



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPUS MONTECILLO**

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GENÉTICA

**VARIACIÓN MORFOLÓGICA Y ENZIMÁTICA EN UNA
POBLACIÓN DE ABEJAS (*Apis mellifera*) EN PROCESO DE
AFRICANIZACIÓN**

FERNANDO UTRERA QUINTANA

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2011

La presente tesis titulada: **“Variación morfológica y enzimática en una población de abejas (*Apis mellifera*) en proceso de africanización”**, realizada por el alumno: Fernando Utrera Quintana, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENETICOS Y PRODUCTIVIDAD**

GENÉTICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. PORFIRIO RAMÍREZ VALLEJO

ASESOR:



DR. JOSÉ DOMINGO MOLINA GALÁN

ASESOR:



DR. GABRIEL OTERO COLINA

ASESOR:



DR. TARSICIO CORONA TORRES

ASESOR:



DR. JOSÉ SANTOS HERNÁNDEZ ZEPEDA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Diciembre de 2011.

DEDICATORIA

A Dios nuestro señor y a la Virgen de Guadalupe, por permitirme la realización de mis sueños y darme fortaleza para enfrentar los retos que cada día se presentan.

Con profundo cariño a mi madre **Sra. María Quintana Raymundo[†]** quien a pesar de los años de ya no contar con su presencia física, aun siento que su mano espiritual me guía en momentos difíciles de mi vida.

A mi Padre **Sr. Diego Utrera Trujillo**, gracias por los consejos y la educación brindada durante todos estos años, porque hizo de mí, una persona diferente. Dios te de salud para que me sigas acompañando durante muchos años más.

A esos insectos maravillosos venidos de otro mundo "**las abejas**", de las que a pesar de tener muchos años de trabajo con ellas, nunca hemos podido entender que la organización y las labores en conjunto nos llevan a tener una vida llena de armonía.

Los libros son las abejas que llevan el polen de una inteligencia a otra.
(James Russell Lowell)

AGRADECIMIENTOS

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y en especial a la Preparatoria Enrique Cabrera Barroso “Urbana”, por conducto de la Dirección del **Mtro. Juan Sosa Saucedo**, por todas las facilidades brindadas para la realización de mis estudios de Doctorado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo brindado para la realización de mis estudios.

Al Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, pero de manera muy especial al Postgrado de Recursos Genéticos y Productividad-Genética.

Dr. Porfirio Ramírez Vallejo, por ser una persona siempre dispuesta a compartir sus conocimientos y por su invaluable ayuda en la dirección y la escritura de esta investigación.

Dr. Fernando Castillo Gonzales, al científico, al profesor, al amigo, siempre y en todo momento dispuesto ayudarte y a compartir sus amplios conocimientos en diferentes disciplinas.

Dr. José D. Molina Galán, por su amistad y por la confianza que deposito en mi persona para que pudiera realizar mis estudios de Doctorado en IRGP-Genética. Muchas gracias.

Dr. Tarsicio Corona Torres, por la disponibilidad de tiempo, sus asesorías y las sugerencias en todo momento para mejorar la calidad de este trabajo.

Dr. Gabriel Otero Colina, por compartir sus conocimientos acerca de las varroas durante la presente investigación y por la revisión minuciosa del escrito, pero también por la amistad brindada durante todos estos años de conocerlo.

José Santos Hernández Zepeda, por la amistad, y la disposición a colaborar, en la realización de la presente investigación.

Lucy Miranda Sánchez, agradezco a Dios el haberte puesto en mi camino y a ti te doy gracias por ser la persona que eres conmigo.

Victoria Soroker, por su amistad y por la oportunidad brindada de aprender cosas importantes durante mi estancia en el laboratorio de Entomología del Volcani Center Plant Protection in Bet Dagan Israel. Gracias por todo Vicky.

David Nestel, por la amistad brindada y su disposición a colaborar durante mi estancia en Israel.

M. C. Lilia Salgado Meraz, por su ayuda en la revisión y sus comentarios siempre acertados para mejorar la calidad esta investigación.

Juan Carlos Zaragoza Ramírez, por su apoyo y amistad brindada durante el trabajo de laboratorio.

José de la Riva Zúñiga, por su disposición a colaborar en el apiario para que la investigación fuera de la mejor forma.

A mis amig@s del Departamento de Servicios Académicos; Lic. Carmen padilla P., Ana María Flores S., Luciana Soriano R., Griselda Delgadillo M., Sr. Jorge Sánchez y M.C. José G. Cedillo C.

Sra. Dalila Torres, por su paciencia para ayudar a las personas en los problemas cotidianos del enlace de Genética.

Sra. Nachita Ramírez de la C., y familia, por su amistad sincera y honesta durante todos estos años que Dios me dio la oportunidad de convivir con ellos.

Sra. Leticia Ramírez de la C., y familia por su amistad sincera y su ayuda invaluable en momentos difíciles.

Mis amigos del laboratorio de Marcadores Genéticos, Sra. Ángeles Arenas D., M.C. Felipe San Juan L., y Ing. Saulo Talamantes.

A los profesores de Inglés porque su ayuda es muy importante para la culminación de nuestros estudios. Muchas Gracias por sus enseñanzas Prof: Carmen Díez Gallan.

A mi compadre y amigo Manuel Robles R., y familia, porque la amistad siga tan sincera como hasta estos días.

RESUMEN

VARIACIÓN MORFOLÓGICA Y ENZIMÁTICA EN UNA POBLACIÓN DE ABEJAS (*Apis mellifera*) EN PROCESO DE AFRICANIZACIÓN

Fernando Utrera Quintana

Colegio de Postgraduados, 2011

El impacto causado por la abeja africanizada en su llegada a México ha motivado la realización de pocos trabajos de investigación para aprovechar las características útiles de esta especie. El presente estudio se realizó con el objetivo de conocer el grado de hibridación de una muestra de la población formada por 37 colmenas de abejas euroafricanas establecidas en Montecillo. Se utilizaron tres pruebas para estimar el grado de africanización en la población. La prueba de Rinderer agrupó a las colmenas en cuatro grupos: abejas africanizadas (48.65%); africanizadas con introgresión de genes europeos (18.92%); europeas con introgresión de genes africanizados (8.11%); y europea (24.32%). El análisis de componentes principales (CP) con base en caracteres morfológicos mostró en los CP1 y CP2, las seis variables relevantes siguientes: longitud de ala anterior (LAA), longitud de la abscisa proximal (LAXP), longitud de fémur (LFE), ancho de basitarso (ABA), longitud de tibia (LTI) y longitud de esternito (LEST). La distribución espacial de las colmenas permitió un agrupamiento similar al de la prueba de Rinderer. El análisis isoenzimático se aplicó en 41 colmenas, una población europea de Chihuahua (EUCH=600) y una africanizada procedente de Mérida (AFME=500). Se utilizaron las isoenzimas hexoquinasa, malato deshidrogenasa, enzima málica y en este análisis. Se encontraron loci no presentados en trabajos anteriores. La enzima relevante en el CP1 fue MDHA2A y en CP2 fue HEXA1A. Los resultados permiten inferir que las abejas africanizadas no han desplazado completamente a las abejas europeas y que el proceso de africanización alcanzado no ha tenido un impacto negativo en el apiario.

Palabras claves: introgresión, euroafricanas, morfología, isoenzimas.

SUMARY

MORPHOLOGIC AND GENETIC VARIATION IN A POPULATION OF HONEY BEES (*Apis mellifera*) ON THE PROCESS OF AFRICANIZATION

Fernando Utrera-Quintana

Colegio de Postgraduados, 2011

The impact caused by the Africanized honey bee at its arrival to México had not motivated enough research about this issue in order to take advantage of the useful attributes of this species. The objective of this study was to know the degree of hybridization in a sample of 37 beehives of Euroafricanized honey bees in Montecillo, México. In order to estimate the degree of hybridization of population, three procedures were used. First, the Rinderer test formed four groups of beehives: Africanized (48.65%); Africanized with introgression of European genes (18.92%); European with introgression of Africanized genes (8.11%); and European (24.32%). Second, the principal component analysis (CP) showed for CP1 and CP2 that length of the anterior wing (LAA), length of the proximal abscissa (LAXP), length of the femur (LFE), width of the basitarsus (ABA), length of tibia (LTI), and length of sternite (LEST) were the most important six traits for the racial classification of the bees. The spatial distribution of the two first components allowed to integrate four groups, like those ones formed with the Rinderer test. Third, the isozyme analysis was carried out in 41 beehives, and in an European (EUCH=600) and Africanized (AFME=500) population using the isozymes hexokinase (HEXA), malate dehydrogenase (MDHA) and malic enzyme (ME). Results showed loci that have not been previously reported. The most important enzymes were MDHA2A and HEXA1A for CP1 and CP2, respectively. Results allowed us to infer that the Africanized honey bees have not completely displaced the European ones, and that the degree of africanization reached until now has not had a negative impact on the apiary.

Key words: Introgression, European honey bees Africanized, morphology, isozymes.

CONTENIDO GENERAL

Resumen	vi
Summary	vii
Contenido de cuadros	x
Contenido de figuras	xii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	13
HIPÓTESIS	18
OBJETIVOS	18
LITERATURA CITADA	19
CAPITULO II. ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE UNA POBLACIÓN DE ABEJAS (<i>Apis mellifera</i>) DEL COLEGIO DE POSTGRADUADOS	23
RESUMEN	23
ABSTRACT	24
INTRODUCCIÓN	25
MATERIALES Y METODOS	29
1. Material genético	29
2. Caracterización morfométrica de las colonias	30
3. Análisis estadísticos	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	46
LITERATURA CITADA	47
CAPÍTULO III. DIVERSIDAD ISOENZIMÁTICA EN POBLACIONES DE ABEJAS (<i>Apis mellifera</i>) EN EL COLEGIO DE POSTGRADUADOS	51
RESUMEN	51
ABSTRACT	52

INTRODUCCIÓN	53
MATERIALES Y MÉTODOS	55
1. Material genético	55
2. Preparación de muestras y obtención de extractos	56
3. Análisis isoenzimáticos	56
4. Interpretación de zimogramas	57
5. Análisis de datos	57
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
CONCLUSIONES	71
LITERATURA CITADA	72
CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN GENERAL	76
1. La introducción de la abeja europea a México	76
2. Abejas africanizadas en México	76
3. Origen de las abejas africanizadas de Montecillo (Valle de México)	77
4. Variación morfológica e isoenzimática	78
5. Grado de africanización	79
6. Ventajas de la africanización en los apiarios del Colegio	81
7. Contribución del estudio a la problemática actual	83
8. Determinación del grado de africanización	83
9. Incorporación del análisis isoenzimático al estudio de la variación de poblaciones de abejas en el Valle de México	84
10. Comprobación de la factibilidad de la africanización en la mejora de poblaciones europeas en el altiplano de México	85
11. Incorporación de otros métodos de análisis al estudio de la diversidad morfológica de abejas	85
LITERATURA CITADA	87

CONTENIDO DE CUADROS

CAPITULO I

Cuadro 1. Caracteres morfológicos (25) utilizados en el análisis preliminar de componentes principales. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 2011.....	31
Cuadro 2. Clases de colmenas con base en los criterios de Rinderer <i>et al.</i> (1993). Montecillo, Texcoco, Estado de México. 2011.	32
Cuadro 3. Caracteres (15) seleccionados por su mayor contribución a la explicación de la variación total en el análisis de componentes principales. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 2011.	32
Cuadro 4. Clasificación de 37 colmenas con base en los parámetros de Rinderer <i>et al.</i> (1993). Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.....	33
Cuadro 5. Valores y vectores propios del análisis de componentes principales (CP) que describen la variación morfométrica de 37 colonias de abejas. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.	37
Cuadro 6. Promedios, desviación estándar e amplitud de variación de estructuras morfológicas de las 37 colmenas de abejas. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.	38
Cuadro 7. Promedios, desviación estándar y amplitud de variación de seis estructuras morfológicas, de los cuatro grupos distribuidos en la Figura 3. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.....	40

CAPITULO II

- Cuadro 1.** Frecuencias alélicas en 41 colmenas (COL) y dos poblaciones testigo (Africana-Mérida, Europea-Chihuahua) (AFRI-ME, y EUCH, respectivamente), utilizando tres isoenzimas. Montecillo, Estado de México 2010. **59**
- Cuadro 2.** Promedios de alelos isoenzimáticos por grupos y frecuencias de las poblaciones 500 (africanizada de Mérida) y 600 (europeas de Chihuahua). Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011. **65**
- Cuadro 3.** Valores y vectores propios del análisis de componentes principales (CP) de 41 poblaciones de abejas, una población africanizada (número 500) y una población europea (número 600) con base en tres isoenzimas y 11 alelos. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011. **66**
- Cuadro 4.** Promedios de grupos formados con base en el análisis de componentes principales y de conglomerados en 41 poblaciones del Colegio de Postgraduados y los testigos de Mérida (500) y Chihuahua (600). Montecillo, Estado de México. 2010. **68**

CONTENIDO DE FIGURAS

CAPITULO I

- Figura 1.** Porcentaje de colonias integradas por tipos con base en los parámetros de Rinderer *et al.* (1993). Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011. **34**
- Figura 2.** Gráfica de Gabriel con 15 variables con base en los dos primeros componentes principales. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011..... **36**
- Figura 3.** Dispersión en el plano de los componentes 1 y 2, de 37 colmenas con base en seis características morfológicas. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México 2011. **41**
- Figura 4.** Agrupamiento de 37 poblaciones de abejas (colmenas) de los apiarios del Colegio de Postgraduados ubicados en Montecillo, Texcoco, Estado de México con base en las distancias euclidianas de la combinación de 15 caracteres morfológicos. **43**

CAPITULO II

- Figura 1.** Dispersión en el plano de los componentes 1 y 2, con base a polimorfismo de isoenzimas (11 alelos en cuatro loci) de 41 colmenas provenientes del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, y dos poblaciones testigos europeas de Chihuahua (número 600) y africanizadas provenientes de Mérida (número 500)..... **69**
- Figura 2.** Dendrograma de 41 poblaciones del Colegio de Postgraduados y dos poblaciones testigo (Europeas de Chihuahua, número 600 y Africanas de Mérida número 500), con base en distancias euclidianas estimadas a partir de las frecuencias. Método UPGMA. **70**

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los insectos polinizadores de las plantas con flores, como las abejas, proveen incalculables beneficios económicos y ecológicos a la especie humana y a la fauna silvestre. Estos polinizadores y los servicios ecológicos que proporcionan están disminuyendo a escala mundial debido, entre otras causas, a la pérdida, destrucción y fragmentación de los hábitats naturales (Buchmann y Ascher, 2005).

La abeja melífera (*Apis mellifera* L.) es una de las especies polinizadoras de mayor importancia mundial, representa de 80 a 90% de los insectos polinizadores en ambientes naturales y puede realizar hasta el 100% de la polinización en ambientes agrícolas intensivos, debido a la escasez de insectos nativos o silvestres. Estos insectos han desarrollado comportamiento y anatomía que los hacen más eficientes como polinizadores (Rallo, 1986). Otra aportación de la abeja melífera consiste en su capacidad de producción de cera, polen y miel. En los Estados Unidos de América, el valor de la producción en cuatro millones de colmenas se estima en 100 millones de dólares, mientras que el valor de sus servicios como polinizadores es 10 veces mayor (Hubbell, 1997), considerando que el valor de los productos derivados de la polinización es por lo menos 20 veces el valor de la miel (McGregor, 1976). Los servicios de las abejas como polinizadores generan ganancias superiores a los 2 000 millones de dólares al año en México (Guzmán-Novoa *et al.*, 2007).

A nivel mundial se produjeron 1.5 millones de toneladas de miel en 2009, cifra que representa 23% de crecimiento con relación al 2000, y una disminución de 2% respecto a 2008. El país con mayor producción de miel en 2009 fue China (27%); y Argentina, Turquía y Ucrania contribuyeron cada uno con 5% del volumen total. EE.UU. y México ocuparon el quinto lugar entre los países productores; cada uno aportó 4% (ODEPA 2011).

La actividad apícola es una de las tres primeras fuentes generadoras de divisas del subsector pecuario en México. En el país se produjeron 55 459 t de miel en 2007, de las que se exportaron 30 933 t con valor de 69 millones de dólares (SAGARPA, 2009). Además de la producción de miel, se producen más de 2 400 t de cera y 8 t de jalea real anualmente (SAGARPA, 2009), que son comercializadas por su valor industrial, cosmético y farmacéutico. La actividad apícola beneficia directamente a 40 000 mil apicultores y sus familias, e indirectamente a 400 000 mil personas (Correa-Benítez, 2004). Además del valor económico y social de estos insectos, las abejas son benéficas al ambiente porque ayudan a mantener el equilibrio de muchos ecosistemas naturales (Kearns *et al.*, 1998).

Las abejas productoras de miel (*A. mellifera* L.) son originarias de Europa, África y Asia occidental. *Apis dorsata*, (abeja gigante), *Apis florea* (abeja pequeña), *Apis cerana* (abeja melífera oriental) y *A. mellifera* (abeja melífera occidental) son especies cercanas (Ruttner, 1988), pero difieren en morfología, fisiología y conducta (Palmer *et al.*, 2000).

Apis florea y *A. dorsata* construyen un solo panal a la intemperie. El panal de *A. florea* es pequeño, en contraste con el de *A. dorsata*, el que llega a medir más de un metro cuadrado. *A. dorsata* es utilizada en la producción de miel, mientras que *A. florea*, por su tamaño pequeño y poco rendimiento de miel, es utilizada en la elaboración de recetas medicinales caseras y ceremoniales (Thapa, 2004).

Apis cerana, o abeja melífera oriental, se parece mucho a la especie *A. mellifera*, o abeja melífera occidental, ambas especies hacen panales múltiples dentro de una cavidad oscura (Koeniger, 1976). Se acepta que *A. mellifera* evolucionó a partir de *A. cerana* en Himalayas, ya que ambas especies poseen muchos caracteres en común. *Apis cerana* es más pequeña que *A. mellifera*, se comunica por medio de bailes, construye panales más pequeños que el de *A. mellifera* y tiene una densidad de población menor, en consecuencia la producción de miel es más

baja. *Apis mellifera* se ha clasificado en 24 razas agrupadas en las categorías orientales, africanas y mediterráneas (Ruttner, 1988).

Una quinta subespecie es *Apis mellifera intermissa*, considerada por algunos investigadores como un subgrupo de *A. cerana*, originaria de las Himalayas, es más grande que *Apis mellifera* y se conoce poco acerca de esta especie debido a que su descubrimiento fue reciente (Crozier *et al.*, 1989).

Durante la segunda mitad del siglo XX, ocurrió en la mayor parte del Continente Americano un fenómeno de invasión biológica conocido como africanización. Este fenómeno se inició a mediados de 1957 con el escape accidental de 26 enjambres de la subespecie *Apis mellifera Scutellata* de un apiario experimental en Brasil (Kerr, 1967), situación que propició la diseminación de estas abejas en el Continente Americano. La dispersión de la abeja africana ha sido, desde el punto de vista biológico, como uno de los fenómenos más exitosos, porque la especie ha colonizado y permanecido en más de 20 países del Continente Americano, y reemplazado a la poblaciones de abejas europeas locales (Schneider *et al.*, 2004; Guzmán-Novoa *et al.*, 2011).

Los descendientes de las abejas de los 26 enjambres citados, así como los segregantes de sus híbridos con las abejas de otras subespecies previamente introducidas a América, se conocen como abejas africanizadas (Smith, 1991). Esta clase de abejas se dispersó a otros países de América del Sur, América Central y México. Los primeros enjambres de abejas africanas arribaron a México por Chiapas a finales de 1986; de donde se diseminaron a todo el país en años posteriores (Moffett *et al.*, 1987). Los primeros enjambres de abejas africanas arribaron al Valle de México a mediados de 1990, iniciando de esta manera la hibridación con las abejas europeas locales (Quezada-Euán, 2007), y dando lugar al tipo de abejas llamadas euroafricanas por Pérez-Sato y Cervantes-Santana (2001) y africanas o africanizadas por otros (Schneider *et al.*, 2004). En este trabajo se les llamará africanizadas por ser la denominación más común. Las

poblaciones de estas abejas gradualmente reemplazaron a las abejas europeas en México (Taylor *et al.*, 1991), se estima que se encuentran establecidas en más de 95% de las regiones apícolas del país en la actualidad (Guzmán- Novoa *et al.*, 2011). Datos morfométricos y de ADN mitocondrial sugieren que la introgresión de genes africanos ha sido mayor en las poblaciones de abejas en la costa del Golfo que en poblaciones del Altiplano y la costa del Pacífico (Quezada-Euán, 2007).

Otro factor negativo que enfrenta la apicultura mexicana es la invasión del ácaro *Varroa destructor* (Anderson y Trueman, 2000), ya que limita la actividad de las abejas. Una especie cercana, *Varroa jacobsoni* Oudemans, fue descubierta primeramente en 1904 por Jacobson, parasitando a la abeja asiática *A. cerana* (Wienands, 1988). Hacia los años 50-60 del siglo XX, se observó que *V. jacobsoni* parasitaba en *A. mellifera*. Se supuso que colonias de esta especie de abejas, fueron llevadas a sitios de prevalencia de *A. cerana* en la antigua URSS, y tomaron contacto con esta última especie, fenómeno que permitió al ácaro parásito adaptarse para infestar a *A. mellifera* (Oldroyd, 1999). La invasión de *A. mellifera* por parte del ácaro parásito citado tuvo severas consecuencias para este especie de abejas, ya que se ha diseminado por todo el mundo debido, principalmente, a la movilización de colmenas. En 1952 la invasión fue observada por primera vez en la URSS, se encontró en Sudamérica en 1971 (Paraguay 1971) y en Estados Unidos en 1987 (De Guzmán y Rinderer, 1999).

Durante cerca de 50 años se supuso que la especie en cuestión era *V. jacobsoni* hasta que Anderson y Trueman (2000) determinaron que había más de una especie en el complejo *Varroa*, y que los ácaros con capacidad para parasitar *A. mellifera* pertenecían a la especie *Varroa destructor*, y presentaron la descripción original. Esta especie es la que se ha diseminado por el mundo parasitando a *A. mellifera*, mientras que *V. jacobsoni* mantiene su distribución en el Asia tropical, parasitando principalmente a *A. cerana* (Rosenkranz *et al.*, 2010).

Varroa destructor (en lo sucesivo, varroa) en México se detectó primeramente en los apiarios de la Universidad Veracruzana en 1992, en donde se postuló que tenía al menos tres años de residencia por los niveles de población observados (Rodríguez *et al.*, 1992). En el estado de México el ácaro llegó a principios de 1994. Actualmente se encuentra distribuida en todo el país (Espinosa-Montaño y Guzmán-Novoa, 2007).

El ácaro varroa se reproduce en las celdas de obreras y zánganos, donde se alimenta de la hemolinfa de las larvas, provocándoles disminución de peso y tamaño del cuerpo al momento de emerger como adultos. La pérdida de peso depende tanto del número de varroas fundadoras como del número de descendientes producidos. La pérdida de peso en obreras se ha estimado en 7% (De Jong *et al.*, 1982), y la disminución del tamaño en zánganos se ha estimado entre 11 y 19 %, dependiendo de las tasas de infestación de la colmena (Duay *et al.*, 2003). El desarrollo de las crías parasitadas se ve afectado porque al emerger como adultas éstas tienen menos peso corporal y un periodo de vida más corto (De Jong *et al.*, 1982). Las obreras parasitadas por el ácaro varroa durante su periodo de desarrollo tienen una disminución de su periodo de vida activa como pecoreadoras (Amdam *et al.*, 2004). Otro de los problemas ocasionados por la infestación de varroa es la transmisión de virus, de los que actualmente se han aislado 18 diferentes tipos (Chen and Siede, 2007).

Se han elaborado diferentes productos químicos para tratar de disminuir los daños causados por el ácaro varroa, pero su uso se ve limitado ya que no son 100% efectivos (Lodesani, 2008); además, de que la utilización de productos químicos representa un riesgo de contaminación de la miel, cera y polen, y que el uso continuo de estos productos genera poblaciones resistentes (Sammataro, 2005). Se estima que la mejor estrategia para el control de varroa a largo plazo sería el desarrollo de abejas genéticamente tolerantes a este ácaro (Page y Guzmán-Novoa, 1997).

Las colmenas que se utilizaron para este estudio corresponden a una población de abejas derivadas de la cruce de abejas africanizadas provenientes de enjambres silvestres atrapados en la Chontalpa, Tabasco, y mejorados genéticamente en dicha localidad para buena postura, producción de miel, mansedumbre y tolerancia a las enfermedades más comunes (Cervantes y Cruz, 1997). Las reinas con las mejores características apícolas se llevaron a Montecillo Texcoco, Estado de México, en 1993, y se cruzaron con abejas europeas de diferentes partes del país que habían estado en proceso de mejoramiento genético en los apiarios de Montecillo. Al producto de estas cruces aleatorias se les llamó abejas euroafricanas (Utrera, 1999). Las colonias con mayor producción de miel y tolerancia al ácaro *Varroa* fueron seleccionadas y aumentadas cada año (Pérez-sato y Cervantes-Santana, 2001)

Por la importancia de las repercusiones biológicas y económicas de la africanización de los apiarios se realizó la presente investigación, con el fin de evaluar el grado de africanización y caracterizar la diversidad morfológica y genética de la población de abejas que se explota en el Colegio de Postgraduados actualmente, en ausencia de tratamiento contra *Varroa destructor*.

HIPÓTESIS

La población de abejas del Colegio de Postgraduados ha estado sometida a un proceso de africanización por los últimos 20 años, proceso que ha ocasionado cambios morfológicos y genéticos en las colmenas de la población.

OBJETIVOS

- a. Determinar el grado de africanización de la población de abejas del colegio de Postgraduados con base en variables morfométricas y polimorfismo de isoenzimas.
- b. Determinar el grado de variación genética de las poblaciones del Colegio de Posgraduados, en relación a poblaciones de abejas con alto grado de pureza tanto europeas procedentes de Chihuahua, como africanas procedentes de Mérida.

LITERATURA CITADA

- Anderson D L, W H Trueman (2000)** *Varroa jacobsoni* is more than one species. Exp. and Appl. Acarol. 24:165-189.
- Amdam G V, K Hartfelder, K Norberg, A Hagen, S W Omholt (2004)** Altered physiology in workers honeybees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroide): a factor in colony loss during overwintering? J. Econ. Entomol. 97(3): 741-747.
- Buchmann S, J S Ascher (2005)** The plight of pollinating bees. Bee World, 86: 71-74.
- Cervantes S T, A M Cruz P (1997)** Avances en la domesticación y el mejoramiento de abejas africanas. Memorias XI Seminario Americano de Apicultura. Acapulco, Guerrero, septiembre de 1997. Méx. pp 34-36.
- Correa-Benítez A (2004)** Historia de la apicultura en México. Imagen Vet. 4: 4-6.
- Crozier R H, Y C Crozier, A G Mackynlay (1989)** The CO-I and CO-II region of honeybee mitochondrial DNA: evidence for variation in Insect mitochondrial evolutionary rates. Mol. Biol. Evol., 6(4): 399-411.
- Chen P Y, R Siede (2007)** Honey bee viruses. Advances in Virus Research. 70: 33-80
- De Jong D, P H De Jong, L S Goncalves (1982)** Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. J. Apicult. Res. 21: 165-216.
- De Jong D, R A Morse, G C Eickwort (1982b)** Mite pest of honey bees Annu. Rev. Ent. 27: 229-252.
- De Guzmán L I, T E Rinderer (1999)** Identification and comparison of *Varroa* species infesting honey bees. Apidologie 30: 85-95.
- Duay P, D de Jong, W Engels (2003)** Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by *Varroa destructor* mites. Apidologie 34: 61-65.

- Espinosa-Montaño L G, E Guzmán-Novoa (2007)** Eficacia de dos acaricidas naturales ácido fórmico y timol, para el control del ácaro *Varroa destructor* de las abejas (*Apis mellifera L.*) en Villa Guerrero, Estado de México. Rev. Vet. Méx. 38(1): 9-19.
- Guzmán-Novoa E, R D Goodman, Z Y Huang, R A Morse, M Reid, T Yoshida (2007)** Beekeeping in various parts of the worlds. In: H Shimanuki, K Flottun A y Harman, editors. The ABC & XYZ of bee culture. Medina, OH: Al Root Co. 83-89.
- Guzmán-Novoa E., A Correa B, L G Espinoza M, G Guzmán N (2011)** Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México. Rev. Vet. Méx. 42(2): 149-178.
- Hubbell S (1997)** Trouble with honey bees. Nat. Hist. 106: 32-41.
- Kerr W E (1967)** The history of the introduction of African bees to Brazil. S. Afr. Bee J. 39: 3-5.
- Kearns C A, D W Inouye, N M Wasser (1998)** Endangered mutualism: the conservation of plant pollinator interactions. Ann. Rev. Ecol. Syst. Vol. 29. pp. 83-106.
- Koeniger N (1976)** The Asiatic honey bee *Apis cerana*. In crane, E. (Ed.) Apiculture in tropical climates. Hill House. pp. 47-49.
- Lodesani M, C Costa, G Sierra, R Colombo, A G Sabatini (2008)** Acaricide residues in beewax after conversion to organic beekeeping methods. Apidologie. 39 (3): 324-333.
- McGregor S E (1976)** Insect pollination of cultivated crop plants USDA, Agric. Handbook 496 pp. 411. U S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Moffett J O, D L Maki, T Andre, M Fierro M (1987)** The Africanized bee in Chiapas, México. Amer. Bee J. 127: 517 520.
- Oldroyd P B (1999)** Coevolution while you wait: *Varroa jacobsoni*. A new parasite of western honeybees. Trends Ecol. Evol. 14: 312-315.
- ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias-Chile Ministro de Agricultura)** Daniel Barrera Pedraza. Exportaciones de Miel 2010 y avances 2011.

- Page R E, E Guzmán-Novoa (1997)** The genetic basis of disease resistance. In: R A Morse, K Flottum, (Editors). Honey Bee Pests, Predators, and Diseases. 3rd ed.
- Palmer M R, D R Smith, O Kaftanoglu (2009)** Turkish honeybees. Genetic variation and evidence for a fourth lineage of *Apis mellifera* mtDNA. J. Hered., 91: 42-46.
- Pérez-Sato J A, T Cervantes-Santana (2001)** Selección para tolerancia a *Varroa jacobsoni* Oud. en una población de abejas euroafricanas. Agrociencia 35: 413-421.
- Quezada-Euán J J G (2007)** A retrospective history of the expansion of Africanized honeybees in México. J. Apic. Res. 46: 295-300.
- Rallo G J B (1986)** Frutales y Abejas. Publicaciones de Extensión Agraria. Madrid, España. 231 p.
- Rodríguez D, S R, M Moro J, G Otero-Colina (1992)** Varroa found in México. Amer. Bee J. 132(11): 728-729.
- Rosenkranz P, P Aumeier, B Ziegelmann (2010)** Biology and control of *Varroa destructor*. J. Invertebr. Pathol. 103 (2010) S96–S119.
- Ruttner F (1988)** Biogeography and taxonomy of Honey Bees. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- Sammataro D, P Untalan, F Guerrero, J Finley (2005)** The resistance of varroa mites (Acari: Varroide) to acaricides and the presence of esterase. Int. J. Acarol. 31(1): 67-74.
- SAGARPA (2009)** Secretaria de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Base de datos en Internet) servicio de Información estadística agroalimentaria (SIAP) [citado 2009 agost, 2]. Disponible en: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>.
- Schneider S S, G DeGradi-Hoffman, D R Smith (2004)** The African honey bee: factors contributing to a successful biological invasion. Annu. Rev. Entomol. 49: 351-376.

- Taylor O R, A Delgado, F Brizuela (1991)** Rapid loss of European traits from feral neotropical African Honey bees populations in Mexico. Amer. Bee J. 131: 783.
- Thapa R (2004)** Las abejas melíferas del Himalaya y la apicultura en Nepal. Comisión Permanente de Apicultura para el Desarrollo Rural. Zoology Department, Tri-Chandra M. Campus, P.O. Box 4462, Kathmandu, Nepal. 6 p
- Utrera Q F (1998)** Análisis de la transmisión a la descendencia de la tolerancia a *Varroa jacobsoni* O. de una población de abejas. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo, Edo. de México. 60 p.
- Utrera Q F, T Cervantes S (1999)** Heredabilidad de la tolerancia a *Varroa jacobsoni* O., de una población de abejas euroafricanas. Memorias del VI Congreso de Actualización Apícola. Celaya Guanajuato Mex., del 28-30 de mayo. pp 29-32.
- Wienands A (1988)** The varroa mites has spread over most of the world. Amer. Bee J. 128: 358-359.

CAPITULO II

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE UNA POBLACIÓN DE ABEJAS (*Apis mellifera*) DEL COLEGIO DE POSTGRADUADOS

RESUMEN

La abeja africanizada arribó al Valle de México en 1990, tres años después fueron llevadas a Montecillo abejas reinas africanizadas en proceso de mejoramiento genético cuyo grado de hibridación no había sido cuantificado. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el grado de africanización de estas poblaciones con base en caracteres morfológicos. Los resultados se analizaron con la prueba de Rinderer y componentes principales (CP). El análisis de 37 colmenas con base en 14 medidas de longitud, ocho ángulos y número de hámulos, con la prueba de Rinderer formó cuatro grupos: africanizadas (48.65%); africanizadas con introgresión de genes europeos (18.92%); europeas con introgresión de genes africanizados (8.11%); y europeas (24.32%). En el análisis de componentes principales las características de mayor relevancia para la clasificación racial de las abejas en el CP1 fueron las longitudes del ala anterior (LAA), de la abscisa proximal (LAXP) y de fémur (LFE), así como el ancho de basitarso (ABA); y en el CP2 las longitudes de tibia (LTI) y esternito (LEST). La distribución espacial de los dos primeros componentes permitió integrar cuatro grupos, en forma similar a los de la prueba de Rinderer. El análisis de conglomerados formó seis grupos, de los que tres correspondieron a colonias de características similares a las anteriores. Los resultados confirman la variación existente entre las colmenas de Montecillo.

Palabras Clave: africanizadas, europeas, morfometría, componentes principales.

ABSTRACT

Africanized honey bee arrived to the Valley of Mexico in 1990. Three years later, Africanized honey bee queens subjected to genetic improvement and whose degree of hybridization has not been quantified were taken to Montecillo. The objective of this work was to evaluate the degree of africanization of Montecillo's hives based on morphological traits. Data were analyzed using the Rinderer test and also principal components analysis (CP). The study of 37 beehives based on 14 length measurements, eight angles, and number of hamuli using the Rinderer test formed four groups: Africanized (48.65%); Africanized with introgression of European genes (18.92%); European with introgression of Africanized genes (8.11%); and European (24.32%). For the principal components analysis, the most important traits for the racial classification of the bees were length of the anterior wing (LAA), length of the proximal abscissa (LAXP), length of the femur (LFE), and width of the basitarsus (ABA) in the CP1, while in the CP2 were length of tibia (LTI) and length of sternite (LEST). The spatial distribution of the two first components allowed integrating four groups, like those ones formed with the Rinderer test. The conglomerate analysis formed six groups, from which three corresponded to colonies having characteristics similar to the groups of the CP. Results show that there is a great variation among the bee colonies of Montecillo.

Key words: Africanized honey bees, European honey bees, morphometry, principal components, genetic variation.

INTRODUCCIÓN

Las abejas africanizadas se originaron al cruzar abejas europeas con abejas africanas (*Apis mellifera scutellata*) (Smith, 1991); que se originaron como parte de un programa de mejoramiento genético desarrollado en Brasil, en el que se buscaba con el cruzamiento de las abejas africanas con abejas de origen europeo eliminar características indeseables de las abejas africanas, tales como el alto comportamiento defensivo, la alta tendencia por abandonar la colmena y la baja capacidad para almacenar miel. Por el lado de las abejas europeas se buscaba eliminar la baja capacidad de adaptación a los ambientes tropicales, pero con la idea de conservar alta capacidad para almacenar miel (Kerr, 1967).

Las abejas africanizadas han demostrado tener una mejor adaptación a los climas tropicales que las razas europeas de *Apis mellifera*, que anteriormente habían sido explotadas comercialmente en algunas regiones del Brasil (Nogueira-Neto, 1964).

Las abejas africanizadas son más pequeñas que las europeas y estas diferencias entre sus atributos morfométricas pueden ser usadas para clasificarlas (Daly *et al.*, 1995). Varios métodos han sido utilizados para diferenciar abejas africanas y africanizadas de las abejas europeas, incluyendo las isoenzimas (Contel *et al.*, 1977; Del Lama *et al.*, 1988) y los análisis del polimorfismo de ADN mitocondrial (Clarke *et al.*, 2000). Los métodos de laboratorio son caros ya que requieren equipo y personal capacitado, en contraste los estudios morfométricos por ser prácticos y de bajo costo continúan aplicándose de manera amplia en la identificación de las abejas africanizadas (Francoy *et al.*, 2008).

Uno de los aspectos más notables en las abejas africanas ha sido su capacidad para desplazar a las subespecies de abejas europeas que se explotaban en el Continente Americano (Sheppard *et al.*, 1991; Quezada *et al.*, 2003). Inicialmente se pensó que la cruce entre abejas africanas y europeas daría un híbrido que tendría la capacidad de ser mejor recolectora de néctar; sin embargo, esto no ocurrió porque los atributos del híbrido como tal se pierden en pocas

generaciones, como resultado de las cruzas y retrocruzas entre las generaciones segregantes (Clarke *et al.*, 2002), y de las características de dominancia de la abeja africana, razones por las cuales sus genes se mantienen dentro de las poblaciones (Schneider *et al.*, 2004), dando como resultado segregantes con las características de comportamiento de la abeja africana (Quezada-Euán y Medina, 1998).

Dally y Balling (1978) desarrollaron una técnica que discrimina entre abejas africanizadas y europeas y que se basa en 25 caracteres apropiados para discriminarlas. Posteriormente, Rinderer (1986) mejoró la técnica con el desarrollo de un programa computacional para la realización de las mediciones e identificaciones y dio origen al programa conocido como FABIS (Fast Africanized Bee Identification System=Sistema Rápido de Identificación de Abejas Africanizadas).

Rinderer *et al.* (1993) utilizó 23 variables para distinguir abejas africanizadas de abejas europeas, de las que 11 relacionadas con el tamaño del cuerpo contribuyeron a la diferenciación entre tipos de abejas.

Las características morfométricas de las abejas son altamente heredables y, por lo tanto, pueden ser adecuadas para distinguir abejas africanizadas de europeas, especialmente cuando son combinadas con análisis multivariados (Oldroyd *et al.*, 1991). Según Ruttner (1988) para realizar una caracterización morfológica en diferentes poblaciones de abejas es necesario seleccionar un amplio grupo de características

En numerosos estudios se han utilizado características morfométricas para distinguir poblaciones de abejas. Meixner *et al.* (1994) utilizaron caracteres morfométricos para diferenciar dos razas de abejas en Kenia, mientras que Padilla *et al.* (1997) utilizaron 15 características morfométricas para discriminar poblaciones de abejas *Apis mellifera iberica* en las islas Canarias; Fontanillas *et al.*

(2007) utilizaron 29 caracteres morfológicos para detectar las diferencias entre razas de abejas españolas y rusas. En abejas africanas y sus híbridos, Daly and Balling (1978) utilizaron 25 caracteres morfológicos para distinguir abejas africanas de abejas europeas; Lobo *et al.* (1989) usaron caracteres morfológicos para el reconocimiento de poblaciones de abejas africanizadas y sus híbridos en Brasil, mientras que, Lobo (1995) usó caracteres morfológicos para diferenciar abejas africanizadas en Costa Rica. En México, Quezada-Euán y Medina (1998) usaron 12 caracteres morfométricos para estudiar los cambios que sufrieron las abejas de la región de Yucatán desde que llegó la abeja africana en 1987 hasta 1996. Rinderer *et al.* (1991) estudiando el grado de africanización de poblaciones de abejas en la Península de Yucatán encontraron que existían muy pocas colonias clasificadas como africanizadas posiblemente como resultado de la gran cantidad de colonias europeas en la zona. Rinderer *et al.* (1993), estudiaron poblaciones de abejas de diferentes partes del mundo con 23 caracteres morfológicos para discriminar abejas europeas de abejas africanas, y encontraron 95.6 % de efectividad en la clasificación. Uribe *et al.* (2003), mediante el análisis de ADNm en poblaciones de abejas africanizadas en Villa Guerrero, Estado de México, encontraron que la ausencia de equilibrio y el flujo de genes hacia poblaciones europeas, además de la introgresión de genes africanos en poblaciones europeas, reducía la producción de miel, en forma similar a lo encontrado por Quezada-Euán y Medina (1998) en el estado de Yucatán 11 años después de la llegada de la abeja africana.

El grado de africanización ocurrido durante los últimos 20 años en los apiarios del Colegio de Postgraduados localizados en el Campus Montecillo, en el estado de México, no ha sido evaluado, por lo que se espera que este trabajo de caracterización morfológica contribuya a conocer el grado de africanización de las colmenas de Montecillo, que han estado bajo mejoramiento genético durante los últimos 20 años.

Cuando la abeja africana llegó a México en el año de 1986 (Moffett *et al.*, 1987) se inició el fenómeno de africanización de colmenas europeas y con ello importantes cambios en la apicultura. En 1988 el Dr. Tarcicio Cervantes planteó que la solución más viable a este problema potencial era de tipo genético, presentándose la oportunidad del aprovechamiento de la variabilidad genética para los atributos productivos presentes en las abejas africanas, para lo cual era indispensable también por mecanismos genéticos, reducir su agresividad y excesiva enjambrazón. Para ello inició la captura de enjambres en los años de 1988 y 1989 en las Choapas Ver., y en Cárdenas Tab., a los cuales les evaluó número de aguijones clavados, porcentaje de emigración, cantidad de ovipostura, uniformidad de ovipostura y rendimiento de miel (Cruz y Cervantes, 1997). Después de cinco generaciones de selección para menor agresividad, menor tendencia a migrar y mayor rendimiento de miel, las mejores reinas fueron llevadas a los apiarios de Montecillo Texcoco, Estado de México, y cruzadas con abejas europeas en selección. El programa iniciado en 1988 continúa hasta estos días en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo; sin embargo, el grado de africanización de estas colonias no ha sido valorado.

Con base en los antecedentes descritos se planteó el presente trabajo que consistió en valorar el grado de africanización e hibridación de una población de abejas del Colegio de Postgraduados utilizando métodos morfométricas.

MATERIALES Y METODOS

1. Material genético

Se evaluó una población de abejas euroafricanas derivada de la cruce de abejas africanizadas semidomesticadas con abejas europeas mejoradas (Utrera, 1999). Las abejas africanizadas semidomesticadas procedieron de una población de abejas africanas en proceso de mejoramiento genético en Cárdenas, Tab. La población de abejas africanas se formó con enjambres recolectados en Tabasco, Campeche y Veracruz en 1988. Esta población de enjambres fue seleccionada para mayor docilidad, sedentarismo, comportamiento al manejo apícola y productividad, por el Dr. Tarcicio Cervantes Santana del Colegio de Postgraduados, mediante la cría artificial de reinas y fecundación natural. La selección se hizo durante cuatro años, obteniendo una generación por año (Utrera, 1998). La población de abejas europeas, también mejoradas por el Dr. Cervantes, se integró recombinando abejas procedentes de 10 localidades de México, en la forma siguiente: 1) En 1978 se introdujeron en un apiario reinas europeas fecundadas de las 10 localidades y se obtuvieron reinas hijas; 2) la progenie resultante se fecundó en apareamiento natural para obtener la primera generación de recombinación; 3) después de dos generaciones de recombinación, la población se seleccionó durante varias generaciones (una por año) hacia características asociadas con la productividad de miel, mediante la cría artificial de reinas y fecundación natural en Montecillo, Estado de México (Utrera, 1998).

El cruzamiento de las abejas europeas mejoradas con las africanas semidomesticadas se efectuó en Montecillo, Estado de México, en 1993. De la población de abejas africanas semidomesticadas de Cárdenas, Tab., se tomaron 20 reinas fecundadas que se introdujeron en el apiario de Montecillo, Méx., integrado con colonias de abejas europeas mejoradas. De las reinas africanas introducidas, se seleccionaron seis cuyas colonias tuvieron el mejor desarrollo en su población y, por lo tanto, mayor adaptación. De estas reinas se obtuvieron reinas hijas por cría artificial, las cuales se fecundaron en forma natural, muy

probablemente con zánganos europeos predominantes en la zona en el tiempo referido. Este proceso se ha llevado a cabo desde 1993 hasta la fecha (2011), en los apiarios de Montecillo y Tecámac, ambos en el Estado de México (Utrera, 1998).

2. Caracterización morfométrica de las colonias

Del total de 100 colmenas euroafricanas (Cruz y Cervantes, 1997) de Montecillo se seleccionaron 37 para la realización de este estudio. El muestreo se realizó en los meses de junio y julio del año 2010, en la forma siguiente: primero se escogió un panal del centro de la cámara de cría y con la ayuda de un frasco de plástico se recolectaron de 25 a 35 abejas de cada colmena seleccionada, las cuales fueron transportadas en una caja de unicel al laboratorio de Entomología y Acarología, donde se refrigeraron a -20°C hasta su uso.

Con la ayuda de un microscopio estereoscópico se disecaron de 10 a 11 abejas obreras por cada colmena muestreada; las estructuras anatómicas a medir fueron separadas en frascos pomaderos. Se procuró que las estructuras anatómicas correspondieran al mismo lado, izquierdo o derecho, éstas fueron las siguientes: ala posterior, fémur, tibia, basitarso y tercer esternito abdominal (Cuadro 1). La última estructura se colocó en un frasco pomadero con ácido láctico para facilitar el desprendimiento del tejido adiposo e incrementar la visibilidad de los espejos de cera. Posteriormente, las estructuras anatómicas fueron colocadas en portaobjetos y cubiertas con cubreobjetos adheridos con bálsamo del Canadá como medio de montaje. En total se midieron 25 caracteres.

La medición de las estructuras citadas fue hecha en fotografía digitales que se tomaron en el Laboratorio de Taxonomía de Insectos, en un microscopio (Marca Carl Zeiss, modelo Tessovar) con cámara digital para microscopía Marca Paxcam 3, usando el programa computacional Image Tools para Windows Version 3 (Wilcox, 2003).

3. Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados en dos formas diferentes. En un primer análisis se utilizaron 23 de los 25 caracteres usados por Daly y Balling (1978) [los ángulos 38 y 39 fueron suprimidos] (Cuadro 1) para un análisis discriminante desarrollado por Rinderer *et al.* (1993). Este análisis clasifica a las abejas en los siguientes cuatro grupos: africanizadas, africanizadas con introgresión de genes europeos, europeas con introgresión de genes africanizados y europeas (Cuadro 2). Alternativamente, 25 características, las 23 anteriores más los ángulos suprimidos en el análisis anterior, se analizaron con base en componentes principales y la matriz de correlaciones (Cuadro 2), usando el programa de análisis estadístico SAS (Statistical Analysis System Ver. 9.0). Adicionalmente, se trazó el gráfico de Gabriel para determinar la independencia de las características (Steel y Torrie, 1988), y se aplicó un análisis de componentes principales y de conglomerados con 14 atributos de longitud y el número de hámulos, que contribuyeron mayormente a la variación total observada (Cuadro 3).

Cuadro 1. Caracteres morfológicos (25) utilizados en el análisis preliminar de componentes principales. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 2011.

Ala anterior	Pata posterior
1.- Longitud de ala	18. Longitud de fémur
2.-Anchura de ala	19. Longitud de tibia
3. Longitud de la abscisa próxima de la vena media	20. Longitud de basitarso
4.- Longitud de la abscisa distal de la vena media	21. Ancho de Basitarso
5-14. Ángulos entre las venas (del 29 al 39) definidos por Daly y Balling (1978)	
Ala posterior posterior	Tercer esternito
15- Longitud de ala posterior	22. Longitud del esternito
16- Ancho de ala posterior	23. Anchura del espejo de cera
17. Número de hámulos	24. Longitud del espejo de cera
	25. Distancia entre espejos

Nota: no existe medida para el ángulo 37 (Dally y Balling 1978).

Cuadro 2. Clases de colmenas con base en los criterios de Rinderer *et al.* (1993). Montecillo, Texcoco, Estado de México. 2011.

Probabilidades	Clases
$0.99 \leq pA=1.0$	Africanizada
$0.900 \leq pA < 0.99$	Africanizada con evidencia de introgresión de genes europeos
$0.500 \leq pA < 0.900$	Europea con evidencia de introgresión de genes africanizados
$0.000 \leq pA < 0.500$	Europea

pA: probabilidad de pertenecer a un grupo africanizado.

Cuadro 3. Caracteres (15) seleccionados por su mayor contribución a la explicación de la variación total en el análisis de componentes principales. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 2011.

Ala anterior	Pata posterior
1. Longitud del ala	8. Longitud de fémur
2. Anchura del ala	9. Longitud de tibia
3. Longitud de la abscisa próxima de la vena media	10. Longitud de basitarso
4. Longitud de la abscisa distal de la vena media	11. Ancho de basitarso
Ala posterior	Tercer esternito
5. Longitud de ala posterior	12. Longitud del esternito
6. Ancho de ala posterior	13. Anchura del espejo de cera
7. Número de hámulos	14. Longitud del espejo de cera
	15. Distancia entre espejos

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Usando los criterios de Rinderer *et al.* (1993) que aparecen en el Cuadro 2, la pertenencia a los diferentes grupos se observa en el Cuadro 4. El grupo de abejas africanizadas fue el más grande, con 18 colmenas de 37; las colmenas africanizadas con introgresión de genes europeos fueron siete; las colmenas europeas con introgresión de genes africanos, tres; y las colmenas europeas, nueve.

Cuadro 4. Clasificación de 37 colmenas con base en los parámetros de Rinderer *et al.* (1993). Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.

Clases	Número con que se identificaba cada colmena								
Africanizadas	7	51	106	157	180	15	39	101	186
Africanizadas con introgresión de genes europeos	206	209	29	30	70	170	200	190	12
Europeas con introgresión de genes africanizados	8	111	136	137	103	2	211		
Europeas	54	122	13						
Europeas	11	102	100	90	14	10	35	203	6

En este apiario el grupo de abejas africanizadas fue mayoritario (48.65 %) en tanto que los fenotipos de colonias europeas representaron el segundo porcentaje (24.32 %). Las colonias con características intermedias representaron 27.03% de la población total, y de éstas las abejas africanizadas con introgresión de genes europeos representaron la mayor proporción (18.92 %) (Figura 1). En consecuencia, la mayor proporción de fenotipos con base en sus características morfométricas corresponde al de abejas tipo africanizado (67.57 %), y en menor proporción a los tipos europeos (32.43 %). Por lo anterior el proceso de africanización en esta población tendría un avance de 67 %, posiblemente debido

al componente africanizado de las abejas introducidas durante el proceso de selección, debido al flujo de genes bidireccional causado por las abejas reinas europeas predominantes en apiarios cercanos a Montecillo. Este proceso es similar al observado por Lobo (1995) en Costa Rica, en él que después de 10 años de la llegada de enjambres africanizados se encontró flujo de genes en ambas direcciones. Quezada-Euán y Medina (1998) observaron un proceso similar en poblaciones de abejas africanizadas en el estado Yucatán, México.

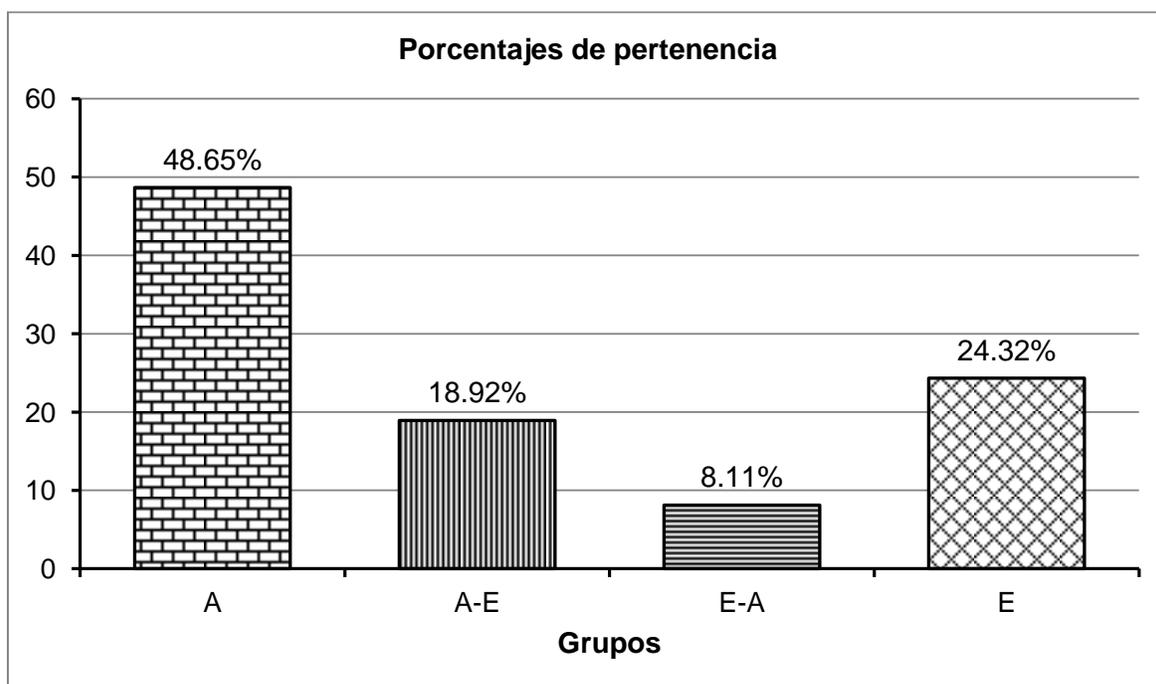


Figura 1. Porcentaje de colonias integradas por tipos con base en los parámetros de Rinderer *et al.* (1993). Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.

A=africanizada, A-E=africanizada con introgresión de genes europeos, E-A= europea con introgresión de genes africanizados y E= europea.

En el estudio que aquí se presenta, en el segundo análisis no se utilizan los ángulos por no contribuir significativamente a la variación total y sólo se utilizan medidas de longitud y el número de hámulos, el análisis de componentes principales se realizó con 15 variables (Cuadro 3). Este análisis presenta una ligera variación con respecto a lo descrito por Quezada-Euán y Medina (1998), en el cual utilizan 12 variables para clasificar abejas africanizadas y europeas; los

autores mencionados no utilizan longitud de la abscisa próxima de la vena media (LAXP), longitud de la abscisa distal de la vena media (LAD) y número de hámulos (NDH).

La independencia de las características morfométricas analizadas entre características se evaluó con el Gráfico de Gabriel (Figura 2) (Steel y Torrie, 1988). Estas 15 características fueron longitud de ala anterior (LAA), ancho de ala anterior (AAA), longitud de la abscisa proximal de la vena (LAXP), longitud de la abscisa distal (LAD), longitud de ala posterior (LAP), ancho de ala posterior (AAP), número de hámulos (NDHA), longitud de fémur (LFE), longitud de tibia (LTI), longitud de basitarso (LBA), ancho de basitarso (ABA), longitud del esternito (LEST), ancho del espejo de cera (AEC), longitud del espejo de cera (LEC) y distancia entre espejos de cera (DEE). Dada la independencia de las características se realizó un análisis de componentes principales, con el fin de determinar las variables de mayor contribución a la variación total.

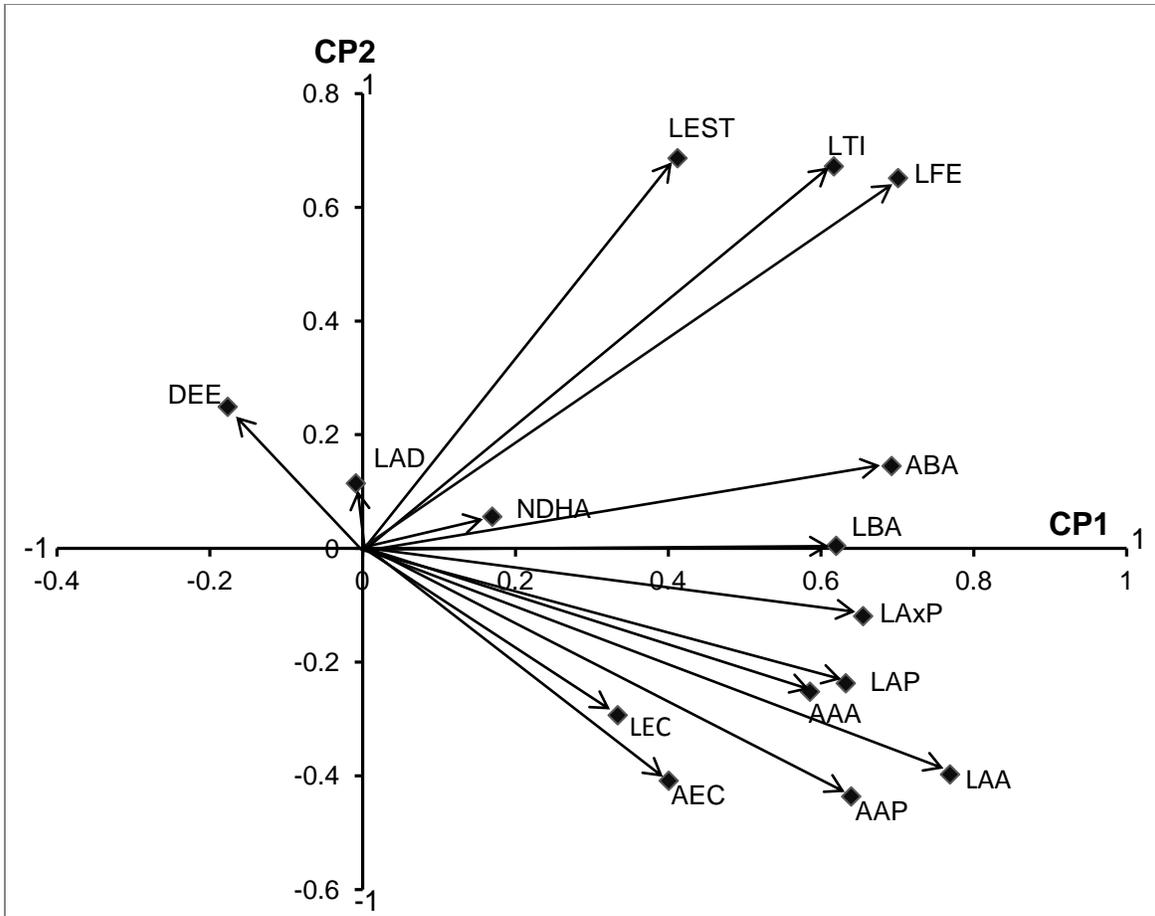


Figura 2. Gráfico de Gabriel con 15 variables con base en los dos primeros componentes principales. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.

Variables = Longitud de ala anterior (LAA); ancho de ala anterior (AAA); longitud de la abscisa proximal de la vena (LAXP); longitud de la abscisa distal (LAD); longitud de ala posterior (LAP); ancho de ala posterior (AAP); número de hámulos (NDHA); longitud de fémur (LFE); longitud de tibia (LTI); longitud de basitarso (LBA); ancho de basitarso (ABA); longitud del esternito (LEST); ancho del espejo de cera (AEC); longitud del espejo de cera (LEC); y distancia entre espejos de cera (DEE).

El análisis de componentes principales con 15 variables (Cuadro 3), seleccionadas de un total de 25, mostró que 74.37 % de la variación total se explicó con los cinco primeros componentes. En el primer componente (CP1), las características de mayor valor descriptivo fueron la longitud del ala anterior (LAA), la longitud de abscisa proximal de la vena (LAXP), la longitud del fémur (LFE) y el ancho de

basitarso (ABA). En el segundo componente (CP2), las características que contribuyeron mayormente a su explicación fueron longitud del fémur (LFE), la longitud de la tibia (LTI), y la longitud del esternito (LEST). En el tercer componente (CP3) se distinguieron la longitud de la abscisa distal (LAD), ancho del espejo de cera (AEC) y la longitud del espejo de cera (LEC). Las características de mayor importancia en el cuarto y quinto componente fueron la longitud del basitarso (LBA), distancia entre espejos de cera (DEE) y el número de hámulos (NDHA), respectivamente (Cuadro 5).

Cuadro 5. Valores y vectores propios del análisis de componentes principales (CP) que describen la variación morfométrica de 37 colonias de abejas. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.

Característica	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Longitud de ala anterior	0.366	-0.269	0.051	0.188	-0.178
Ancho de ala anterior	0.279	-0.171	-0.209	-0.224	0.002
Longitud de la abscisa proximal	0.312	-0.081	-0.312	0.060	0.097
Longitud de la abscisa distal	-0.004	0.078	0.521	-0.121	-0.142
Longitud de ala posterior	0.301	-0.161	-0.009	0.262	-0.311
Ancho de ala posterior	0.305	-0.295	-0.211	-0.242	-0.098
Número de hámulos	0.081	0.038	0.086	0.274	0.771
Longitud de fémur	0.334	0.441	-0.044	-0.092	-0.025
Longitud de tibia	0.294	0.455	-0.017	-0.154	-0.096
Longitud de basitarso	0.295	0.003	0.037	0.426	-0.009
Ancho de basitarso	0.330	0.098	0.076	0.137	0.307
Longitud de esternito	0.196	0.465	0.142	-0.209	-0.071
Ancho de espejo de cera	0.191	-0.277	0.456	-0.196	-0.015
Longitud del espejo de cera	0.159	-0.199	0.517	-0.119	0.137
Distancia entre espejos de cera	-0.084	0.169	0.167	0.604	-0.331
Valor propio	4.41	2.18	2.02	1.320	1.210
Variación explicada (%)	29.4	14.5	13.5	0.088	0.080
Variación acumulada (%)	29.4	43.9	57.5	66.27	74.370

La dispersión de las colmenas sobre el plano de los componentes 1 y 2 (Figura 3) mostró una amplia dispersión de las colmenas en los cuatro cuadrantes y la separación de las colmenas determinada por la variación del tamaño de sus

componentes morfológicos. Estas estructuras están relacionadas con el tamaño del cuerpo y son altamente heredables (Oldroyd *et al.*, 1991).

La variabilidad observada entre las poblaciones de abejas euroafricanas del Colegio de Postgraduados puede explicarse con base en los aspectos siguientes:

- a) El origen de las colmenas a partir de enjambres silvestres altamente africanizados, capturados en los estados de Tabasco y Veracruz (Utrera, 1998), pocos meses después de la llegada de las abejas africanas (Moffett *et al.*, 1987);
- b) el flujo de genes a estas poblaciones de apiarios vecinos poblados con abejas de origen europeo, como sucedió en Yucatán a la llegada de abejas africanas (Quezada-Euán y Medina, 1998); y c) el cruzamiento con diferentes razas de abejas (Quezada-Euán, 2007) que se encontraban en el área, como *A. mellifera mellifera*, *A. mellifera carnica* y *A. mellifera ligustica* o abeja italiana (Labougley y Zoyaya, 1986).

En el Cuadro 6 se muestran los promedios, desviaciones estándar e intervalos de variación para las seis variables que presentan mayor determinación en el CP1 y CP2 de las poblaciones de abejas del Colegio de Postgraduados.

Cuadro 6. Promedios, desviación estándar e amplitud de variación de estructuras morfológicas de las 37 colmenas de abejas. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.

Característica (mm)	Media	Intervalo	D.E
Longitud de ala anterior (LAA)	8.925	8.70-9.12	0.112
Longitud de la abscisa proximal (LAXP)	0.549	0.50-0.60	0.030
Longitud de fémur (LFE)	2.537	2.34-2.64	0.073
Longitud de tibia (LTI)	3.128	2.92-3.25	0.076
Ancho de basitarso (ABA)	1.145	1.10-1.21	0.026
Longitud de esternito (LEST)	2.591	2.38-2.71	0.082

mm = milímetros; D.E. = desviación estándar.

En el espacio de variación definido por los componentes 1 y 2 (Figura 3), las 37 colmenas estudiadas se integran en cuatro grupos (Cuadro 7). El grupo I, localizado en los cuadrantes I y II, se integra con colmenas cuyos promedios de las características morfológicas son los siguientes: longitud de ala anterior LAA, 9.01 mm; longitud de fémur LFE, 2.58 mm; ancho de basitarso ABA, 1.16 mm; longitud de tibia LTI, 3.16 mm; y longitud de esternito, LEST, 2.61 mm. Este grupo de colmenas estaría morfológicamente más próximo a las abejas europeas con base en la clasificación de Dally y Balling (1978), y muy similar a la clasificación realizada con los parámetros de Rinderer *et al.* (1993) (Cuadro 7), aunque por la longitud de la abscisa proximal de la vena M LAxP (0.57mm) estaría más cercano a las abejas africanizadas. En este grupo, la colmena 190 se ubica en la parte inferior del cuadrante II y las abejas de esta colmena tuvieron un tamaño de ala similar al de las abejas europeas (9.01 mm); sin embargo, sus otras características morfológicas fueron de tamaño pequeño, similar al de las abejas africanas, por lo que se ubican en la parte inferior de este agrupamiento.

En la parte inferior del cuadrante III se ubica un grupo (grupo II) de tres colmenas (Figura 3) cuyas características morfológicas presentaron los promedios siguientes: longitud de ala anterior LAA, 8.84 mm; longitud de la abscisa proximal de la vena M LAxP, 0.53 mm; longitud de fémur LFE, 2.53 mm; ancho de basitarso ABA, 1.13 mm; longitud de tibia LTI, 3.12 mm; y longitud de esternito LEST, 2.61 mm (Cuadro 7). Estas colmenas, de acuerdo con sus medidas, forman un grupo más próximo a las abejas africanizadas, aunque no a las abejas africanas.

El grupo tres formado sólo por la colmena 111 (Figura 3) se separó de los tres grupos restantes en el cuadrante III. Las características morfológicas de esta colmena en promedio son las siguientes: tamaño de ala LAA, 8.72 mm; longitud de la abscisa proximal de la vena M LAxP, 0.520 mm; longitud de fémur LFE, 2.45 mm; y ancho de basitarso ABA, 1.13 mm. La clasificación de Dally y Balling (1978), ubicaría a este grupo como abejas africanizadas; sin embargo, esta

colmena se separó en un grupo aparte debido a que la longitud de tibia LTI, 3.07 mm y de esternito LEST, 2.51 mm corresponden a la de las abejas europeas.

El grupo IV (Figura 3) se localiza entre los cuadrantes III y IV y presenta las medidas promedio (Cuadro 7) siguientes: longitud de ala anterior LAA, 8.92 mm, longitud de la abscisa proximal de la vena M LAXP, 0.54 mm; ancho de basitarso ABA, 1.11 mm; longitud de fémur LFE 2.37; longitud de tibia LTI 2.97 mm; y longitud de esternito LEST, 2.42 mm. Aunque estas medidas se ajustan a las correspondientes a las abejas africanizadas (Dally y Balling, 1978), el grupo puede clasificarse como africanizado intermedio debido a que se encuentra próximo al grupo I, que es fenotípicamente más similar a las abejas europeas que otros grupos. Este grupo se desplaza al cuadrante IV y forma el grupo de abejas africanizadas intermedias, aunque un poco cercano a las abejas europeas.

El método de análisis de componentes principales clasifico como abejas africanizadas 51.35 % del total de las colonias estudiadas un 16.22 % menos que el método de Rinderer.

Cuadro 7. Promedios, desviación estándar y amplitud de variación de seis estructuras morfológicas, de los cuatro grupos distribuidos en la Figura 3. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.

Grupo	Longitud de ala anterior (LAA)			Longitud de abscisa proximal (LAXP)			Longitud de fémur (LFE)		
	Media	Amplitud	D.E	Media	Amplitud	D.E	Media	Amplitud	D.E
1	9.01	8.45-9.44	0.15	0.57	0.43-0.78	0.04	2.58	2.29-2.76	0.07
2	8.84	8.60-9.05	0.14	0.53	0.45-0.64	0.04	2.53	2.32-2.64	0.07
3	8.73	8.52-8.92	0.13	0.52	0.50-0.58	0.03	2.45	2.30-2.52	0.07
4	8.92	8.71-9.12	0.13	0.54	0.49-0.59	0.03	2.37	2.20-2.59	0.12
Grupo	Ancho de basitarso (ABA)			Longitud de tibia (LTI)			Longitud de esternito (LEST)		
	Media	Amplitud	D.E	Media	Amplitud	D.E	Media	Amplitud	D.E
1	1.16	1.07-1.32	0.04	3.16	2.91-3.43	0.07	2.61	2.29-2.89	0.09
2	1.13	1.02-1.32	0.04	3.12	2.86-3.67	0.09	2.61	2.43-2.89	0.07
3	1.13	1.08-1.16	0.03	3.07	2.91-3.15	0.07	2.51	2.27-2.66	0.11
4	1.11	1.06-1.16	0.03	2.97	2.86-3.12	0.08	2.42	2.30-2.56	0.08

D.E.= desviación estándar

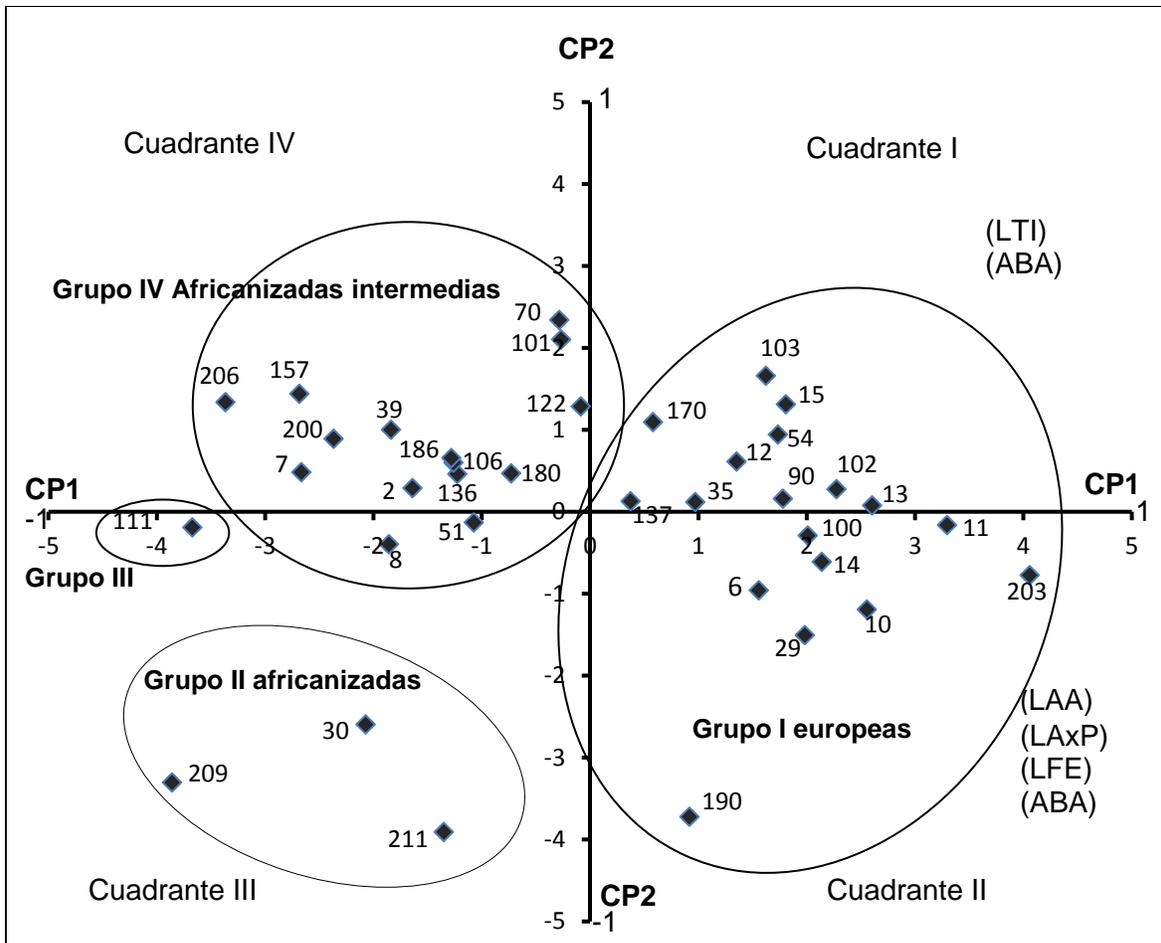


Figura 3. Dispersión en el plano de los componentes 1 y 2, de 37 colmenas con base en seis características morfológicas. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.

En el análisis de conglomerados (Figura 4) a la distancia euclidiana de 1.41, el patrón de agrupamiento fue similar al obtenido con base en los componentes principales 1 y 2 (Figura 4), a pesar de que en el análisis de conglomerados se toman en cuenta 15 variables y en el de componentes principales sólo el 40% de la variación global y con las ponderaciones de mayor cuantía por seis variables.

En el dendrograma se observan seis grupos (Figura 4). Tres grupos se integran con un número amplio de colmenas y otros tres se forman con colmenas individuales.

La colmena 6 integra el grupo I, que se separa de los otros agrupamientos debido a que la mayoría de sus características morfométricas corresponden a las de las abejas europeas; aunque una proporción menor de sus características morfológicas corresponden a las de las abejas africanas (Dally y Balling 1978). Por esta razón, esta colmena sería considerada la más europea de las 37 evaluadas.

El grupo II se integró con 14 colmenas cuyas proporciones corporales son similares a las de las abejas europeas, (64.29 % de similitud a la clasificación de Rinderer) y se separan del grupo I debido a que presentan medidas similares a las de abejas africanizadas como el ancho de ala posterior (AAP), el número de hámulos (NDHA), la longitud del espejo de cera (LEC) y la distancia entre los espejos (DEE). Estas cuatro características hacen que se separen de la colmena más cercana a las europeas, que es la colmena número 6.

La colmena 35 integra el grupo III (Figura 4), que se ubica entre los grupos II y IV, el primero con características más europeas y el segundo con características que la acercan más al fenotipo africano. El grupo V se integró con las mismas colmenas que formaron el grupo II en el diagrama de dispersión de los componentes principales, denominado abejas africanizadas (Figura 3). Este grupo presenta características que lo ubican próximo al fenotipo de las abejas africanas. Finalmente, la colmena 111 (grupo VI) se considera la más africana de las colmenas de esta población, debido a que características morfológicas como la longitud de ala anterior (LAA), ancho de ala anterior (AAA), longitud de ala posterior (LAP), ancho de ala posterior (AAP), número de hámulos (NDHA), longitud de fémur (LFE), longitud de tibia (LTI), longitud de basitarso (LBA), y longitud de esternito (LEST) son pequeños. Sin embargo, presenta algunos caracteres morfológicos intermedios entre abejas africanas y abejas europeas como la longitud de la abscisa proximal (LAXP) y de la abscisa distal (LAD), ancho de basitarso (ABA), ancho del espejo de cera (AEC) y longitud del espejo de cera (LEC), aunque la distancia entre espejos de cera (DEE) corresponde a la de abejas europeas, lo que muestra que las características morfométricas tomadas individualmente pueden no corresponder a la suma de dichas características.

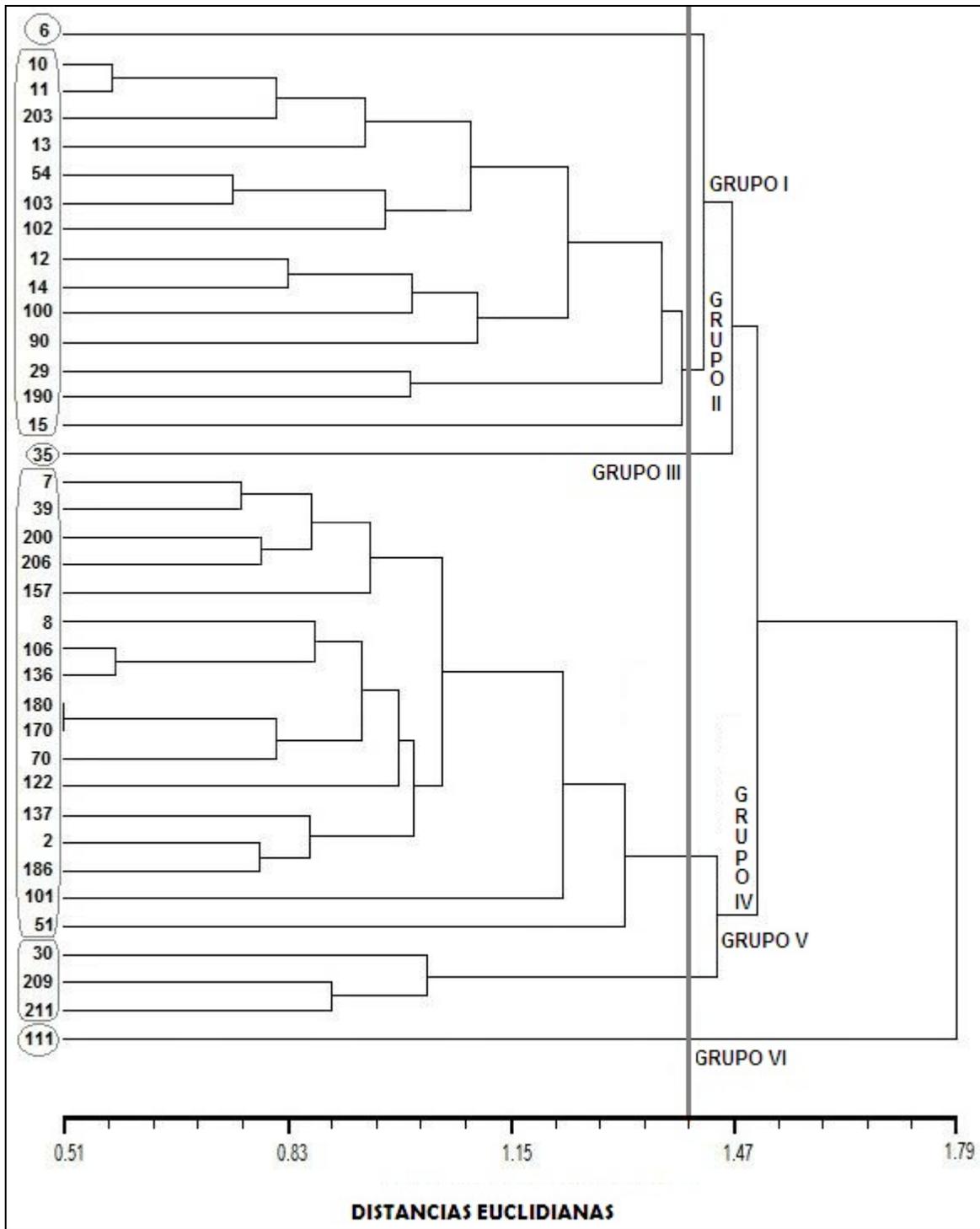


Figura 4. Agrupamiento de 37 poblaciones de abejas (colmenas) de los apiarios del Colegio de Postgraduados ubicados en Montecillo Edo., de México con base en las distancias euclidianas de la combinación de 15 caracteres morfológicos.

Los resultados mostrados con el análisis de conglomerados son similares a los obtenidos usando los criterios de Rinderer *et al.* (1993). Por ejemplo, la colonia 6 que en el análisis de conglomerados forma el grupo I independiente (Figura 4) y tiene características cercanas a las abejas europeas, con base en los criterios de Rinderer queda ubicada dentro del grupo de colonias europeas. En total 64.29 % de las colmenas ubicadas en el II grupo del dendrograma como europeas son las mismas colonias que con los criterios de Rinderer quedan ubicadas como europeas o con introgresión de genes europeos. En el caso de la colonia 35 (grupo III) que en el dendrograma se ubica como una colonia intermedia entre abejas africanizadas y abejas europeas, usando los criterios de Rinderer *et al.* (1993) se clasifica como una colonia europea. El grupo IV en el dendrograma está formado por 17 colonias las cuales fueron clasificadas como africanizadas y con los criterios de Rinderer el 70 % de las colonias de este grupo quedaron en el grupo de abejas africanizadas (95 % cuando se toman como africanizadas colmenas con introgresión de genes africanizadas). El grupo V formado por tres colonias, las cuales usando los criterios de Rinderer *et al.* (1993) son colonias africanizadas, en el caso del dendrograma, también fueron clasificadas como africanizadas, finalmente la colonia 111 que forma el grupo VI en el dendrograma es una colmena africanizada y con los criterios de Rinderer también, pero el hecho de presentar variaciones en sus medidas la hace formar un solo grupo. Las variaciones encontradas entre ambas clasificaciones pueden deberse a que el análisis de conglomerados utilizó 15 variables y en el caso de la prueba de Rinderer *et al.* (1993) son usados 23 caracteres morfométricos para realizar la ubicación de las colonias; sin embargo en este estudio se encuentra una similitud de 70 % entre ambas pruebas lo cual las hace eficientes para distinguir poblaciones de abejas, aunque el método de componentes principales (CP) pudiera ser más eficiente porque da un mayor número de grupos.

La distribución de las colmenas en los cuatro cuadrantes formados por el plano de los componentes principales I y II es atribuida al flujo del genes causado por la entrada continua de abejas europeas de apiarios vecinos y a la formación de

híbridos en forma bidireccional, por lo que no se tiene la fijación de genes de origen africano ni la extinción de genes de origen europeo. Al respecto, Quezada-Euán y Medina (1998) observaron que años después de la llegada de la abeja africana a la Península de Yucatán, las colonias silvestres mostraron características morfológicas de abejas europeas, como consecuencia de la abundancia de colmenas de origen europeo presentes en la zona. En cambio, nuestros resultados contrastan con los de Boreham y Rubik (1987), quienes encontraron una rápida pérdida de caracteres morfométricos de origen europeo, como la disminución de tamaño de cuerpo y ala después de la llegada de las abejas africanas a Panamá, como consecuencia de la escasa población de colmenas europeas de la zona. Zamora *et al.* (2008) encontraron que el proceso de africanización es lento en condiciones desérticas y de alimento escaso durante todo el año para el mantenimiento de colmenas, como sucedió en algunas zonas de Sonora y Baja California. Guzmán-Novoa *et al.* (2002) y Uribe *et al.* (2003) encontraron la disminución sistemática en el tamaño de ala en zonas con mayor presencia de abejas africanizadas como consecuencia del proceso de africanización.

CONCLUSIONES

Después de 20 años de iniciado el proceso de africanización en la población de abejas en Montecillo, el desplazamiento completo de las abejas europeas no ha ocurrido, no obstante los fenotipos africanizados se encuentran en mayor proporción en la población, como consecuencia de eventos múltiples de recombinación entre ambas especies,.

La clasificación de fenotipos con base en características morfométricas fue independientemente del método de análisis empleado. Ambos métodos de análisis, Rinderer y componentes principales, permitieron el agrupamiento de las colmenas de la población de Montecillo en cuatro diferentes clases fenotípicas, con base en el grado de cambios morfológicos. El método de componentes principales resulto más estricto en la clasificación de fenotipos (51 % de abejas africanizadas) que el método de Rinderer (64 % de abejas africanizadas).

Componentes principales fue más eficiente y práctico que el método de Rinderer ya que empleo un número de características morfológicas menor (15 vs 23).

El análisis de componentes principales mostros que seis características morfológicas (longitud de ala anterior; LAA; longitud de abscisa proximal, LAxP; longitud de fémur, LFE; ancho de basitarso, ABA; longitud de tibia, LTI; y longitud de esternito, LEST) fueron las más importantes para la clasificación de fenotipos de abejas, en contraste con las medidas angulares.

LITERATURA CITADA

- Boreham M M, D W Roubik (1987)** Population change and control of Africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) in the Panama Canal area. Bull. Entomol. Soc. Am. 33: 34-39.
- Bucco S M, T E Rinderer, H A Sylvester, A M Collins, V A Lancaster, R M Crewe (1987)** Morphometric differences between South America Africanized and South African (*Apis mellifera scutellata*) honey bees. Apidologie 18: 217-220.
- Contel E P B, M A Mestriner, E Martins (1977)** Genetic control and developmental expression of malate dehydrogenase in *Apis mellifera*. Bioch. Genet. vol.15: 859-876.
- Clarke K E, T E Rinderer, P Franck, J G Quezada-Euán, B P Oldroyd (2002)** The Africanization of honey bees (*Apis mellifera* L.) of the Yucatan: a study of a massive hybridization event across time. Evol. 56:1462–74.
- Cruz P A M, T Cervantes S (1997)** Avances en la domesticación y el mejoramiento de abejas Africanas. Memorias del XI Seminario Americano de Apicultura. Guerrero Mex. Sept. de 1997, pp 38-40.
- Del Lama M A, R A Figueredo, A E E Soares, S N Del Lama (1988)** Hexokinase polymorphism in *Apis mellifera* and its use for Africanized honey bee identification. Rev. Bras. Genet. 11: 287-297.
- Dally V H, S S Balling (1978)** Identification of Africanized honeybees in the Western Hemisphere by discriminant analysis. J. Kansas Entomol. Soc. 51 (4): 857-869.
- Daly H V, R G Danka, K Hoelmer, T E Rinderer, S M Bucco (1995)** Honey bees morphometrics: linearity of variables with respect to body size and classification tested with European worker bees reared by varying ratios of nurse bees. J. Apic. Res. 34: 129-145.

- Francoy T M, D Wittmann, M Drauschke, S Muller, V Steinhage, M A F Bezerra-Laure D De Jong, L S Goncalves (2008)** Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie* 39: 1-6.
- Fontanillas P J C, I García-Cuenca A, A Mañes M, M Higes, M Mogedas M (2007)** diferencias morfométricas entre la abeja *Apis mellifera iberica* y la abeja rusa de la región de Primorsky. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 1: 8-20.
- Guzmán-Novoa E, R E Page Jr., M K Fondrk (1994)** Morphometric techniques do not detect intermediate and low levels of africanization in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Entomol. Soc. Am.* 87: 507-515.
- Guzmán-Novoa E (1996)** La apicultura en México y Centro América. Memorias del V Congreso Ibero Latinoamericano Apícola. Mercedes Uruguay. Intendencia Municipal de Soriano Central de Apicultura Cooperativa. pp14-17.
- Guzmán-Novoa E, G J Hunt, R E Page Jr., M K Fondrk (2002)** Genetic correlation among honey bees (Hymenoptera: Apidae) behavioral characteristics and wing length. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 95(3): 402-406.
- Howell V D, S S Balling (1978)** Identification of africanized honeybees in the Western Hemisphere by discriminant analysis. *J. Kansas Entomol. Soc.* 51(4): 857-869.
- Kerr W E (1967)** The history of the introduction of African bees to Brazil. *S. Afr. Bee J.* 39: 3-5.
- Labougle R, A Zozaya R (1986)** La apicultura en México. *Revista Ciencia y Desarrollo* 69: 17-36.
- Lobo J A (1995)** Morphometric, isozymic and mitochondrial variability of Africanized honeybees in Costa Rica. *Hered.* 133-141.
- Lobo A J, M A Del Lama, M A Mestriner (1989)** Population differentiation and racial admixture in the Africanized honeybee (*Apis Mellifera* L.). *Evol.* 43 (4): 794-802.

- Meixner M D, W S Sheppard, A Dietz, R Krell (1994)** Morphological and allozyme variability in honey bees from Kenya. *Apidologie* 25: 188-2002.
- Moffett J O, D L Maki, T Andre, M Fierro M (1987)** The Africanized bee in Chiapas, Mexico. *Ame. Bee J.* 127: 517-520.
- Nogueira-Neto P (1964)** The spread of a fierce African bee in Brazil. *Bee world* 45: 119-121.
- Oldroyd B P, T E Rinderer, S M Bucco (1991)** Heritability of morphological characters used to distinguish European and Africanized honey bees. *Theor. Appl. Gen.* 82: 499-504.
- Padilla A F, F Puerta P, J M Flores S, M Ruiz B, R Hernández F (1997)** Estudio biométrico de las abejas domesticas de la Palma. (I. Probóscide, pata posterior índice cubital A/B. 3º y 4º terguito y 3º y 4º esternito) *Arch. de Zoot.* 46: 21-30.
- Quezada-Euán J J G, L Medina M (1998)** Hybridization between European and Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) in tropical Yucatan, Mexico. I. Morphometric changes in feral and managed colonies. *Apidologie* 29: 555–68.
- Quezada-Euán J J G, E E Pérez-Castro, W de J May-Itzá (2003)** Hibridization between European and African-derived honey bee populations (*Apis mellifera*) at different altitudes in Peru. *Apidologie* 34: 217-225.
- Quezada-Euán J J G (2007)** A retrospective history of the expansion of Africanized honeybees in Mexico. *J Apic Res.* 46: 295-300.
- Rinderer T E, A M Collins, K W Tucker (1985)** honey production and underlying nectar harvesting activities of Africanized and European Honey bees. *J. Apic. Res.* 23: 161-167.
- Rinderer T E, T E Rinderer, J A Stelzer, B P Oldroyd, S M Bucco, W L Rubink (1991)** Hibridization Between European and Africanized honey-bees in the neotropical Yucatan Peninsula. *Science* 253: 309-311.
- Rinderer T E, S M Bucco, W L Rubink, H V Daly, J A Stelzer, R M Riggio, F C Baptista (1993)** Morphometric identification of Africanized and European honey bees using large reference populations. *Apidologie* 24: 569-585.

- Rinderer T E (1986)** Africanized bees: the africanization process and potential range in the United States. Bull. Entomol. Soc. Am. 32: 222-227.
- Ruttner F (1988)** Biogeography and taxonomy of honeybees. Ed. Springer-Verlag, Berlin. Germany 284 p.
- Steel R G D, J H Torrie (1988)** Bioestadística: Principios y Procedimientos. Primera edición en español de la 2ª en inglés. Edit. McGRAW-HILL.
- Sheppard W S, T E Rinderer, J A Mazzoli, J A Stelzer, H Shimanuki (1991)** Gene flow between African–European-derived honey bees populations in Argentina. Nature 349: 782-840.
- Smith R K (1991)** African bees in the Americas: Insights from biogeography and genetics. Trends Ecol. Evol. 6 (1): 17-21.
- Schneider S S, G DeGrandi-Hoffman, D R Smith (2003)** The African honey bee: factors contributing to a success biological Invasion. Annu. Rev. Entomol. 49: 351–376.
- Utrera Q F, T Cervantes S (1999)** Heredabilidad de la tolerancia a *Varroa jacobsoni* O., de una población de abejas euroafricanas. Memorias del VI Congreso de Actualización Apícola. Celaya Guanajuato Mex., del 28-30 de mayo. pp 29-32.
- Uribe R J L, E Guzmán-Novoa G J Hunt, A Correa B, J A Zozaya R (2003)** Efecto de la africanización sobre la producción de miel, comportamiento defensivo y tamaño de las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) en el Altiplano Mexicano. Rev. Vet. Méx. 34 (1): 47-59.
- Wilcox D B, D D McDavid, D Greer (2002)** UTHSCSA. Image Tool para Windows Ver. 3.0. The University of Texas Health Science center in San Antonio USA.
- Zamora O, R Domínguez, L Alaniz-Gutierrez, J J G Quezada-Euán (2008)** Frequency of European and African-derived morphotypes and haplotypes in colonies of honey bees (*Apis mellifera*) from NW Mexico. Apidologie 39: 388-396.

CAPÍTULO III

DIVERSIDAD ISOENZIMÁTICA EN POBLACIONES DE ABEJAS (*Apis mellifera*) EN EL COLEGIO DE POSTGRADUADOS

RESUMEN

En los apiarios del Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados se introdujeron abejas africanizadas hace 20 años, para incorporar algunos de sus atributos útiles. En esta población el proceso de hibridación entre abejas africanizadas y europeas no ha sido evaluado genéticamente. El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar el grado de africanización en esta población, con base en el análisis isoenzimático. Muestras de 41 colmenas del apiario de Montecillo, EdoMEEx, y de abejas de Mérida Yucatán (AFME) y de Chihuahua (EUCH), fueron analizadas con las isoenzimas hexoquinasa (HEXA), malato deshidrogenasa (MDHA) y enzima málica (ME). Los análisis mostraron 11 alelos en cuatro loci. La Enzima málica mostró un locus monomórfico no consignado en estudios anteriores. El análisis individual de isoenzimas no permitió diferenciar a las poblaciones de abejas con diferente grado de africanización; en contraste, el análisis multivariado mostró que las frecuencias de las isoenzimas hexoquinasa y malato deshidrogenasa son útiles para clasificar y discriminar entre tipos africanizados y europeos. Después de 20 años de la llegada de abejas africanizadas el apiario ha sido parcialmente colonizado. La colonización incompleta causa una amplia diversidad en la distribución de las frecuencias entre las colmenas de esta población, posiblemente como resultado de la recombinación aleatoria de los germoplasmas europeos y africanos, que da lugar a colmenas europeas con diferentes frecuencias de incorporación de los alelos presentes en la población africanizada testigo (AFM=500).

Palabras clave: abejas africanizadas, hibridación, isoenzimático, discriminar colonización.

ABSTRACT

In the apiaries of the Campus Montecillo of the Colegio de Postgraduados, Mexico, Africanized honey bees were introduced 20 years ago in order to exploit some of their good attributes. In these apiaries' population the hybridization process between Africanized and European honey bees has not been studied genetically. This work was carried out in order to know the degree of africanization in this population by means of an isozyme analysis. Samples from 41 beehives from Montecillo's apiary, EdoMex, and other from honey bees from Merida, Yucatan (AFME) and from Chihuahua (EUCH) were analyzed using the isozymes hexokinase (HEXA), malate dehydrogenase (MDHA) and malic enzyme (ME). Results showed 11 alleles in four loci. Malic enzyme showed a monomorphic locus that has not been previously reported. The individual isozyme analysis did not allowed to differentiate the populations by their degree of africanization; in contrast, by using a multivariate analysis of the frequencies of HEXA and MDHA, it was possible to classify and separate the Africanized and European groups. After 20 years of introducing the Africanized honey bees, it was found that the apiary has been partially colonized. An incomplete colonization may cause a wide variation on the distribution of the allele frequencies between beehives of this population. This is probably a result of a random recombination between African and European germplasm, which originates European beehives with different frequencies of incorporation of the alleles that are present in the Africanized population that was used as control (AFME=500).

Key words: Africanized honey bees, hybridization, isozymes, discriminate between, colonization.

INTRODUCCIÓN

En 1956 se introdujeron a Brasil abejas reinas africanas (*Apis mellifera scutellata*), para mejorar la adaptación a las condiciones tropicales (Kerr, 1967). Un año después, 26 enjambres con las reinas originales se escaparon y se cruzaron con poblaciones de abejas locales, principalmente de la especie europea *Apis mellifera mellifera*, dando lugar a las abejas africanizadas (Nogueira-Neto, 1964) o euroafricanas (Utrera, 1999). Estas abejas híbridas se dispersaron a través del continente Americano y arribaron al sur de México en 1986 (Moffett *et al.*, 1987), y al Valle de México en 1990 (Quezada-Euán, 2007).

Los cambios graduales en la morfología de las colmenas africanas por la hibridación de abejas europeas dificultan la identificación de ambos tipos (Sheppard y Smith, 2000). Para discriminar los diferentes tipos de abejas en las colmenas y evaluar cambios en la composición genética de las colmenas recombinantes, se requiere de métodos de identificación más precisos (Collet *et al.*, 2006) que los actualmente disponibles basados en criterios morfológicos (Guzmán-Novoa *et al.*, 1994). Uno de los métodos que ofrecen mayor precisión clasificatoria es el polimorfismo isoenzimático, que ha sido ampliamente usado en abejas en las últimas dos décadas (Del Lama *et al.*, 1988; Lobo, 1995; Smith y Glenn 1995; Del Lama *et al.*, 2004) y ha sido útil para clasificar genéticamente a las poblaciones. Este método permite estimar el número de loci y alelos por locus, las frecuencias alélicas y el promedio de heterocigosis en poblaciones naturales (Ivanova y Staykova, 2005).

Las isoenzimas son formas diferentes de una enzima producidas por diferentes alelos de un locus, y en algunos casos por diferentes loci o genes (Berlocher, 1984). Estos marcadores genéticos son importantes para estudiar cambios en la variación genética debidos a la introducción de nuevas especies (Ayala y Kiger, 1984) y útiles para estudiar el flujo genético entre poblaciones de diferentes organismos. Las enzimas como marcadores genéticos han sido utilizadas como indicadores de flujo genético y de hibridación entre subespecies africanas y

europeas (Badino *et al.*, 1983; Meixner *et al.*, 1994). En las abejas se encuentran varias enzimas polimórficas (Sheppard y Berlocher, 1989), de las cuales las más usadas para diferenciar abejas africanas de europeas han sido malato deshidrogenasa (MDH) propuesta por Contel *et al.* (1977) y Nunamaker y Wilson (1981). Con el mismo objetivo, hexoquinasa (HK) fue propuesta por Spivak (1988). Con base en alcohol deshidrogenasa (ADH) se encontraron diferencias en las frecuencias alélicas de abejas africanas y progenies de *Apis mellifera ligustica* (Martins *et al.*, 1977), y variaciones pequeñas en las frecuencias alélicas entre poblaciones de Brasil y Uruguay (Lobo *et al.*, 1989).

En el altiplano de México, el primer informe de enjambres africanizados ocurrió en 1990 (Quezada-Euán, 2007). La utilidad de la abeja africanizada en la producción de miel se ha estudiado en Villa Guerrero, Estado de México (Uribe *et al.*, 2003), así como por su tolerancia a *Varroa destructor* (Arechavaleta y Guzmán-Novoa, 2001).

Para estudiar el efecto de la incorporación de abejas africanas en poblaciones del Valle de México, en el Colegio de Postgraduados en Montecillo, municipio de Texcoco, Estado de México, se cruzaron abejas africanas con europeas de alta producción, se seleccionaron las progenies (Cervantes y Cruz, 1997) y se creó una población de colmenas híbridas que se designaron como euroafricanas (Utrera y Cervantes, 1999). Esta población se ha mantenido en producción al menos por veinte años, y ha sufrido cambios morfológicos, y mostrado diferencias en comportamiento y tolerancia a *V. destructor*, aunque la estructura genética de la población se desconoce.

Con base en los antecedentes descritos se realizó la presente investigación para evaluar el grado de hibridación y de variación genética, en una población de colmenas en proceso de africanización localizada en el Colegio de Postgraduados (CP), para tal fin se usaron las isoenzimas malato deshidrogenasa (MDHA), hexoquinasa (HK) y la enzima málica (ME), bajo la hipótesis de que en esta población el grado de africanización es alto.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Material genético

La población en estudio se integró con colmenas de abejas euroafricanas obtenidas de la cruce de abejas africanas semidomesticadas con abejas europeas mejoradas. El proceso de obtención de la población ha sido descrito por Utrera *et al.* (2011). Se estudiaron 41 colmenas de un apiario de 100 establecidas en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados.

Las abejas africanas progenitoras semidomesticadas procedieron de una población en proceso de mejoramiento genético establecida en el campus Tabasco del CP, con enjambres de Tabasco, Campeche y Veracruz. Esta población de enjambres fue seleccionada por su alto grado de docilidad, sedentarismo, buen comportamiento al manejo apícola y alta productividad, por el Dr. Tarcicio Cervantes Santana, del Colegio de Postgraduados, mediante la cría artificial de las reinas de colmenas seleccionadas y fecundación natural. La selección se hizo consecutivamente por cuatro años, con una generación por año. La población de abejas europeas, también mejorada por el Dr. Tarcicio Cervantes, se integró recombinando abejas de 10 localidades de México, en la forma siguiente: 1) se introdujeron al apiario reinas europeas fecundadas procedentes de 10 localidades y se obtuvieron reinas hijas; 2) la progenie se apareó naturalmente (primera generación de recombinación); y 3) después de dos generaciones de recombinación, la población se seleccionó por varias generaciones (una por año) para producción alta de miel, mediante la cría artificial de reinas y fecundación natural en Montecillo, Edo. de México. (Utrera, 1998). El cruzamiento de las abejas europeas mejoradas con las africanas semidomesticadas se efectuó en Montecillo, Edo. de Méx., en 1993. De la población de abejas africanas semidomesticadas de Cárdenas, Tab. se tomaron 20 reinas fecundadas que se introdujeron en el apiario de Montecillo, Méx., integrado con colonias de abejas europeas mejoradas. De las 20 reinas africanas semidomesticadas llevadas al apiario de Montecillo procedentes del campus Tabasco, seis reinas de colonias con mejor desarrollo y adaptación fueron seleccionadas, y de ellas se obtuvieron reinas hijas por cría

artificial, que fueron fecundadas naturalmente por zánganos europeos predominantes en la zona referida. Este proceso se ha llevado a cabo desde 1993 hasta la fecha (2011), en el apiario de Montecillo Texcoco, Estado de México (Utrera, 1998).

En la evaluación de la población de colmenas de Montecillo se incluyeron como testigos abejas europeas obreras con alto grado de pureza donadas por el Sr. Manuel Salcido Ramírez de Ciudad Delicias, Chih. y abejas africanas con alto grado de pureza donadas por la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY). A la llegada de las muestras al Laboratorio de Marcadores Genéticos del Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética, las abejas se congelaron a -20°C hasta la obtención del extracto isoenzimático.

2. Preparación de muestras y obtención de extractos

Se tomó una muestra de 30 abejas de cada una de las colmenas seleccionadas, se depositaron en recipientes de plástico de 150 ml, y se conservaron en un congelador a -20°C . El extracto isoenzimático de las abejas se obtuvo de individuos descongelados, de los que se utilizó el tórax (sin alas), que se colocó en tubos Eppendorf®, de 0.5 ml con 100 μl de agua destilada. La muestra inmersa en la solución se maceró con un taladro eléctrico con broca de plástico y se centrifugó a 14 000 rpm a 4°C por 20 min; al final del centrifugado se agregaron 50 μl de agua destilada. El sobrenadante fue decantado y almacenado a -60°C hasta su análisis electroforético.

3. Análisis isoenzimáticos

La preparación del gel, la electroforesis y el revelado de enzimas fueron realizados con base en Stuber *et al.* (1988) y con modificaciones hechas en el Laboratorio de Marcadores Genéticos del Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética del Campus Montecillo. La principal modificación consistió en ajustar el tiempo de corrimiento de los geles en cada una de las enzimas evaluadas. Las modificaciones realizadas estuvieron relacionadas con el ajuste en la cantidad de

horas para cada uno de los geles usados, ya que en el caso de algunas plantas las proteínas son menos pesadas y el corrimiento del gel es más rápido; por lo tanto, el tiempo que tarda en la cámara de electroforesis es menor. Como solución amortiguadora de extracción se utilizó agua destilada. En cada gel se analizaron tres grupos de nueve individuos, cada grupo correspondió a una colmena. Los testigos Eur-Chih (Europeas de Chihuahua) y Afric-Mérida (Africanas de Mérida) se colocaron al inicio, centro y final de cada gel. Se analizaron las isoenzimas hexoquinasa (HK), malato deshidrogenasa (MDH) y la enzima málica (ME).

4. Interpretación de zimogramas

Los zimogramas se interpretaron con base en la distancia de desplazamiento de las bandas correspondientes a la expresión de los alelos en cada uno de los loci identificados. Cada alelo por locus se identificó con la abreviatura de las primeras letras de la enzima y la distancia de migración, la que se designó a partir del valor arbitrario de 100 correspondiente al alelo de mayor movilidad. No se encontraron alelos en posiciones superiores a 100. La distancia de migración entre alelos se midió en milímetros a partir del inicio del corrimiento en el borde inferior del zimograma y con relación al alelo de referencia. Los patrones de bandeo se visualizaron en una lámpara luminosa de luz blanca (FI5T810 15 watts); las distancias de cada banda se midieron y registraron en papel milimétrico. Los datos se registraron en un formato diseñado *ex profeso* y se capturaron en una hoja de datos.

5. Análisis de datos

Las frecuencias alélicas se calcularon con el programa POPGENE (Yeh y Yang, 1999). Con las frecuencias alélicas del polimorfismo isoenzimático se realizó un análisis de componentes principales, con base en la matriz de varianzas-covarianza, utilizando el programa estadístico SAS (2002), así como un análisis de conglomerados tomando a las distancia genéticas Euclidianas como coeficiente de disimilitud, y Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) como método de agrupamiento, con el paquete estadístico NTSYSpc (Rohlf, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las frecuencias alélicas de las 41 colmenas y las dos poblaciones testigo se presentan en el Cuadro 1. En la enzima hexoquinasa, Del Lama *et al.* (1988) encontraron polimorfismo en poblaciones de abejas africanizadas del sur de Brasil, en los alelos 100 (A) y 87 (B). En contraste, en el presente estudio se encontraron tres alelos, denominados A, B y C, de los que A y C se presentaron con mayor frecuencia, 0.33 a 1 y 0 a 0.667, respectivamente. En el presente estudio el alelo B, identificado por Del Lama, también se encontró en las abejas africanizadas de Mérida (AFRI-ME) en una frecuencia de 0.34, así como en sólo cinco colmenas de la población Montecillo, (0.17 a 0.06) (Cuadro 1). En cuanto al número de alelos para HEXA, los resultados de presente trabajo difieren de Quezada-Eúan (2000), May-Itza *et al.* (2001) y Diniz *et al.* (2003), quienes encontraron dos alelos en abejas africanizadas y coinciden con los de Kandemir *et al.* (2000) e Ivanova y Staykova (2005) quienes en abejas no africanizadas encontraron de tres a cinco alelos. El alelo C que se detectó por primera vez en este estudio, se encontró en todas las colonias; la principal diferencia entre los tipos de colonias es la frecuencia en que se encuentra en los tipos europeos y africanizados. La frecuencia de C en la población de Mérida fue 0.50 y en la población de Chihuahua fue 0.28. En colmenas identificadas morfológicamente como africanizadas las frecuencias oscilaron desde 0.5 hasta 0.67, en tanto que la abejas clasificadas como europeas presentaron frecuencias entre 0 y 0.33 pero menores a 0.5. La presencia del alelo B se considera indicativa del grado de africanización en poblaciones estudiadas por Del Lama *et al.* (1988), situación que no se observa en este estudio, ya que las colmenas sin excepción presentaron frecuencias muy bajas de este alelo (tendientes a 0). En cambio, el alelo más indicativo de africanización en esta población de colmenas sería el C, ya que el grado de africanización sufrido con base en este alelo particular está relacionado con el grado de cambios morfológicos que distinguen a las abejas africanizadas de las europeas.

Por el número de alelos presentes, las abejas de esta población fueron más europeas genéticamente (de dos a cinco alelos), y las diferencias con base en el alelo C se dieron principalmente en la frecuencia en que se presentaba y se ha fijado en la población. De manera similar, la frecuencia del alelo A estuvo positivamente asociado con las abejas europeas, como en la población de Chihuahua que mostró frecuencia de 0.72, y 25 de las 41 presentan una morfología hacia colmenas europeas (61%). Las colmenas analizadas presentaron frecuencias similares o mayores a las de la población de referencia europea-Chihuahua.

Cuadro 1. Frecuencias alélicas en 41 colmenas (COL) y dos poblaciones testigo (Africana-Mérida, Europea-Chihuahua) (AFRI-ME, y EUCH, respectivamente), utilizando tres isoenzimas. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 2011.

COLME	HEXA			MDHA			ME-A	ME-B			
	A	B	C	A	B	C	A	A	B	C	D
1	0.78	0.06	0.17	0.28	0.33	0.39	1.00	0.28	0.28	0.44	0.00
2	0.72	0.06	0.22	0.33	0.33	0.33	1.00	0.67	0.33	0.00	0.00
101	0.61	0.00	0.39	0.33	0.17	0.50	1.00	0.33	0.00	0.11	0.56
137	0.39	0.00	0.61	0.39	0.17	0.44	1.00	0.39	0.17	0.44	0.00
190	0.50	0.00	0.50	0.39	0.11	0.50	1.00	0.44	0.17	0.39	0.00
4	0.50	0.00	0.50	1.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00
7	0.56	0.00	0.44	0.94	0.06	0.00	1.00	0.94	0.00	0.06	0.00
15	0.56	0.00	0.44	0.94	0.06	0.00	1.00	0.94	0.00	0.06	0.00
35	0.61	0.00	0.39	0.89	0.11	0.00	1.00	0.89	0.11	0.00	0.00
100	0.61	0.00	0.39	0.83	0.00	0.17	1.00	0.89	0.00	0.11	0.00
106	0.56	0.00	0.44	0.78	0.11	0.11	1.00	0.89	0.00	0.06	0.06
136	0.67	0.00	0.33	1.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00
90	0.72	0.00	0.28	0.78	0.06	0.17	1.00	0.89	0.00	0.06	0.06
145	0.72	0.00	0.28	0.89	0.06	0.06	1.00	0.83	0.17	0.00	0.00
209	0.78	0.00	0.22	0.94	0.06	0.00	1.00	0.94	0.00	0.06	0.00
6	0.56	0.00	0.44	0.78	0.00	0.22	1.00	0.83	0.00	0.17	0.00
102	0.56	0.00	0.44	0.72	0.00	0.28	1.00	0.78	0.06	0.17	0.00
14	0.50	0.00	0.50	0.78	0.00	0.22	1.00	0.78	0.00	0.22	0.00
30	0.50	0.00	0.50	0.67	0.00	0.33	1.00	0.67	0.00	0.33	0.00
13	0.44	0.00	0.56	0.72	0.17	0.11	1.00	0.72	0.00	0.17	0.11
54	0.33	0.00	0.67	0.72	0.17	0.11	1.00	0.72	0.00	0.28	0.00

...Continúa en la siguiente página

...Continuación

COLME	HEXA			MDHA			ME-A	ME-B			
	A	B	C	A	B	C	A	A	B	C	D
8	1.00	0.00	0.00	0.89	0.11	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00
70	0.83	0.06	0.11	0.89	0.00	0.11	1.00	0.89	0.11	0.00	0.00
111	0.89	0.06	0.06	0.94	0.00	0.06	1.00	0.94	0.00	0.00	0.06
11	1.00	0.00	0.00	0.72	0.11	0.17	1.00	0.78	0.00	0.22	0.00
29	0.89	0.00	0.11	0.89	0.00	0.11	1.00	0.72	0.00	0.28	0.00
51	0.94	0.00	0.06	0.83	0.00	0.17	1.00	0.78	0.22	0.00	0.00
200	0.94	0.00	0.06	0.83	0.00	0.17	1.00	0.83	0.00	0.11	0.06
157	0.89	0.00	0.11	0.72	0.28	0.00	1.00	0.78	0.00	0.22	0.00
211	0.89	0.00	0.11	0.78	0.22	0.00	1.00	0.78	0.00	0.22	0.00
10	0.72	0.00	0.28	0.61	0.17	0.22	1.00	0.83	0.00	0.17	0.00
103	0.78	0.00	0.22	0.72	0.00	0.28	1.00	0.72	0.00	0.28	0.00
186	0.78	0.00	0.22	0.72	0.00	0.28	1.00	0.72	0.06	0.00	0.22
180	0.78	0.00	0.22	0.78	0.22	0.00	1.00	0.83	0.17	0.00	0.00
187	0.78	0.00	0.22	0.78	0.00	0.22	1.00	0.78	0.00	0.00	0.22
122	0.78	0.00	0.22	0.67	0.00	0.33	1.00	0.72	0.00	0.17	0.11
170	0.72	0.17	0.11	0.78	0.06	0.17	1.00	0.78	0.22	0.00	0.00
12	0.72	0.00	0.28	0.61	0.11	0.28	1.00	0.61	0.00	0.39	0.00
39	0.67	0.00	0.33	0.67	0.00	0.33	1.00	0.67	0.33	0.00	0.00
EUCH	0.72	0.00	0.28	0.59	0.24	0.17	1.00	0.60	0.07	0.28	0.05
203	1.00	0.00	0.00	0.67	0.00	0.33	1.00	0.67	0.00	0.06	0.28
206	1.00	0.00	0.00	0.50	0.39	0.11	1.00	0.67	0.33	0.00	0.00
AFME	0.16	0.34	0.50	0.98	0.02	0.00	1.00	0.98	0.00	0.02	0.00

HEXA= hexoquinasa, MDHA= malato deshidrogenasa, ME-A= enzima málica A y ME-B= enzima málica B

Las frecuencias alélicas de las 41 colmenas y los dos testigos se presentan en el Cuadro 1. La enzima malato deshidrogenasa (MDHA) presentó un locus con tres alelos (A, B y C), de la misma manera como lo observaron Sheppard *et al.* (1991), Quezada *et al.* (2000) y May-Itza *et al.* (2001). El alelo A presentó mayores frecuencias que los otros alelos, con valores de 0.28 a 1.0, y las abejas europeas de Chihuahua presentaron menor frecuencia (0.59) de este alelo que las abejas africanizadas de Mérida (0.98). El alelo B presentó frecuencias de 0 a 0.333 en poblaciones de Montecillo, y menor frecuencia en la población africanizada de Mérida (0.02) que la población de abejas europeas de Chihuahua (0.24). El alelo C presentó valores de 0 a 0.50; este alelo estuvo ausente en las abejas

africanizadas (AFME) y en las abejas europeas chihuahua (EUCH) la frecuencia fue (0.17), que se considera un valor relativamente bajo.

Del Lama *et al.* (1990), en poblaciones de América Central y del Sur, encontraron frecuencias mayores a 0.85 en el alelo A, de 0.09 a 0.20 en el alelo B y de 0 a 0.03 en el C, señalando que estas frecuencias son indicadoras de africanización. En esta dirección, nuestros resultados coinciden con los autores mencionados, con relación a la clasificación de las abejas africanizadas basadas en frecuencias génicas. De hecho las colmenas en las que las frecuencias de A tienden a la fijación (0.78 a 1.00) y las de los alelos B y C a la extinción (0.0 a 0.17) pueden ser clasificadas como africanizadas, cambios similares ocurrieron en poblaciones de Honduras (A=0.75; B=0.09; C=0.16). Los resultados parecen indicar que el alelo C tiende a desaparecer paulatinamente a medida que la africanización avanza, y concuerdan con lo obtenido en poblaciones de Costa Rica y Honduras, en las cuales el proceso de africanización no estaba concluido y existía un flujo de genes europeos y africanos en ambas direcciones.

Las colmenas del apiario de Montecillo mostraron desviaciones en las frecuencias génicas de los alelos A, B y C, respecto a las correspondientes a las abejas con mayor africanización provenientes de Mérida. En estas colmenas se encontraron diferentes relaciones entre los tres alelos, tanto en morfotipos africanos como en europeos. En este estudio no fue posible encontrar alelos exclusivos en una u otra clase de abejas.

El fenómeno ocurrido en las colmenas de Montecillo podría ser explicado por la colonización incompleta ocurrida hasta el momento, y al hecho que los enjambres africanizados, durante su migración del sitio de apareamiento original en Brasil hasta México han incorporado genes de diferentes subespecies de abejas europeas que fueron encontradas en su ruta hacia Norteamérica. Este proceso continúa en los apiarios de Montecillo, debido posiblemente al intercambio de genes europeos de apiarios circundantes, cuya composición genética se ha

procurado mantener como europea por la incorporación sistemática de abejas reinas de estas especies. Este fenómeno es similar a lo que encontró Lobo (1995) en tres regiones de Costa Rica.

En la enzima málica se encontraron dos loci (ME-A y ME-B). El locus A resultó monomórfico. En el locus B se encontraron cuatro alelos (designados como A, B, C, y D). En este locus, los alelos A y C presentaron las mayores frecuencias; el alelo B, frecuencias intermedias entre A, C y D. Las menores frecuencias fueron en D, siendo este alelo la primera vez que se encuentra. El alelo A en colmenas de Montecillo presentó frecuencias de 0.28 a 1.0, las abejas africanizadas testigo (AFME) tuvieron frecuencias de 0.98, y las europeas testigo (EUCH), de 0.60. C fue otro alelo frecuente. Las colmenas de Montecillo presentaron frecuencias del alelo A de 0 a 0.44; en contraste las abejas AFME (Africanas) presentaron frecuencias muy bajas (0.02), prácticamente cercanas a cero, mientras que las abejas europeas testigo EUCH presentaron frecuencias más altas (0.28), el alelo B tuvo frecuencia baja. Las frecuencias en las poblaciones de Montecillo alcanzaron valores entre 0 y 0.33; en las abejas AFME y EUCH la frecuencia fue muy baja, en la primera no se presentó y en la segunda fue 0.07. El alelo D es raro y no había sido encontrado en trabajos previos; (Badino *et al.*, 1983; Sheppard y Berlocher 1984, 1985); este alelo en las abejas testigo EUCH (600) presentó una frecuencia muy baja (0.05) y en las abejas africanizadas de Mérida no se presentó. En las colmenas de Montecillo se encontraron frecuencias de 0 a 0.56, y sólo se presentó en 24.3% de las colmenas estudiadas.

El alelo D, con frecuencias bajas, fue más común en abejas clasificadas como europeas en Montecillo (0.0 a 0.56) que en las abejas africanizadas de la misma localidad (0.0 a 0.06). Las frecuencias observadas en Montecillo pudieran explicarse por la pérdida del alelo a medida que las colmenas europeas fijaron el germoplasma africano. La posible explicación a este fenómeno podría hallarse en las fuentes de germoplasma que se han incorporado en las colmenas de Montecillo; por un lado, en los antecedentes genéticos de la población de abejas

africanizadas empleadas originalmente, la que muy probablemente acarrearón genes de diferentes especies europeas durante su recorrido hasta México pudo contener este gene; alternativamente, el flujo de germoplasma europeo proveniente de los apiarios vecinos y de abejas reinas traídas para el mantenimiento del apiario en Montecillo.

El alelo C es un alelo característico de abejas europeas ya que su frecuencia en colmenas clasificadas como tales fue cercana o mayor al promedio general (0.13) en los grupos con características alélicas de tipo europeo (I, II, IV, y V); en contraste con los grupos identificados como africanizados cuyas frecuencias estuvieron cercanas a la extinción (III y VI) (Cuadro 2).

El alelo B se encontró en 26 % de las colmenas estudiadas y fue más frecuente en colmenas clasificadas como europeas. En general, las colmenas africanizadas e intermedias tienden a presentar en su mayoría frecuencias cercanas a 0, y sólo 3 de 16 colmenas (35, 145 y 102) de ambos grupos presentaron frecuencias entre 0.06 y 0.17. En contraste, los grupos I, II y VI, que tienen mayor influencia europea, presentaron frecuencias en promedio de 0.31, 0.11 y 0.17, respectivamente. Por su parte, el grupo V, que se considera mayormente europeo, presenta frecuencias bajas (0.06), y se observa en las colmenas 70, 51, 180, 170 y 39, cuyas frecuencias fueron de las mayores en las colmenas muestreadas (Cuadro 1).

La frecuencia del alelo A fue mayor en abejas clasificadas como europeas, cuyos promedios oscilaron de 0.39 a 0.67 y fueron cercanos a la población testigo (europeas de Chihuahua 600, 0.60). En el caso de las abejas clasificadas como africanizadas el promedio fue de 0.92 (Grupo III), que además fue cercano a la frecuencia de las abejas africanizadas procedentes de Mérida (500) (Cuadro 2). Con base en las frecuencias de los alelos A y C del locus B de la enzima málica es posible diferenciar a las colmenas africanizadas de las mayormente europeas y

evaluar el avance del proceso de africanización con base en las frecuencias de estos alelos.

El alelo A en abejas africanizadas se presentó en frecuencias superiores a 0.90, y en abejas europeas, en frecuencias de 0.70 o menores. Los resultados obtenidos con la enzima málica (ME) en el grado de polimorfismo de la enzima difieren de los de Badino *et al.* (1983) y coinciden con Sheppard y Berlocher (1984, 1985) en este aspecto, aunque difieren de los de estos autores en el número de loci y alelos identificados.

En el Cuadro 2 se muestran los promedios por grupo en cada una de las isoenzimas y sus respectivos alelos, así como de las poblaciones testigo (africanizadas de Mérida 500, y europeas de Chihuahua 600). Las colmenas de Montecillo forman seis grupos, de estos grupos el V se considera integrado por colmenas europeas por su similitud con el testigo europeo (600), que también formó este grupo. La colmena africanizada testigo 500 (AFME) formó el grupo VII. Estos grupos se pueden ubicar en el plano de dispersión de las poblaciones formado por los componentes principales 1 y 2 (Figura 2).

El promedio general de las frecuencias alélicas muestra que las colmenas de Montecillo están más cercanas genéticamente a las poblaciones de origen europeo (600), que a las de origen africano (Pob. 500) dado que en la enzima hexoquinasa las frecuencias del alelo A son casi iguales a las del testigo 600. En el caso de malato deshidrogenasa las frecuencias difieren de las del testigo africanizado de Mérida. Las frecuencias en el alelo A de MDHA disminuyen a medida que el proceso de africanización es revertido, por lo que estos alelos son substituidos por B y C, como consecuencia de la entrada de genes europeos, esto fue descrito por Del Lama *et al.* (1990).

Cuadro 2. Promedios de alelos isoenzimáticos por grupos y frecuencias de las poblaciones 500 (africanizada de Mérida) y 600 (europeas de Chihuahua). Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.

Grupos	HEXA			MDHA			ME-A	ME-B			
	A	B	C	A	B	C	A	A	B	C	D
I	0.75	0.06	0.19	0.31	0.33	0.36	1.00	0.47	0.31	0.22	0.00
II	0.50	0.00	0.50	0.37	0.15	0.48	1.00	0.39	0.11	0.31	0.19
III	0.63	0.00	0.37	0.90	0.05	0.05	1.00	0.92	0.03	0.04	0.01
IV	0.48	0.00	0.52	0.73	0.06	0.21	1.00	0.75	0.01	0.22	0.02
V	0.83	0.02	0.15	0.77	0.07	0.16	1.00	0.79	0.06	0.11	0.04
VI	1.00	0.00	0.00	0.58	0.19	0.22	1.00	0.67	0.17	0.03	0.14
PG	0.71	0.01	0.28	0.73	0.09	0.18	1.00	0.76	0.07	0.13	0.04
Test-600	0.72	0.00	0.28	0.59	0.24	0.17	1.00	0.60	0.07	0.28	0.05
Test-500	0.16	0.34	0.50	0.98	0.02	0.00	1.00	0.98	0.00	0.02	0.00

HEXA= hexoquinasa, MDHA= malato deshidrogenasa, ME-A= enzima málica locus A y ME-B= enzima málica locus B; PG= promedio general.

Los análisis de componentes principales (CP) con base en las frecuencias alélicas de 11 alelos en tres isoenzimas mostraron que 84.7 % de la variación total fue explicada con los primeros tres componentes principales. El CP1 explicó 43.2% de la variabilidad total, en el que MDH2A y MEB4A fueron las de mayor contribución; el CP2 explicó 33.1% y en este componente HEXA1A y HEXA1C fueron las de mayor importancia; el CP3 contribuyó con 8.5% de la variación total y MDHA2B fue el alelo de mayor importancia (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valores y vectores propios del análisis de componentes principales (CP) de 41 poblaciones de abejas, una población africanizada (número 500) y una población europea (número 600) con base en tres isoenzimas y 11 alelos. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.

Isoenzima	CP1	CP2	CP3
HEXA1A	0.150	0.698	0.103
HEXA1B	0.023	-0.047	-0.083
HEXA1C	-0.173	-0.650	-0.020
MDHA2A	0.578	-0.174	0.151
MDHA2B	-0.160	0.119	-0.556
MDHA2C	-0.418	0.055	0.405
MEA3A	0.000	0.000	0.000
MEB4A	0.538	-0.130	-0.061
MEB4B	-0.128	0.128	-0.460
MEB4C	-0.314	-0.061	0.001
MEB4D	-0.096	0.063	0.520
Valor propio	0.091	0.070	0.018
Variación explicada (%)	43.2	33.1	8.50
Variación acumulada (%)	43.2	76.3	84.8

En el espacio de variación definido por los componentes 1 y 2 (Figura 1), las 41 colmenas estudiadas y los dos testigos (abejas africanizadas 500 y europeas 600) se pueden distinguir siete grupos que resultan del análisis de conglomerados (Figura 2).

En el cuadrante IV (Figura 1) se encuentra el grupo I que está formado por las colmenas 1 y 2, con frecuencias altas de HEXA1A (0.75) (Cuadro 4) y bajas en MDHA2A (0.31), estas colmenas fueron clasificadas como europeas. Estos resultados concuerdan con De Lama *et al.* (1990) en que las frecuencias altas de este alelo corresponden a poblaciones de origen europeo, y frecuencias menores a 0.5 en poblaciones derivadas de *Apis mellifera scutellata* (Abejas africanizadas).

El grupo II se ubicó en los cuadrantes III y IV. Este grupo se integró con tres colmenas (101, 190 y 137), cuyas frecuencias en las isoenzimas (Cuadro 4) MDHA2A y HEXA1A, 0.37 y 0.50, respectivamente, las ubican como colmenas europeas, aunque la proporción de HEXA1A es menor, por lo que este grupo se separa del grupo I al que está muy cercano. El grupo III, ubicado entre los cuadrantes I y II, se integró con las colmenas 4, 7, 15, 35, 100, 106, 136, 90, 145 y 209; sus promedios en las isoenzimas MDHA2A y HEXA1A fueron 0.90 y 0.628, respectivamente (Cuadro 4). Estas colmenas fueron clasificadas como africanizadas por sus frecuencias, que resultaron similares a las encontradas en poblaciones de abejas africanas en Kenia por Ndiritu *et al.* (1986). En Yucatán, México, Quezada-Euán (2000) encontró frecuencias similares en enjambres silvestres clasificados como africanizados. El grupo IV, ubicado en el cuadrante III, se conformó con 6 colmenas (6, 102, 14, 30, 13 y 54) y sus frecuencias en ambas isoenzimas fueron 0.731 y 0.481, respectivamente, (Cuadro 4). Estas colmenas tuvieron frecuencias intermedias entre las africanizadas y las abejas europeas, en forma similar a Del Lama *et al.* (1990) en poblaciones africanizadas del Sur de Brasil. El grupo V (Figura 1) quedó ubicado entre los cuadrantes I y IV y se integró con 18 colmenas, cuyos promedios en las isoenzimas MDHA2A y HEXA1A fueron 0.769 y 0.833; en este grupo se ubica el testigo europeo de Chihuahua (600) con frecuencias de 0.586 y 0.724 en MDHA2A y HEXA1A, respectivamente. El promedio de este grupo en la enzima hexoquinasa resultó cercano a la unidad y también fueron clasificadas como cercanas a las europeas por el valor de sus frecuencias.

El grupo VI se integró con dos colmenas (203 y 206) y se ubicó en el cuadrante IV (Figura 1), cuyas frecuencias fueron 1.00 en HEXA1A y 0.583 en MDHA2A respectivamente. Este grupo se clasificó como cercano genéticamente a las abejas europeas, porque las abejas que no presentan polimorfismo en la enzima hexoquinasa son europeas, aunque la frecuencia de la isoenzimas MDHA2A no es tan baja como el de las poblaciones de abejas europeas de mayor pureza.

La población testigo de Mérida (AFME, número 500) con frecuencias de 0.984 y 0.161, en los alelos HEXA1A y MDHA2A, respectivamente, se ubicó como un grupo en el cuadrante II. Esta población se considera la más africanizada de la poblaciones analizadas; estos resultados concuerdan con los de Nunamaker y Wilson (1981), quienes encontraron en poblaciones africanizadas una frecuencia cercana a la unidad en MDHA2A, y con los de Ndiritu *et al.* (1986), quienes en poblaciones de Kenia encontraron en *Apis mellifera scutellata* frecuencias de 0.90 a 0.98 en MDHA2A.

Cuadro 4. Promedios de grupos formados con base en el análisis de componentes principales y de conglomerados en 41 poblaciones del Colegio de Postgraduados y los testigos de Mérida (500) y Chihuahua (600). Montecillo, Texcoco, Estado de México. 2010.

GRUPOS	MDHA2A	HEXA1A
I	0.306	0.750
II	0.370	0.500
III	0.900	0.628
IV	0.731	0.481
V	0.769	0.833
VI	0.583	1.000
600	0.586	0.724
500	0.984	0.161

Veinte años después del primer reporte del arribo de las abejas africanizadas al Valle de México (Quezada-Euán, 2007), y 18 años después que el Dr. Cervantes introdujera las primeras abejas reinas africanizadas mejoradas del Campus Tabasco a los apiarios de Montecillo (Utrera, 1998), las colmenas estudiadas de los apiarios del Colegio de Postgraduados muestran diversidad genética con base en las frecuencias alélicas derivadas del análisis isoenzimático. Entre las causas de esta diversidad se puede considerar que el proceso de africanización no ha concluido, en concordancia con lo observado en el análisis morfométrico, y que el

flujo genético de abejas europeas es continuo por la introducción de reinas en apiarios cercanos.

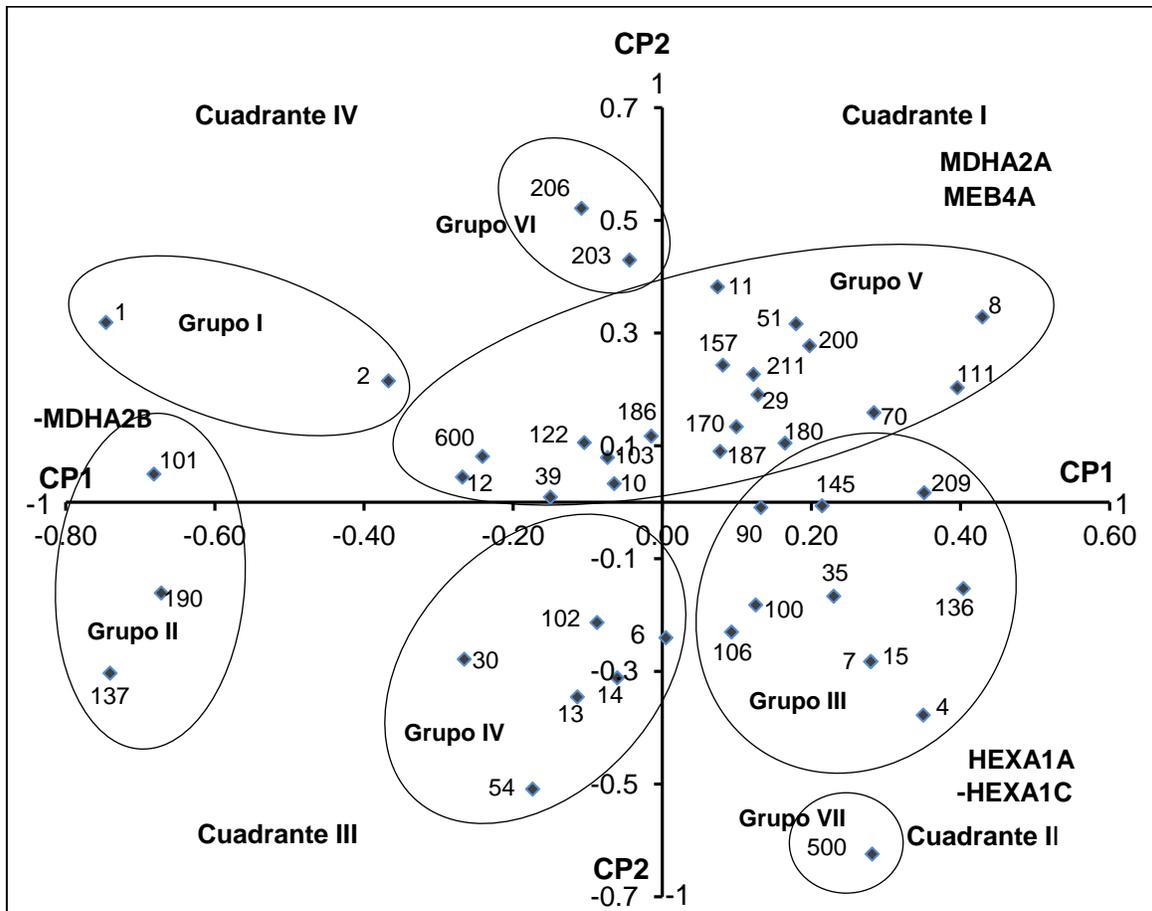


Figura 1. Dispersión en el plano de los componentes 1 y 2, con base a polimorfismo de isoenzimas (11 alelos en cuatro loci) de 41 colmenas provenientes del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México, y dos poblaciones testigos europeas de Chihuahua (número 600) y africanizadas provenientes de Mérida (número 500).

El análisis de conglomerados (Figura 2) a la distancia de 0.15 mostró siete grupos independientes, estos grupos coinciden con la distribución de colmenas en el plano de los componentes principales de la Figura 1, como consecuencia de su contribución a la variación total.

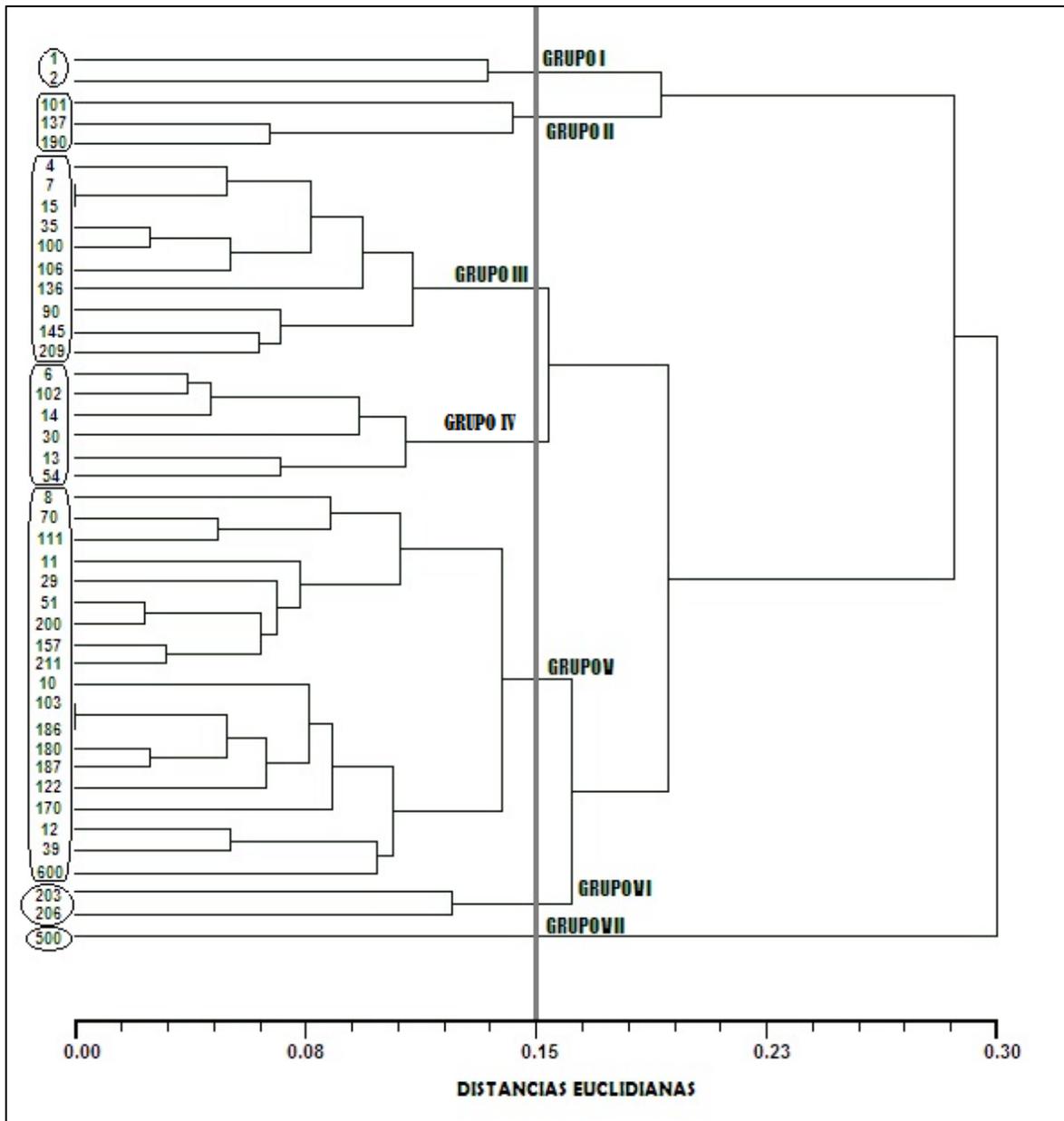


Figura 2. Dendrograma de 41 poblaciones del Colegio de Postgraduados y dos poblaciones testigo (Europeas de Chihuahua, número 600 y Africanas de Mérida número 500), con base en distancias euclidianas estimadas a partir de las frecuencias. Método UPGMA. Montecillo, Texcoco, Estado de México 2011.

CONCLUSIONES

El análisis de las isoenzimas malato deshidrogenasa, hexoquinasa y enzima málica mostró once alelos. La variación de estos loci y sus alelos en las colmenas estudiadas permitió integrar las 41 colmenas en este estudio en seis grupos con base en sus frecuencias. La diversidad genética observada en las colmenas del apiario del Colegio de Postgraduados es amplia. El análisis individual de isoenzimas no permitió diferenciar a las poblaciones de abejas con diferente grado de africanización, en contraste con el análisis multivariado.

La población de abejas del Colegio de Postgraduados después de 20 años de la llegada de las abejas africanizadas ha sido parcialmente colonizada, lo que ocasiona un mosaico de frecuencias de fenotipos europeos y africanos. La influencia del germoplasma africanizado en este apiario podría tener relación con la presencia baja del ácaro *Varroa* y enfermedades asociadas. La capacidad productiva del apiario aparentemente no ha sido afectada por la presencia de genes de abejas africanizadas.

LITERATURA CITADA

- Arechavaleta-Velasco M E, E Guzmán-Novoa (2001)** Relative effect of four characteristics that restrain the population growth of the mite *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie* 32: 157-174.
- Ayala F J, J A Kiger Jr. (1984)** *Genética Moderna*. Versión en español de Ernesto Bautista y Ernesto Pachon. Edit. Fondo Educativo Interamericano. Ediciones Omega, S A., Barcelona 1984. 836 p.
- Badino G, G Celebrano, M Aulo (1983)** Population structure and Mdh-1 locus variation in *Apis mellifera ligustica*. *The Journal of Hered.* 74: 443-446.
- Berlocher S H (1984)** Insect molecular systematics. *Annu. Rev. Entomol.* 29:403-433.
- Contel E P B, M A Mestrine, E Martins (1977)** Genetic control and developmental expression of malate dehydrogenase in *Apis mellifera*. *Biochem. Genet.* 15: 859-876.
- Cervantes S T, A M Cruz P (1997)** Avances en la domesticación y el mejoramiento de abejas africanas. *Memorias XI Seminario Americano de Apicultura*. Acapulco Guerrero Méx. pp.34-36 Sept. 1997
- Clarke K E, T E Rinderer, P Franck, J G Quezada-Euán, B P Oldroyd (2002)** The africanization of honeybees (*Apis mellifera* L.) of the Yucatan: a study of a massive hybridization event across time. *Evol.* 1462-1464.
- Collet T, K M Ferreira, M C Arias, A E Egea S, M A Del Lama (2006)** Genetic structure of Africanized honeybee populations (*Apis mellifera* L.) from Brazil and Uruguay viewed through mitochondrial DNA COI-COII patterns. *Hered* 97: 329-335.
- Del Lama M A, R A Figueredo, A E Egea S, S N Del Lama (1988)** Hexokinase polymorphism in *Apis mellifera* and its use for Africanized honey bee identification. *Rev. Brazil Genet.* 11(2): 287-297.
- Del Lama M A, J A Lobo, A E Egea S, S N Del Lama (1990)** Genetic differentiation estimated of Africanized honeybee populations from Brazil and from Central America. *Apidologie* 21: 271-280.

- Del Lama M A, R Oliveira S, X A Araneda D, A E Egea S (2004)** Clinal variation and selection on MDH allozymes in honeybees in Chile. *Hereditas* 140: 149-153.
- Diniz N M, A S Egea S, W S Sheppard, M A Del Lama (2003)** Genetic structure of honey bee populations from southern Brazil and Uruguay. *Genet. and Mol. Bio.* 26(1): 47-52.
- Guzmán-Novoa E, E Robert, R E Page Jr, K Fondrk (1994)** Morphometric techniques do not detect intermediate and low levels of Africanization in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87 (5): 507-515.
- Ivanova E, T Staykova (2005)** Genetic Variability in different colonies from *Apis mellifera* L. populations. Second Balkan conference on Biology. 21-23 of may. *Biotechnol. and Biotechnol.* 379-384
- Kerr W E (1967)** The history of the introduction of African bees to Brazil. *S. Afr. Bee J.* 39: 3-5.
- Kandemir I, M Kence, A Kence (2000)** Genetic and morphometric variation in honeybee *Apis mellifera* L. populations of Turkey. *Apidologie* 31: 343-356.
- Lobo A J, M A Del Lama, M A Mestriner (1989)** Population differentiation and racial admixture in the Africanized honeybee (*Apis Mellifera* L.). *Evol.* 43 (4): 794-802.
- Lobo A J (1995)** Morphometric, isozymic and mitochondrial variability of Africanized honeybees in Costa Rica. *Hered.* 75: 133-141.
- Martins E, M A Mestriner, E P B Contel (1977)** Alcohol dehydrogenase polymorphism in *Apis mellifera*. *Biochem. Geneti.* 15; 357-366
- Moffett J O, D L Maki, T Andre, M Fierro M (1987)** The Africanized bee in Chiapas, México. *Am. Bee J.* 127: 517 520.
- Meixner M D, W S Sheppard, A Dietz, R Krell (1994)** Morphological and allozyme variability in honey bees from Kenya. *Apidologie* 25: 188-202

- May-Itza W de J, J J G Quezada-Euan, L Luit, C Echazarreta G (2001)** Do morphometrics and allozymes reliably distinguish Africanized and European *Apis mellifera* drones in subtropical Mexico?. *J. Apic Res.* 40 (1): 17-23.
- Nunamaker R A, W T Wilson (1981)** Comparison of MDH allozyme patterns in the African honey bee (*Apis mellifera adansoni* L.) and the Africanized populations of Brazil. *J. Kans Entomol. Soc.* 54 (4): 704-710.
- Nogueira-Neto P (1964)** The spread of a fierce African bee in Brazil. *Bee World* 45(3): 119-121
- Ndiritu D W, N Mutugi, S Ndung’U (1985)** Variation in malate dehydrogenase allozymes among honeybee population in Kenya. *J. Apic. Res.* 25(4): 234-237.
- Quezada-Euán J J G (2000)** Hybridization between European and Africanized honeybees in tropical Yucatan, Mexico. II. Morphometric, allozymic and mitochondrial DNA variability in feral colonies. *Apidologie* 31: 443-453.
- Quezada-Euán J J G (2007)** A retrospective history of the expansion of Africanized honeybees in México. *J. Apic. Res.* 46: 295-300.
- Rohlf J F (1998)** NTSYSpc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system (Ver. 2.1). Stony Brook, N.Y. USA.
- Statistical Analysis System (SAS) Inc. (2002)** User’s Guide: Statistics, Statistical Version 6. Cary, North Carolina USA 956 pp.
- Spivak M, T Ranker, O R Taylor Jr., W Taylor, L Davis (1988)** Discrimination of Africanized honeybees using behavior, cell size, morphometrics, and a newly discovered isozyme polymorphism. In: Needham GR, Page RE Jr, Delfinado-Baker Mand Bowman CE (eds) Africanized honey bees and bee mites. Ellis Horwood, Chichester, pp 313-324
- Stuber C W, J F Wendel, M M Goodman, J S C Smith (1988)** Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.). Technical Bulletin 286. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, 87 p.
- Sheppard W S, S H Berlocher (1984)** Enzyme polymorphism in *Apis mellifera* from Norway. *J. Apic. Res.* 23 (2): 64-69.

- Sheppard W S, S H Berlocher (1985)** New allozyme variability in Italian honey bees. *The J. Hered.* 76: 45-48.
- Sheppard W S, S H Berlocher (1989)** Allozyme variation and differentiation among four *Apis* species. *Apidologie* 20:419-431.
- Sheppard W S, A E Egea S, D De Jong, H Shimanuki (1991)** Hybrid status of honey bee populations near the historic origin of africanization in Brazil. *Apidologie* 22:643-652.
- Smith D R, T C Glenn (1995)** Allozyme polymorphisms in Spanish honeybees (*Apis mellifera iberica*). *J. Hered.* 86: 12-16
- Sheppard W S, D R Smith (2000)** identification of African-derived bees in the Americas: A survey of Methods. *Ann. Entomo. Soc. Ame.* 93(2): 159-176.
- Utrera Q F, T Cervantes S (1999)** Heredabilidad de la tolerancia a *Varroa jacobsoni* O. de una población de abejas Euroafricanas. *Memorias del 6^o Congreso internacional de actualización apícola.* Celaya Mex. pp. 29-32.
- Uribe R J L, E Guzmán-Novoa, G J Hunt, A Correa B, J A Zozaya R (2003)** Efecto de la africanización sobre la producción de miel, comportamiento defensivo y tamaño de las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) en el Altiplano Mexicano. *Rev. Vet. Méx.* 34 (1): 47-59.
- Yeh C F, R C Yang (1999)** Population Genetic Analysis (POPGENE Ver. 1.3.1): Quick user guide. University of Alberta, Edmonton Canada. 29 p.

CAPÍTULO IV

DISCUSIÓN GENERAL

1. La introducción de la abeja europea a México

La introducción de abejas melíferas no fue hecha de manera directa a México. Se introdujo inicialmente sin éxito productivo en Florida, a fines del siglo XVII, cuando aún era posesión española. En 1760 unos enjambres fueron llevados a Cuba, donde la dispersión fue rápida y exitosa. Es probable que en ese momento la abeja europea (*Apis mellifera mellifera*) se haya introducido de Cuba a la Nueva España en los estados de Veracruz y Tabasco. Aunque la fecha exacta de dicha introducción no se tiene documentada con precisión, algunas evidencias indirectas sugieren que ocurrió entre 1760 y 1770, en la región central de México (Labougle y Zozaya, 1986).

La abeja europea *Apis mellifera ligustica* (conocida como abeja italiana), traída a México después de 1911, es la más difundida a nivel mundial por su docilidad, baja enjambrazón y alta productividad. Después de la introducción de la abeja italiana se dio un importante desarrollo tecnológico apícola con la implementación de los marcos (bastidores) móviles, que se difundieron a nivel mundial después de 1920. A partir de este año México destaca como país productor de miel en el mercado internacional. (Labougle y Zozaya, 1986).

2. Abejas africanizadas en México

Las abejas africanas (*Apis mellifera scutellata*) fueron traídas al Continente Americano en 1956, como parte de un programa de mejoramiento genético emprendido por la Universidad de Sao Paulo en Brasil, con el objetivo de desarrollar abejas más productivas y mejor adaptadas a condiciones tropicales que las abejas europeas (mayormente *Apis mellifera mellifera*) (Kerr, 1967). Como consecuencia de este programa, colonias de abejas africanas se escaparon y

establecieron de manera silvestre y se cruzaron con las abejas europeas locales, dando lugar a las abejas africanizadas. Este tipo de abejas emigró y se distribuyó por Sudamérica y Centroamérica. En México los primeros enjambres africanizados fueron detectados en el estado de Chiapas en 1986 (Moffett *et al.*, 1987). Las abejas africanizadas continuaron su dispersión por el país, y los primeros enjambres de abejas africanizadas se localizaron en el estado de México en 1990 (Quezada-Euán, 2007). Entre las características indeseables de las abejas africanizadas están su fuerte comportamiento defensivo, migratorio, y la tendencia a abandonar las colmenas (evasión) (Guzmán-Novoa y Page, 1994).

3. Origen de las abejas africanizadas de Montecillo (Valle de México)

En el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México, el Dr. Tarcicio Cervantes Santana inició un programa de mejoramiento genético con abejas europeas en 1976, con el objetivo de seleccionar abejas con buena postura mayor producción de miel y tolerantes a las enfermedades más comunes, como la cría de cal, loque americana, loque europea y acariosis traqueal.

Después de la llegada de la abeja africanizada a México se inició un programa de mejoramiento genético con base en la recolección de enjambres africanizados en los municipios de las Choapas en Ver., y Balancán, Cárdenas y Huimanguillo, en Tabasco. Se recolectaron 177 enjambres africanizados de diciembre de 1987 a enero de 1989, que se introdujeron en cajas “jumbo” para la formación de colmenas. Los apiarios se establecieron en la estación experimental del CEICADES del Colegio de Postgraduados en Cárdenas, Tab., (Palos 1989). En esta población se aplicó selección recurrente hacia menor agresividad, sedentarismo, cantidad y productividad de miel por cinco generaciones. De las mejores colonias de abejas africanizadas semidomesticadas en los apiarios del CEICADES, se llevaron a Montecillo Texcoco Estado de México, 20 abejas reinas en el año de 1993. Estas abejas presentaron características de poco agujoneo, mayor cantidad de ovipostura y rendimiento de alto miel. De las seis mejores seleccionadas se criaron abejas reinas vírgenes que se aparearon libremente,

muy probablemente con zánganos europeos prevalentes en el área, los cuales provenían de una población que tenía 20 años de mejoramiento genético para producción de miel y tolerancia a las enfermedades más comunes. A partir de ese momento y hasta la fecha, cada año se seleccionan las mejores colmenas ya con germoplasma africanizado que se emplearon como progenitoras de la siguiente generación.

4. Variación morfológica e isoenzimática

En este estudio se analizaron las características morfológicas e isoenzimáticas de una muestra de 37 colmenas (37%) y 41 colmenas (41 % del apiario) (en ambos casos fueron las mismas colmenas) respectivamente, para evaluar el grado de africanización alcanzado en esta población, en las condiciones ambientales imperantes en el Valle de México. Este trabajo se realizó en el Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas ubicado en Montecillo Municipio de Texcoco, Edo. de México, a una latitud de 19°29' N, longitud 98°54' W y altitud de 2,250 msnm, cuyo clima se considera templado semiseco, con una temperatura media anual de 15.9 °C y una precipitación media anual de 686 mm. (Google mapas México, 2011).

Los resultados obtenidos a partir del análisis morfológico de 37 colmenas con 23 caracteres, permitieron su clasificación, con base en los parámetros propuestos por Rinderer *et al.* (1993) en cuatro grupos, como consecuencia de la variación de los caracteres morfológicos en las colmenas estudiadas. El grupo con mayor influencia de la africanización integró al mayor porcentaje de colmenas (48.92 %) en relación con el grupo con mayor influencia del tipo europeo (24.32 %); sin embargo, cuando se consideran los grupos intermedios europeo-africanizado y africanizado-europeo, el porcentaje de abejas con influencia africana constituye dos terceras partes de la población (67.57 %) y las europeas sólo 32.43%. Estos resultados concuerdan con los obtenidos con el análisis de componentes principales, en el que se eliminaron los ángulos entre las venaciones de las alas del análisis; es decir, con 14 caracteres de longitud y el número de hámulos. Los

resultados de ambos tipos de análisis permiten concluir que para estudiar la diferenciación entre tipos de abejas con base en la morfología, los ángulos pueden descartarse del análisis como en el estudio de Quezada Euán y Medina (1998). Esta eliminación se basa en que el aporte de estas características a la variabilidad total es pequeño; además de que la medición de estos ángulos es laboriosa, costosa y consumidora de tiempo, y la técnica de medición incrementa la posibilidad de cometer errores. En este estudio el análisis de componentes principales clasificó a las colmenas analizadas de manera que hubo una coincidencia parcial con el análisis propuesto por Rinderer *et al.* (1993). Sin embargo, el método usado aporta elementos que el de Rinderer no lo hace, en el sentido de que define con más precisión los subgrupos en que se dividen las poblaciones de abejas.

5. Grado de africanización

Los resultados del análisis morfométrico, 20 años después de la introducción de las abejas africanizadas al Valle de México, muestran que la incorporación de genes provenientes de abejas africanizadas en apiarios de abejas europeas ha generado variación en los atributos morfológicos de las abejas. Además, dado el grado de segregación diferencial alcanzado en las colmenas o subpoblaciones de abejas, se observan individuos con morfología que integra diferentes estructuras anatómicas de las abejas en las colmenas, distintivos de africanizados u europeos (Quezada-Euán, 1998), aspecto que coincide con los de las frecuencias génicas observadas con el estudio isoenzimático. El mayor porcentaje de colmenas africanizadas en este estudio puede tener su origen en la selección artificial que se aplica en cada ciclo de producción en el apiario de Montecillo, ya que se seleccionan colmenas con mayor producción de miel, y tolerancia a enfermedades y a parásitos como *Varroa destructor*, además del posible arrastre de genes de diferentes subespecies como el postulado por Quezada-Euán (2007) fenómeno que facilita la acumulación de características morfológicas y conductuales de abejas africanas y, por lo tanto, de genes africanizados.

El constante arribo de abejas reinas europeas al área objeto de este estudio pudo haber contribuido a que las abejas europeas no hayan sido desplazadas en su totalidad, fenómeno que ha sido descrito también por Lobo *et al.* (1989).

Además de la selección artificial, la selección natural puede estar jugando un importante papel en la mayor proporción de africanización en este estudio; por ejemplo, la alta tasa de reproducción de zánganos y su mayor eficiencia para fecundar reinas vírgenes de las abejas africanizadas puede reducir la presencia de genes europeos en la población durante el proceso de recombinación genética (Quezada-Euán, 2000).

El estudio de 41 colmenas mostró una diversidad genética amplia por su alto polimorfismo isoenzimático. Para la enzima málica los resultados difieren de lo observado por otros autores (Sheppard y Berlocher, 1984, 1985), ya que en estudios realizados con *A. mellifera mellifer* en Noruega, y *A. mellifera ligustica* en Italia, se encontraron dos alelos en un solo locus, en tanto que en este trabajo se encontraron adicionalmente, el locus A monomórfico, y el locus B, que resultó polimórfico con cuatro alelos. En la isoenzima malato deshidrogenasa nuestros resultados concuerdan con otros anteriores encontrados en la literatura al igual que la hexoquinasa en cuanto al número de alelos.

Las enzimas hexoquinasa y malato deshidrogenasa, en sus alelos HEXA1A y MDHA2A, respectivamente, resultaron ser las más adecuadas para diferenciar las poblaciones de abejas con algún signo de africanización, resultado que concuerda con Del Lama *et al.* (1989 y 1990). En el análisis de componentes principales las colmenas estudiadas para el polimorfismo de cuatro loci tendieron a formar seis grupos con al menos dos colmenas, más otro y un grupo independiente que se formó con la colmena testigo número 500 (africanizada proveniente de Mérida). Las colmenas estudiadas mostraron la presencia de genes europeos aún después de 20 años de africanización en el Valle de México y a pesar de la altitud (2250 msnm), factor que en un principio se pensó podía actuar como barrera biológica

para evitar que continuara la llegada de enjambres africanizados; sin embargo, en estudios recientes realizados por Kraus *et al.* (2007) con mDNA se encontró mayor frecuencia de haplotipos africanos a mayor altitud que en altitudes de 70 a 1300 msnm.

La variación isoenzimática observada en la población de abejas africanizadas de Montecillo puede ser explicada por los factores siguientes: i) la incorporación de abejas euroafricanas a la población de abejas europeas de Montecillo ocasionó cambios en el comportamiento y la morfología de la población; ii) las reinas africanizadas del sureste de México, al cruzarse con la población de abejas europeas de Montecillo, formaron una población de abejas euroafricanas semidomesticadas en las que se incorporaron genes de otras especies (*A. mellifera mellifera*, *A. mellifera ligustica* y *A. mellifera carnica*), arrastrados por las abejas africanizadas en su trayectoria hacia América del Norte; y iii) la entrada de abejas reinas europeas a los apiarios cercanos a los de Montecillo puede estar generando flujo genético entre abejas africanizadas y abejas europeas.

6. Ventajas de la africanización en los apiarios del Colegio

En la actualidad, la apicultura mexicana es considerada una actividad de gran importancia social, económica y ecológica; sin embargo, es afectada negativamente por diversos factores. Uno de estos factores es el fenómeno de la africanización, que en algunas zonas apícolas del país se ha considerado como el causante de pérdidas económicas, debido al incremento de los costos de producción por la reubicación de apiarios a sitios más remotos, más costos por la adquisición de equipo de protección adicional como guantes, overoles, botas y cascos (Guzmán-Novoa *et al.*, 2011). El efecto biológico de la africanización sobre la producción es un tema controvertido. Kerr (1967) encontró que las abejas africanas son más productivas que las abejas europeas en condiciones neotropicales, en tanto que Rinderer *et al.* (1985) concluyeron que las razas de abejas europeas producen más miel que las africanizadas, y Spivak *et al.* (1989) no encontraron diferencias. En México, Uribe *et al.* (2003) encontraron que la

introgresión de genes africanos a las poblaciones de abejas comerciales en el Altiplano Mexicano disminuye significativamente la producción de miel y aumenta significativamente su respuesta defensiva (aguijoneo). En el caso de las colmenas de Montecillo, no se ha medido en grado de aguijoneo; sin embargo, aparentemente la agresividad ha disminuido lo que ha resultado evidente por el hecho de ser un apiario que se encuentra en una zona semiurbana y hasta la fecha no se han presentado problemas de picaduras en personas y animales.

En general las abejas africanizadas son más tolerantes a enfermedades. En Brasil, donde las abejas africanizadas tienen más años con la presencia del ácaro *Varroa destructor*, éste no representa un problema alguno (Rosenkranz, 1999). En Montecillo se tienen 17 años con la presencia de este ácaro y hasta ahora tampoco representa un problema. Utrera (1998) y Pérez-Sato y Cervantes-Santana (2001) encontraron que las poblaciones de abejas del apiario de interés tenían variación genética para el grado de infestación del ácaro, y que la característica era heredable; estas razones hacen posible obtener abejas tolerantes a varroa, cuando la selección natural es acompañada de selección artificial recurrente con intensidad de selección fuerte.

En el caso de las colmenas de Montecillo la selección de las colmenas que aportarán reinas progenitoras de cada generación con bajos niveles de infestación al ácaro *varroa destructor*, se realiza utilizando la prueba de nitrato para medir los niveles de infestación (Utrera, 1998), además de seleccionar colmenas con alta producción de miel y la ausencia de enfermedades durante el año de producción. Éste pudo haber determinado que los resultados obtenidos en las colmenas de Montecillo difieran de los encontrados por Guzmán-Novoa *et al.* (2011). Estos investigadores indican que el fenómeno de la africanización ha causado un impacto económico negativo en algunas zonas apícolas del país. En esta investigación resulta claro que el manejo apícola conducido en los últimos 20 años ha permitido incrementar la tolerancia a varroa y mejorar el potencial productivo. En consecuencia no ha sido necesario aplicar tratamientos para el control de esta

plaga anualmente, como sucede en otras partes del país, y que las enfermedades más comunes estén ausentes o se presentan en baja frecuencia e intensidad. Adicionalmente, aunque no se ha realizado una evaluación comparativa a través de años, el proceso de africanización aparentemente no ha tenido un efecto negativo sobre la productividad del apiario, a pesar de que, como se señaló anteriormente, las colmenas presentan un mosaico de influencia de características y genes de abejas africanas, por lo que es común tener niveles de producción similares al promedio nacional que van del orden de 20 a 30 kg por colmena anual, dependiendo de las condiciones climáticas.

7. Contribución del estudio a la problemática actual

El estudio del proceso de africanización en México (Uribe *et al.*, 2003) y en particular en el Valle de México-Montecillo ha sido limitado y se encuentran pocos casos documentados suficientemente. Por ello, el estudio actual representa un importante avance en el conocimiento del proceso a los niveles biológico y metodológico, en particular en los aspectos que se describen a continuación.

8. Determinación del grado de africanización

La población de abejas de Montecillo por sus orígenes se suponía altamente africanizada al no conocer su composición genética. Para conocer el grado de africanización sufrido por esta población en particular, se hizo necesario estudiarla con base en marcadores morfológicos e isoenzimáticos.

Después de 20 años de iniciado el proceso de africanización en el Valle de México y de la aplicación sistemática de la selección artificial, se determinó que la población estudiada presenta un avanzado grado de africanización (62 %) y que está adaptada a las condiciones ecológicas del Valle de México. Esta población no presenta algunas de las características indeseables de la abeja africana, como la evasión de la colmena, la disminución en la producción de miel y alta agresividad; en contraste, esta población presenta características deseables para la producción

como son buena y homogénea postura, poca evasión de la colmena, buena producción de miel, además de tolerancia a enfermedades.

Con la prueba de Rinderer *et al*, (1993) se pudo determinar un alto grado de africanización de las poblaciones de abejas del Colegio de Postgraduados con base en características morfométricas y un número de combinaciones en las características morfológicas de las abejas; los agrupamientos encontrados con isoenzimas fueron confirmados con el análisis de componentes principales. Con ambos análisis se clasificaron las colmenas en diferentes morfotipos con base en sus características anatómicas y se pudo evaluar el grado de introgresión de genes africanizados en la población, permitiendo concluir que esta población se encuentra en un proceso avanzado de africanización, en el que después de 20 años el componente europeo no ha podido ser desplazado completamente, debido a las prácticas de manejo y al flujo genético de poblaciones vecinas, dando lugar a una población híbrida con características positivas de ambos tipos de germoplasma.

9. Incorporación del análisis isoenzimático al estudio de la variación de poblaciones de abejas en el Valle de México

Cuando las frecuencias alélicas se determinaron por colmenas, éstas se separaron en diferentes grupos con claridad basándose en los análisis de componentes principales y de conglomerados. La colmena testigo europea (número 600) se incluyó entre el grupo de colmenas clasificadas como europeas de Montecillo confirmando el origen europeo de algunas colmenas; adicionalmente, la población africana procedente de Mérida (numero 500) formó un grupo independiente cercano a las colmenas clasificadas como africanizadas, indicando que estas poblaciones comparten alelos con las poblaciones africanizadas de mayor pureza. La aplicación del análisis enzimático mostró ser eficiente para separar los grupos con diferente grado de africanización de la misma manera que el análisis morfométrico, y los alelos que fueron más útiles para discriminar estas poblaciones de abejas fueron, en el CP1 la enzima malato

deshidrogenasa (MDHA2A y MEB4-A), y en el CP2, la enzima hexoquinasa (HEXA1A y HEXA1-C).

10. Comprobación de la factibilidad de la africanización en la mejora de poblaciones europeas en el altiplano de México

Los estudios realizados hasta ahora permiten indicar que las abejas africanizadas son más tolerantes a enfermedades (Rosenkranz 1999; Guzman-Novoa y Arechavaleta-Velasco, 2001). La razón de la mayor tolerancia podría ser explicada por diversos factores, entre los que destacan una mayor conducta higiénica y de acicalamiento (Moretto *et al.*, 1993). Este tipo de conductas le confieren a la abeja africanizada mayor protección contra enfermedades de la cría y de parásitos que afectan a las abejas adultas. Aunque no se han realizado trabajos de investigación enfocados a mejorar la tolerancia a las enfermedades en las colmenas de Montecillo, es lógico pensar que el grado de africanización existente en éstas ha contribuido a la incidencia baja de enfermedades. En el caso de *Varroa destructor* desde 1996 no se ha dado tratamiento químico a las abejas en estudio; no obstante los muestreos anuales muestran niveles de infestación en el orden de 5 a 7% en las colmenas muestreadas (43%), sin daño aparente en la producción de miel o en la actividad de las obreras de la colmena. En el caso de enfermedades de la cría como loque americana y la cría de cal, la incidencia fue de 1% sin que en ambos casos se haya aplicado otro control que el cambio de reinas.

11. Incorporación de otros métodos de análisis al estudio de la diversidad morfológica de abejas

Hasta el momento el análisis morfométrico se ha basado en la aplicación de los criterios de Rinderer *et al.* (1993). La utilización de los métodos multivariados también discriminó a las colmenas tanto en base a sus características morfológicas como isoenzimáticas, con la misma eficiencia. Además, la aplicación de estos métodos mostró que es posible hacerla con un menor número de características morfológicas cuya medición es más práctica y menos consumidora

de tiempo, y mostró que las características morfológicas de mayor relevancia para la clasificación racial de las abejas fueron en el CP1, longitud de ala anterior (LAA), longitud de la abscisa proximal (LAXP), longitud de fémur (LFE) y ancho de basitarso (ABA), en el CP2 las de mayor relevancia fueron longitud de tibia (LTI) y longitud de esternito (LEST).

LITERATURA CITADA

- Del Lama M A, R A Figueredo, A E Egea S, S N Del Lama (1988)** Hexokinase polymorphism in *Apis mellifera* and its use for Africanized honey bee identification. Rev. Brazil Genet. 11(2): 287-297.
- Del Lama M A, J A Lobo, A E Egea S, S N Del Lama (1990)** Genetic differentiation estimated of Africanized honeybee populations from Brazil and from Central America. Apidologie 21: 271-280.
- Guzmán-Novoa E, R E Page (1999)** Selective breeding of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in Africanized areas. J. Econ. Entomol; 92: 521-525.
- Guzmán-Novoa E, M Arechavaleta-Velasco (2001)** Relative effect of four characteristics that restrain the population growth of the mite *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. Apidologie 32: 157-174.
- Guzmán-Novoa E., A Correa B, L G Espinoza M, G Guzmán N (2011)** Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México. Rev. Vet. Méx. 42(2): 149-178.
- Google** Mapas México.
<http://www.dices.net/mapas/mexico/mapa.php?nombre=Montecillo&id=46572>
- Kerr W E (1967)** The history of the introduction of African bees to Brazil. S. Afr. Bee J. 39: 3-5.
- Kraus F B, P Franck, R Vandame (2007)** Asymmetric introgression of African genes in honeybee populations (*Apis mellifera* L.) in Central Mexico. Hered. 99: 233-240.
- Labougle R, A Zozaya R (1986)** La apicultura en México. Rev. Cie. Des. 69: 17-36.
- Lobo A J, M A Del Lama, M A Mestriner (1989)** Population differentiation and racial admixture in the Africanized honeybee (*Apis mellifera* L.). Evol. 43 (4): 794-802.

- Moffett J O, D L Maki, T Andre, M Fierro M (1987)** The Africanized bee in Chiapas, México. *Ame. Bee J.* 127: 517-520.
- Moretto G, L S Goncalvez, D de Jong, M Z Bichuette (1991)** The effects of climate and bee race on *Varroa jacobsoni* Oud infestations in Brazil. *Apidologie* 22: 197-203.
- Pérez-Sato J A, T Cervantes-Santana (2001)** Selección para tolerancia a *Varroa jacobsoni* Oud. en una población de abejas euroafricanas. *Agrociencia* 35: 413-421.
- Palos D A (1989)** Selección de abejas europeas y recolección de una población de abejas africanas en la Chontalpa, Tab. Tesis profesional. UACH, Mex. 92p
- Quezada-Euán J J G, L Medina M (1998)** Hybridization between European and Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) in tropical Yucatan, Mexico. I. Morphometric changes in feral and managed colonies. *Apidologie* 29:555–68
- Quezada-Euán J J G (2000)** Hybridization between European and Africanized honeybees in tropical Yucatan, Mexico. II. Morphometric, allozymic and mitochondrial DNA variability in feral colonies. *Apidologie* 31: 443-453.
- Quezada-Euán J J G (2007)** A retrospective history of the expansion of Africanized honeybees in México. *J. Apic Res.* 46: 295-300.
- Rinderer T E, A M Collins, K W Tucker (1985)** honey production and underlying nectar harvesting activities of Africanized and European Honey bees. *J. Apic. Res.* 23: 161-167.
- Rinderer T E, S M Bucco, W L Rubink, H V Daly, J A Stelzer, R M Riggio, F C Baptista (1993)** Morphometric identification of Africanized and European honey bees using large reference populations. *Apidologie* 24: 569-585.
- Rosenkranz P (1999)** Honey bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie* 30: 159-172.

- Spivak M, S Batra, F Segreda, A L Castro, W Ramirez (1989)** Honey production by Africanized and European honey bees in Costa Rica. *Apidologie* 20: 207-220.
- Sheppard W S, S H Berlocher (1984)** Enzyme polymorphism in *Apis mellifera* from Norway. *J. Apic. Res.*23 (2): 64-69.
- Sheppard W S, S H Berlocher (1985)** New allozyme variability in Italian honey bees. *J. Hered.* 76: 45-48.
- Uribe R J L, E Guzmán-Novoa, G J Hunt, A Correa B, J A Zozaya R (2003)** Efecto de la africanización sobre la producción de miel, comportamiento defensivo y tamaño de las abejas mellíferas (*Apis mellifera* L.) en el Altiplano Mexicano. *Rev. Vet. Méx.* 34(1): 47-59.
- Utrera Q F (1998)** Análisis de la transmisión a la descendencia de la tolerancia a *Varroa jacobsoni* O. de una población de abejas. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo. Texcoco, Edo. De México. 60 p