

La regulación génica del de las abejas

*El medio afecta al grado en que se expresen los genes.
Las influencias del exterior se reflejan en mecanismos epigenéticos*

Mireia Jordà y Miguel A. Peinado



CONCEPTOS BASICOS

- La abeja de la miel *Apis mellifera* es un insecto social que vive en comunidades muy estructuradas, formadas por castas, con un comportamiento social muy complejo.
- El desarrollo de ese comportamiento está regulado por el entorno social y va íntimamente asociado a cambios en la expresión de miles de genes.

La vida en la Tierra ha sufrido diversas transiciones durante su historia. Las células han evolucionado hasta convertirse en organismos multicelulares y éstos se han organizado en sociedades. Tanto los animales solitarios como los sociales han de ejecutar una serie de actividades para sobrevivir y reproducirse. Los animales sociales suelen acometerlas cooperativamente, y la cooperación requiere coordinación. Se usan varios mecanismos para lograr la coordinación, entre ellos la comunicación entre individuos y la adopción de formas de organización social que implican jerarquías y división del trabajo. La vida en sociedad está a menudo muy estructurada; en casi todas las actividades influye la interacción con otros miembros de la comunidad.

En los últimos decenios hemos asistido a un notable progreso en el conocimiento molecular del funcionamiento celular y del desarrollo, pero no del comportamiento social. Sólo recientemente se ha despertado el interés en desentrañar las bases moleculares del comportamiento social. Fruto del mismo ha nacido una nueva disciplina, la *sociogenómica*.

La sociogenómica se ocupa de identificar genes que influyen en el comportamiento social y su regulación, determinar qué función desempeñan en los mecanismos neurales y endocrinos implicados, explorar los efectos del entorno y valerse de los genes en cuestión para estudiar la evolución de la diversidad del comportamiento. La tarea viene facilitada por la secuenciación completa de un número creciente de genomas.

Se ha avanzado, sobre todo, en la identificación de genes que influyen en el comportamiento social y su evolución. Mediante técnicas basadas en la transcriptómica, se mi-

den los cambios de expresión de genes —su transcripción en ARN mensajero (ARNm)— que están correlacionados con cambios en el comportamiento. Pero la cantidad de transcritos no refleja siempre la cantidad de las proteínas que codifican. Además, algunas diferencias en la expresión génica no son una consecuencia, sino una causa del cambio de comportamiento.

La abeja de la miel (género *Apis*) es uno de los organismos que se usan como modelo para el estudio molecular de la vida social. Contamos ya con la secuenciación de su genoma. Las abejas pueden ser solitarias o vivir en grupo. Según el tipo de comunidad se habla de abejas semisociales o eusociales. Las sociedades eusociales, las más estructuradas, se caracterizan por una división reproductiva del trabajo, solapamiento de generaciones y cooperación en el cuidado de la prole.

Se conocen más de 20.000 especies, muchas apenas estudiadas. La abeja de la miel muestra el comportamiento social más complejo (eusociales). La especie mejor investigada ha sido la abeja de la miel occidental (*Apis mellifera*). En sus colonias de abejas se distinguen tres tipos de castas, cada una con una función específica: las reinas, las obreras y los zánganos.

Las reinas, una por colonia, son las únicas hembras fértiles, viven durante un período diez veces mayor que las obreras, de ordinario entre 1 y 2 años, depositan los huevos de los cuales nacerán todas las demás abejas de la colonia (unos 2000 huevos por día) y almacenan el esperma de los zánganos durante años, sin que pierda su viabilidad.

Las obreras, decenas de miles por colonia, son hembras estériles y llevan a cabo, de forma altruista, las tareas requeridas para el desarro-

comportamiento social



llo y crecimiento de la colonia: construir los panales, limpiar y mantener la colmena, criar las larvas, montar guardia y recolectar el néctar y el polen. Las obreras tienen habilidades cognitivas muy sofisticadas, a pesar de que su cerebro consta de sólo un millón de neuronas, cinco órdenes de magnitud menos que el cerebro humano y sólo cuatro veces más que el de *Drosophila*, un organismo de comportamiento mucho más simple. Las obreras aprenden a asociar el color de una flor, la forma y el olor a la ubicación de la comida. Para comunicar el hallazgo del sustento, emplean el “lenguaje de la danza”. Las abejas de la miel están capacitadas para aprender conceptos abstractos, como “igual” y “diferente”.

Los zánganos, las abejas macho, sólo viven durante la estación reproductiva de la colonia, pues su único propósito es fecundar a las reinas. Las diferencias entre castas no se dan sólo en el comportamiento, sino también en la morfología y la fisiología; las obreras y los zánganos son por lo general más pequeños que las reinas.

Las abejas de la miel son insectos himenópteros, los cuales se caracterizan por ser haplodiploides: los machos se desarrollan a partir de huevos sin fecundar haploides (con una sola versión de cada cromosoma), mientras que las hembras nacen de huevos fecundados

diploides (con dos versiones de cada cromosoma). Se ha demostrado que el desarrollo sexual está regulado por el gen *csd* (*complementary sex determiner*), que presenta 19 versiones alternativas o alelos. Las hembras tienen dos copias del gen y los machos sólo una, pero los mismos alelos se encuentran tanto en hembras como en machos; es decir, no hay alelos ligados al sexo. Si los huevos fecundados tienen dos copias iguales de *csd*, se convertirán en machos diploides estériles; las obreras los eliminarán. Se cree que las asimetrías entre los individuos de una colonia inducidas por la haplodiploidía desempeñan una importante función en la evolución de la eusociabilidad, en su mantenimiento o en ambos.

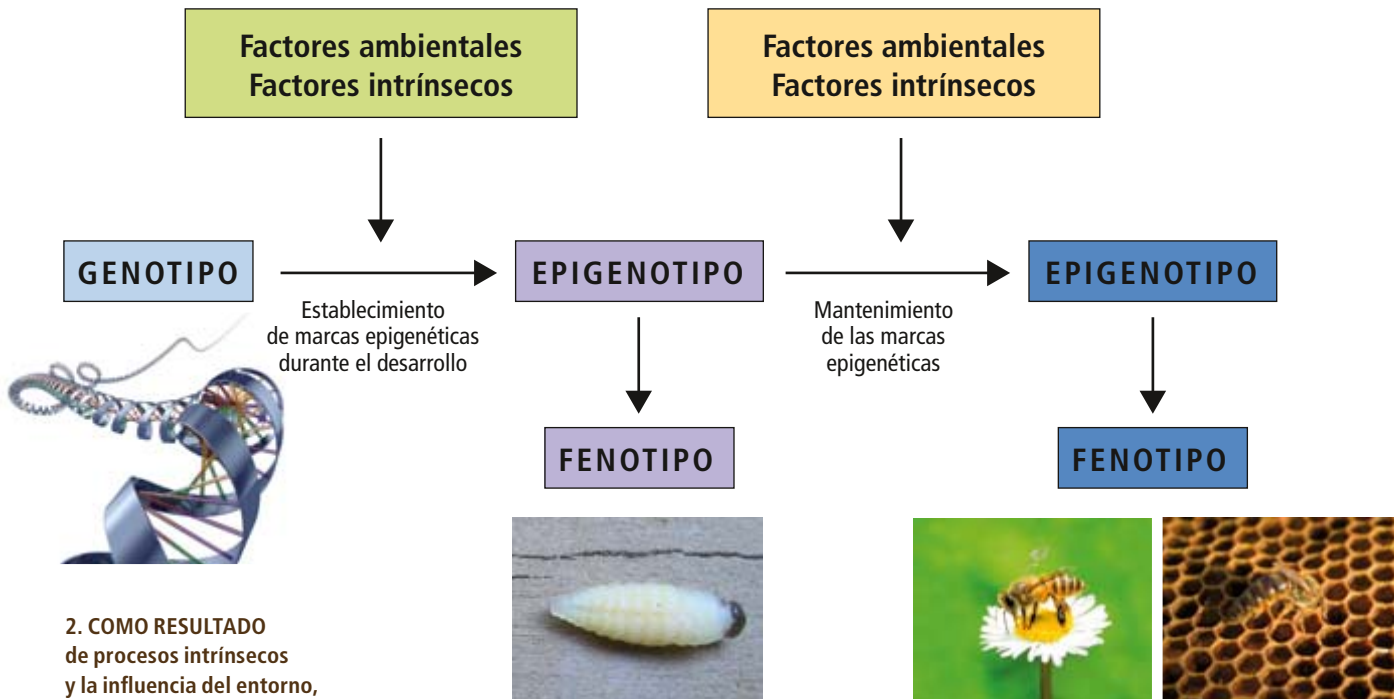
La diferenciación en reinas y obreras en las abejas de la miel se lleva a cabo a través de una nutrición distinta. Toda larva de menos de dos días es alimentada con jalea real, una sustancia muy nutritiva producida por las glándulas galactógenas de las obreras. Después del segundo día, la larva de las obreras pasa a un sistema progresivo de alimentación que consiste en una mezcla de jalea real con miel y polen. En cambio, la larva real es alimentada con jalea real durante todo el período de desarrollo. Esos patrones alimentarios diferentes determinan la casta de la abeja adulta. Por lo tanto, cualquier larva hembra de menos de

1. LAS ABEJAS OBRERAS de mayor edad defienden la colmena y recolectan polen y néctar en el exterior.

Los autores

Mireia Jordà y Miguel

A. Peinado trabajan en el Instituto de Medicina Predictiva y Personalizada del Cáncer (IMPPC), en Barcelona. Su investigación se centra especialmente en los mecanismos genéticos y epigenéticos de la progresión tumoral. Han participado en el consorcio internacional para la secuenciación del genoma de la abeja. Esto último contribuyó a la primera identificación de la metilación del ADN como mecanismo epigenético en un insecto social. Mireia Jordà es bioquímica por la Universidad Autónoma de Barcelona e investigadora postdoctoral en el IMPPC. Miguel A. Peinado es biólogo por la Universidad de Barcelona y coordinador científico del IMPPC.



2. COMO RESULTADO de procesos intrínsecos y la influencia del entorno, durante el desarrollo se establecen patrones de metilación y otras modificaciones epigenéticas heredables, dando lugar al epigenotipo que determina los patrones de expresión génica y en consecuencia el fenotipo. Factores ambientales y nutricionales pueden intervenir en el mantenimiento de estos patrones epigenéticos alterando el epigenotipo y por tanto influyendo en el fenotipo.

dos días de edad puede crecer potencialmente como reina u obrera, y son las mismas obreras adultas quienes tienen el control sobre la determinación de la casta de las hembras. Usan este control para crear reinas cuando han perdido la que tenían o cuando la actuación de la existente es pobre.

La investigación con micromatrices (*microarrays* en inglés, técnica de análisis de las diferencias en la expresión que permite el estudio simultáneo de miles de genes) revela que existen diferencias importantes en la expresión de muchos genes entre las larvas destinadas a ser abejas reinas, las destinadas a desarrollarse como obreras y las bipotenciales (de menos de dos días). Se ha puesto de manifiesto que las larvas destinadas a obreras presentan una semejanza más estrecha con las larvas bipotenciales que las larvas reales: estas últimas tienen reprimida la expresión de muchos genes respecto a las larvas bipotenciales y a la vez expresan genes específicos, probablemente asociados a la casta de reina y relacionados con el metabolismo, lo cual podría explicar su mayor tasa de crecimiento y su mayor talla.

No sólo la determinación de castas viene regulada por programas de expresión génica específicos. También la división de tareas. En el curso de su vida, las obreras cumplen distintas funciones, acordes con la edad, fenómeno que se supone vinculado al desarrollo fisiológico de varias glándulas. Las abejas jóvenes alimentan y cuidan las larvas y la reina; las de mediana edad mantienen la colmena y almacenan la comida; y las de mayor edad defienden la colmena y recolectan polen y néctar en el exterior.

En condiciones normales, una abeja comienza a salir de la colmena a buscar comida hacia los 21 días de edad, una tarea que no abandonará el resto de su vida. Pero las abejas pueden acelerar, retrasar o incluso cambiar su comportamiento según las necesidades de la colonia. Esa plasticidad del comportamiento está controlada en gran medida por feromonas, sustancias químicas secretadas por individuos de una especie que causan alteraciones en la fisiología y en el comportamiento de otros miembros de la misma especie.

La feromona mandibular de la reina (QMP) es la feromona mejor caracterizada en la abeja de la miel; desempeña una función muy importante en la regulación social, pues evita la reproducción de las obreras inhibiendo el desarrollo de sus ovarios o retrasa la transición de obrera de interior a obrera de exterior. Con la técnica de micromatrices se ha puesto de manifiesto que QMP afecta la expresión de muchos genes en el cerebro de la abeja. La feromona activa genes correlacionados con las tareas en el interior de la colmena y reprime genes correlacionados con las tareas en el exterior. Pero no sólo la reina influye en el desarrollo de la conducta de la colonia: las obreras más viejas también pueden regularlo mediante otro tipo de feromonas.

La regulación social implica, pues, cambios en la expresión de genes, especialmente en el cerebro, en respuesta a estímulos comunitarios específicos, que, a su vez, repercuten en el comportamiento. El grupo encabezado por Gene E. Robinson, de la Universidad de Illinois, ha demostrado la estrecha asociación

existente entre la expresión génica en el cerebro y la plasticidad del comportamiento. Con la técnica de micromatrices generaron patrones de expresión de ARN mensajero (ARNm) —es decir, midieron la frecuencia con que los genes correspondientes al ARNm se expresan— de 60 abejas que trabajaban cuidando la comida de la colmena (nodrizas) o recolectando comida en el exterior (exploradoras). Y lograron establecer, para 57 de las 60 obreras, qué labor desempeñaban; predijeron el comportamiento individual a partir del patrón de expresión de ARNm. Más concretamente, hallaron diferencias de expresión entre nodrizas y exploradoras en un 40 % de los aproximadamente 5500 genes analizados. Muchos de estos genes presentan una regulación social; así ocurre con el gen *foraging* o el gen *period*, cuyos niveles de ARNm en el cerebro son mayores en las obreras exploradoras que en las nodrizas.

Pero no sólo se dan diferencias de expresión cerebral. La hormona juvenil interviene en la función exploradora; sus niveles en sangre en obreras que trabajan en la colmena son menores que en obreras que buscan comida fuera de la colmena. Hay también diferencias de expresión en genes que codifican glándulas exocrinas que producen sustancias empleadas en diferentes tareas, como el mantenimiento de la colmena o la defensa.

En resumen, la determinación de castas y la división del trabajo en la abeja de la miel dependen de programas de expresión génica que cambian a lo largo de su desarrollo: unos genes se activan y otros se inhiben. Ahora bien, ¿de qué depende la expresión de los genes?

La expresión de los genes está regulada, en parte, por su promotor, una región de ADN situada al principio del gen. Esta región contiene sitios a los que se pueden unir factores de transcripción. Cuando un factor de transcripción se une a su secuencia específica de unión, la expresión del gen puede activarse. Mediante análisis informáticos se han encontrado cinco factores de transcripción que intervienen en el comportamiento de la abeja de miel, toda vez que muestran una correlación estadísticamente significativa con muchos genes regulados socialmente. Estos factores de transcripción son GAGA, Adf1, CF1, Snail y Dri, conocidos por su función en el desarrollo del sistema nervioso, en el aprendizaje olfatorio y en la unión de hormonas en *Drosophila*. Por ejemplo, CF1 se une *in vitro* al promotor de la hormona juvenil. Además, la expresión de CF1 se activa en respuesta a la hormona juvenil en la abeja adulta.

La expresión génica no depende sólo de los factores de transcripción. Cuando estas proteínas entran en el núcleo para unirse a

las regiones promotoras se encuentran con la cromatina, que es un complejo nucleoproteico formado por ADN e histonas. Los genes se expresan o no según se den ciertas condiciones bioquímicas, como la metilación del ADN, las modificaciones covalentes de las histonas o la forma de la cromatina. Y esto es lo que estudia la epigenética, es decir, la herencia de patrones de expresión de genes que no vienen determinados por la secuencia de pares de bases del ADN.

La metilación del ADN constituye la marca epigenética mejor caracterizada. Consiste en la unión de moléculas de metilo $-CH_3$ a nucleótidos de ADN. En vertebrados se da sobre todo en las citosinas (C) seguidas por una guanina (G), esto es, en las C de los llamados dinucleótidos CpG. Esta reacción es catalizada por metiltransferasas de ADN. En la mayoría de los casos la adquisición y mantenimiento de la metilación del dinucleótido CpG induce represión génica, aunque hay ejemplos en que la metilación de secuencias específicas permite la expresión de genes vecinos.

Gracias a la secuenciación del genoma de la abeja de la miel y mediante análisis bioinformáticos, moleculares y bioquímicos se ha caracterizado en ese himenóptero un sistema de metilación del ADN completo y funcional, compuesto por metiltransferasas catalíticamente activas que son ortólogos de las metiltransferasas de ADN de los vertebrados —es decir, derivan evolutivamente de antepasados comunes a insectos y mamíferos— y por dos isoformas —variantes generadas por cambios en nucleótidos sueltos— con dominios de unión a citosinas metiladas. El estudio revela que en la abeja la metilación del ADN tiene lugar también en las citosinas situadas en el dinucleótido CpG, igual que ocurre en vertebrados.

Recientemente, se ha demostrado que la inhibición de la metiltransferasa de ADN 3 (Dnmt3) en larvas produce un efecto similar a la alimentación con jalea real, de manera que la mayoría de las larvas se desarrollan como reinas. Esto demuestra que la epigenética es el interlocutor del ambiente con la genética y puede explicar la acción del estilo de vida, por ejemplo la nutrición, sobre los genes. Dado el carácter social de la abeja de la miel y el hecho de que su genoma responde dinámicamente a los cambios en el entorno, el profundizar en los mecanismos epigenéticos de este insecto puede ser clave para entender mejor la regulación génica de su comportamiento social. Tras la secuenciación del genoma de la abeja de miel, el siguiente reto es el estudio epigenético.



Bibliografía complementaria

GENE EXPRESSION PROFILES IN THE BRAIN PREDICT BEHAVIOR IN INDIVIDUAL HONEY BEES. C. W. Whitfield et al. en *Science*, vol. 302, págs. 296-299; 2003.

INSIGHTS INTO SOCIAL INSECTS FROM THE GENOME OF THE HONEYBEE *APIS MELLIFERA*. Honeybee Genome Sequencing Consortium en *Nature*, vol. 443, págs. 931-949; 2006.

FUNCTIONAL CPG METHYLATION SYSTEM IN A SOCIAL INSECT. Y. Wang et al. en *Science*, vol. 314, págs. 645-647; 2006.

NUTRITIONAL CONTROL OF REPRODUCTIVE STATUS IN HONEYBEES VIA DNA METHYLATION. R. Kucharski et al. en *Science*, vol. 319, págs. 1827-1830; 2008.