cuba existe una abeja melífera altamente productiva, resistente a enfermedades y localmente adaptada. Las poblaciones destinadas a la producción han sido sometidas a un programa de mejoramiento genético durante más de 20 años, con el objetivo de seleccionar y fijar caracteres de interés productivo. Sin embargo, la cría de reinas a gran escala y la propagación extendida de un lote seleccionado puede llevar a la disminución del tamaño efectivo de las poblaciones, haciéndolas más susceptibles a los efectos deletéreos de la consanguinidad ([De-la-Rúa et al., 2009](#)).

Se define como consanguinidad el estado en el cual un individuo presenta, para un mismo *locus* (se refiere a la posición de un segmento determinado en una molécula de ADN), dos alelos idénticos; copias de un mismo alelo ancestral. El coeficiente de consanguinidad representa la probabilidad de que un individuo presente dos alelos idénticos por descendencia. En las poblaciones la consanguinidad modifica las frecuencias genotípicas, por lo que puede incrementar la frecuencia de homocigotos sobre la de los heterocigotos ([Kalmes y Huret, 2002](#)), disminuyendo así el grado de heterocigosidad observada, parámetro representativo del grado de variabilidad genética de las poblaciones.

Las abejas de la miel son muy susceptibles a la consanguinidad, la cual puede afectar su morfología, fisiología y conducta influyendo negativamente en su capacidad de supervivencia. La fertilización de una reina por un zángano relacionado genéticamente con ella puede incrementar la probabilidad de huevos homocigotos para el *locus* sexual, produciéndose zánganos diploides que son asesinados por las obreras. No obstante, tanto la consanguinidad como la fatal homocigosis en el *locus* sexual puede ser minimizada con la presencia de un alto número de zánganos de diferentes colonias no emparentadas en el vuelo nupcial ([Baudry et al., 1998](#)).

El conocimiento del grado de consanguinidad dentro de las poblaciones de abejas es ampliamente utilizado en el campo de la Ecología y la Evolución. Constituye una buena herramienta para el estudio de la conducta higiénica, la dispersión genética y el manejo de programas de mejoramiento genético ([Baudry et al., 1998](#)) y puede ser estimada con el empleo de marcadores moleculares en ausencia de estudios de pedigrí.

El apiario del Centro de Investigaciones Apícolas de Cuba (CIAPI) está constituido por 20 colmenas provenientes del territorio de La Habana, principalmente de las zonas aledañas al Cano, territorio donde se encuentra enclavado el centro. Constituye un apiario de referencia nacional para la cría de abejas reinas. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el grado de consanguinidad existente en apiario del CIAPI mediante el uso de *loci* microsatélites.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron 10 abejas de cada colmena, las cuales fueron conservadas en etanol al 70% hasta su posterior análisis. El ADN fue extraído a partir de tejido torácico mediante el método del Chelex ([Walsh et al., 1991](#)). Se amplificaron tres *loci* microsatélites; A7, A24 y A113 ([Estoup et al., 1995](#)) mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés). Las muestras amplificadas se corrieron en gel de Poliacrilamida al 6% en condiciones desnaturalizantes.

A partir de los datos obtenidos de los tres *loci* microsatélites se calculó el coeficiente de relación genética (r) ([Queller y Goodnight, 1989](#)) entre pares de individuos mediante el programa GeneA1Ex 6.1 ([Peakall y Smouse, 2006](#)). La fórmula para el cálculo de este coeficiente a partir de marcadores moleculares codominantes es:

$$r = \frac{\sum_x \sum_k \sum_l (P_{xy} - P^*)}{\sum_x \sum_k \sum_l (P_x - P^*)}$$

Donde x representa los individuos, k los *loci*, l las posiciones alélicas (2 para diploides, 1 para haploides), P_x es la frecuencia del individuo x para el *locus* k y posición alélica l , P_y es la frecuencia del alelo en el grupo o individuo con que se compara x , P^* es la frecuencia total del alelo en la población. Este coeficiente representa la probabilidad de que dos individuos presenten dos alelos idénticos por descendencia.

El valor del coeficiente de relación genética debe ser $r \leq 0$ para individuos no emparentados, $r = 0.25$ para medios hermanos y $r \geq 0.5$ para hermanos completos (Queller y Goodnight, 1989).

RESULTADOS

En el apiario del CI-API la media del coeficiente de relación genética ($r_{\text{medio}} = -0.053$) indicó que más de la mitad de los individuos analizados no tiene relación de parentesco (Fig 1).

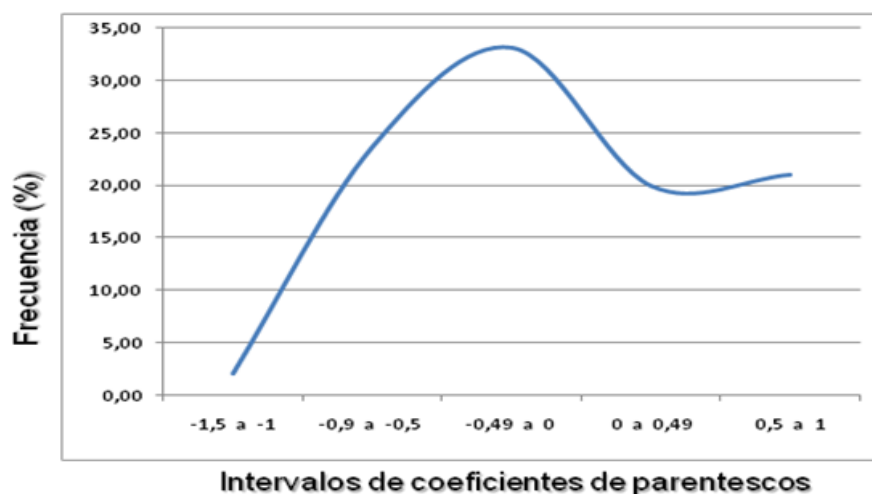


Fig. 1. Comportamiento del coeficiente de relación genética entre pares de individuos (r) de (Queller y Goodnight, 1989) en el Apiario de CI-API, Cuba, 2013.

De las 190 combinaciones posibles entre pares de individuos; 112 (58.95%) mostraron un coeficiente de parentesco menor que cero, lo que indica individuos no relacionados genéticamente. Mientras, 38 (20%) mostraron valores positivos menores que 0.5, lo que se corresponde con un mayor grado de parentesco. El resto, 40 (21. %) más emparentados, mostraron un coeficiente mayor que 0.5.

DISCUSIÓN

El conocimiento del grado de consanguinidad constituye una herramienta muy útil para el manejo de las poblaciones comerciales con el objetivo de aumentar la producción de reinas de calidad y el mantenimiento de su variabilidad genética. El presente trabajo constituye el primer paso en la determinación de este parámetro en la abeja melífera de Cuba mediante *lic*i microsatélites. Teniendo en cuenta el valor negativo del coeficiente de parentesco medio puede decirse que de manera general la consanguinidad se mostró baja en este apiario. Los valores positivos encontrados, correspondiente

con mayor grado de parentesco podrían explicarse por el origen homogéneo de las colmenas fundadoras del apiario, aproximadamente 20 años atrás. En la actualidad hay subfamilias de las primeras producto de la fecundación de las reinas en la misma zona. Aunque el sistema de apareamiento es libre y permite la entrada de genes frescos, estas colmenas están sujetas a un proceso de selección que intenta garantizar el mantenimiento de colmenas paternas con las características que se quieren fijar y mantener en un radio cercano. De esta forma se intenta garantizar que en el vuelo nupcial las reinas se fecunden preferentemente por los zánganos provenientes de estas colmenas paternas, que son descendientes también de las primeras colmenas fundadoras. Así, la agregación de estas colmenas puede influir en estos resultados, como se ha planteado influye en los valores de coeficiente de parentesco reportados entre colmenas agregadas de *Apis dorsata* (Sahebzadeh *et al.*, 2012). No obstante, debe señalarse que el número de *loci* utilizado no es el ideal, ya que el uso de un número mayor de estos provee mayor potencia estadística y precisión para comparar poblaciones e individuos (Selkoe y Toonen, 2006).

CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos puede concluirse que el grado de consanguinidad en el apiario del CIAPI es bajo, lo que constituye un buen resultado y avala el buen manejo que se ha mantenido en este apiario. Sin embargo, se recomienda continuar el trabajo aumentando el número de *loci* utilizados y determinar además los parámetros correspondientes a la variabilidad genética de este apiario y el resto de país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baudry E, Solignac M, Garnery L, Gries M, Cornuet J-m, Koeniger N. Relatedness among honeybees (*Apis mellifera*) of a drone congregation. Proc R Soc Lond. 1998;2009-14.
2. Carreck NL. Are honey bees (*Apis mellifera* L.) native to the British Isles? J Apic Res. 2008;47:318–22.
3. De-la-Rúa P, Jaffé R, Dall'Olio R, Munoz I, Serrano J. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. Apidologie. 2009;40:263–84.

4. Estoup A, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM. Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: Hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics*. 1995;140:679–95.
5. Genaro JA. Origins, composition and distribution of the bees of Cuba (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila). *Insecta Mundi*. 2008;0052:1-16.
6. Kalmes R, Huret J-L. Consanguini. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 2002 [updated 2002; cited 29 de noviembre del 2013]; Disponible en: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Educ/ConsangID30039ES.html>.
7. Peakall R, Smouse PE. GENEALEX 6.1: genetic analysis en Excel. Populations genetics software for teaching and reseach. *Mol Ecol Notes*. 2006;6:288-95.
8. Pérez-Piñero A. Manual de Apicultura. La Habana; 2007.
9. Queller DC, Goodnight KF. Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution*. 1989;43(2):258-75.
10. Sahebzadeh N, Mardan M, Manaf Ali A, Tan SG, Adam NA, Lau WH. Genetic Relatedness of Low Solitary Nests of *Apis dorsata* from Marang, Terengganu, Malaysia PLoS ONE 7(7): e41020 doi:101371/journalpone0041020. 2012.
11. Selkoe KA, Toonen RJ. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*. 2006:615-29.
12. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*. 1991;10:506-2.