



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

**ESTUDIO FENOTÍPICO COMPARADO DE DOS SUBESPECIES
DE Apis mellifera Linn. EN MÉXICO**

T E S I S
Q U E P R E S E N T A :
MARIA ESTHER AYALA ARCIPRESTE
QUE PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE:
B I O L O G O

MEXICO D. F.

FALLA DE ORIGEN

1990



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	PAG.
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	3
3. OBJETIVOS.....	10
4. MATERIALES Y METODOS	
4.1 AREA DE ESTUDIO.....	11
4.2 CARACTERISTICAS DE LAS TRAMPAS.....	12
4.3 COLECTA Y DISECCION DE ABEJAS.....	13
4.4 MONTAJE Y MEDICION DE ESTRUCTURAS.....	16
5. ANALISIS DE DATOS	
5.1 ABEJAS DE PUERTO ESCONDIDO, OAX.....	20
5.2 ABEJAS AFRICANAS DE OTRAS ZONAS DE MEXICO.....	20
6. RESULTADOS	
6.1 VALOR DISCRIMINANTE DEL PESO Y LONGITUD DEL ALA.....	22
6.2 COMPARACION ENTRE DIVERSAS ZONAS DE MEXICO.....	24
7. DISCUSION.....	26
8. CONCLUSIONES.....	29
9. LITERATURA CITADA.....	30

1. RESUMEN

En este trabajo se comparó el valor discriminante que proporciona el peso fresco y la longitud del ala anterior de abejas obreras, con el fin de desarrollar un método de identificación de campo para distinguir entre abejas africanas y abejas europeas de colmena. Se encontró que la longitud del ala anterior separa correctamente entre los dos grupos con un 92.35% de eficiencia, mientras que el peso fresco da un 80.78% de separación. Los resultados obtenidos en este trabajo ratifican que la longitud del ala anterior es el carácter univariado que mejor separa las poblaciones de abejas africanas de las abejas europeas. Por otro lado se caracterizaron fenotípicamente los enjambres migratorios de abejas africanas capturados en la Unidad Operativa # 1 Oaxaca del Programa Cooperativo para el Control de la Abeja Africana en el período comprendido de septiembre de 1988 a enero de 1989, utilizando para ello 5 dimensiones del cuerpo de las abejas obreras. Los resultados obtenidos en este trabajo se utilizaron para hacer una comparación con datos similares de abejas africanas de otras zonas de México. Se encontró que las dimensiones morfológicas de abejas africanas de las diversas zonas de México, variaron poco entre sí, aunque se presentaron diferencias significativas entre los datos obtenidos y las dimensiones reportadas para abejas africanas y abejas europeas puras, lo cual sugiere que las abejas africanas sujetas a estudio constituyen un grupo con características morfológicas intermedias entre estos dos

grupos lo que puede indicar que las abejas africanas de México han desarrollado una plasticidad fenotípica en respuesta al ambiente.

2. INTRODUCCION

Uno de los aspectos más interesantes de la biología de las abejas melíferas, es la variabilidad encontrada dentro y entre las subespecies. Esta variabilidad ha sido aprovechada por los apicultores para seleccionar líneas económicamente deseables, para lo cual se han importado abejas de distintas razas a otras regiones del globo hibridizándolas con poblaciones locales (Winston et al., 1983). Desafortunadamente este tipo de prácticas no siempre han sido favorables y en algunos casos han tenido graves consecuencias. Un ejemplo de esto fué la introducción en 1956 de la abeja africana (Apis mellifera scutellata) a Brasil para el desarrollo de un programa de mejoramiento genético cuya finalidad era que las abejas africanas se hibridizaran con abejas europeas, y se obtuviera una línea de abejas más productiva y adecuada al trópico de Brasil (Kerr, 1967). En 1957 fueron liberados accidentalmente 26 enjambres con sus reinas de un apiario experimental cerca de Rio Claro, Sao Paulo, Brasil (Goncalvez, 1974). La descendencia de estas 26 reinas y aproximadamente 200 zánganos con los cuales se cruzaron, se diseminó rápidamente por el continente americano (Michener, 1975), dispersándose por Sudamérica a una velocidad de 200 a 500 Km por año (Taylor, 1977), llegando a Guyana Francesa en 1974, a Surinam en 1975, a Guyana en 1976 y a Venezuela en 1977 (Taylor & Levin, 1978). Posteriormente ingresó a Panamá en 1982 (Boreham & Roubik, 1987). En junio de 1984 llegó a Costa Rica (Spivak et al., 1988), a

Nicaragua en 1985 y a mediados de ese mismo año penetró en el sur de Honduras y a El Salvador (SARH, 1986). En septiembre de 1986 se detectaron los primeros enjambres de abeja africana en el estado de Chiapas (Fierro et al., 1988) y en 1987 arribaron a Quintana Roo y Tabasco (Villa & Labougle, 1988). En 1990 el frente de avance se encuentra en el estado de Colima en la vertiente del Pacífico y en Tamaulipas por la región del Golfo de México (Figura 1).

La velocidad de dispersión y el considerable incremento en el número de enjambres de abeja africana, puede ser atribuido a ciertas características adaptativas de éstas abejas a las regiones tropicales tales como: rápido crecimiento de la colonia, alta capacidad reproductiva y tendencia de migración (Winston, 1979; Winston et al., 1979).

La migración puede ser definida como el abandono del nido por una colonia o la división de ésta para formar un enjambre que se establece en otro lugar y existen dos tipos básicos: los inducidos por disturbios, debido a perturbación por depredadores, manipulación excesiva de apicultores, infestación por polilla de la cera, fuego en la proximidad del nido, depredación por avispas ó pájaros a la entrada del nido, etc. y la migración estacional inducida por un decremento de recursos o por otros factores estacionales como vientos, lluvias, temperatura, crecimiento de la colonia, etc. (Winston et al., 1979). El desplazamiento de los enjambres sirve a diferentes propósitos y tiene dos formas de movimiento, para distancias cortas (generalmente menos de 10 Km)

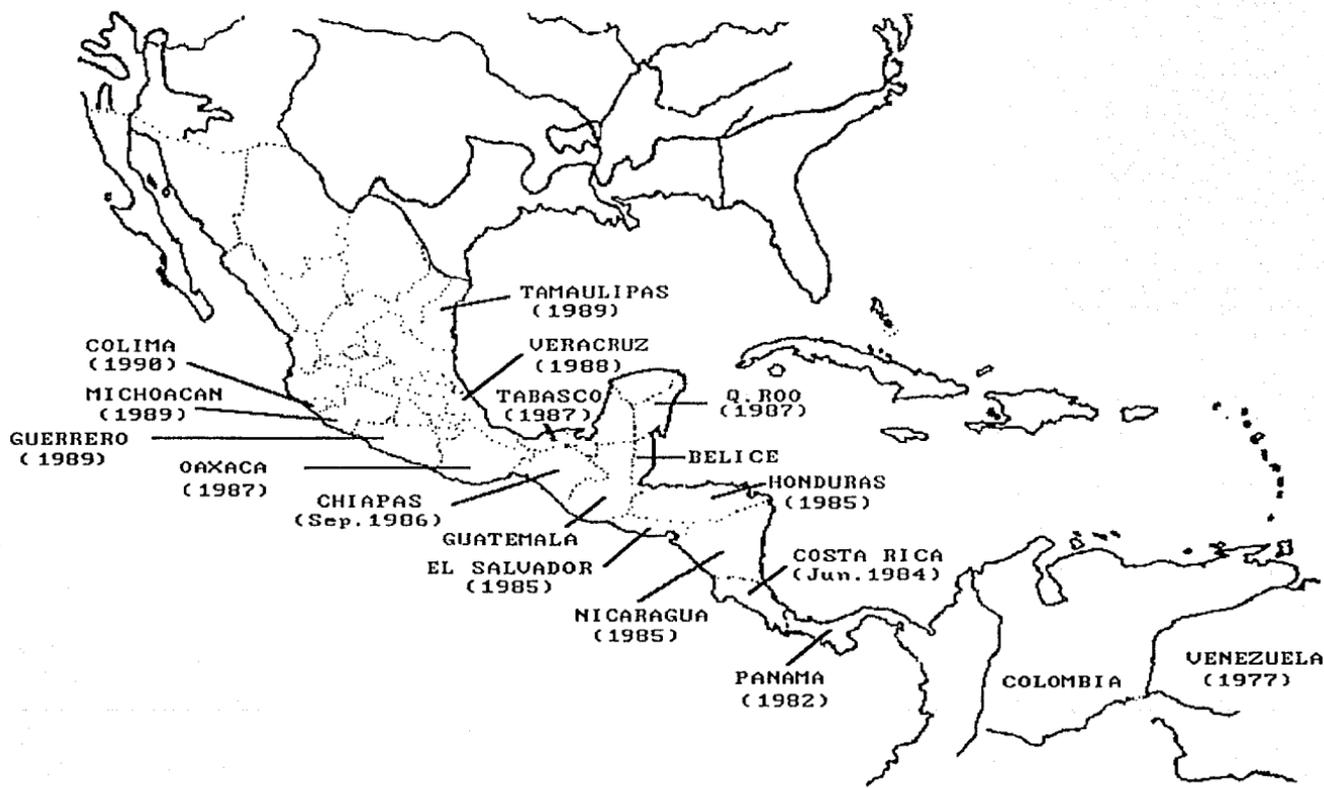


FIGURA 1. DISPERSION DE LA ABEJA AFRICANA EN MEXICO Y CENTROAMERICA

o distancias largas (más de 100 Km) (Seeley, 1985). El movimiento de enjambres ha permitido que la abeja africana invada regiones en donde sólo se conocía la abeja melífera europea.

Morfológicamente es difícil distinguir entre abejas africanas y abejas europeas ya que son semejantes en tamaño, forma y coloración, haciendo imposible la identificación a simple vista. Sin embargo, existen algunas diferencias entre ellas; los zánganos y las reinas africanos son por lo general más oscuros y las obreras son ligeramente más pequeñas. El tamaño promedio de las obreras africanas es de 12.73 mm de longitud, con un peso de 81.33 mg (Molina, 1981), por 13.89 mm y 80 mg de las abejas obreras europeas (SARH, 1986).

Conductualmente las abejas africanas muestran una fuerte tendencia a defender sus colonias, para lo cual reclutan gran número de individuos, responden a estímulos químicos (colores fuertes o desagradables), mecánicos (movimientos bruscos y vibraciones) y físicos (colores oscuros, texturas ásperas o peludas), pudiendo permanecer alertas por un periodo largo de tiempo, desde horas hasta días (Collins & Rinderer, 1982, 1986).

La falta de conocimientos sobre la biología de la abeja africana ha originado graves problemas sociales como la muerte de personas y animales domésticos, a causa de los piquetes recibidos, además del fuerte impacto económico ocasionado dentro de la industria apícola de los países donde se ha establecido este insecto, en los cuales se ha experimentado una brusca disminución en la producción de miel, tal es el caso de Venezuela, lugar en

donde la producción en este ramo declinó de 100 Kg por colmena/año, a aproximadamente 26 Kg por colmena/año (Rinderer, 1986a). En Brasil, por ejemplo, se ha dado el total abandono de la apicultura por varios años (Fletcher, 1977; Taylor & Williamson, 1975).

La llegada de la abeja africana a nuevas áreas, presenta un patrón característico. Durante los primeros 2 años las poblaciones silvestres están presentes en baja densidad, posteriormente se presenta un rápido incremento en el número de colonias, pudiéndose encontrar de 10 a 20 por Km² después del tercer año de la colonización inicial. La posible hibridación con las abejas europeas, ocurre después de que se presenta la saturación de una zona, de modo que los apiarios usualmente empiezan a ser africanos en un lapso de 3 a 5 años (Winston & Katz, 1981; Taylor, 1985).

La problemática ocasionada por la continua dispersión de la abeja africana, creó la necesidad de desarrollar procedimientos rápidos de identificación que separaran entre abejas europeas y africanas (Daly & Balling, 1978; Rinderer & Sylvester, 1987). Estos trabajos se basan principalmente en métodos morfométricos, aunque también existen procedimientos de identificación apoyados en características electroforéticas (Sylvester, 1982), cromatografía de gases (Carlson & Bolten, 1984; Smith, 1988), características del DNA nuclear (Hall, 1988) y DNA mitocondrial (Smith, 1988). Hasta el momento la morfometría es la técnica más usada y con ella se pueden caracterizar abejas individuales o colonias, teniendo

una probabilidad baja de error (Daly & Balling, 1978).

Uno de los primeros trabajos con Apis mellifera, basados en medidas morfométricas, se realizó en 1929 por Alpatov (en Rinderer, 1986b), quién empleó mediciones de tamaño del cuerpo de la abeja como el fémur, tibia y metatarso de la pata posterior, longitud y ancho del ala anterior y tamaño del espejo de la cera. Alpatov reconoció que el tamaño total del cuerpo no puede ser medido exactamente, sustituyendo esta característica por la medida de terguitos y esternitos del abdomen, los cuales están relacionados y covarian positivamente con el tamaño total del cuerpo. Posteriormente Goetze (en Rinderer, 1986b) introdujo el uso de características del pelo y la venación del ala permitiendo la discriminación entre razas de abejas europeas. Du Praw (en Rinderer, 1986b) empleó 13 ángulos de las venas, y el largo y ancho del ala anterior para un análisis multivariado. Los resultados obtenidos le permitieron demostrar las diferencias entre obreras de Apis mellifera pertenecientes a distintas subespecies.

Al principio, numerosos caracteres morfométricos fueron utilizados (Ruttner, 1975), dando mucha información sobre el rango de variación dentro de la especie. Sin embargo, el número de mediciones necesarias para la separación entre 2 o más razas de una región determinada pueden ser reducidas por análisis de componentes principales o por análisis discriminante. Este método fué aplicado al problema de diferenciar abejas europeas y africanas en Sudamérica (Daly & Balling, 1978); los trabajos iniciales fueron hechos basándose en el análisis discriminante

de 25 características morfométricas, el posterior empleo de la computadora y digitalizador eliminaron las mediciones a mano y redujeron el error y el tiempo empleado para el método.

Basándose en el método desarrollado por Daly y Balling (1978) de 25 medidas morfométricas, Rinderer y Sylvester (1986, 1987) desarrollaron un sistema rápido eligiendo las características que resultaron ser las más importantes para la identificación de estas razas de abejas, además las características no requieren una disección tediosa y son apropiadas para su uso en el campo. El método se denominó FABIS (en inglés Fast Africanized Bee Identification System = Sistema Rápido para la Identificación de Abejas Africanizadas) y se basa principalmente en la medición de la longitud del ala anterior, longitud del fémur y peso fresco (Sylvester & Rinderer, 1987). El largo del ala anterior es el carácter más importante para diferenciar abejas africanas; el peso fresco es el segundo mejor carácter en este método (Rinderer & Sylvester, 1986, 1987) (Tabla 1).

A diferencia de las características morfométricas, el peso de abejas obreras de enjambres no ha sido investigado adecuadamente; numerosos autores han usado el valor promedio de 3500 obreras por libra, 7700 abejas por Kg que corresponde a 0.131 mg por abeja (Mitchell, 1970). Estos valores se tomaron de obreras dentro de colmenas nunca de enjambres. Mitchell (1970) encontró que hay aproximadamente 4500 obreras recién emergidas por libra (102 mg por abeja) y 5000 por libra de abejas pecoreadoras (88 mg por abeja). El rango del peso medio por muestra de 20 abejas fue de

TABLA 1

Análisis morfométrico comparativo de abejas africanas y europeas. Los datos están en promedio + - desviación estándar.

Características	AFRICANAS			EUROPEAS			Referencia
	Promedio + - D.E (mm)	Rango	n	Promedio + - D.E (mm)	Rango	n	
Longitud del ala anterior	8.65 + - 0.152	8.33-9.05	101	9.12 + - 0.167	8.59-9.62	297	Daly & Buco, 1978
	8.86 (*)	nd	nd	9.19 (*)	nd	nd	Rinderer & Sylvester, 1986
Longitud del fémur	8.71 + - 0.103	8.41-8.95	84	9.28 + - 0.078	9.09-9.46	100	Rinderer & Sylvester, 1987
	8.65 (*)	8.33-9.05	nd	9.12 (*)	8.59-9.62	nd	Boreham & Roubik, 1987
Ancho del espejo cerígeno del tercer esternito	2.52 (*)	nd	nd	2.62 (*)	nd	nd	Rinderer & Sylvester, 1986
	2.53 + - 0.033	2.44-2.61	84	2.70 + - 0.040	2.46-2.77	100	Rinderer & Sylvester, 1987
	2.17 (*)	2.01-2.38	nd	2.36 (*)	2.21-2.56	nd	Boreham & Roubik, 1987

(*): No se reportan datos

nd : No existen datos

81 a 140 mg. Otros datos han corroborado los resultados obtenidos por Mitchell (Caron, 1970; Combs, 1972) (Tabla 2).

Como puede verse, los trabajos referentes a las características fenotípicas de abejas africanas y europeas son recientes y la mayoría de estos se han realizado en Sudamérica. Actualmente este insecto se localiza en casi la mitad de México, sin embargo no existe información sobre las características de los enjambres migratorios africanos y abejas europeas de colmenas del país. La llegada de la abeja africana a México representa una oportunidad para realizar estudios sobre variación morfológica de poblaciones de abejas. Estos resultados pueden ser útiles para diferenciar entre abejas africanas y europeas en otros estados del país, en donde la abeja africana aún no llega. Este estudio permite hacer comparaciones morfológicas con datos de otros países y regiones, sobre la variación morfométrica de las poblaciones de abejas.

TABLA 2

Análisis comparativo de peso de abejas africanas y abejas europeas. Los datos están en promedio + - desviación estándar.

Característica	AFRICANAS			EUROPEAS			Referencia
	Promedio + - d.e. (mg)	Rango	n	Promedio + - d.e.	Rango	n	
	nd	nd	nd	127.40 + - 14.33	nd	5	Caron, 1970
	nd	nd	nd	125.50 + - 15.39	nd	7	Combs, 1972
	81.33 (*)	nd	nd	nd	nd	nd	Cosenza & Batista, 1972
	60.80 (*)	nd	nd	92.70 (*)	nd	nd	Heinrich, 1979
Peso de abejas obreras	78.57 (*)	65.0-95.0	7	nd	nd	nd	Rinderer et al., 1981
	60.00 (*)	nd	nd	103.00 (*)	nd	nd	Rinderer et al., 1982
	93.10 + - 12.03	nd	40	nd	nd	nd	Otis, 1982
	61.80 + - 12.03	nd	40	nd	nd	nd	Otis, 1982
	61.00 (*)	nd	nd	92.00 (*)	nd	nd	Winston, 1983
	74.95 (*)	nd	nd	91.95 (*)	nd	nd	Rinderer & Sylvester, 1986
	60.50 (*)	nd	nd	71.40 (*)	nd	nd	Novoa, 1986
	42.40 + - 0.023	36.5-47.7	84	53.5 + - 0.020	48.8-57.6	100	Rinderer & Sylvester, 1987

(*): No se reporta desviación estándar

nd : No existen datos

3. OBJETIVOS

Objetivo General

- Conocer las características fenotípicas de abejas africanas de enjambres y abejas europeas de colmenas, para la zona de Puerto Escondido, Oaxaca.

Objetivos Particulares

- Evaluar dos características fenotípicas (peso y longitud del ala anterior) de abejas obreras africanas de enjambres y abejas europeas de colmenas para desarrollar un método de identificación de campo.
- Establecer los rangos morfométricos para longitud de ala anterior, longitud de fémur, largo y ancho del espejo cerígeno del tercer esternito metasomal, distancia entre espejos cerígenos del tercer esternito metasomal y peso de abejas africanas de enjambres de la zona de estudio para compararlos con datos morfométricos de abejas africanas de otras zonas de México.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Area de estudio

El área de estudio se encuentra ubicada entre los $96^{\circ} 41'$ y $97^{\circ} 3'$ W, extendiéndose 40 Km a lo largo de la costa de Oaxaca con una anchura de 25 Km. Limita al N con Santo Domingo de Morelos y Los Naranjos Colotepec, al S con el Océano Pacífico, al W con la población de la Barra de Colotepec a 5 Km de Puerto Escondido y al E con Lagartero a 21 Km de la desviación a Pochutla, abarcando un área de aproximadamente 400 Km^2 dividida en 4 sectores de trabajo dentro de los cuales se instalaron trampas para abejas (Figura 2).

Se presentan altitudes que van desde los 0 a los 10 msnm como en Ventanillas y Lagartero respectivamente, hasta 300 msnm en Santo Domingo de Morelos y 390 msnm en Santa María Colotepec (INEGI, 1987). Predomina el clima Awo (caliente subhúmedo con lluvias en verano) (García, 1973).

El tipo de vegetación que se presenta es selva alta o mediana subcaducifolia (sensu Miranda & Hernández, 1963) la cual corresponde también a un bosque tropical subcaducifolio (sensu Rzedowski, 1981). Se caracteriza porque al menos la mitad de los árboles dejan caer sus hojas durante la temporada de sequía, pero presenta cierto verdor aún en las partes más secas del año. Este tipo de comunidad prospera en altitudes entre 0 y 1300 msnm (Rzedowski, 1981). En la franja del bosque tropical subcaducifolio

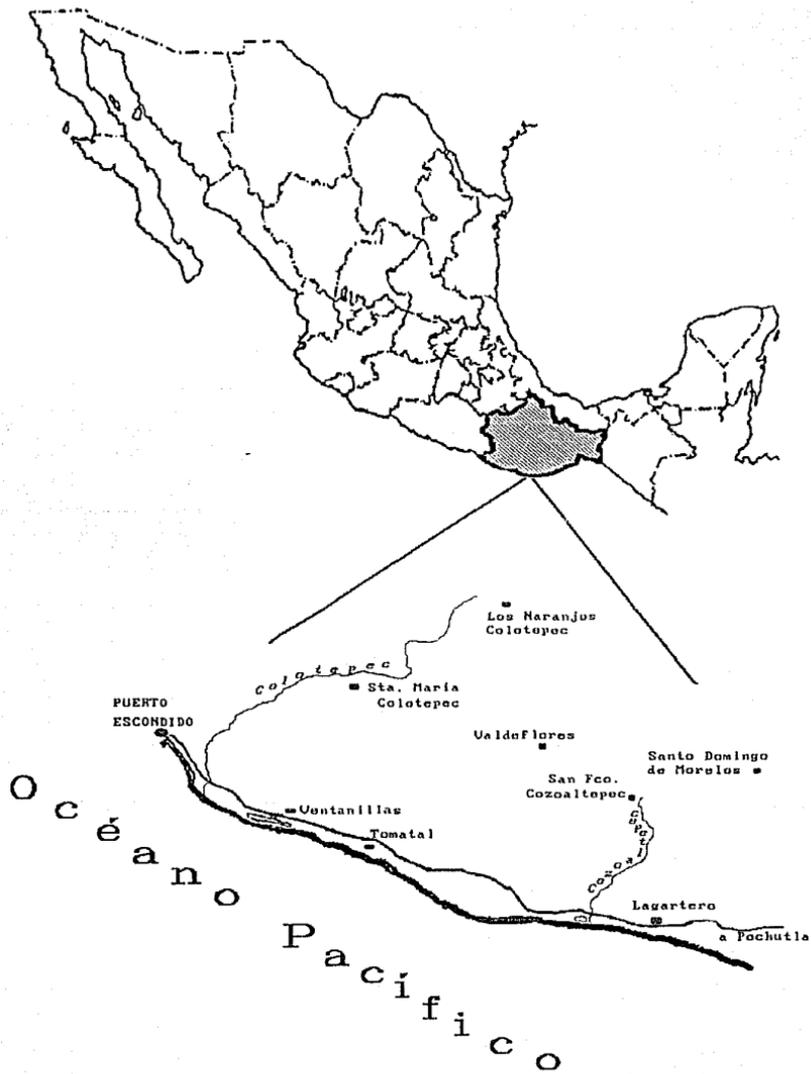


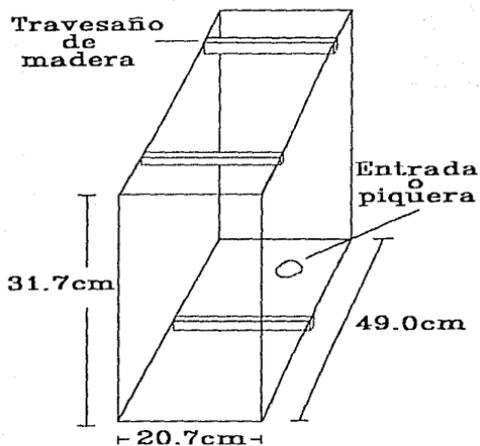
FIGURA 2. LOCALIZACION DEL AREA DE ESTUDIO

de Oaxaca se ubica una área con densos asentamientos humanos que basan su economía en las actividades agrícolas, para lo cual se deforestan extensas zonas del bosque. En la parte costera predominan cultivos de temporal y áreas de pastoreo, así como manchones de palmeras. Existen también zonas de manglar distribuidas en las orillas de las lagunas costeras y desembocaduras de ríos, en donde hay contacto con el océano.

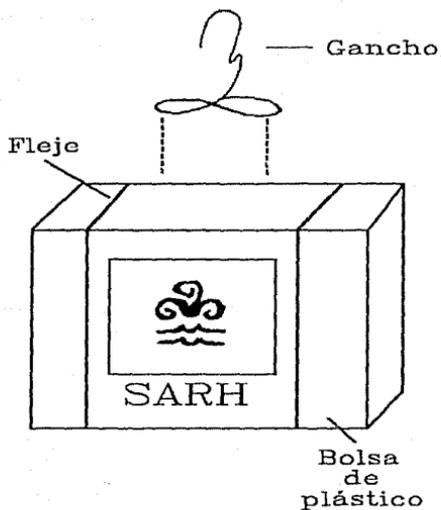
La precipitación pluvial anual es de 1000 a 1600 mm, presentándose una larga temporada de sequía de 5 a 7 meses de duración, en el transcurso del cual las lluvias son nulas o insignificantes (Rzedowski, 1981). Dentro de la zona de estudio se localizan dos ríos importantes por su permanencia durante todo el año, el río Cozoaltepec y el Colotepec, ambos forman barras y desembocan en el mar. Se presentan dos lagunas costeras, la de Santa Elena en la población del mismo nombre y la de Los Naranjos en Ventanillas.

4.2 Características de las trampas

Las trampas para abejas constan de una caja de cartón de 20.7 x 49.0 x 31.7 cm³ con capacidad de 32.15 l. En la parte interna de la caja están colocados tres travesaños de madera clavados a ambos lados (dos en la parte superior y uno en la inferior) con la finalidad de darle soporte y rigidez, las paredes interiores están recubiertas con una capa de cera de abeja (Figura 3a). Una bolsa de plástico protege la trampa de la lluvia. Por la parte



a



b

FIGURA 3. TRAMPA TIPO SARH Y CARACTERISTICAS.

superior de la caja se coloca un gancho que servirá para sostenerla en el lugar de instalación (Figura 3b). En la parte inferior se hace un orificio a manera de piquera, lo suficientemente grande para que las abejas penetren. Al momento de instalar el cebo es necesario impregnar la piquera y las paredes internas de la caja de un atrayente líquido, el cual es una mezcla de citral, geraniol y glicerina (1:1:2); o en su defecto se emplean cápsulas de feromona consistentes en un cono de plástico que contiene una esponja impregnada de un mimético de la feromona de Nasanov (Free, 1987). Las cápsulas de feromona simplemente se introducen en un orificio hecho cerca de la piquera. La efectividad de la trampa se mantiene con el recebado hecho aproximadamente cada 15 días (atrayente líquido) o cada mes (cápsulas de feromona).

4.3 Colecta y disección de abejas

La captura de un enjambre se realizó de la siguiente manera. Al localizar una trampa con enjambre se procedió a bajar la caja empleando una garrocha, enseguida se metió en una bolsa de plástico negra y se introdujo un algodón impregnado de acetato de etilo, por un tiempo suficiente para anestesiar a las abejas y facilitar la obtención del peso fresco. El peso fresco es el peso de la abeja sin abdomen y sin polen. La toma de la muestra de peso fresco requirió de un manejo rápido del enjambre para evitar que las abejas regurgitaran y se mojaran, para ello fue necesario

extraer el abdomen de las abejas lo cual se realizó con ayuda de pinzas, eligiendo aquellas abejas que no estaban mojadas y que no llevaban polen en las patas. El abdomen se removió jalándolo desde la parte más cercana al propodeo, cuidando de eliminar los restos de tejido que pudieran quedar adheridos. La remoción del abdomen elimina la variación en peso debido al contenido rectal o del saco de la miel (Rinderer & Sylvester, 1987). Se disectaron 30 abejas obreras las cuales se colocaron dentro de un frasco de plástico, el pesaje de la muestra se realizó en el campo y en un lugar cerrado y libre de corrientes de aire y/o vibraciones, para lo cual se empleó una balanza electrónica portátil OHAUS Port-O-Gram (modelo C 151) con una precisión de 0.05 g y capacidad de 150 g. Se utilizaron frascos con tapa para evitar que las abejas aún vivas se salieran. Después del pesaje se desechó ésta muestra, tomando por separado aproximadamente 50 abejas del mismo enjambre en un frasco de plástico con alcohol al 70%, colocando en su interior una etiqueta con los datos de la colecta escrita con lápiz. Esta muestra fue utilizada en el laboratorio para efectuar las mediciones morfométricas. Para ello se tomó de cada muestra de 12 a 14 abejas cuidando que las alas, patas y abdomen estuvieran completos. Si las abejas de una muestra se endurecen, se pueden poner en agua por algunos días hasta que éstas se resblandezcan y sea posible realizar la disección de estas estructuras, o bien se meten en agua tibia por algunas horas.

De cada abeja se obtuvieron las siguientes estructuras: ala anterior, fémur y tercer esternito metasomal, mediante el siguiente procedimiento:

a) Las alas se desprendieron con pinzas de punta fina, lo más cercano al tórax, cuidando de no dañarlas (Figura 4a). Observando al microscopio estereoscópico se eliminó el resto del músculo evitando cortar la muesca del ala, y se limpió después con pincel (Figura 4b).

b) El fémur se obtuvo primero rompiendo la unión entre la coxa y el tórax con la ayuda de una pinza (Figura 5a), la coxa y el trocánter se removieron desde la parte proximal del fémur (Daly & Balling, 1978) cortando en un lado de la unión y desprendiendo el resto, el cual deja ver una proyección que es la articulación del fémur con el trocánter (Figura 5b). El fémur quedó unido a la tibia y se limpiaron con pincel (Figura 5c).

c) El esternito se obtuvo removiendo el abdomen de la abeja con las pinzas (Figura 6a) y desprendiendo el tercer esternito jalándolo desde la parte proximal de unión con el segundo esternito, limpiando lo más posible la cera acumulada en los espejos (Figura 6b). Bajo el microscopio se desprendieron las membranas que rodean los espejos de la cera y la parte inferior del esternito, finalmente con el pincel se eliminaron los restos de cera y tejido que pudiesen estar aún adheridos (Figura 6c). Esta operación requiere de mucho cuidado ya que el esternito se rompe fácilmente.

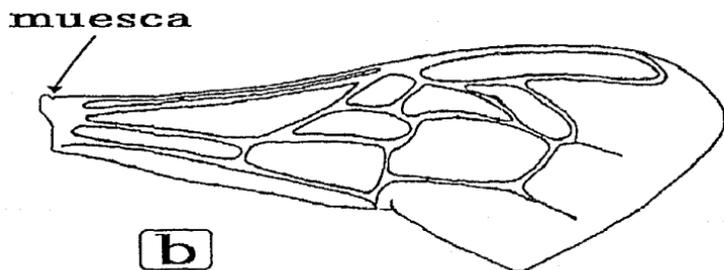
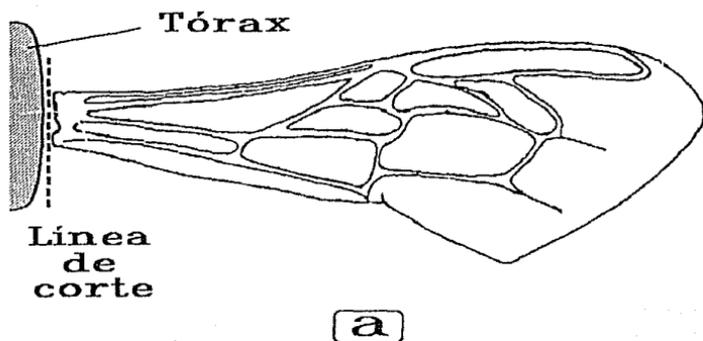


FIGURA 4. DISECCION DEL ALA ANTERIOR DE UNA ABEJA OBRERA.

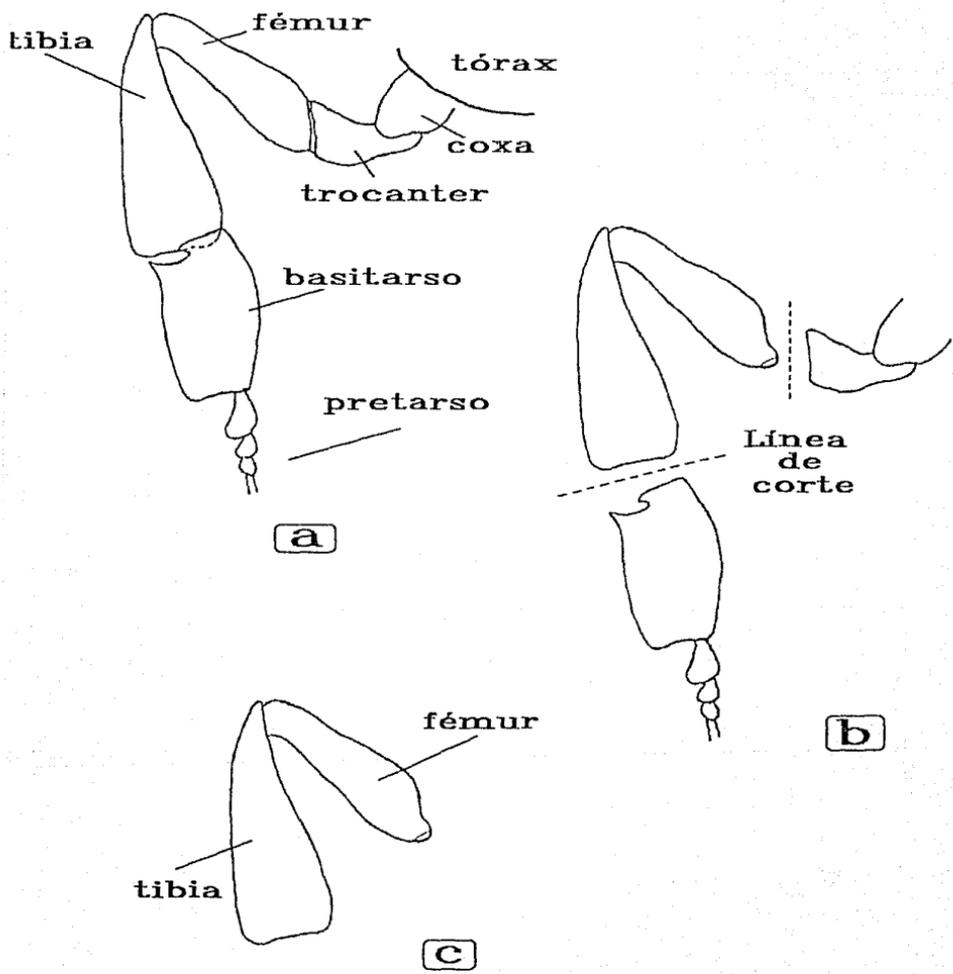


FIGURA 5. DISECCION DEL FEMUR Y TIBIA DE UNA ABEJA OBRERA.

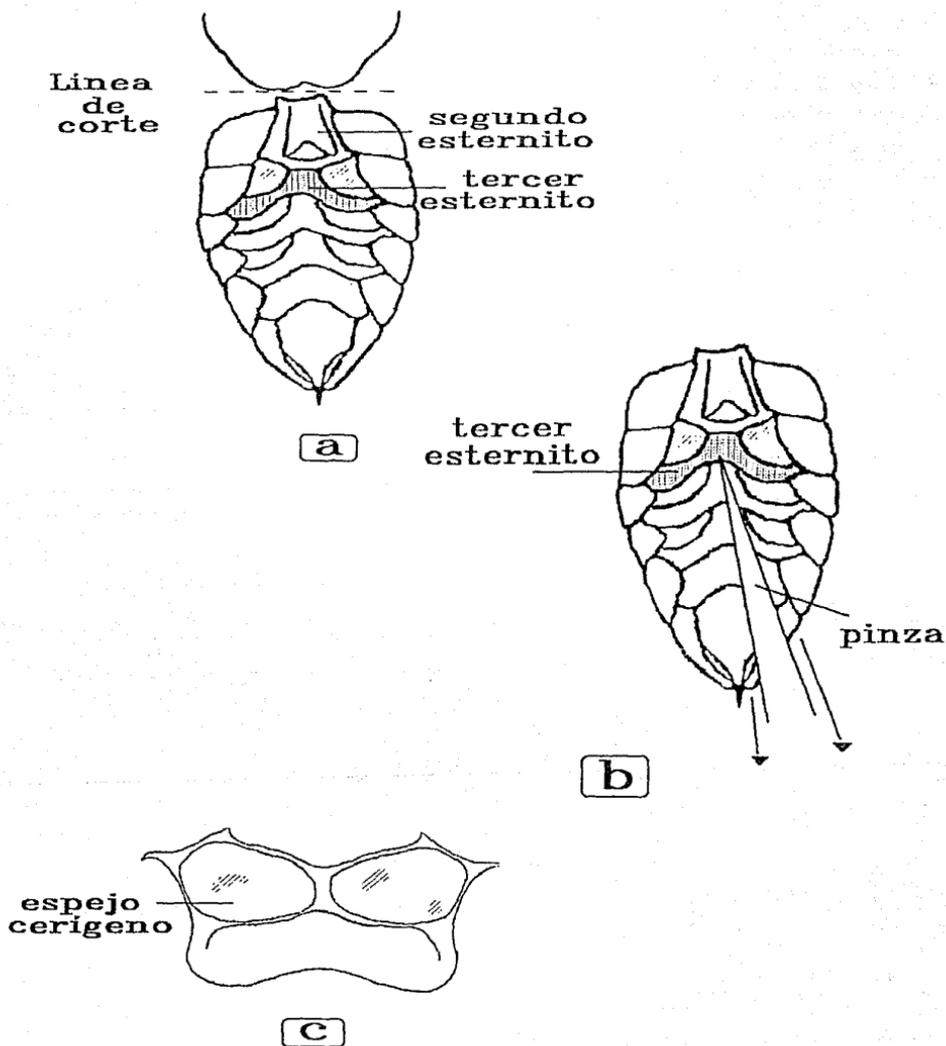


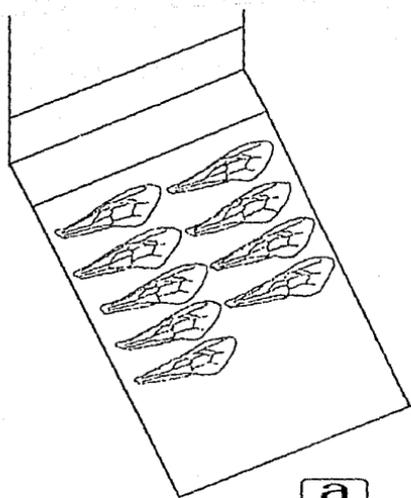
FIGURA 6. DISECCION DEL TERCER ESTERNITO METASOMAL DE UNA ABEJA OBRERA.

Las partes disectadas se fueron colocando en cajas de Petri correctamente etiquetadas. Todas las estructuras deben corresponder a una misma abeja. Si por alguna razón una de éstas estructuras se rompe, de ser posible deberán desecharse las otras y reiniciar la disección con otra abeja de la misma muestra.

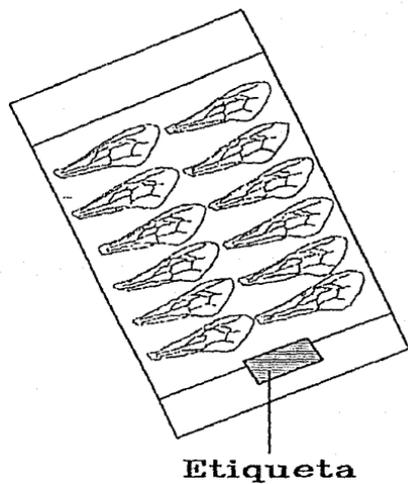
Los esternitos disectados se colocaron dentro de crisoles de porcelana individuales conteniendo una solución caliente de KOH al 10% dejándolos en ella aproximadamente 1 min, para remover la grasa y los restos de tejido . Concluido este tiempo se retiraron del KOH para enjuagarse con agua corriente, antes de proceder a la tinción. Se emplearon cajas de cultivos de tejidos, dentro de las cuales se colocó el colorante, hecho con fucsina ácida al 2%. Después de 15 min se retiraron los esternitos del colorante para enjuagarse y colocarse sobre toallas de papel absorbente. Posteriormente se montaron.

4.4 Montaje y medición de estructuras

Se prepararon cubreobjetos de 22x40 mm uniendo dos de ellos por el lado más corto, con un pedazo de cinta adhesiva transparente que hace las veces de una bisagra. Se montaron 12 alas de cada muestra entre los dos cubreobjetos, sujetando los otros dos extremos con un pedazo de cinta adhesiva (Figura 7a). Los cubreobjetos se marcaron con el número correspondiente a cada muestra (Figura 7b) (Sylvester & Rinderer, 1987).



a



Etiqueta

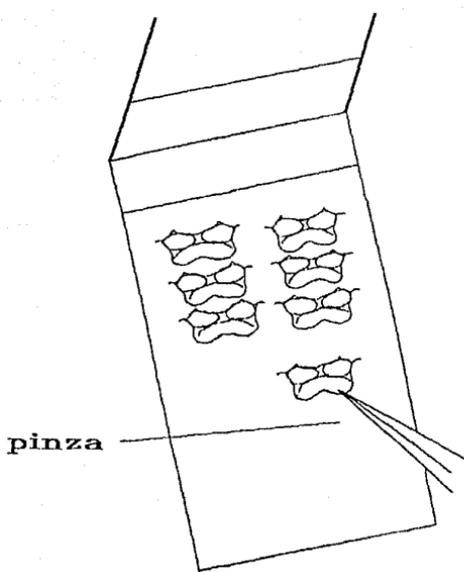
b

FIGURA 7. MONTAJE DE LAS ALAS ANTERIORES DE 12 ABEJAS OBRERAS

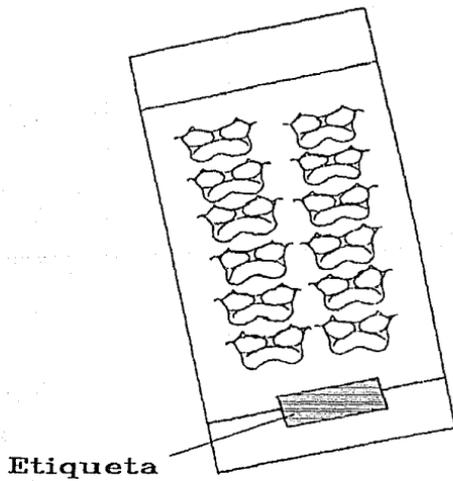
Los esternitos se montaron entre dos cubreobjetos cuidando de dejarlos separados entre si, para poder realizar las mediciones morfométricas (Figura 8a). Para facilitar su montaje se humedecieron previamente con agua, esto los hizo más flexibles y permitió que pudieran adherirse a la superficie del cubreobjeto. Se dejo transcurrir de 1 a 2 min para permitir que secan los esternitos montados. Posteriormente se cerraron los cubreobjetos con los esternitos usando cinta adhesiva, etiquetando la muestra con un número (Figura 8b).

Los fémures se montaron sobre un sólo cubreobjetos, colocándose alineados por separado, se cubrieron con una tira de cinta adhesiva y se etiquetaron correctamente (Figura 9a, 9b).

Las muestras de alas, fémures y esternitos debidamente montados se colocaron en monturas de plástico o cartón prensable para diapositivas (Figura 10a, 10b), las cuales se ampliaron en un proyector Kodak Ektagraphic con foco FF 200 de 150 mm. Para realizar las mediciones de las imágenes proyectadas es necesario una superficie lisa y de color claro para enfocar con facilidad. Pueden emplearse láminas de papel blanco, sujetándolas a una pared a manera de pantalla. El proyector estuvo sobre un soporte firme, a fin de reducir al mínimo los errores de medición; en la mayoría de los proyectores el lente es curvo para adaptarse a la curvatura de las diapositivas y producir una imagen enfocada, como los cubreobjetos son planos se producen imágenes mal enfocadas en los extremos, por lo que deben hacerse ajustes de enfocado cuando se hacen mediciones a lo ancho de la imagen; o mejor aún, utilizar



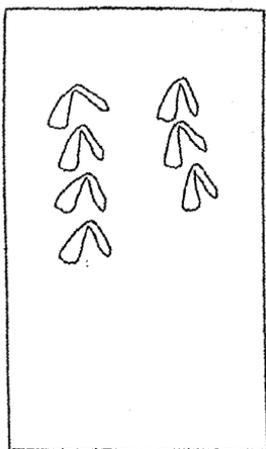
a



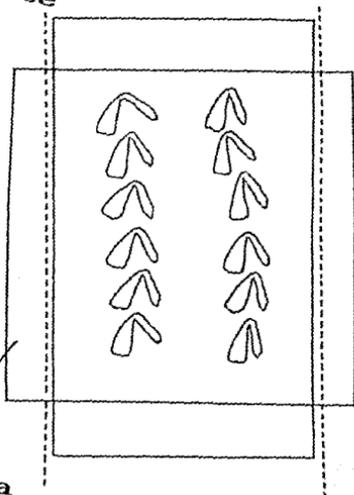
b

FIGURA 8. MONTAJE DEL TERCER ESTERNITO METASOMAL.

a



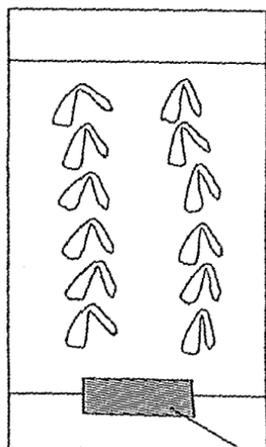
Linea de corte



cinta adhesiva

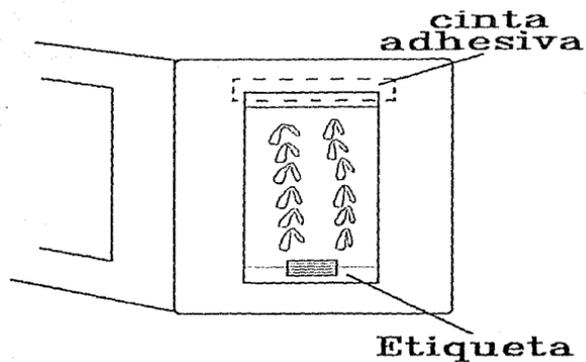
b

c

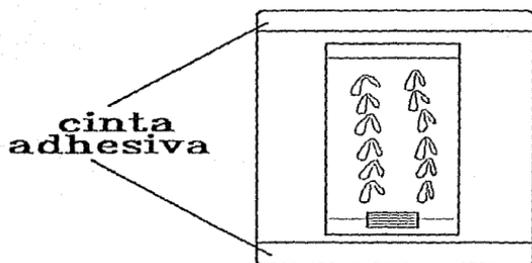


Etiqueta

RA 9. MONTAJE DE FEMURES DE 12 ABEJAS OBRERAS.



a



b

FIGURA 10. MONTAJE DE LAMINILLAS EN MONTURAS PARA DIAPOSITIVAS.

un lente FF (flatfield).

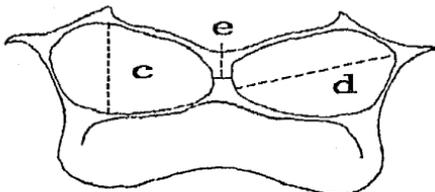
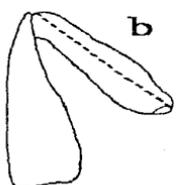
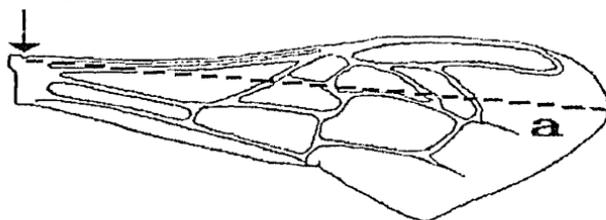
La toma de medidas correctas requirió de la calibración del sistema de proyección, de manera que la imagen proyectada tuviera un tamaño proporcional conocido, para esto se hizo uso de un micrómetro ocular montado en un cubreobjetos de 22x40 mm y sujetado con cinta, de manera que la escala quedara en el mismo plano focal en que estaran las partes de la abeja. Este cubreobjetos se colocó en una montura para diapositivas.

Las muestras de cada abeja y el micrómetro se ordenaron en un carrusel de diapositivas; se proyectó sobre la pantalla una imagen calibradora y se ajustó el proyector o el lente de foco regulable, hasta que la escala de 10 mm del micrómetro ocular, dió una imagen mínima de 0.25 metros. Se debe verificar con frecuencia la calibración para tener la seguridad de que el sistema sigue funcionando con precisión.

Para hacer las mediciones se empleó una regla de plástico transparente, de orilla recta, de 0.25 m o en su defecto de 0.50 m, con graduaciones de 1 mm. La medición de las imágenes proyectadas dió un valor que se multiplicó para obtener las longitudes reales de las partes del cuerpo de la abeja. De cada estructura se obtuvieron las siguientes medidas (Figura 11):

- (a) largo del ala anterior derecha (desde la muesca hasta la parte más distal del borde del ala),
- (b) largo del fémur (desde la articulación del fémur hasta la parte más distal de éste),
- (c) largo del espejo cerígeno del tercer esternito metasomal (desde el borde inferior del espejo y en línea recta con el borde superior

muesca



- a Longitud del ala anterior
- b Longitud del femur
- c Largo del espejo cerigeno del tercer esternito metasomal
- d Ancho del espejo cerigeno del tercer esternito metasomal
- e Distancia entre espejos cerigenos del tercer esternito metasomal

FIGURA 11. MEDIDAS MORFOLOGICAS DEL CUERPO DE UNA ABEJA OBRERA

del esternito), (d) ancho del espejo cerigeno del tercer esternito metasomal, y (e) distancia entre espejos cerigenos del tercer esternito metasomal.

5. ANALISIS DE DATOS

5.1 Abejas de Puerto Escondido Oaxaca

Los datos morfométricos de abejas africanas de enjambres y abejas europeas de colmenas de Puerto Escondido, Oaxaca se procesaron con dos programas estadísticos (Statgraphics y SPSS). Los datos de peso fresco y longitud del ala anterior de ambas poblaciones, se analizaron con la prueba de Mann-Whitney, para estimar si las muestras pertenecían a una misma población. Estos mismos datos se sometieron a un análisis discriminante para estimar si el empleo de estos caracteres morfométricos es útil para separar las muestras de abejas de enjambres africanos, de abejas europeas de colmenas.

5.2 Abejas africanas de otras zonas de México

Los datos morfométricos de abejas africanas de enjambres de Puerto Escondido Oaxaca así como de otras zonas de México como Tapanatepec Oaxaca y Las Choapas Veracruz, se analizaron con los mismos métodos estadísticos, pero utilizando 5 caracteres morfométricos: longitud del ala anterior (LAA), longitud del fémur (LFE), largo del espejo cerígeno del tercer esternito metasomal (LECE-3), ancho del espejo cerígeno del tercer esternito metasomal (AECE-3) y distancia entre espejos cerígenos del tercer esternito metasomal (DECE-3). Los datos morfométricos obtenidos de las tres

localidades fueron comparados entre si. Para ello, se sometieron a la prueba de Kruskal-Wallis, y así poder ver si se encontraban diferencias significativas entre los grupos. Posteriormente se analizaron con la prueba de Mann-Whitney para determinar si los grupos pertenecían a una misma población; después el análisis discriminante permitió conocer el grado de separación entre los grupos de las tres localidades.

6. RESULTADOS

Se analizaron 303 muestras de abejas africanas de enjambres de la zona de Puerto Escondido, Oax., 171 datos morfométricos de abejas africanas de Tapanatepec, Oax. y 68 datos de abejas africanas de Las Choapas, Ver. Se obtuvieron datos morfométricos (longitud de ala y peso fresco) de 285 muestras de abejas europeas, de colmenas de diversas zonas de Oaxaca proporcionados por el Programa Cooperativo para el Control de la Abeja Africana SARH-USDA, los cuales serán comparados con los de abejas africanas de enjambres migratorios obtenidos en este trabajo.

6.1 Valor discriminante del peso y longitud del ala anterior

El análisis de datos morfométricos de abejas africanas de enjambres y abejas europeas de colmenas de Puerto Escondido, Oax., muestra que los valores promedio para peso y longitud del ala anterior de estas poblaciones son significativamente mayores en abejas europeas, que en abejas africanas (Tabla 3). Al respecto se encontró que el peso promedio de una muestra de 30 abejas obreras africanas de enjambres fue de 1.346 g (1.10-1.60) mientras que el peso de abejas europeas de colmenas fue de 1.481 g (1.15-1.85). La longitud promedio del ala anterior fue de 8.779 mm (8.112-9.166) para abejas africanas de enjambres y para abejas europeas de colmenas fue de 9.137 mm (8.904-9.820). Se pudo ver que no todos los caracteres morfológicos de estas poblaciones presentan una

TABLA 3

Análisis morfométrico de abejas africanas de enjambres y abejas europeas de colmenas de Puerto Escondido, Oaxaca. Los datos están en promedio \pm desviación estándar. Entre paréntesis se señala el rango. Tamaño de muestra n , 303 para abejas africanas de enjambres y 285 para abejas europeas de colmenas.

Característica	Enjambres n=303	Colmenas n=285	(*) P
Peso promedio de 30 abejas (g)	1.346 \pm 0.083 (1.10-1.60)	1.481 \pm 0.093 (1.15-1.85)	0.0001
Peso promedio de una abeja (mg)	44.88 \pm 2.790 (nd)	48.33 \pm 3.111 (nd)	nd
Longitud del ala anterior (mm)	8.779 \pm 0.144 (8.112-9.166)	9.137 \pm 0.115 (8.904-9.820)	0.0001

nd: No existen datos

(*) Prueba de Mann-Whitney

forma de distribución normal por lo que se emplearon pruebas estadísticas no paramétricas, que no requieren de una forma de distribución determinada. Los datos de peso y longitud del ala anterior de abejas africanas de enjambres y de abejas europeas de colmenas, se graficaron para conocer el modo de distribución de estos caracteres en ambas poblaciones (Figura 12 y 13). En la Figura 12 se nota que los datos de peso fresco de muestras de abejas africanas de enjambres y abejas europeas de colmenas, son distintos, presentando las abejas africanas el valor más pequeño de 1.10 g y las abejas europeas, el máximo de 1.85 g y en donde se observa una zona de solapación, mientras que en la Figura 13 donde se grafica la longitud del ala anterior de ambas muestras, se encuentra que el valor mínimo 8.112 mm es de abejas africanas y el máximo de 9.820 mm de abejas europeas, también se observa una zona de solapación, pero ésta es menor que la que se obtiene al graficar el peso. Cualquier muestra de 30 abejas con un peso menor de 1.20 g. puede ser considerada como de origen africano y como europeo a las muestras con un peso mayor de 1.60 g. La medición de la longitud del ala, separa como abejas africanas cualquier grupo de 10 abejas con una longitud promedio de ala, menor a 8.80 mm y como europeas, a los grupos de abejas con una longitud alar mayor de 9.20 mm. La solapación que existe en las Figuras 12 y 13 no permite discernir entre las dos poblaciones, por lo que se sometieron a la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (SPSS), la cual muestra que existen diferencias significativas entre poblaciones ($P < 0.0001$) para ambas variables (peso y longitud del

Figura 12. Peso de abejas africanas de enjambres y abejas europeas de colmenas

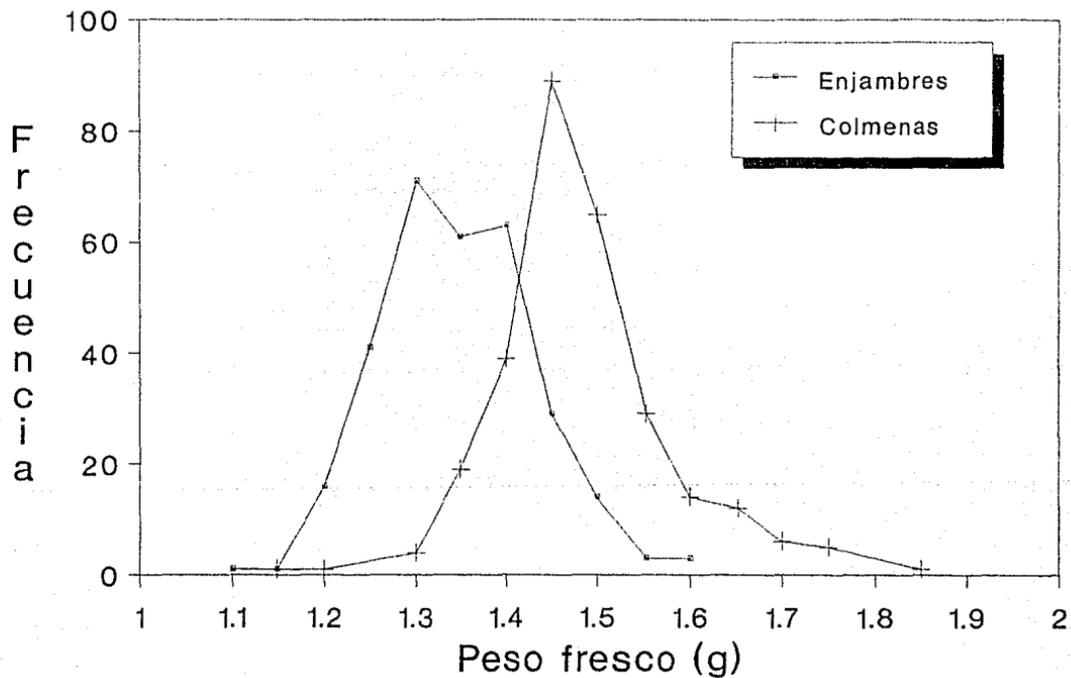
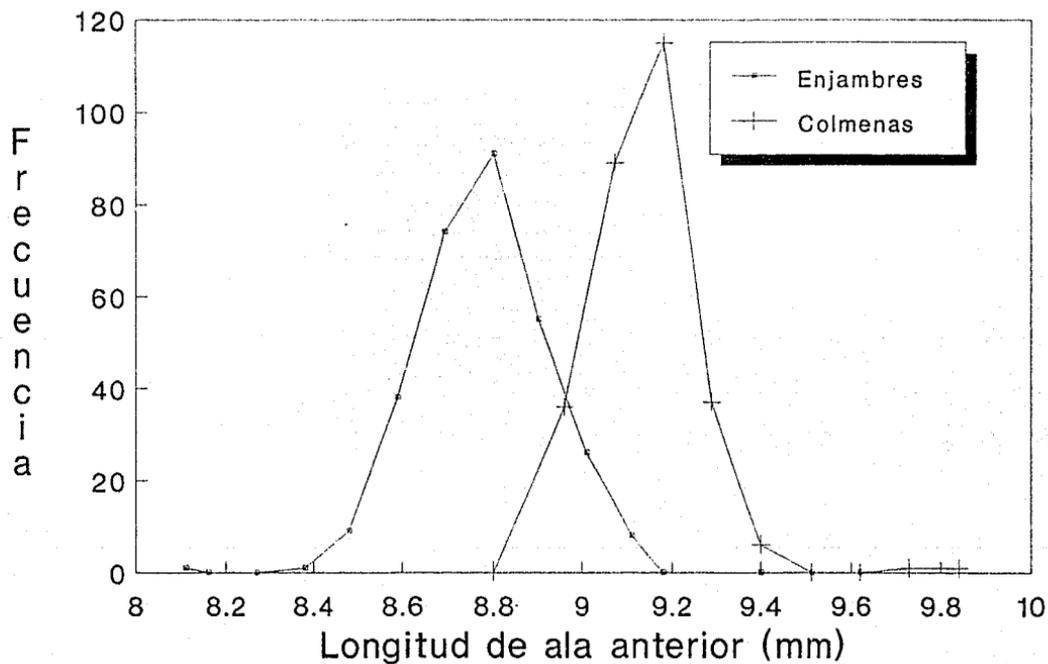


Figura 13. Longitud de ala de abejas africanas de enjambres y abejas europeas



ala anterior); lo que denota que las muestras pertenecen a distintas poblaciones. Posteriormente los datos de peso y longitud de ala de ambas poblaciones se sometieron a un análisis discriminante multivariado. El análisis discriminante basado en el peso discrimina entre muestras de abejas europeas de colmenas y abejas africanas de enjambres, con un 80.78% de clasificación correcta (Figura 14); mientras que al emplear la longitud del ala anterior se obtuvo un 92.35% de separación correcta y es casi 12% mayor que el peso (Figura 15). El análisis discriminante que involucra el peso y la longitud del ala conjuntamente, proporciona un 92.01% de separación correcta entre grupos, menor al que proporciona la longitud de ala por sí sola (Figura 16).

6.2 Comparación entre diversas zonas de México

Los datos morfométricos de abejas africanas de enjambres de la zona de Puerto Escondido, Oax. comparados con datos de Tapanatepec, Oax. y Las Choapas, Ver. muestran poca variación en las medidas promedio de los caracteres analizados. Se encontró que el valor más pequeño para la longitud de ala es del grupo "Las Choapas" y el más grande del grupo "Puerto Escondido". La prueba de Kruskal-Wallis mostró la existencia de diferencias significativas entre los datos de las diferentes zonas, pero no detecta entre cuáles grupos se dan estas diferencias (Tabla 4). El análisis de Maan-Whitney reveló, que existen diferencias significativas en la mayoría de los caracteres usados al comparar

Tabla 4

Análisis morfométrico de abejas africanas de tres zonas de México. Los datos están en promedio + - desviación estándar. Entre parentesis n es el número de datos. Los valores están en mm.

Caracter	Puerto Escondido Oax. (n=303)	Tapanatepec Oax. (n=171)	Las Choapas Ver. (n=68)	(*)P
LAA	8.779 + - 0.144	8.738 + - 0.120	8.681 + - 0.108	0.0000
LFE	2.532 + - 0.042	2.561 + - 0.041	2.504 + - 0.060	0.0000
AECE-3	2.209 + - 0.056	2.172 + - 0.056	2.183 + - 0.063	0.0000
LECE-3	1.257 + - 0.040	1.256 + - 0.040	1.246 + - 0.042	0.0102
DECE-3	0.328 + - 0.042	0.347 + - 0.048	0.340 + - 0.038	0.0001

(*) Prueba de Kruskal-Wallis

LAA= Largo del ala anterior, LFE= Largo del fémur, AECE-3= Ancho del espejo cerígeno del tercer esternito metasomal, LECE-3= Largo del espejo cerígeno del tercer esternito metasomal, DECE-3= Distancia entre espejos del tercer esternito metasomal

los datos de Puerto Escondido con cada una de las localidades; sin embargo la excepción se presentó en el largo del espejo cerígeno (LECE-3) en donde no se aprecia diferencia significativa de este carácter al comparar Puerto Escondido y Tapanatepec (Tabla 5). A pesar de la existencia de estas diferencias no se presenta ningún patrón, por lo que fue necesario realizar un análisis discriminante entre cada localidad y que involucrara de forma integral los caracteres morfológicos usados (Tabla 6). Al comparar los datos de Puerto Escondido con los de Tapanatepec resultan en 78.90% de separación correcta, mientras que para las abejas de Las Choapas, se obtiene 66.04% de separación; este último valor indica que las abejas africanas de Puerto Escondido son más parecidas a las de Las Choapas que a las de Tapanatepec, a pesar de que esta última localidad se ubica en la costa de Oaxaca al igual que Puerto Escondido. Los porcentajes con valor mayor de 50% indican que las poblaciones son distintas; mientras que valores cercanos o iguales a 50% denotan poblaciones semejantes.

Tabla 5. Análisis comparativo Mann-Whitney basado en 5 características morfométricas de abejas africanas de Puerto Escondido, Oax. con Tapanatepec, Oax. y Las Choapas, Ver. Entre paréntesis en año de colecta; n es el tamaño de la muestra.

GRUPOS	: LAA	: LFE	: AECE-3	: LECE-3	: DECE-3
TAPANATEPEC(1988) (n=171)	: .0025*	: .0000*	: .0000*	: .7345	: .0000*
LAS CHOAPAS(1988) (n=68)	: .0000*	: .0001*	: .0000*	: .0023*	: .0148*

* DIFERENCIA SIGNIFICATIVA

LAA= Longitud del ala anterior, LFE= Longitud del fémur,
 AECE-3= Ancho del espejo cerígeno del tercer esternito metasomal,
 LECE-3= Largo del espejo cerígeno del tercer esternito metasomal,
 DECE-3= Distancia entre espejos cerígenos del tercer est. met.

Tabla 6. Análisis Discriminante comparativo basado en 5 características morfométricas para abejas africanas de Puerto Escondido, Oax. con Tapanatepec, Oax. y Las Choapas, Ver. Entre paréntesis en año de colecta; n es el tamaño de la muestra.

GRUPOS	:	PORCENTAJE DE SEPARACION CORRECTA	:
TAPANATEPEC (1988)	:	78.90 %	:
(n=171)	:		:
LAS CHOAPAS (1988)	:	66.04 %	:
(n=68)	:		:

7. DISCUSION

Los resultados obtenidos sugieren que la utilización del peso fresco, como método rápido para identificar poblaciones de abejas, sólo es válido para una separación inicial proporcionando un 80.78% de clasificación correcta. Para una evaluación con un porcentaje más alto de confiabilidad se recomienda medir la longitud del ala anterior, la cual da un 92.35% de separación. De acuerdo a Daly y Balling (1978), Rinderer y Sylvester (1986, 1987) y los resultados de este trabajo, se puede afirmar que la longitud del ala anterior es el caracter univariado que mejor separó las muestras de abejas africanas y abejas europeas.

Los pesos promedio calculados para muestras de 30 abejas obreras africanas de enjambres y abejas europeas de colmenas, reflejan que las abejas africanas son menos pesadas (1.346 g) que las europeas (1.481 g). En lo referente al peso promedio por abeja (sin abdomen) calculado para ambas muestras, se encontró que las abejas africanas de enjambres pesan menos (44.88 mg) que las abejas europeas de colmenas (48.88 mg), estos resultados son similares a los reportados por Rinderer y Sylvester (1987) quienes encuentran pesos de 42.4 mg y 53.4 mg respectivamente.

Los datos morfométricos de las abejas africanas de Puerto Escondido, Oax., Tapanatepec, Oax. y Las Choapas, Ver. se asemejan a los reportados por Daly y Balling (1978) y Buco et al. (1987) para las abejas africanas de México y Sudamérica que ellos estudiaron, sin embargo existe cierta diferencia con relación a

los resultados obtenidos de las abejas africanas de Sudáfrica investigadas por Ruttner (1985) y Buco et al. (1987). En base a lo anterior se puede decir que las poblaciones de abejas africanas de México son diferentes de poblaciones de abejas africanas de Sudáfrica, constituyendo un grupo con características morfológicas intermedias entre abejas europeas y abejas africanas puras (Daly & Balling, 1978; Rinderer & Sylvester, 1986, 1987). Las abejas africanas analizadas en este trabajo son semejantes entre si aunque muestran cierta variación morfológica, sin embargo difieren poco de las características de las abejas africanas de Africa, lo cual les ha permitido colonizar diversos ambientes, lo que puede hacernos pensar en una plasticidad fenotípica desarrollada en las abejas melíferas. La variabilidad morfológica de las poblaciones de abejas africanas no necesariamente conlleva una variabilidad genética. Al respecto, existen trabajos realizados por diversos autores basados en las frecuencias génicas de diversas enzimas del metabolismo de las abejas, encontrando una enzima (MDH) que se presenta con una frecuencia alélica diferente entre abejas africanas y abejas europeas (Contel et al., 1977). La MDH presenta tres alelos: 0.50 lento, 0.63 medio y 1.00 rápido, que indican las diferentes velocidades de corrimiento al aplicarse una corriente eléctrica a un gel de almidón de papa. Los datos reportados muestran que el genotipo 1.00/1.00, es característico de la abeja africana (Nunamaker & Wilson, 1981), este genotipo no varía mucho dentro las poblaciones de abeja africana de Sudáfrica, México y Sudamérica, a pesar de que existen diferencias morfológicas que

hacen pensar lo contrario (Tabla 7). Como puede verse el genotipo africano típico (1.00/1.00) está presente en las poblaciones de abejas de Yucatán, Las Choapas y Tapanatepec, al igual que en Brasil y Costa Rica, lo que denota que las poblaciones de abejas africanas que han colonizado estas regiones han conservado la mayoría de las características genéticas de la abejas africanas de Africa, como lo demuestra la similitud de valores que tiene el alelo rápido en las zonas mencionadas, no así las características fenotípicas. Las abejas melíferas como la gran mayoría de los Himenópteros, son muy uniformes en su genotipo, por el contrario tienen una gran plasticidad fenotípica o conductual pero con una limitada variabilidad aloenzimática (Rinderer, 1986b).

Tabla 7. Frecuencias alelicas electroforeticas de *A. mellifera*

Autor	Localidad	Tipo de abeja	n	MALATO-DESHIDROGENASA (Mdh-1)		
				0.50 lento	0.63 medio	1.00 rapido
Sylvester (1976)	Brasil	A	34	0.01	0.16	0.84
	Colombia	E	13	0.39	0.37	0.24
	Trinidad	E	10	0.50	0.13	0.37
Contel et al. (1977)	Brasil	A	78	0.03	0.20	0.77
Nunamaker (1980)	Brasil	A	4	0.1	0.2	0.7
	Brasil	A	6		0.008	0.992
	Sudafrica	A	18			1.00
	Sudafrica	A	10			1.00
Nunamaker & Wilson (1981)	Brasil	A	12	0.04	0.03	0.93
Spivak (1988)	Costa Rica	A	9	0.05	0.04	0.91
No pub. (1988)	Yucatan Mexico		5	0.096	0.053	0.851
Labougle (1989)	Choapas Ver., Mex.	A	13	0.067	0.077	0.856
Labougle (1989)	Tapanatepec Oax., Mex.	A	33	0.060	0.129	0.811

A Abejas africanas
 E Abejas europeas

8. CONCLUSIONES

1. El empleo de métodos morfométricos pone de manifiesto la variabilidad que muestran las abejas melíferas dentro y entre subespecies.

2. El empleo del peso fresco facilita la evaluación inicial de cualquier muestra de abejas proporcionando un 80.78% de separación correcta; posteriormente puede usarse la longitud del ala anterior por su mayor poder discriminante de 92.35%.

3. Las abejas europeas son más grandes, tanto en medidas morfológicas como en peso, que las abejas africanas de Africa, México y Sudamérica; sin embargo, las abejas de éstas dos últimas áreas presentan pesos y dimensiones corporales intermedias entre abejas europeas y abejas africanas de Africa.

4. Las abejas africanas de México constituyen un grupo con características morfométricas intermedias entre abejas africanas y abejas europeas puras, esto indica una plasticidad fenotípica muy desarrollada para las poblaciones de abejas melíferas.

~~ESTA TESIS NO DEBE~~
SALIR DE LA BIBLIOTECA

9. LITERATURA CITADA

- BOREHAM, M.M. & D.W. ROUBIK. 1987. Population change and control of africanized honeybees (Hymenoptera: Apidae) in the Panama Canal Area. Bull. Entomol. Soc. Amer. 34-39.
- BUCO, S.M., T.E. RINDERER, H.A. SYLVESTER, A.M. COLLINS, V.A. LANCASTER & R.M. CREWE. 1987. Morphometric differences between south american africanized and south african (Apis mellifera scutellata) honeybees. Apidologie 18(3): 217-222.
- CARLSON, D.A. & A.B. BOLTEN. 1984. Identification of africanized and european honeybees using extracted hidrocarbons. Bull. Entomol. Soc. Amer. 30: 32-35.
- CARON, D.M. 1970. A study of swarming and behavior of swarming in honeybees Apis mellifera L. Cornell University, Ithaca, New York, USA: Ph.D. Dissertation.
- COLLINS, A.M. & T.E. RINDERER. 1982. Colony defense by africanized and european honeybee Science 218:72-74.
- _____. 1986. The defensive behavior of the africanized bee. Am. Bee J. 126(9):623-627.
- COMBS, G.F. 1972. The engorgement of swarming worker honeybees. J. Apic. Res. 11:121-128.
- CONTEL, E.P.B., M.A. MESTRINER & E. MARTINS. 1977. Genetic control and developmental expression of malate dehydrogenase in Apis mellifera. Biochem. Genet. 15:859-876.
- COSENZA, G.W. & J.S. BATISTA. 1972. Morfometria da Apis mellifera adansonii (abelha africanizada) da Apis mellifera caucasica (abelha caucasiana) e suas hibridas. II Congr. bras. Apic. 53-56.
- DALY, H.V. & S.S. BALLING. 1978. Identification of africanized honeybees in the Western Hemisphere by discriminant analysis. J. Kansas Entomol. Soc. 51:857-869.
- FIERRO, M.M., M.J. MUNOZ, A. LOPEZ, X. SUMUANO, H. SALCEDO & G. ROBLEDO. 1988. Detection and control of the africanized bee in Coastal Chiapas, Mexico. Am. Bee J. 128(4): 272-275.
- FLETCHER, D.J.C. 1977. African Bees: Taxonomy, biology, economic use. Apiculture with africanized bees in Brazil. Apimondia, Pretoria. 207 pp.

- FREE, J.B. 1987. Pheromones of Social Bees. Cornell University Press. Ithaca, New York. 218 pp.
- GARCIA, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. UNAM. México D.F. 246 pp.
- GONCALVEZ, L.S. 1974. The introduction of the african bees (Apis mellifera adansonii) into Brazil and some comments on their spread in South America. Am. Bee J. 113:414-415, 419.
- HALL, G.H. 1988. Characterization of the african honey-bee genotype by DNA restriction fragments. In: Needham, G.R., R.E Page Jr., M. Delfinado-Baker & C. Bowman (eds.) Africanized honey bees and bee mites. Pp. 287- 293
- HEINRICH, B. 1979. Thermoregulation of african and european honeybees during foraging, attack, and hive exits and returns. J. Exp. Biol. 80:217-229.
- INEGI. 1987. Anuario estadístico del estado de Oaxaca. Tomo 1. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. 961 pp.
- KERR, W.E. 1967. The history of the introduction of africanized bees to Brazil. S. Afr. Bee J. 39:3-5.
- LABOUGLE, J.M. 1989. Comparative studies of african honey bees in southern Mexico. Tesis Doctoral. University of Kansas, Kansas.
- MICHENER, C.D. 1975. The Brazilian bee problem. Ann. Rev. Ent. 20:399-416.
- MIRANDA, F., E. HERNANDEZ. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. Bol. Soc. Bot. Méx. 28:1-179.
- MITCHELL, C. 1970. Weights of workers and drones. Am. Bee J. 110:468-469.
- MOLINA, P.A. 1981. La abeja africanizada. Algunos aspectos sobre su origen, biología y manejo. Centro de Publicaciones U.N. Colombia. 36 pp.
- NOVOA, G.E. 1986. Apicultura y abejas africanas. SOMECOEX. México. 71 pp.
- NUNAMAKER, R.A., W.T. WILSON. 1981. Comparison of MDH allozyme patterns in the african honey bee (Apis mellifera adansonii L.) and the africanized population of Brazil. J. Kansas Entomol. Soc. 54(4):704-710.

- OTIS, G.W. 1982. Weights of worker honeybees in swarms. J. Apic. Res. 21(2):88-92.
- RINDERER, T.E. 1986a. Africanized honey bees in the Americas: Problems and solutions. Proceedings of American Farm Bureau Symposium on Africanized Bees. Atlanta, Georgia. Pp. 26-30.
- RINDERER, T.E. 1986b. Bee Genetics and Breeding: Sylvester, H. A. Biochemical Genetics. Academic Press. Pp. 177-203.
- RINDERER, T.E. & H.A. SYLVESTER. 1986. Field and simplified techniques for identifying africanized and european honeybees. Apidologie 17(1):33-48.
- _____ . 1987. Improved simple techniques for identifying africanized and european honeybees. Apidologie 18(2):179-196.
- RINDERER, T.E., K.W. TUCKER & A.M. COLLINS. 1982. Nest cavity selection by swarms of european and africanized honeybees. J. Apic. Res. 21(2):98-103.
- RINDERER, T.E., A.M. COLLINS, A.B. BOLTEN & J.R. HARBO. 1981. Size of nest cavities selected by swarms of africanized honeybees in Venezuela. J. Apic. Res. 20(3):160-164.
- RUTNER, F. 1975. The african races of honeybees. Proc. Inter. Apic. Cong. (Apimondia) 25:325-344.
- RZEDOWSKI, J. 1981. Vegetación de México. Limusa. México. 432 pp.
- S.A.R.H. 1986. Las abejas africanas y su control. Manual # 2. Orientaciones Técnicas. México. 84 pp.
- SEELEY, T.D. 1985. Honeybee Ecology. A study of adaptation in social life. Princeton University Press. 201 pp.
- SMITH, R.D. 1988. Mitochondrial DNA polymorphisms in five Old World subspecies of honeybees and in New World hybrids. In: Needham, G.R., R.E. Page Jr., M. Delfinado-Baker, & C. Bowman (eds.). Africanized honeybees and bee mites. Pp. 303-312.
- SMITH, R.K. 1988. Identification of Africanization in honeybees based on extracted hydrocarbons assay. In: Needham, G.R., & R.E. Page Jr., M. Delfinado-Baker, & C. Bowman (eds.). Africanized honeybees and bee mites. Pp. 275-280.

- SPIVAK, M.T., T. RANKEY, O. TAYLOR, W. TAYLOR & L. DAVIS. 1988. Discrimination of Africanized honeybees using behaviour, cell size, morphometrics and a newly discovered isozyme polymorphisms. In: Needham, G.R., R.E. Page Jr., M. Delfinado-Baker, & C. Bowman (eds.). Africanized honeybees and bee mites. Pp. 313-324.
- SPSS. 1988. SPSS-X Introductory Statistics Guide. Norusis/SPSS INC. Chicago, USA. 370 pp.
- STATGRAPHICS. 1986. User's guide. Statistical Graphics System by statistical graphics corporation. STSC U.S.A.
- SYLVESTER, H.A. 1982. Electrophoretic identification of africanized honeybees. J. Apic. Res. 21:93-97.
- SYLVESTER, H.A. & T.E. RINDERER. 1986. Africanized Bees: Progress in identification procedures. Am. Bee J. 126(5):330-333.
- SYLVESTER, H.A. & T.E. RINDERER. 1987. Fast africanized bee identification system (FABIS) manual. Am. Bee J. 127(7):511-516.
- TAYLOR, O.R. 1977. The past and possible future spread of africanized honeybees in the Americas. Bee World 58(1):19-30.
- TAYLOR, O.R. 1985. African bees: Potential impact in the United States. Bull. Entomol. Soc. Am. 31:14-24.
- TAYLOR, O.R. 1988. Ecology and economic impact of Africanized honeybees. In: Needham, G.R., R.E. Page Jr., M. Delfinado-Baker, & C. Bowman (eds.). Africanized honeybees and bee mites. Pp. 29-41.
- TAYLOR, O.R. & G.B. WILLIAMSON. 1975. Current Status of the africanized honeybee in Northern South America. Am. Bee J. 115(3):92, 93, 98, 99.
- TAYLOR, O.R. & M.D. LEVIN. 1978. Observations on africanized honey bees reported to South and Central American Government Agencies. Bull. Entomol. Soc. Am. 24(4):412-414.
- VILLA, J.D. & J.M. LABOUGLE. 1988. Range expansion of africanized bees in México. Am. Bee J. 810-811.
- WINSTON, M.L. 1979. Intra-colony demography and reproductive rate of the africanized honeybee in South America. Behav. Ecol. Sociobiol. 4:279-292.

- WINSTON, M.L. & G.W. OTIS. 1978. Ages of bees in swarms and afterswarms of the africanized honeybee. J. Apic. Res. 17(3):123-129.
- WINSTON, M.L. & S.J. KATZ. 1981. Longevity of cross-fostered honeybee workers (Apis mellifera) of european and africanized races. Can. J. Zool. 59:1571-1575.
- WINSTON, M.L., G.W. OTIS, & O.R. TAYLOR. 1979. Absconding Behaviour of the africanized honeybee in South America. J. Apic. Res. 18(2):85-94.
- WINSTON, M.L., O.R. TAYLOR, & G.W. OTIS. 1983. Some differences between temperate european and tropical african and south american honeybees. Bee World. 64(1):12-21.