

Europako ezti-erleen diagnostiko genetikorako tresnak



Apis mellifera edo ezti-erlea munduko polinizatzaile garrantzitsuenak da gaur egun, bai ekologikoki bai ekonomikoki, eta maiz erabiltzen da ezti ekoizteko eta nekazaritza-laboreak polinizatzeko. Hala ere, erle hauek mehatxupean daude hainbat faktoreren ondorioz. Haien artean, dibertsitate genetikoaren murrizketak eta ingurunera egokitutako tokiko subespezieen galerak eragin nabarmena dute, bai eskala handiko erregimen hazkuntza eta inportazio komertzialak bai distantzia luzeko erlezaintza

migratzaileak bultzatuta. Munduko erle-populazioaren osasuna bermatzeko, ezinbestekoa da tokiko subespezieen kontserbazioa ziurtatzea, bai eta haien herentzia naturala eta egokitzeko gaitasuna mantentzea ere. Europa ezti-erleen ondare genetikoan aberatsa da (espezies definitutako 5 leinu ebolutiboetatik gutxienez 4 leinutako 13 subespezieren ordezkariak ditu), eta funtsezko eskualdea suertatu da kontserbaziorako eta berau erraztuko duten tresnak garatzeko. Hori dela eta, Europa-



SAREAN+

Idatzi zuk zeuk
Gai librean atalean

Gai librean aritzeko, bidali zure artikulua
aldizkaria@elhuyar.eus helbidera.

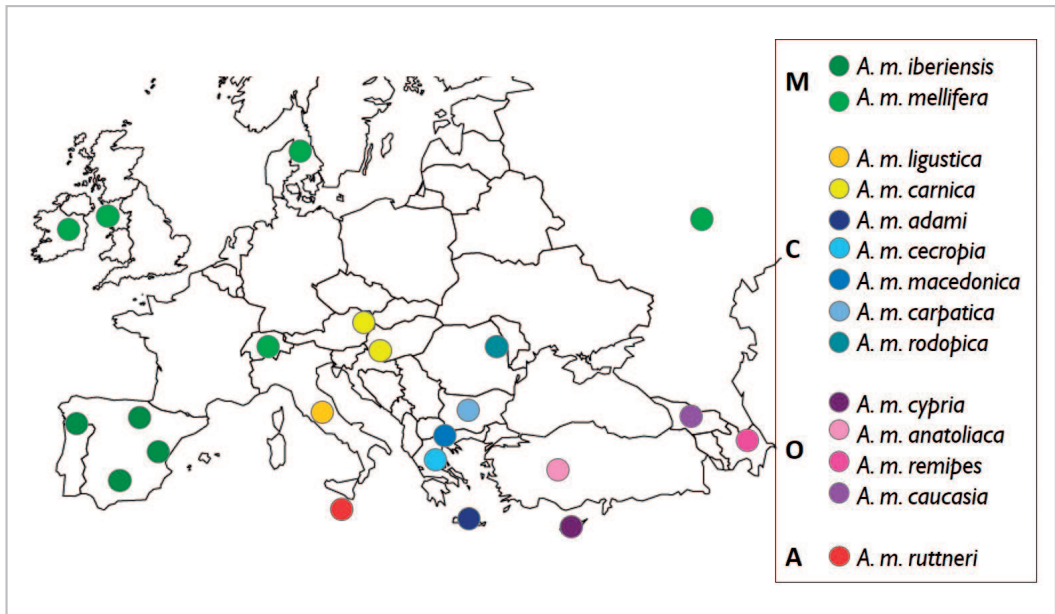
ko SmartBees proiektuaren esparruan, ezti-erle europarren subespezieen identifikazioa ahalbidetuko duen DNA mikrotxipa garatu da. Diagnostikotresna horri esker kontserbazio jasangarria, erreginen merkataritza kontrolatua, erlezainen produktuen egiaztapena eta tokiko erleen ondare genetikoa zaintzen duten hazkuntza-jarduerak erraztuko eta bultzatuko dira.

Ezti-erleen aniztasuna babestea beharrezkoa da

Ezti-erleak (*Apis mellifera*) ekosistema anizteta daude, zenbait eboluzio-leinutan eta gutxienez 30 subespezietan banatuta. Europan aniztasun horren zati handi bat dago, eta subespezie endemiko ugari ditu lau leinutan banatuta: Afrikakoa (A), Europako erdialdekoa eta ekialdekoa (C), Europako mendebaldekoa eta iparraldekoa (M) eta Ekialde Hurbileko eta Asiako erdialdekoa (O). Hala ere,

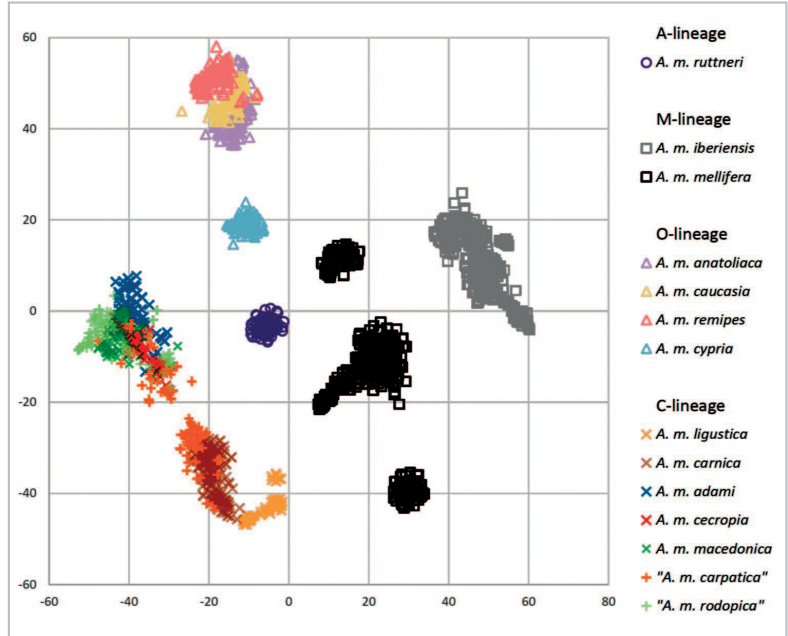
giza jarduerak, pixkanaka, murriztu egin ditu bai Europako ezti-erleen dibertsitate genetikoa eta bai haien lurralde naturala. Hain zuzen ere, erreginen merkataritza eta inportazioa eta distantzia luzeko transhumantzia direla medio, dagoen beldurretako bat zera da, ingurunera egokitutako ezti-erle autoktonoen populazioak murriztu edo galdu egingo direla, autoktonoak ez diren erleek ordezkaturata edo hibridazio hutsagatik. Frogatuta dago ingurunera egokituta dauden ezti-erleek irauteko gaitasun handiagoa dutela. Beraz, garrantzitsua da erleen hazkuntza sustatzea erleak epe luzera iraungo badu.

Europan ezti-erle autoktonoak kontserbatzeko eta hazteko proiektu ugari jarri dira abian; haien artean, hobekuntza genetikorako programak. Arrakastatsuak izango badira, ernalketa-esparrua kontrolatu beharra dago, eta populazioaren jatorri genetikoa-



1. irudia. Hasieran lagindutako 22 populazioen jatorriak. Populazio bakoitzeko ~ 100 erle langile lortu dira, elkarren artean erlaziorik ez duten erlauntzetakoak. Gainera, ahal izan denean, erlategi desberdinetatik hartu dira. Guztira 2.000 ezti-erle baino gehiago lagindu dituzte (Melanie Parejo).

2. irudia. 1. irudia osatzeko erabilitako lagin bakoitzaren 4.000 SNPrekin baino gehiagorekin egindako genotipatuaren datuen irudikapena (t-SNE grafikoa). Garrantzitsua da gogoratzea t-SNEa laginak ahalik eta modurik trinkoenean multzokatzen dituela, multzokatzeko onena lortzeko. Horregatik, taldeen eta lagin indibidualen arteko distantzia erlatiboak ez dute benetako bereizketa ebolutiboa edo ahaidetasun genetikoa adierazten. Adibidez, *A. m. cypria* eta *A. m. mellifera*ren goiko azpitaldea genetikoki urrun daude, konparatiboki hurbil agertu arren t-SNE grafikoa (Momeni et al., 2021).



ren jarraipena egin. Alde horretatik, beharrezkoa da analisi genetiko azkar, zehatz eta erabilerraza egiteko tresna bat.

SmartBees proiektua helburu batekin abiatu zen: tresna molekular berriak garatzea, aukera emango zutenak Europako ezti-erleen aniztasuna deskribatzeko eta kontserbatzeko. Hala, erlearen laginketa sakon bat eginda, tresna bat diseinatu dugu, nukleotido bakarreko markatzaile genomikoz osatua; horri esker, haren dibertsitate genetikoa deskriba daiteke (SNP), eta Europako edozein erlearen subespezia identifikatu.

Prozedura

22 populazio lagindu dira (1. irudia), Europako lau leinu ebolutiboen eta Europan eta inguruko eskualdeetan aurki daitezkeen 14 subespezieen ordezkari direnak. Populazioak lagintzeko, elkarrekin erlaziorik ez duten erlauntzetako 100 erle langile hartu dituzte. Guztira, 2.000 lagin baino gehiago,

orain arte Europako ezti-erlearekin egindako laginketarik osoena.

Laginak jatorrizko populazioaren arabera multzokatu ostean, haien DNA erauzi eta sekuentziatu da. Sekuentziazioaren datuetan oinarrituta, jatorriari buruz informazio gehien ematen duten markatzaile genetikoak hautatu dira. Hau da, Europako ezti-erleen 14 subespeziaek hobekien bereizten dituzten markatzaile genetikoak; guztira, nukleotido bakarreko 4.000 polimorfismo (SNP) baino gehiago. Genotipazioaren emaitzak t-SNE izeneko diagrama erabiliz irudikatu dira. Diagrama horrek laginak ahalik eta modurik trinkoenean multzokatzen ditu bi dimentsioko mapa batean, banako bakoitza ikur batez ordezkaturaz (2. irudia). Metodo hori erabiliz, beren eboluzio-leinuaren edo subespeziearen arabera multzokatu dira lagindutako erleak talde bakartuetan (puntu-hodeiak). Afrikako leinutik lagindutako subespezia bakarra, *A. m. ruttneri*, grafikoa erdian kokatu da, gainerako multzoen ar-

% 90eko atalasea		Iragarritako klasea												# Esleitu gabek		
		A			M			O			C					
Klase ezaguna		Rutneri	Iberiensis	Mellifera	Cypria	Caucasia	Anatoliaca	Remipes	Carnica	Ligustica	Cecropia	Macedonica	Rodopica	Carpatica	Adami	
	A	Rutneri	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
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

3. irudia. Nahasmen-matrizea, benetan esleitutako banakoen ehuneko biribilduekin (diagonala) eta % 90eko atalasea erabiliz subespezie bakoitzari esleitutako banakoen ehunekoekin. Lagin batzuk "ez-esleitutzat" jo dira, eta nahasketa-matritzetik kanpo geratu dira, *rutneri*rekin gertatzen den bezala. Cecropiarekin, berriz, laginen % 92 ondo esleitu arren, % 4 oker sailkatu dira *macedonica* edo *mellifera* gisa (Momeni et al., 2021-tik egokitua).

tean. O leinuan, *A. m. cypria* erleak erabat bananduta agertu dira elkarrekiko hain ezberdinak ez diren hiru erlerengandik (*A. m. anatoliaca*, *A. m. caucasia* eta *A. m. remipes*). M leinuko bi subespezieak ondo bereizi dira, *A. m. mellifera*-ren populazioak hiru azpimultzotan bilduz. Azpimultzo horiek laginketa-eskualde urrunak irudikatzen dituzte (Burzyan eskualdea, Errusia, *A. m. melliferaren* kluster gorena 1. irudian), edo eskualde bakartuak (Læsla uhartea, Danimarka, *A. m. melliferaren* behe klusterra). C leinuko laginak hiru azpitaldetan banatu dira: (i) *A. m. ligustica*, (ii) *A. m. carnica* erleak zenbait *A. m. carpatica* erlerekin batera eta (iii) *A. m. macedonica*, *A. m. cecropia*, *A. m. adami*, *A. m. rodopica* eta gainerako *A. m. carpatica* erleez osatutako azpitalde heterogeneoa.

Saiakuntza gehigarriak eta ikaskuntza automatikoaren ereduak

Horietaz gainera, Europa osoko beste 1.900 erle genotipatu dira, SmartBeesen hazkuntzarako erla-

tegietatik lortuta. 1.900 lagin horiekin, lehendik genotipatutako 2.000 laginekin batera (guztira 3.900 lagin baino gehiago), eredu estatistiko bat eratu dute, Europako ezti-erleak sailkatzen dituen ikaskuntza automatikorako algoritmoak erabiliz. Eredu horri esker, kalkula daiteke lagin batek zer probabilitate duen Europako 14 subespezietakoa izateko. Ikaskuntza-eredu automatikoek alde on bat dute, ez direla oinarritzen alde aurreko hipotesietan, eta, ondorioz, desberdintasun sotilak detekta ditzakete. Ezaugarri hori bereziki garrantzitsua izan da gure azterketarako, modua eman baitigu lotura genetiko estua duten azpiespezie-kopuru handiok elkarrengandik bereizteko. Jatorrizko artikuluan (Momeni et al. 2021), sailkapen-metodo espezifikoetarako buruzko xehetasun gehiago aurki daitezke.

Zehaztasuna azpiespezieak esleitzean

Ereduak zuzen esleitu ditu lagin gehienak, % 96,2ko batez besteko zehaztasunarekin. Emaiza horiek bistaratzeko modurik onena nahasmen-matrize

bat da; alde zuzen edo oker sailkatutako laginen portzentajeak adierazten ditu eredu horrek (3. irudia). Diagonal zentralaren zifrek ondo sailkatutako laginen ehunekoa adierazten dute; goiko eta beheko triangeluek, berriz, oker sailkatutako laginak adierazten dituzte. Oker sailkatutakoa izango da ereduak iragarritako laginak eta etiketatutakoak azpiespezie desberdinak badira. Errore horiek agertu dira, batetik, saiakuntzetako laginen etiketatzeak okerrak izan direnean eta, bestetik, erreferentziazko populazioen arteko bereizketak oso txikiak izan direnean, dela hurbiltasun geografikoagatik, dela giza interferentziengatik.

Eredu hori kontserbazio- eta hazkuntza-programetan aplikatua izateko, % 90eko gutxienezko atalasea ezarri dugu. Gauzak horrela, lagin baten pronostikoa % 90eko atalasetik behera badago, "ez esleitura" bezala sailkatuko da. Muga gainditzen badu, berriz, dagokion subespezieari esleituko zaio.

Aniztasunaren erronkak eta hurrengo urratsak

Europako ezti-erleen aniztasuna erronka handia izan da subespezieen diagnostikorako tresna bat diseinatzeko orduan. Eboluzio-leinuen dibergentzia handiari esker, bereizketa genetikoa erraza izan da, SNP gutxi batzuk erabiliz. Alabaina, zailagoa izan da subespezieak bereiztea, eboluzio-leinu bereko subespezieen arteko dibergentzia duela gutxi gertatu delako eta, hortaz, genetikoki oso antzekoak direlako. Gainera, Europako zenbait eskualdetan, zehaztu gabe daude *A. mellifera* subespezieen aldakuntzaren gorabeherak, eta, kanpoko erleen, sarrera artifizialak lausotu egin ditu subespezieen arteko muga naturalak. Baliteke, halaber, hazkuntza-programa nazionalak geneen fluxu naturala oztopatu izana eta jatorrizko subespeziearen ondare genetikoa aldatu izana. Horren ondorioz, subespezie batzuk erraz sailkatu

dira gure diagnostiko-tresna erabiliz, eta beste lagin batzuk, berriz, esleitu gabe geratu dira. Hala ere, tresna dinamiko moldagarria da, eta aukera ematen du erreferentziazko datu-basea hobetzeko eta/edo azpiespezie gehiago sartzeko. Ildo horretan, abian dauden ikerketak kontuan izanda, metodoa Siziliako *A. m. sicilianari* aplikatu dakioko.

Erabilgarritasuna

Tresna honekin, erle-lagin gehiagoren jatorri genetikoa zehaztu ahalko da, eta hori ezinbestekoa suertatuko da arlo ugarietan: erlezainek beren erleen subespeziea eta hibridazio-maila zehaztu ahalko dute, eta beren produktuei abala eman; Europako kontserbazioaren arduradunek gordailuetan dauden erlauntzen hibridazio-tasak kontrolatu ahalko dituzte; albaitariak erregimen merkataritza kontrolatu ahalko dute; eta erleen hazleek beren erregimen subespeziea ziurtatu. ●

Argitalpen zientifiko osoa

Momeni, J., Parejo, M., Nielsen, R.O. *et al.* Authoritative subspecies diagnosis tool for European honey bees based on ancestry informative SNPs. *BMC Genomics* 22, 101 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07379-7>.

ESKERRAK

Erlezainen, erle-hazleen eta laguntzaile ugariaren laginekin gauzatu dugu ikerketa hau. Gure eskerrik beroenak ematen dizkiegu beren laguntzagatik. SmartBees proiektua Europako Batzordeak finantzatu du, FP7 KBBE programaren barruan (2013.1.3-02, Grant nr. 613960). Melanie Parejok Eusko Jaurlaritzaren dirulaguntza jaso du (IT1233-19).