Se realizó un patrón de recolección que siguió, dentro de lo posible, la distribución comarcal de la provincia de Albacete, habiéndose planificado la obtención de muestras de al menos un apicultor por comarca. Finalmente se concertaron citas con los apicultores de cada comarca dispuestos a participar en el proyecto. Se acudió con cada uno de ellos a visitar sus apiarios de los que se tomaron muestras.

La toma de muestras consistió en extraer un cuadro de cada colmena, de los que se capturaron de 15 a 35 abejas obreras en viales de 50 ml, muestreándose entre 5 y 12 colmenas por apiario. Las muestras fueron inmediatamente fijadas con etanol absoluto, y los tubos fueron debidamente identificados con etiquetas escritas a lápiz (Fig. 1).



Fig. 1.- Toma de muestras de abejas obreras de los panales de las colmenas. Los viales se desplazan de arriba hacia abajo del panal, procurando que no se encuentre la reina en dicho panal. (Fotografía: J.A. Acosta).

A cada apicultor se le preguntó por los datos específicos del apiario y de las colmenas, de las enfermedades observadas, así como características de producción, agresividad y enjambrazón.

1.2. EXTRACCIÓN DEL ADN

El ADN total se extrajo de una abeja por colmena usando el método de Chelex® (Walsh y cols. 1991). Para ello se seccionaron las tres patas del lado izquierdo de cada abeja obrera y se introdujeron en un pocillo de una placa que posteriormente se calentó a 37 °C durante 10 minutos para evaporar el etanol. Se añadieron 100 μl de Chelex® al 5 % y 5 μl de la enzima proteinasa