

**ASIMETRÍA FLUCTUANTE EN EL DISEÑO DE VENACIÓN ALAR DE *APIS MELLIFERA* EN DOS
CRIADEROS DE ABEJAS REINAS DE CUBA**

**FLUCTUATING ASYMMETRY IN THE VENATION WING PATTERN OF *APIS MELLIFERA* IN TWO
FARM OF QUEEN BEE OF CUBA**

Autor(es): Rachel Bolufe Torres¹, Lisandra Benítez Álvarez², Alejandro Rodríguez Ochoa¹, Alberto Morales Martínez², Edy Arnaldo Mederos Ferrer²

¹. Facultad de Biología Universidad de La Habana. Calle 25 e/J e I. Plaza de la Revolución, La Habana. C.P. 10400. CUBA.

² Centro de Investigaciones Apícolas. El Cano a El Chico, Km 0, La Lisa, La Habana. C.P. 19190. Teléfono: (537) 202-0890

genetica@ciapi.minag.cu

Recibido: 25-8-2014

Aprobado: 22-9-2014

RESUMEN

La simetría bilateral en los organismos es resultado de la acción de genes o grupos de genes que controlan el desarrollo de órganos pares. Una de las causas por la que esta simetría no se alcanza es el estrés ambiental durante la ontogenia, presentándose diferentes modalidades de asimetría como la asimetría fluctuante (AF), estimada como la desviación aleatoria en las diferencias entre los componentes derecho e izquierdo de un carácter bilateral. Esta puede ser usada como herramienta en el seguimiento de niveles de estrés en poblaciones y como un indicador de adecuación biológica. Las abejas pueden presentar asimetría fluctuante, que puede ser determinada analizando estructuras anatómicas pares como las alas. El presente trabajo tiene como objetivo determinar el grado de asimetría en el patrón de venación de *Apis mellifera* en dos criaderos de Cuba sometidos a diferentes condiciones ambientales. Se analizaron 14 colmenas del criadero “El Cocal” en Cienfuegos y 10 de “El Pedrero” en Sancti Spíritus, para un total de 140 ejemplares. Se utilizaron 19 puntos claves ubicados en las alas anteriores derecha e izquierda. Como descriptor de asimetría se tuvo en cuenta el tamaño del centroide y la distancia procrustes respecto a la configuración de referencia. No se encontró un alto grado de asimetría fluctuante en los criaderos, aunque fue ligeramente superior en “El Cocal”. Estas diferencias pudieran deberse al estrés ambiental al que está sometido este criadero, lo cual pudiera ocasionar dificultades en la obtención de abejas reinas capaces de sobrevivir, expresar y transmitir todo su potencial productivo.

Palabras claves: *Apis mellifera*, asimetría fluctuante, morfometría geométrica, Cuba

ABSTRACT

Bilateral symmetry in organisms is the result of the action of genes or groups of genes that control the development of paired organs. Ideally bilateral structures of an individual will be perfectly symmetrical. One reason why this symmetry is not enough environmental stress during ontogeny, presenting different forms of asymmetry as fluctuating asymmetry (FA), estimated as the random deviation in metric and meristic differences between the left and right components a bilateral basis. This can be used as a tool in monitoring stress levels in populations and as an indicator of fitness. Bees may have fluctuating asymmetry, which can be determined by analyzing anatomical structures like wings pairs. This study aims to determine the degree of asymmetry in the design of wing venation of *Apis mellifera* in two farms of Cuba under different environmental conditions. Were analyzed 14 hives of El Cocal in Cienfuegos and 10 in The Pedrero, Sancti, for a total of 140 individuals. 19 key points located on the

right and left forewings were used. As asymmetry descriptor took into account the size of the centroid and the Procrustes distance from the reference configuration. Not a high degree of fluctuating asymmetry in hatcheries was found, although the asymmetry was slightly higher in The Cocal. These differences may be due to environmental stress that is subject to this breeding, which could cause difficulties in obtaining queens can survive, express and transmit their full productive potential.

Key words: *Apis mellifera*, fluctuating asymmetry, geometric morphometric, Cuba

INTRODUCCIÓN

La abeja de la miel; *Apis mellifera*, es la especie de abeja de mayor distribución mundial. Originaria de África, sus poblaciones se extienden desde el Sur de este continente hasta el Norte de Europa con una amplia variación morfológica y conductual, reconociéndose 26 subespecies, de estas *A. m. mellifera* es la de mayor distribución natural (Ruttner, 1988). Esta subespecie fue introducida en Cuba en 1774. Luego en la década de 1940-1950 se introdujo *A. m. ligustica* (Pérez-Piñeiro, 2007) y se ha reportado presencia de *A.m.carnica* y *A.m.caucasica* (Genaro, 2008). Supuestamente estas subespecies se han hibridado dando lugar a una abeja melífera criolla que muestra un mosaico de caracteres morfológicos de las subespecies introducidas (Díaz-Milián y Domínguez, 1985).

Las abejas, como la mayoría de los insectos, presentan asimetría fluctuante, estimada como la desviación aleatoria en las diferencias métricas y merísticas entre los componentes derecho e izquierdo de un carácter bilateral (VanValen, 1962). Los mecanismos del desarrollo ontogenético responsables de la simetría de las estructuras biológicas son solo parcialmente conocidos, siendo necesaria una perfecta regulación del desarrollo en ambas mitades del cuerpo para garantizarla. Sin embargo, existen numerosos elementos de estrés inherentes (genéticos) o extrínsecos (ambientales) que pueden influir en estos mecanismos (Palmer y Strobeck, 1992). De ahí que, el nivel de desviación de este patrón, o sea, las asimetrías en el fenotipo, pueden ser indicadores sensibles de la calidad genética o del hábitat. En condiciones ideales, las estructuras morfológicas y/o anatómicas bilaterales de un individuo serán simétricas; sin embargo, una de las causas por la que esta simetría no se alcanza es el estrés ambiental durante la ontogenia. Así, en ambientes alterados los animales pueden presentar diferentes modalidades de asimetría. La magnitud de la asimetría refleja el compromiso entre dos procesos opuestos: inestabilidad en el desarrollo y estabilidad durante el desarrollo embrionario (Pither y Taylor, 2000). De ahí su uso como herramienta en el seguimiento de niveles de estrés en poblaciones naturales y como un indicador de adecuación biológica (Palmer y Strobeck, 1997).

El análisis de la asimetría fluctuante en los organismos, por su simplicidad y rapidez en la obtención de resultados ha ganado interés en el campo de la ecología, la biología evolutiva y la genética, utilizándose el grado de asimetría como medida directa de la estabilidad del desarrollo (Klingenberg et al., 1998). Uno de los métodos más factibles para estos estudios es la morfometría geométrica. La misma puede definirse, como el sistema de métodos y procedimientos, con base geométrica, para el análisis de los patrones de forma, donde las mediciones usualmente derivan de contornos o de puntos

morfológicas claves (Adams *et al.*, 2004). Estos métodos permiten analizar la forma de las estructuras con mayor eficiencia que las distancias lineales. Además se pueden analizar por separado las variaciones en tamaño y en forma.

Las alas de los insectos brindan información taxonómica importante a nivel específico e intraespecífico y pueden ser fácilmente analizadas mediante técnicas de morfometría geométrica ya que son estructuras bidimensionales y fácilmente numeradas (Baylac *et al.*, 2003). El patrón de venación de estas ha sido muy utilizado para la identificación de especies y subespecies de *Apis mellifera*, con mayor éxito en la clasificación respecto a la morfometría clásica (Tofilski, 2008). El estudio de la asimetría entre las alas anteriores, derecha e izquierda ha permitido también la discriminación de subespecies de *A. mellifera* (Mazeed, 2011, Abou-Shaara y Al-Ghamdi, 2012). El grado de asimetría ha sido utilizado como indicador de estabilidad del desarrollo e influencia de hibridación entre las subespecies (Schneider *et al.*, 2003).

En Cuba, la mayoría de los estudios han estado enfocados en la morfología y la taxonomía de *Apis mellifera* (Díaz-Milián y Domínguez, 1985, Genaro, 2001) describiéndose variación morfológica en dependencia de las características del hábitat (Genaro, 2004). Sin embargo, no existen trabajos sobre asimetría fluctuante en la abeja melífera en Cuba. Debido a estas razones el presente trabajo tiene como objetivo describir la asimetría fluctuante en el diseño de venación alar de *Apis mellifera* en dos criaderos de abejas reinas de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

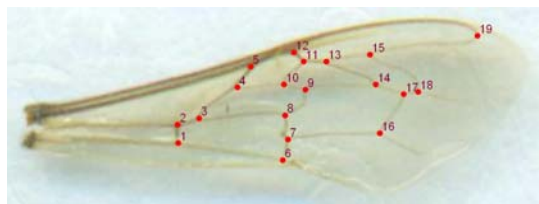
Se tomaron muestras de dos criaderos de abejas reinas del país; “El Coca”l en la provincia de Cienfuegos y “El Pedrero” en la provincia de Sancti Spíritus, ambos con grados de antropización y perturbación ambiental diferentes. “El Coca”l se localiza en una zona muy llana, sometido a estrés ambiental dado por la cercanía a carreteras y caminos y expuesto a las fumigaciones de los cultivos cercanos. Por otra parte, “El Pedrero” se ubica en el Escambray, en un ambiente más natural.

Se analizaron muestras provenientes de 24 colmenas; 14 de El Cocal y 10 de El Pedrero. De cada colmena se tomaron 10 abejas obreras, que fueron conservadas en etanol al 70%. Fueron analizadas de 8 a 10 abejas por colmenas, para un total de 140 ejemplares.

Se trabajó solo con las alas anteriores de cada individuo, que fueron montadas en cristales de preparación microscópica y escaneadas con una resolución de imagen de 1200ppp. Las imágenes

fueron restauradas en Paint y luego exportadas al programa tpsDig de la serie TPS para obtener coordenadas de los puntos claves.

Sección 1.01 Fueron colocados un total de 19 puntos claves anatómicos en las alas anteriores derecha e izquierda (Fig. 1).



Sección 1.02

Sección 1.03

Figura 1. Ala anterior derecha con 19 puntos claves ubicados en las intersecciones de las venas de abejas de la miel de los criaderos El Cocal y el Pedrero, Cuba.

Se realizó un registro generalizado de Procrustes para eliminar el efecto del tamaño, rotarlas y trasladarlas.

Se realizó un Análisis de Curvaturas Relativas obteniéndose como variables de forma las curvaturas relativas 1 y 2 y un análisis de distorsiones, que permitió obtener las rejillas de deformación para visualizar e identificar las regiones del ala que presentan mayor diferencia en cuanto a forma.

Se utilizaron como variables de asimetría las diferencias entre el tamaño del centroide de las alas izquierdas y derechas de ambos criaderos y la diferencia en cuanto a la distancia procrustes a la configuración de referencia, calculadas mediante la serie de programas TPS y el Past 2.17.

Los valores obtenidos fueron ordenados jerárquicamente y estandarizados a valores de 1 a 100. Posteriormente se realizó un gráfico de caja y bigote en cuya construcción se utilizaron cinco medidas descriptivas: mediana, primer cuartil, tercer cuartil, valor máximo y valor mínimo. Este gráfico fue realizado mediante el programa Statistica versión 7.0.

RESULTADOS

En el análisis de curvaturas relativas, el porcentaje de variación asociado a cada una de ellas fue bajo. Las primeras 20 curvaturas explicaron el 95% de la variación. La curvatura 1 explicó el 11.33 % de la varianza, mientras que la curvatura 2 el 9,25 %. Cuando se graficaron estas dos variables no se apreciaron diferencias entre los criaderos (Fig. 1).

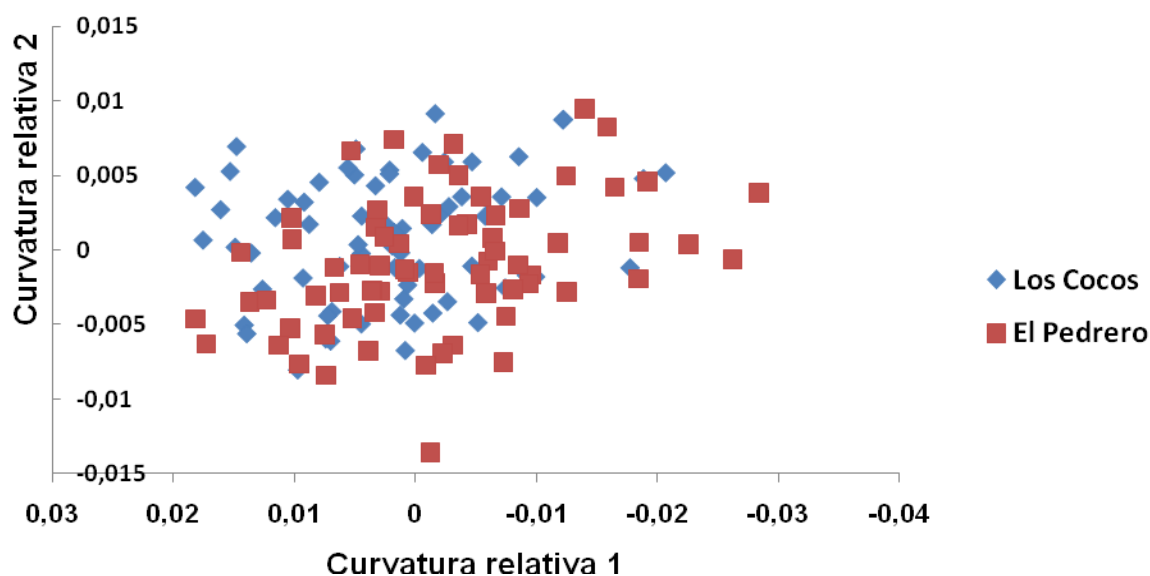


Figura 1: Curvaturas relativas 1 y 2 obtenidas del análisis de curvaturas relativas para los dos criaderos analizados, en rojo criadero El Cocal, Rodas, Cienfuegos y en azul criadero El Pedrero, Fomento, Sancti Spíritus.

Las rejillas de deformación (Fig. 2) obtenidas a partir de las configuraciones consenso de las alas izquierdas y derechas respecto a la configuración consenso general mostraron que la mayor variación se encuentra dada por una compresión en la zona de la primera intersección de las venas cubital y anal y por una expansión en la celda cubital.

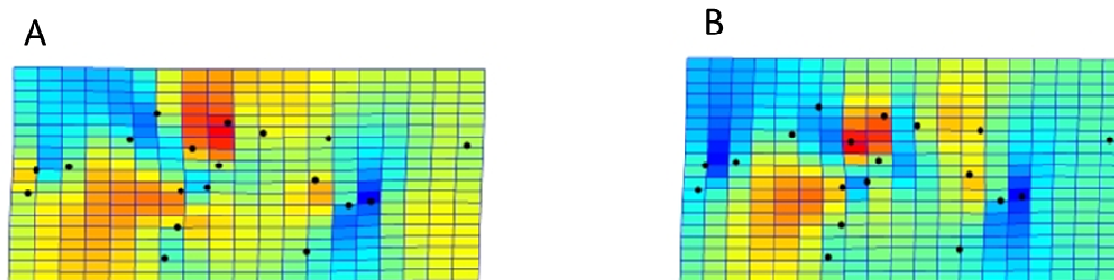


Figura 2: Rejillas de deformación del consenso de las alas izquierdas respecto a la configuración consenso general en El Cocal, Cienfuegos (A) y El Pedrero, Sancti Spiritus

El gráfico de cajas y bigotes (Fig. 3) presenta información sobre la tendencia central, dispersión y simetría de los valores correspondientes a las variables de asimetría; diferencia de tamaño del centroide y diferencia de distancia procuste al punto de referencia. Se identifican individualmente observaciones que se alejan del resto de los datos, los cuales pueden ser denominados como valores extremos.

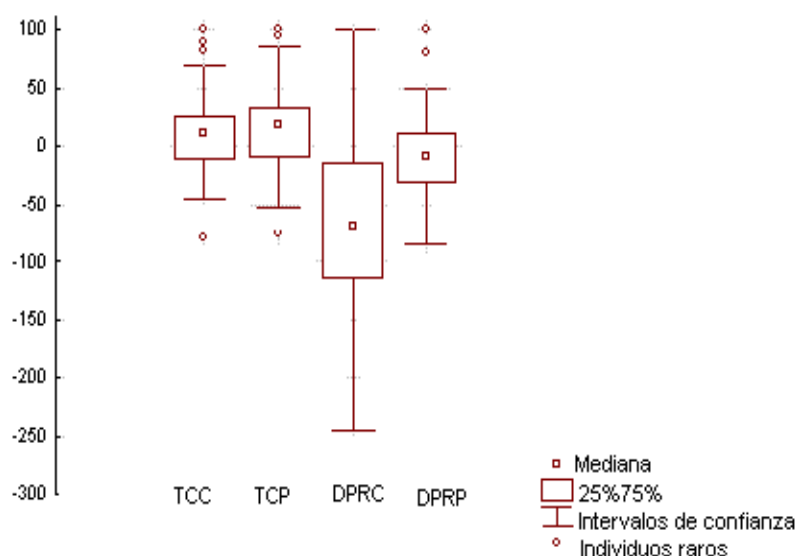


Figura 3: Diferencias en el grado de asimetría fluctuante entre abejas de la miel de los criaderos El Cocal, Rodas (C) y El Pedrero, Fomentos (P) en cuanto a la diferencia en el tamaño del centroide (DTC-C y DTC-P) y la diferencia de distancia procustes a la configuración de referencia (DPR-C y DPR-P) de las alas anteriores.

Para el caso de la variable DTC, el diagrama tanto para el criadero “El Cocal” como para “El Pedrero” mostró cierto grado de asimetría, siendo “El Cocal” el que representa límites de confianza más estrechos y mayor cantidad de valores atípicos.

Según la variable diferencia en la distancia procuste a la configuración de referencia, los cuartiles y rangos fueron más largos para el caso del criadero “El Cocal”, lo cual indica mayor dispersión en la distribución de datos y por ende mayor grado de asimetría.

Sección 1.04 La venación de las alas provee numerosos puntos claves bien definidos morfológicamente en una estructura esencialmente plana, por lo que son comúnmente usados en análisis morfológicos (Klingenberg *et al.*, 1998). En el caso de la abeja de la miel su venación ha sido ampliamente descrita y los caracteres alares han sido utilizados en estudios taxonómicos y de biogeografía (Ruttner, 1988).

DISCUSIÓN

Las rejillas de deformación mostraron una mayor variación en la región cubital. El índice cubital ha sido descrito como carácter taxonómico importante y de alta variación (Ruttner, 1988). Este resultado coincide con el obtenido por Sadeghi y colaboradores, quienes plantean que la mitad posterior del ala anterior tiene mayor valor en la diferenciación de las poblaciones (Sadeghi *et al.*, 2009).

El grado de asimetría refleja la habilidad de un individuo para sobrellevar el estrés; aquellos que sean más simétricos tendrán mayores posibilidades de sobrevivir, en comparación con los que presenten altos niveles de asimetría (Floate y Fox, 2000). Esta información puede resultar muy útil para la crianza de la abeja de la miel, con el fin de obtener individuos mejores adaptados con altos valores de productividad.

El análisis de las variables diferencias en el tamaño del centroide y en la distancia procustes a la configuración consenso mostró mayor grado de asimetría en el criadero “El Cocal”. Estos resultados pueden deberse a las condiciones ambientales a las que este criadero está sometido, dado por la cercanía a carreteras y caminos, expuesto a las fumigaciones de los cultivos cercanos. La asimetría fluctuante está relacionada con estrés químico causado por agentes de origen antropogénico como fertilizantes, químicos industriales, pesticidas, o sustancias naturales como depósitos de metales (Chang *et al.*, 2007), estando reportada asociación entre esta variación y los niveles de contaminantes (Bonn *et al.*, 1996). Esto daría lugar a que la AF sea mayor en los sitios de alto estrés que en los otros menos contaminados (Dobrin y Corkum, 1999). Otro factor también determinante de este resultado podría ser la existencia de un mayor grado de hibridación de las subespecies introducidas en Cuba, ya que el grado de asimetría fluctuante puede ser mayor en híbridos que en genotipos africanos y europeos (Schneider *et al.*, 2003). Sin embargo, para corroborar esta idea es necesario realizar análisis con marcadores moleculares en estas poblaciones.

CONCLUSIONES

No se encontró un alto grado de asimetría fluctuante en los criaderos, aunque fue ligeramente superior en “El Cocal”. Estas diferencias pudieran deberse al estrés ambiental al que está sometido este criadero, lo cual pudiera ocasionar dificultades en la obtención de abejas reinas capaces de sobrevivir, expresar y transmitir todo su potencial productivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE. Geometric morphometrics: ten years of progress following the ‘revolution’. Italian Journal of Zoology. 2004;71:5-16.
2. Baylac M, Villemant C, Simbolotti G. Combining Geometric Morphometrics with Pattern Recognition for the investigation of Species Complexes. Biol J Linn Soc. 2003;80:89–98.
3. Tofilski A. Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies. Apidologie. 2008;39:558-63.
4. Bonn A, Gasse M, Rolff J, Martens A. Increased fluctuating asymmetry in the damselfly *Coenagrion puellais* correlated with ectoparasitic water mites: implication for fluctuating asymmetry theory Oecologia. 1996;108:596-8.
5. Chang X, Zhai B, Liu X, Wang M. Effects of temperature stress and pesticide exposure on fluctuating asymmetry and mortality of *Copera annulata* (Selys) (Odonata: Zygoptera) larvae. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2007;67:120–7
6. Díaz-Milián ME, Domínguez DA. Características morfológicas de la abeja (*Apis mellifica*) en Cuba Cienc tec Agric. 1985;1:91-105.
7. Dobrin M, Corkum LD. Can Fluctuating Asymmetry in Adult Burrowing Mayflies (*Hexagenia rigida*, Ephemeroptera) be used as a Measure of Contaminant Stress? . J Great Lakes Research 1999;25 (2):339-46.
8. Floate KD, Fox AS. Flies under stress: a test of fluctuating asymmetry as biomonitor of environmental quality. Ecological Applications. 2000;10(5):1541-50.
9. Genaro JA. Especies nuevas de abejas de Cuba y La Española (Hymenoptera: Colletidae, Megachilidae, Apidae). Rev Biol Trop. 2001;49(3-4):1027-35.
10. Genaro JA. Las abejas de la Isla de la Juventud, Cuba (Hymenoptera:Apoidea). Boln SEA. 2004; 34:177 – 9

11. Genaro JA. Origins, composition and distribution of the bees of Cuba (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila). *Insecta Mundi*. 2008;0052:1-16.
12. Klingenberg CP, McIntyre GS, Zaklan SD. Left-right asymmetry of fly wings and the evolution of body axes. *The Royal Society*. 1998;265:1255-9.
13. Mazeed AMM. Anomalies and asymmetry of wing venation pattern in Carniolan and Egyptian bee populations in Egypt *Egypt Acad J Biolog Sci*. 2011;4(1):149- 61.
14. Abou-Shaara HF, Al-Ghamdi AA. Studies on wings symmetry and honey bee races discrimination by using standard and geometric morphometrics. *Biotechnology in Animal Husbandry* 2012;28(3):575-84.
15. Palmer AR, Strobeck C. Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: Implications of non-normal distributions and power of statistical tests. *Acta Zool Fennica*. 1992;191:57-72.
16. Palmer AR, Strobeck C. Fluctuating asymmetry and developmental stability: heritability of observable variation vs. heritability of inferred cause. *J evol Biol*. 1997;10:39-49.
17. Pérez-Piñero A. *Manual de Apicultura*. La Habana 2007. 154 p.
18. Pither J, Taylor PD. Directional and fluctuating asymmetry in the black-winged damselfly *Calopteryx maculata* (Beauvois) (Odonata: Calopterygidae). *Can J Zool*. 2000;78:1740–8.
19. Ruttner F. *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 1988. 284 p.
20. Sadeghi S, Adriaens D, Dumont HJ. Geometric Morphometric analysis of wing shape variation in ten European population of *Calopteryx splendens* (Harris, 1782) (Zygoptera: Odonata). *Odonatologica*. 2009;38(4):343-60.
21. Schneider SS, Leamy LJ, Lewis LA, Degrandi-Hoffman G. The influence of hybridization between African and European honeybees, *Apis mellifera*, on asymmetries in wing size and shape *Evolution*. 2003;57(10):2350–64.
22. VanValen L. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution*. 1962;16:125-42.