

Marcadores, análisis y tests genéticos en abejas.

Dra Melanie Parejo, UPV/EHU

Jornadas ruralcat /ASAB , 17/03/2022

Melanie Parejo

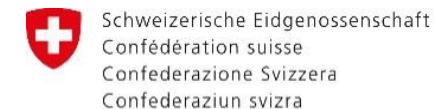


ZIENTZIA
ETA TEKNOLOGIA
FAKULTATEA
FACULTAD
DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA

- 2017 - Doctorado en la Universidad de Berna, en colaboración con el centro nacional de investigación apícola en Suiza

Tesis: Genética poblacional y de conservación en Suiza

- Desde 2018: Investigadora postdoctoral en el grupo de Applied Genomics and Bioinformatics, UPV/EHU (IP: Andone Estonba)
 - Proyectos: Smartbees, Abejas Museo, Holofood, ...
- Editora de Journal of Apicultural Research (Revista científica de apicultura) – IBRA
- Miembro de COLOSS
- Responsable test genéticos de las reinas del programa de selección en Suiza



Eidgenössisches Departement für
Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF
Agroscope

u^b

**UNIVERSITÄT
BERN**



mpgenetics

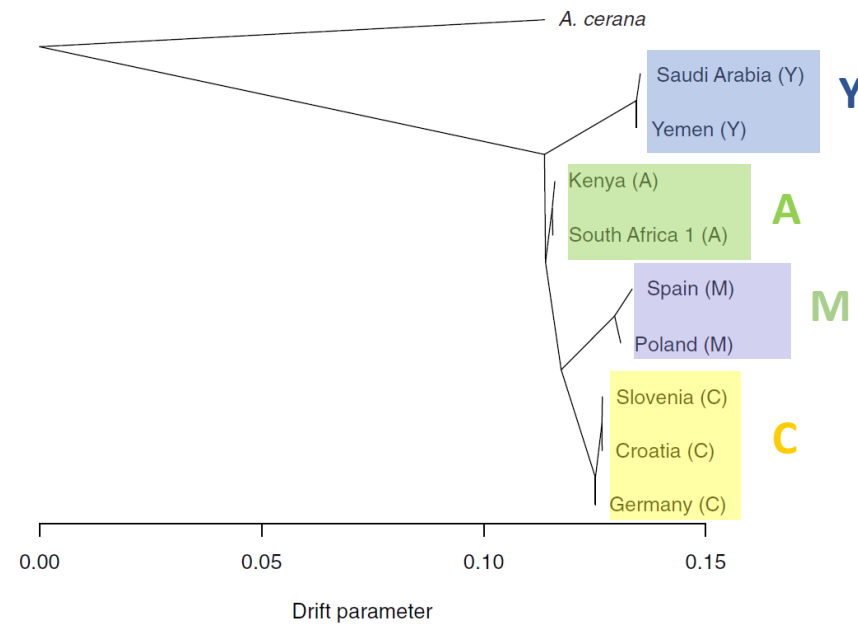
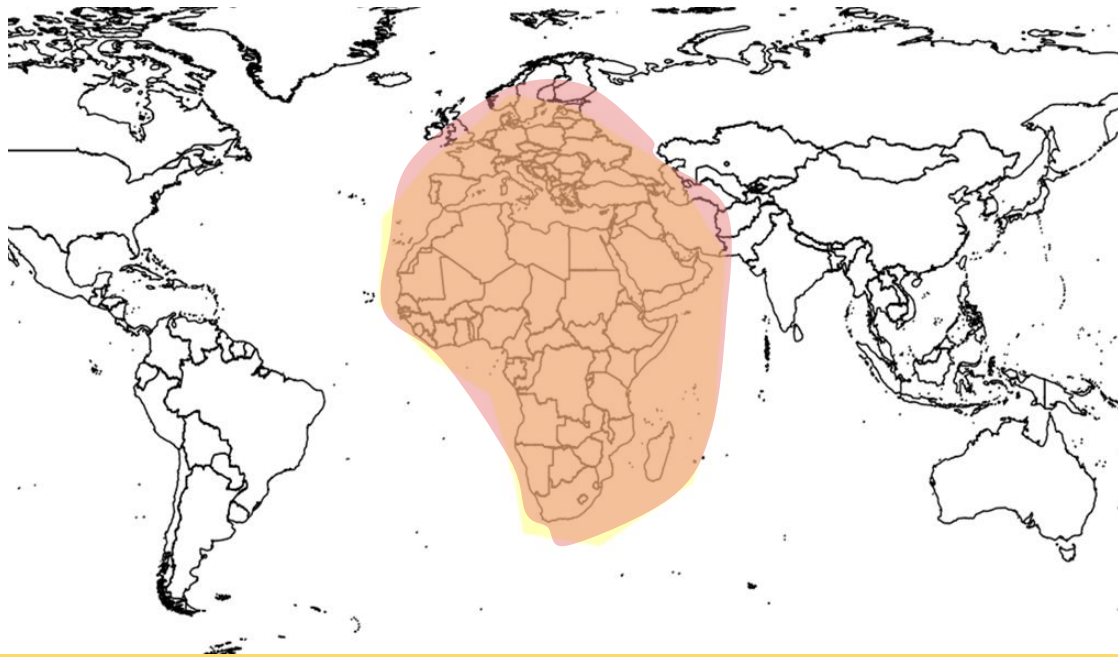


Índice

1. Introducción
2. Marcadores genéticos y sus aplicaciones en apicultura
3. Test genéticos disponibles
 - Test de hibridación entre linajes
 - Test SNP4000 para el diagnóstico de subespecie
4. Ejemplo – el caso de Suiza

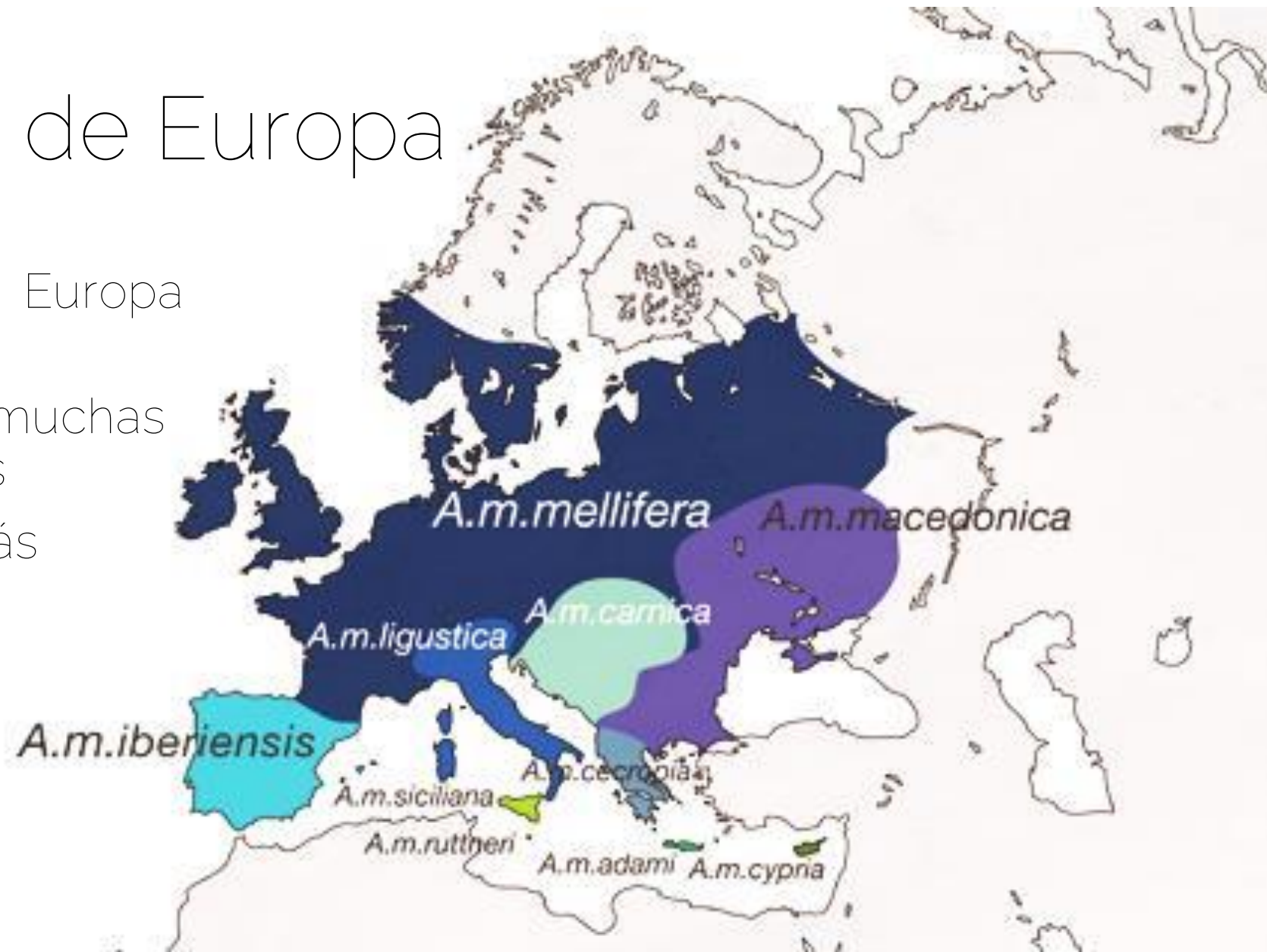
Origen de la abeja melífera *Apis mellifera*

- Origen de la especie: hace 6-9 millones de años.
- Amplia distribución natural
- > 30 subespecies descritas, divididas en 4 linajes evolutivos



Subespecies de Europa

- 2 linajes evolutivos en Europa : M und C
- En poco espacio hay muchas subespecies descritas
- La subespecie con más extensión *A. mellifera mellifera*



Subespecies/Razas más comunes en apicultura en Europa Central/Oeste

M-
Linaje



A. m. mellifera



A. m. iberiensis

C-
Linaje



A. m. carnica



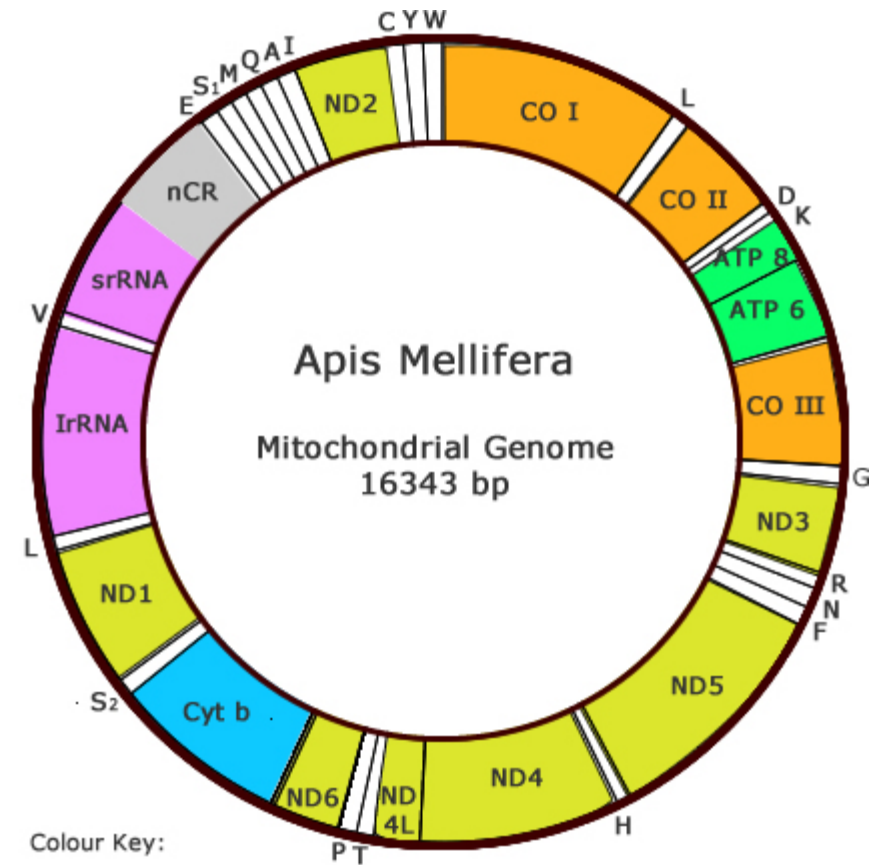
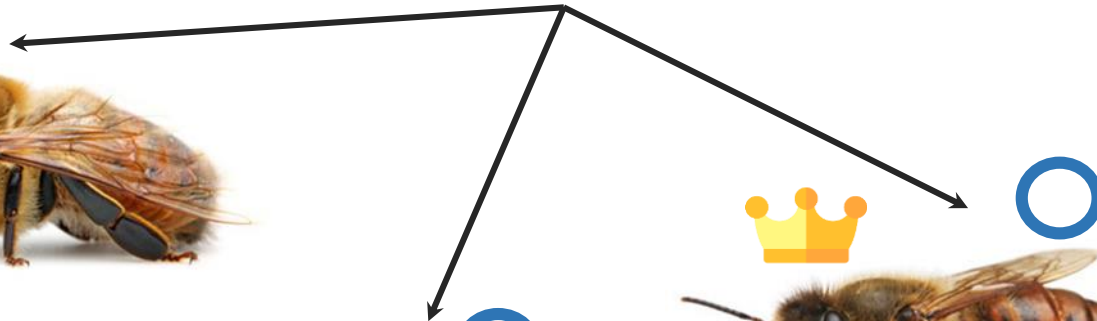
Buckfast



A. m. ligustica

ADN mitochondrial

- Línea maternal



Microsatellites

- Marcador clásico
- Alta variabilidad
- Muchos estudios de la diversidad e historia evolutiva de *Apis mellifera*

AGCGCTA**CTTCTTCTT**GCATAGCC
AGCGCTA**CTTCTTCTTCTT**GCATAGCC
AGCGCTA**CTTCTTCTTCTTCTTCTT**GCATAGCC

Apidologie 38 (2007) 141–155
© INRA/DIB-AGIB/ EDP Sciences, 2007
DOI: 10.1051/apido:2007007

141

Original article

Gene flow within the M evolutionary lineage of *Apis mellifera*: role of the Pyrenees, isolation by distance and post-glacial re-colonization routes in the western Europe*

Irati MIGUEL^a, Mikel IRIONDO^a, Lionel GARNERY^b, Walter S. SHEPPARD^c,
Andone ESTONBA^a

SNPs – Polimorfismo de un solo nucleótido

- Marcador más popular hoy en día
- Relativamente fácil para genotipar
- Buena reproducibilidad
- Poca variabilidad (dos alelos)



Smartbees Chip
4165 SNPs

ATAGCCAGCGCTA
ATAGCCGGCGCTA

BMC Part of Springer Nature

BMC Genomics

Methodology article | [Open Access](#) | [Published: 03 February 2021](#)

Authoritative subspecies diagnosis tool for European honey bees based on ancestry informative SNPs

[Jamal Momeni](#) , [Melanie Parejo](#), [...] [Andone Estonba](#) 

BMC Genomics **22**, Article number: 101 (2021) | [Cite this article](#)

3015 Accesses | **5** Citations | **8** Altmeteric | [Metrics](#)

Morfometría / Morfología

- Características hereditarias están basadas en la genética



Carnica *A.m.carnica*



Mellifera *A.m.mellifera*



Ligustica *A.m.ligustica*



Iberiensis *A.m.iberiensis*



Macedonica *A.m.macedonica*



Carpatica *A.m.carpatica* (state)



Cecropia *A.m.cecropia*



Adami *A.m.adami*
unspecified



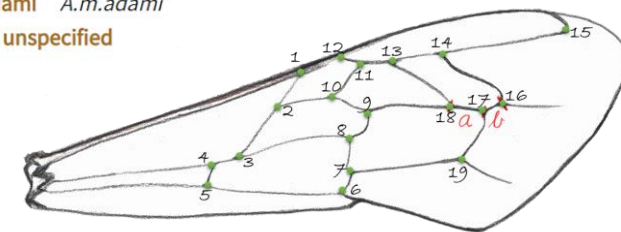
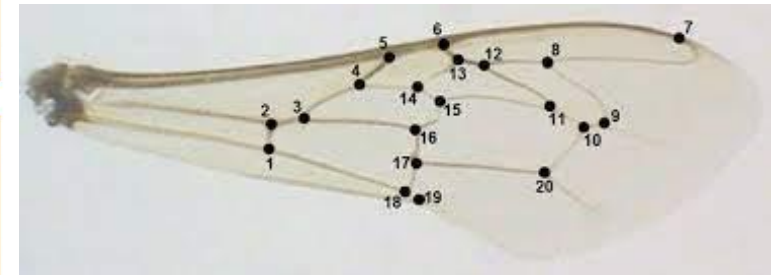
Caucasica *A.m.caucasica*



Siciliana *A.m.siciliana*

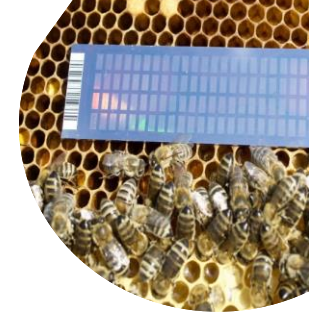


Ruttneri *A.m.ruttneri*

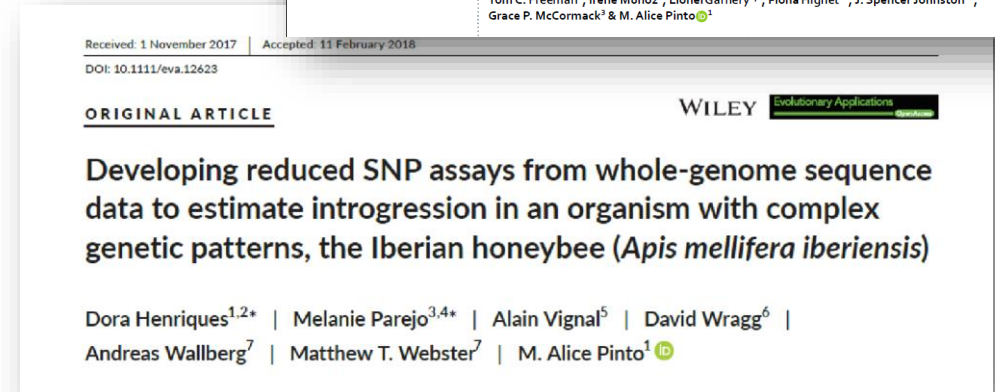
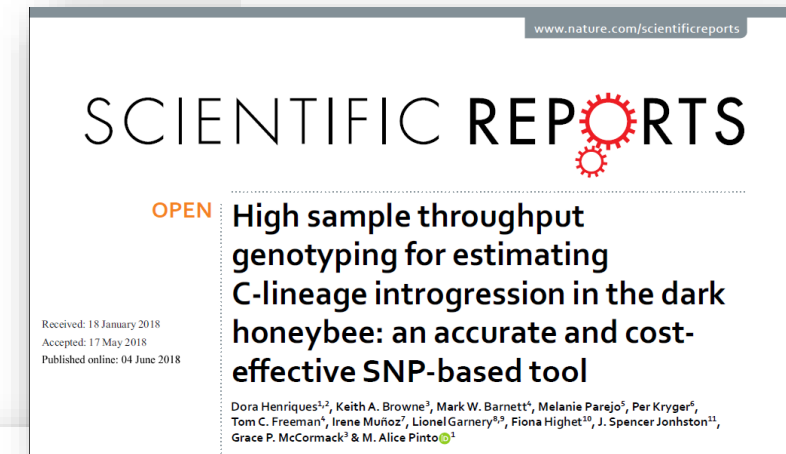


$$\text{Cubital index} = \frac{a}{b}$$

Aplicaciones en apicultura



- Identificación de razas/subespecies autóctonas
- Calcular porcentaje de hibridación
- Calcular diversidad genética
- Calcular consanguinidad
- Estimar parentesco (paternidades) /
- Calcular número de patrilíneas
- Estimar linaje materno
- ...



Índice

1. Introducción
2. Marcadores genéticos y sus aplicaciones en apicultura
3. Test genéticos disponibles
 - Test de hibridación entre linajes
 - Test SNP4000 para el diagnóstico de subespecie
4. Ejemplo – el caso de Suiza

Tests de hibridación

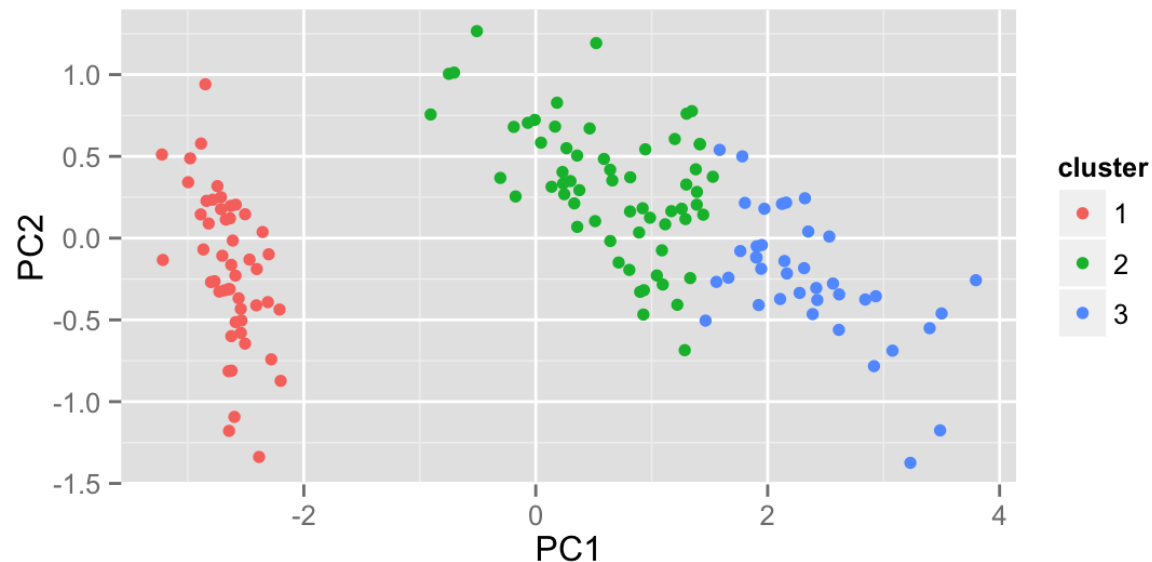
Para:

- Centros/áreas de conservación
- Estaciones de apareamiento
- Inseminación artificial



¿Cómo funcionan los tests de raza/hibridación?

- 1 - Medición
- 2 - Comparación con la población de referencia
- 3 - Asignación con mayor o menor probabilidad



Test genético para estimar la hibridación del linaje C en *Apis mellifera mellifera*

Tesis doctoral en

Centro de Investigación Apícola, Agroscope

Instituto de Salud de las Abejas, Universidad de Berna



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für
Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF
Agroscope

u^b

**UNIVERSITÄT
BERN**

Colaboración:

Prof. A. Pinto

Dr. Dora Henriques



ipb
INSTITUTO POLITÉCNICO
DE BRAGANÇA

www.nature.com/scientificreports

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN High sample throughput genotyping for C-lineage introgression in honeybee: an effective SNP-based approach

Journal of Apicultural Research, 2018
Vol. 57, No. 4, 504-506, <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494894>

NOTES AND COMMENTS
Empirical comparison of microsatellite and SNP markers to estimate introgression in *Apis mellifera mellifera*

Melanie Parejo^{a,b,*}, Dora Henriques^{c,d}, M. Alice Pinto^e, Gabriele Soland-Reckeweg^f and Markus Neuditschko^g

^aAgroscope, Swiss Bee Research Centre, Bern, Switzerland; ^bVetsuisse Faculty, Institute of Bee Health, University of Bern, Bern, Switzerland; ^cMountain Research Centre, Polytechnic Institute of Bragança, Bragança, Portugal; ^dCentre of Molecular and Environmental Biology, University of Minho, Braga, Portugal; ^eApigenix, Twann, Switzerland
(Received 14 October 2017; accepted 16 May 2018)

IBRA INTERNATIONAL BEE RESEARCH ASSOCIATION

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group
Check for updates

Desarrollo del test

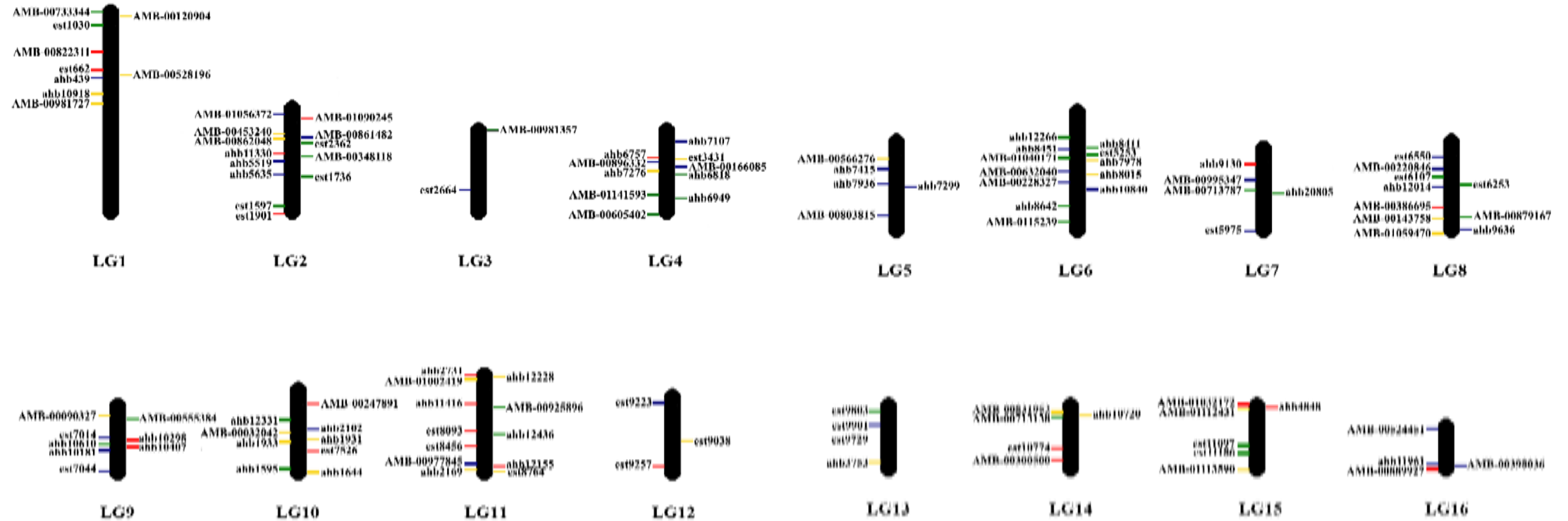
- Conjunto de datos de 1536 SNPs y 113 abejas.
- FST (y otros estadísticos) para identificar los SNPs con mayor poder discriminatorio entre el linaje C y el linaje M.
- Diseño de primers para el genotipado con la plataforma MassARRAY® MALDI-TOF de Agena Biosciences

→ Tras el control de calidad:

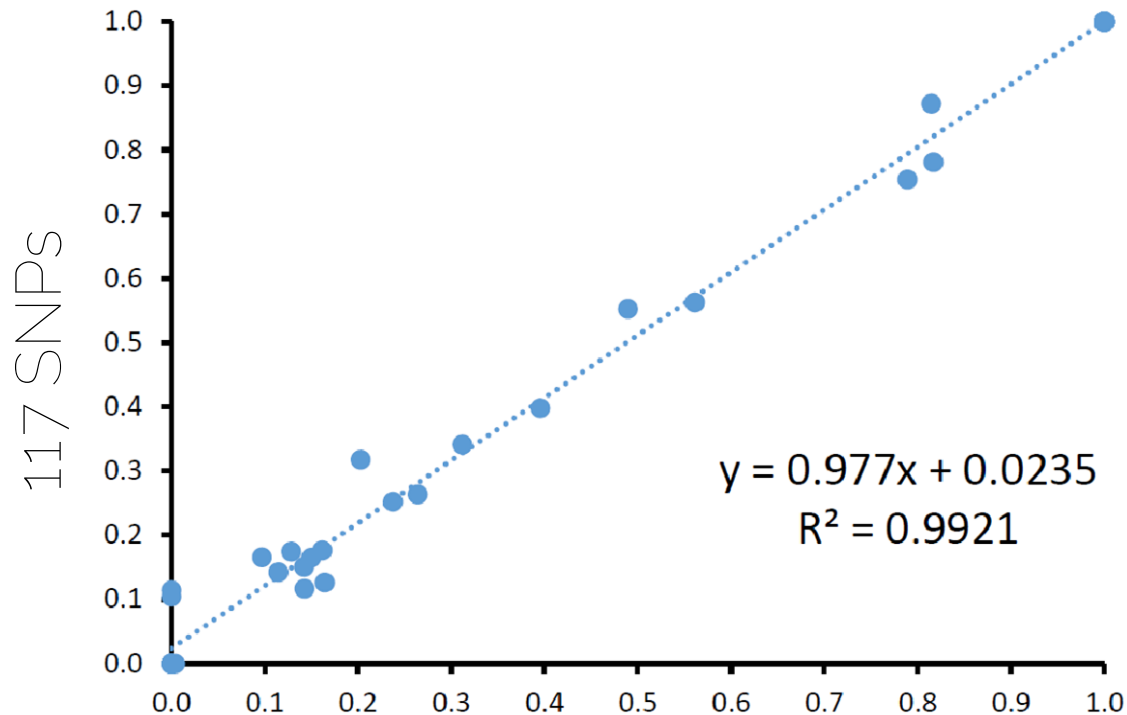
117 SNPs validados y altamente informativos



Posiciones de los SNPs en el genoma de la abeja melífera

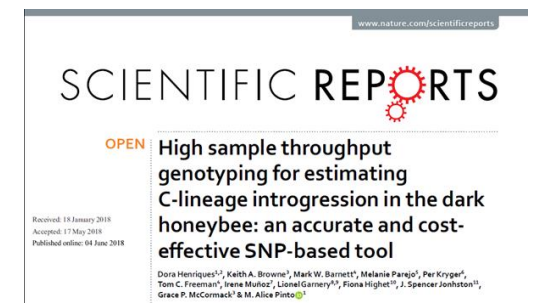


Validación



2,39 Mio.
SNPs

- Comparación del test contra genoma completo
- validado en >500 muestras de toda Europa
- Aplicado a la cría y a la conservación de abejas locales en Suiza



Nuevo Test SNP4000



Array de genotipado de abejas melíferas

- 4165 SNPs para el diagnóstico de subespecie

BMC Part of Springer Nature

BMC Genomics

Methodology article | [Open Access](#) | Published: 03 February 2021

Authoritative subspecies diagnosis tool for European honey bees based on ancestry informative SNPs

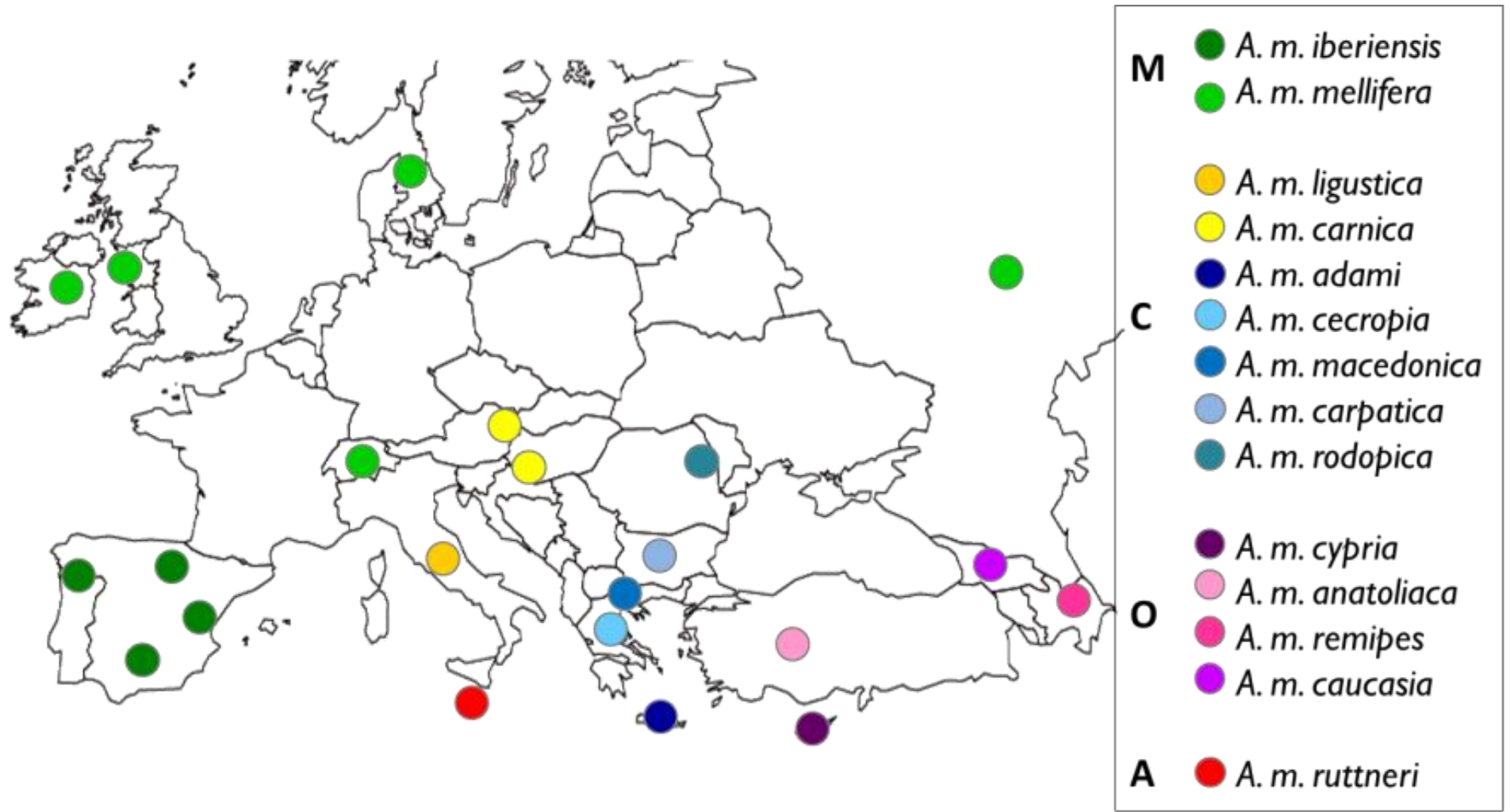
[Jamal Momeni](#) , [Melanie Parejo](#), [...] [Andone Estonba](#) 

BMC Genomics **22**, Article number: 101 (2021) | [Cite this article](#)

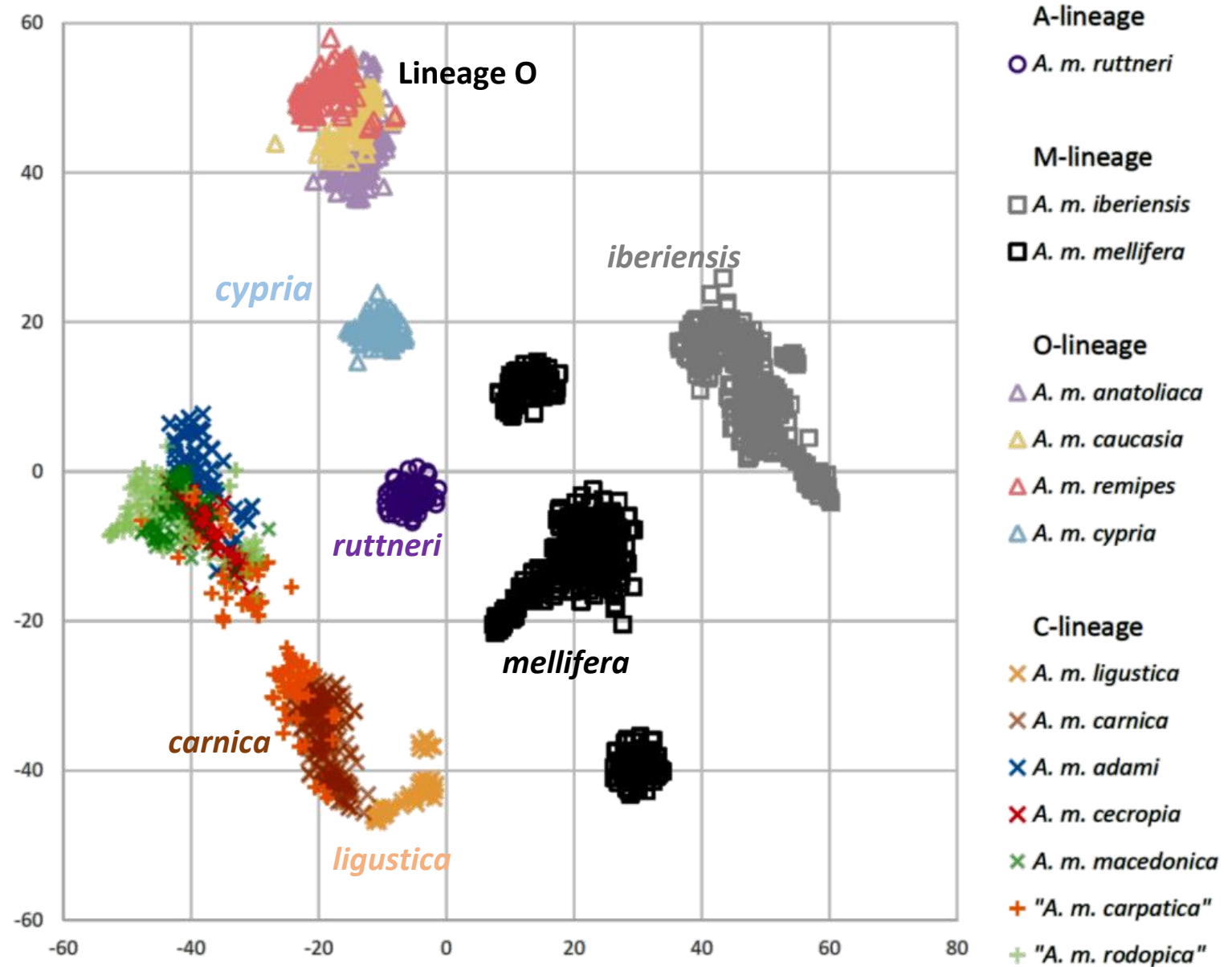
3015 Accesses | **5** Citations | **8** Altmetric | [Metrics](#)



Nuevo Test SNP4000 - Muestreo



Nuevo Test SNP4000



Validación

(B) With 90%
threshold

		Predicted class													# Unassigned		
		A	M		O				C								
		Ruttneri	Iberiensis	Mellifera	Cypria	Caucasia	Anatoliaca	Remipes	Carnica	Ligustica	Cecropia	Macedonica	Rodopica	Carpatica	Adami		
Known class	A	Ruttneri	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	M	Iberiensis	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
		Mellifera	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	48
	O	Cypria	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
		Caucasia	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11
		Anatoliaca	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	6
		Remipes	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	4
	C	Carnica	0	0	0	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0	0	70
		Ligustica	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	45
		Cecropia	0	0	4	0	0	0	0	0	0	92	4	0	0	0	55
		Macedonica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	125
		Rodopica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	9
		Carpatica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	15
		Adami	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	8
																	407

Genotipar la
muestra
desconocida



Aplicar el modelo
(LinearSVC)

$$Y = aX_1 + bX_2 + cX_3 + \dots$$



Predicción

A.m. iberiensis

El diagnóstico de la subespecie es útil en una amplia gama de aplicaciones:

- para los apicultores que quieren conocer las subespecies de sus abejas
- para los gestores de la conservación en Europa, donde el diagnóstico de las subespecies es esencial para controlar la tasa de hibridación de las colonias en los conservatorios
- para los veterinarios, para controlar el comercio de reinas; para que los apicultores certifiquen el origen de la subespecie de sus reinas;
- y para que los apicultores puedan autenticar sus productos apícolas

Indice

1. Introducción
2. Marcadores genéticos y sus aplicaciones en apicultura
3. Test genéticos disponibles
 - Test de hibridación entre linajes
 - Test SNP4000 para el diagnóstico de subespecie
4. Ejemplo – el caso de Suiza

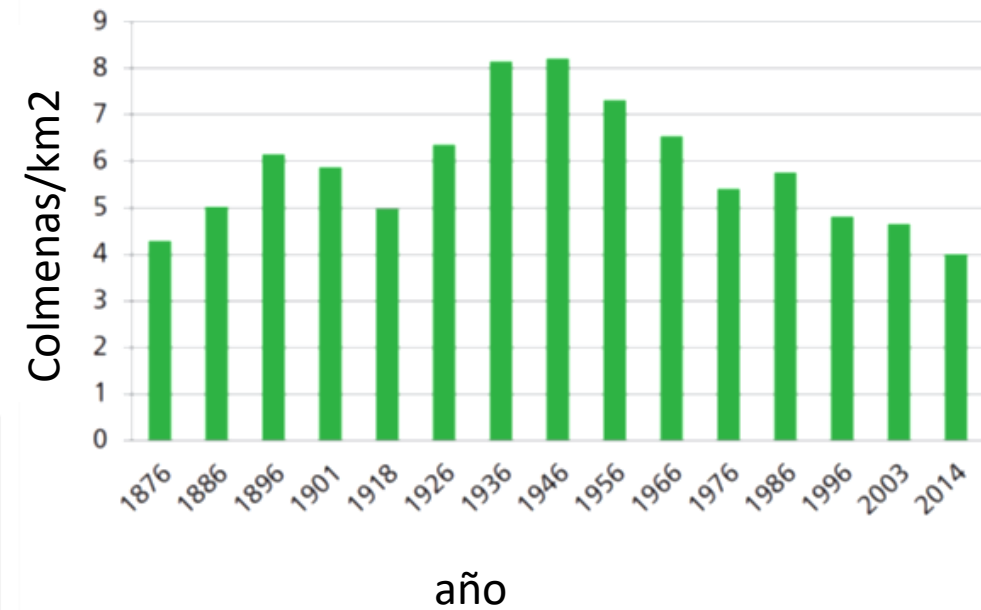
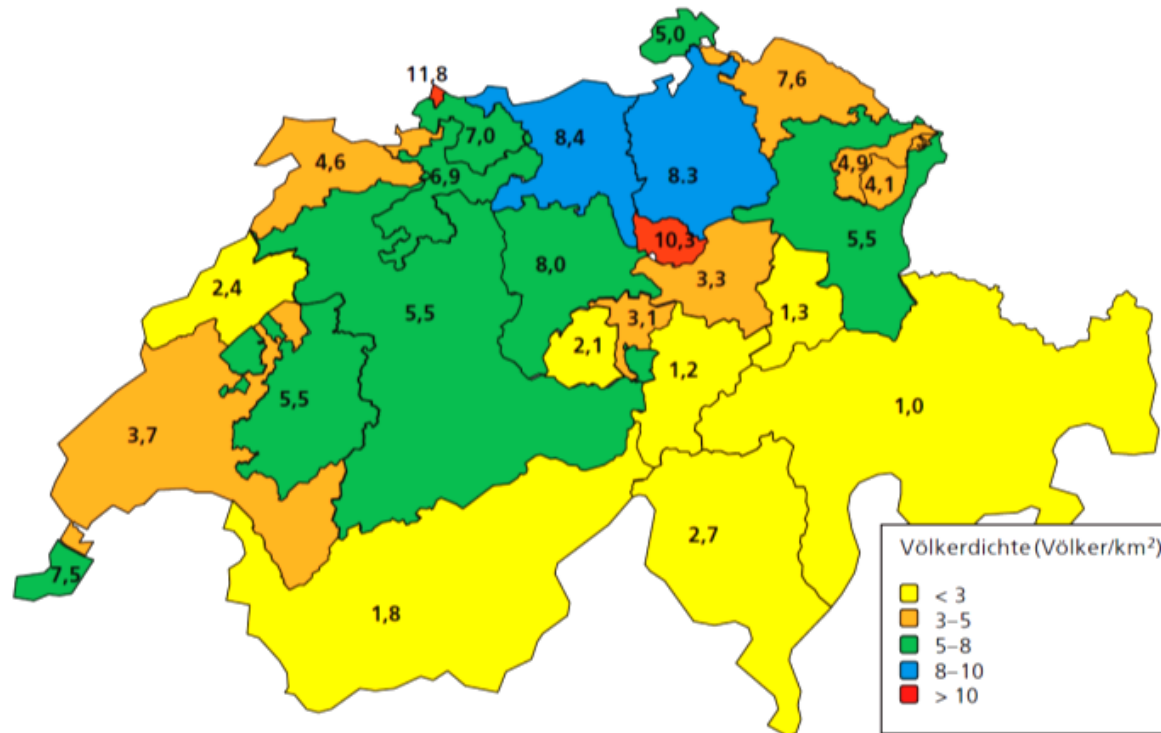
El caso de Suiza

- Superficie: 41,285 km²
- 17 500 apicultores
- 177 000 colmenas

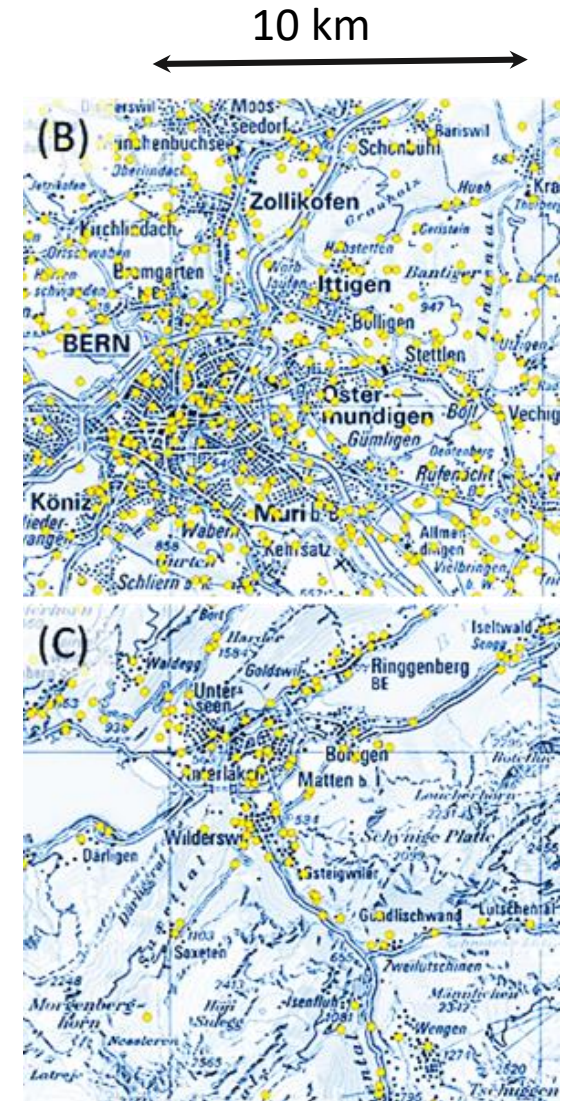
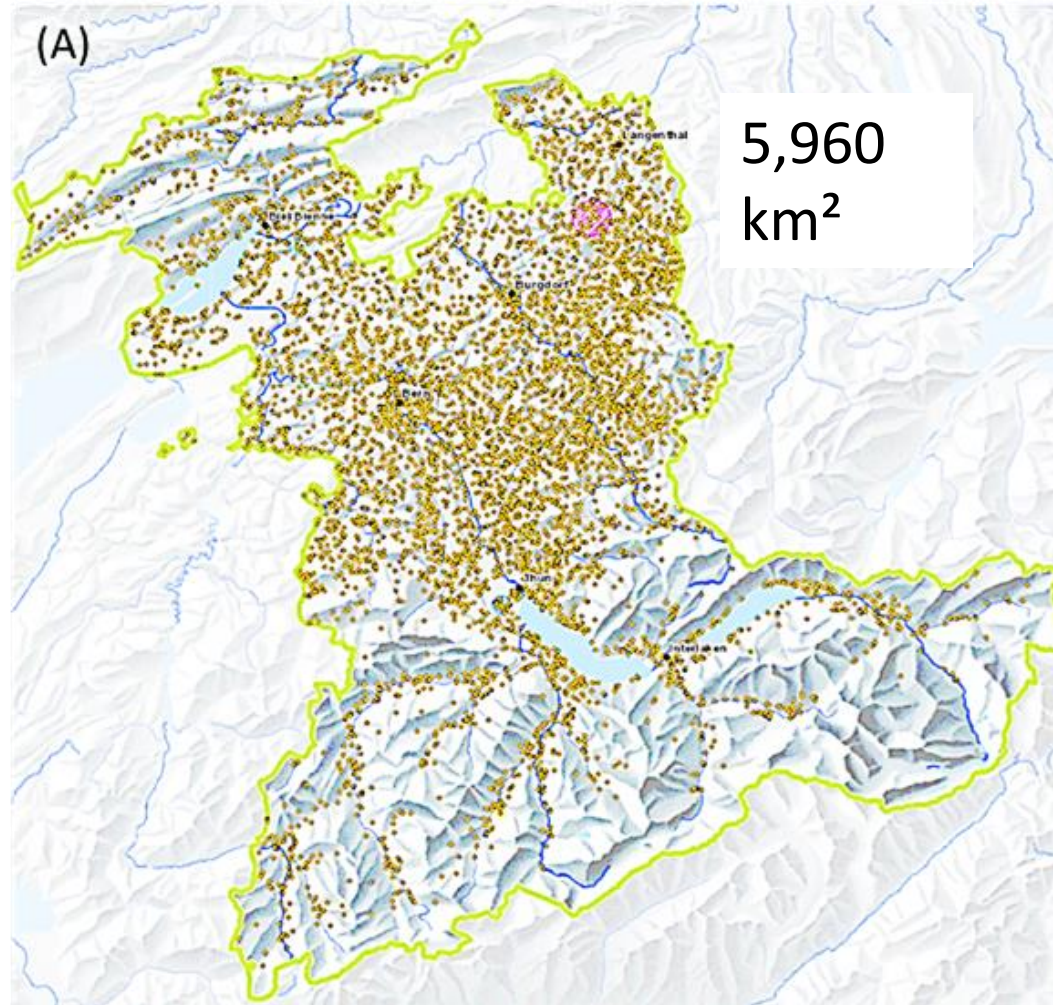


Situación en Suiza

▣ Densidad de ~ 4,2 colmenas/km²



Ejemplo Cantón de Berna



Subespecies/Razas más comunes en Suiza

M-
Linaje



A. m. mellifera

Nativa



C-
Linaje



A. m. carnica



Buckfast

Nativa en el Sur



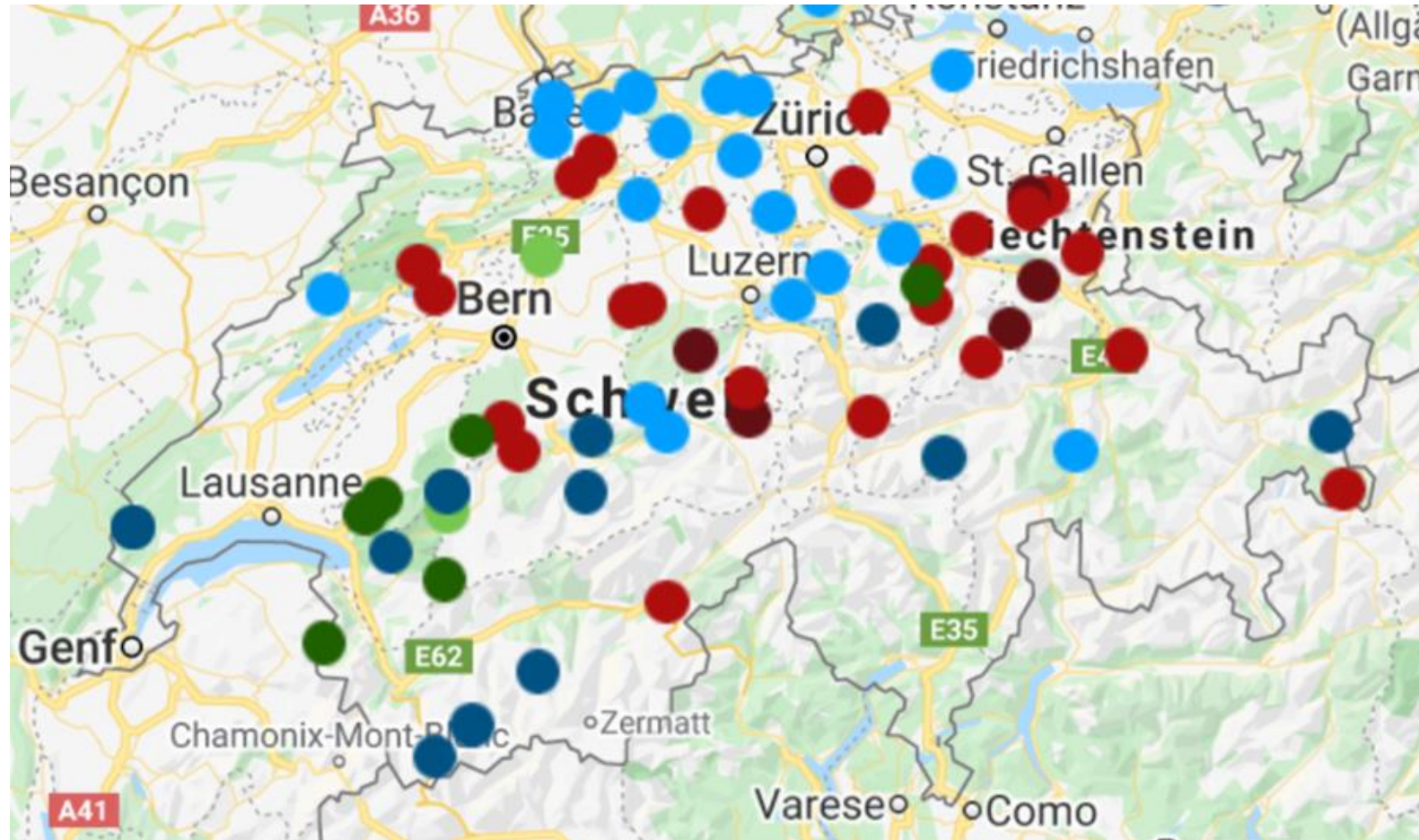
A. m. ligustica

Cría y selección de subespecies/razas

- Organizaciones de criadores
- Estaciones de apareamiento
- Inseminación artificial
- Áreas de conservación



Estaciones de apareamientos



●	Buckfast A
●	Mellifera A
●	Carnica A
●	Buckfast B
●	Mellifera B
●	Carnica B

Gràcies!



Contacto:
melanieparejoUPV@gmail.com

eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

FACULTY
OF SCIENCE
AND TECHNOLOGY
UNIVERSITY
OF THE BASQUE
COUNTRY