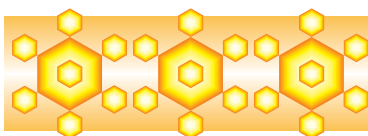


# A História Contada pelo ADN Mitochondrial



## Padrões Geográficos de Diversidade Genética da Abelha Melífera em Portugal (Continente e Ilhas)

*Maria Alice Pinto\*, Paula Baptista, Sância Pires*  
*Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Pol. de Bragança (IPB)*  
*Campus de Santa Apolónia, 5301-855 Bragança*  
*\* Coordenador Científico do Projecto.*  
*Email: apinto@ipb.pt*

A Europa alberga três linhagens evolutivas da abelha melífera (*Apis mellifera* L.), nomeadamente: linhagem M (oeste e norte europeia), linhagem C (sudeste Europeia) e linhagem A (Africana). A linhagem C inclui mais de 6 subespécies destacando-se, pela sua importância na apicultura mundial, a *A. m. ligustica* (abelha italiana) e *A. m. carnica* (abelha carniola). Por sua vez, a linhagem M agrupa apenas a *A. m. mellifera* (abelha preta) e *A. m. iberiensis* (abelha ibérica). Enquanto a distribuição natural da abelha preta inclui uma boa parte das regiões da Europa Ocidental e Central até à Península Escandinava, Alemanha e Polónia, a abelha ibérica está confinada à Península Ibérica. Porém, é nesta região da Europa que a abelha melífera exhibe maior diversidade genética, resultante da coexistência de abelhas de origem Europeia (M) e Africana (A). Num contexto de profundas alterações ambientais (e.g. alterações climáticas, poluição, pesticidas, novos patógenos e parasitas), a preservação deste valioso património é crucial pois a sobrevivência a longo prazo de qualquer organismo depende da sua diversidade genética.



O padrão espacial da diversidade genética das populações de abelha melífera que colonizam o território Português é virtualmente desconhecido, contrariamente ao que acontece noutros países da Europa, e principalmente em Espanha, onde numerosos estudos genéticos têm sido desenvolvidos.

O projecto de investigação designado “**Padrões geográficos de diversidade genética da abelha melífera em Portugal (continente e ilhas): a história contada pelo ADN mitocondrial**” pretende colmatar esta lacuna. Considerando as profundas alterações ambientais (principalmente a entrada de novos patógenos e parasitas) registadas nas duas últimas décadas e numa fase de arranque de um programa de melhoramento genético (projecto de produção de rainhas autóctones melhoradas, PRAMELHOR), agora mais do que nunca, é crucial avançar-se com a caracterização genética da abelha autóctone. Neste artigo far-se-á uma breve descrição deste projecto de investigação, o qual foi já apresentado no último Fórum Nacional de Apicultura (Ourém, Novembro de 2009).

# A História Contada pelo ADN Mitocondrial



Este projecto foi proposto para financiamento ao Programa Apícola Nacional 2008-2010 (medida 6A) pela Federação Nacional dos Apicultores de Portugal em Julho de 2009. Tem como colaboradores as Organizações de Apicultores, a Direcção Geral de Veterinária e o Laboratório Nacional de Investigação Veterinária. A coordenação científica é da responsabilidade do Centro de Investigação de Montanha (CIMO) do Instituto Politécnico de Bragança.

Os objectivos deste projecto são:

(i) quantificar a diversidade genética da abelha melífera em Portugal continental e ilhas;

(ii) examinar os padrões geográficos da variabilidade da abelha melífera em Portugal continental e ilhas e;

(iii) estimar a magnitude da introgressão de genes procedentes de subespécies exóticas no pool genético da abelha autóctone em Portugal continental e ilhas. Para cumprir estes objectivos as amostras de abelhas são submetidas a uma análise do ADN mitocondrial (mtADN).

O mtADN é uma molécula não recombinante que nos animais (incluindo abelhas) é transmitida pela via materna, ou seja passa intacta de mães para filhas e filhos.

Assim, este marcador molecular fornece a componente materna da variabilidade genética.

A amplitude deste projecto ultrapassa o objectivo imediato de quantificação e representação espacial da diversidade genética.

Esperamos que o conhecimento e experiência adquiridos possam contribuir para o desenvolvimento sustentado da actividade apícola, principalmente através da sua eventual utilização no programa de melhoramento genético da abelha.



# A História Contada pelo ADN Mitocondrial

Os resultados deste projecto poderão ser usados:

- (i) como referência na certificação de rainhas (haplótipos de referência);
- (ii) na identificação das populações base para futuras selecções;
- (iii) na formulação de estratégias de conservação de genes que capturem a diversidade genética existente;
- (iv) na tomada de decisão relativamente à



*Figura 1*

movimentação de colónias entre regiões.

Adicionalmente, a ferramenta molecular otimizada neste projecto poderá ser:

- (i) posta ao serviço da certificação das rainhas, como complemento da morfometria;
- (ii) usada na avaliação e monitorização da diversidade genética das rainhas melhoradas;
- (iii) usada na avaliação e monitorização da diversidade genética dos zângãos nas áreas de

congregação próximas dos apiários de acasalamento.

As tarefas principais deste projecto incluem a colheita de amostras de abelhas, em Portugal continental e arquipélagos da Madeira e Açores, e sua análise molecular. Relativamente à amostragem, a qual está a decorrer desde 2009 e cuja conclusão está prevista para finais de Maio de 2010, pretende-se organizar uma colecção de cerca de 1000 amostras de abelhas, cada uma representando um apiário, distribuídas por todos os distritos do País. Em cada apiário tem-se vindo a colher cerca de 5 abelhas de uma colmeia escolhida ao acaso. As abelhas são colocadas num frasco devidamente identificado e contendo álcool a 96% (Fig. 1) o qual é depois enviado para o CIMO/IPB<sup>1</sup>. O sucesso desta tarefa depende do empenhamento de todas as entidades participantes neste projecto. Assim, aproveitamos esta oportunidade para solicitar e agradecer o envolvimento de todos no cumprimento desta importante tarefa.

A análise molecular, a decorrer no laboratório do CIMO/IPB, consiste na extracção de ADN de uma das patas anteriores da abelha, amplificação da região intergénica COI-COII do mtADN usando a técnica molecular reacção de polimerase em cadeia (PCR, Fig. 2), seguida de digestão com a enzima de restrição Dra I. O produto PCR digerido com a Dra I é corrido num gel de agarose (Fig. 3) e depois fotografado (Fig. 4).



*Figura 2*

# A História Contada pelo ADN Mitocondrial

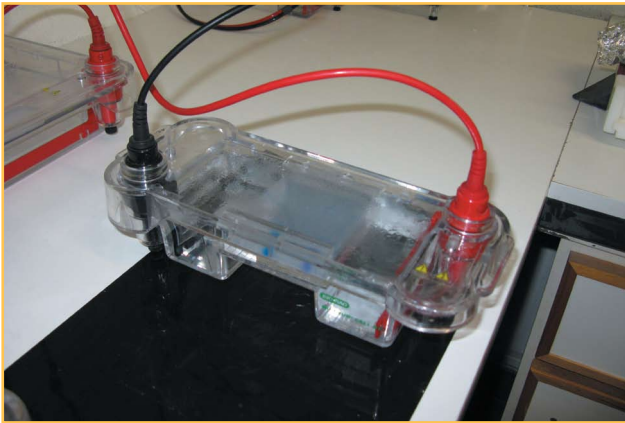


Figura 3

A identificação dos diferentes tipos de ADN (haplótipos) é feita pela análise do padrão exibido por cada amostra (Fig. 5).

As amostras até agora analisadas revelam um tipo de mtADN de origem Africana e exibem uma grande variabilidade genética, como seria de prever para esta região da Península Ibérica. Este projecto estará concluído em Agosto de 2010. Até lá esperamos que o mtADN nos revele o padrão espacial da diversidade genética deste valioso património representado pela nossa abelha.

## NOTA DE RODAPÉ

“Para aqueles que quiserem contribuir com amostras de abelhas informa-se que frascos, álcool e etiquetas são fornecidas por Maria Alice Pinto após contacto através do endereço de email “apinto@ipb.pt”.

Agradecemos desde já a vossa colaboração.

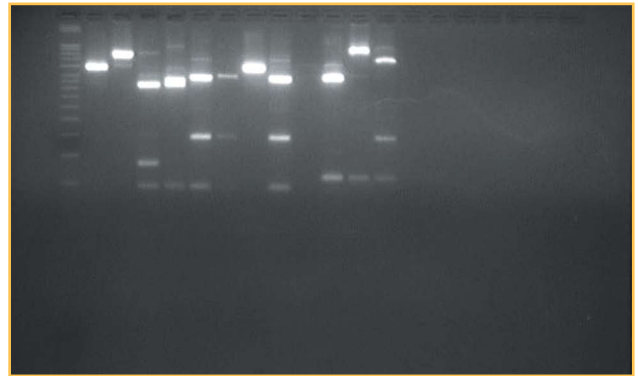


Figura 5



Figura 4