

198
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO COMPARATIVO DEL DESARROLLO DE ABEJAS REINAS
DE DOS SUBESPECIES DE *Apis mellifera* L.
UTILIZANDO MARCADORES GENÉTICOS.
IMPLICACIONES EN EL PROCESO DE AFRICANIZACIÓN

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I O L O G O

PRESENTA :

CLAUDIA RIVERA DE ARELLANO JIMENEZ

MEXICO, D.F. JUNIO 1994

DIVISION

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCUELAS



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

CIUDAD UNIVERSITARIA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
División de Estudios
Profesionales
Exp. Núm. 55

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Universidad Nacional Autónoma de México.
P r e s e n t e .

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo
revisado el trabajo de tesis que realiz 6 1a pasante RAMIREZ DE
ARELLANO JIMENEZ CLAUDIA
con número de cuenta 8252572-8 con el título: ESTUDIO COMPARA-
TIVO DEL DESARROLLO DE ABEJAS REINAS DE DOS SUBESPECIES DE Apis
mellifera L. UTILIZANDO MARCADORES GENETICOS. IMPLICACIONES EN EL
PROCESO DE AFRICANIZACION.

Consideramos que reúne los méritos necesarios para que pueda conti-
nuar el trámite de su Examen Profesional para obtener el título de
BIOLOGO.

GRADO NOMBRE Y APELLIDOS COMPLETOS

FIRMA

M. EN C. ANA CECILIA MARTINEZ CRESCO

Director de Tesis

Ph. D. JUAN MANUEL LABOUGLE RENTERIA

BIOLOGO LUIS MANUEL GODINEZ GARCIA

M. EN C. JUAN CARLOS GAYTAN OYARZUN

Suplente

BIOLOGO FRANCISCO CID S.A. GABRIEL

Suplente

Ciudad Universitaria, D.F., a 16 de junio de 1994

A MIS PADRESpor todo su amor y apoyo.

A MIS HERMANOSpor todos los momentos que hemos compartido.

A MI AMOR.....por todo lo que me ha dado.

A MIS AMIGOS Y AMIGAS.....por todo lo que hemos disfrutado.

A MIS TIOS Y PRIMOS.....por la gran familia que somos.

AGRADECIMIENTOS:

A mi directora de Tesis la M. Ph. Ana Cecilia Martínez Crespo por sus comentarios y la dirección del trabajo.

A mis sinodales por la asesoría y orientación en la realización del trabajo:

Al Biólogo Francisco Cid San Gabriel.

Al M. en C Juan Carlos Gaytan Oyarzun.

Al Biólogo Luis Manuel Godínez García.

Al DR. Juan Manuel Labougle Renteria.

Especialmente quiero agradecer a las personas que de alguna manera colaboraron en la realización del presente trabajo:

Al Doctor Chip Taylor "The Old Drone"

A la M. en C. Margarita Chávez Cano

Al Biólogo Miguel Angel Ortiz.

Al Biologo Marco A. Arteaga.

Al Fisico Alejandro Valderrama

A Arturo Orta *et al.*

C O N T E N I D O

	Pag.
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	2
2.1 Antecedentes.....	3
2.1.1 El proceso de africanización.....	5
2.2 Biología de la reproducción.....	9
2.3 Técnicas de identificación y estudio.....	18
2.3.1 Análisis electroforético de aloenzimas.....	20
3. OBJETIVOS.....	25
4. MATERIAL Y METODO.....	26
4.1 Trabajo de campo.....	26
4.1.1 Cria de reinas.....	26
4.2 Trabajo de laboratorio.....	28
4.2.1 Técnica de electroforesis.....	28
4.3 Análisis estadístico.....	33
5. RESULTADOS.....	35
5.1 Interpretación de resultados.....	39
6. DISCUSION.....	49
7. CONCLUSIONES.....	59
8. COMENTARIOS FINALES.....	62
9. BIBLIOGRAFIA.....	63

- 1. RESUMEN

El proceso de africanización de las poblaciones de abejas europeas ha tenido gran impacto en América del Sur así como en México, ya que ha causado un sinnúmero de problemas en muchos aspectos como son: el aspecto biológico, apícola, de salud, etc. (Taylor, 1985).

Este proceso se puede definir como un cambio de las características, tanto genéticas así como conductuales de las poblaciones de abejas europeas a la llegada de las abejas africanas, lo que da como resultado una alta africanización de las poblaciones de abejas, predominando las características africanas sobre las europeas. Las condiciones tropicales favorecieron la adaptación de las abejas africanizadas al medio, entre otros factores.

Se han hecho numerosos trabajos para estudiar este fenómeno y se ha encontrado que los estudios electroforéticos han sido de gran utilidad para la identificación del proceso de africanización. Mediante estos estudios se ha encontrado que las frecuencias alélicas de dos enzimas, la malato deshidrogenasa (MDH) y la hexoquinasa (HK) difieren suficientemente entre las poblaciones de abejas africanizadas y las europeas como para ser usadas en la identificación de estas dos subespecies, así como para estudiar los cambios genéticos a nivel de subespecies, que se dan durante el proceso de africanización.

En este trabajo se estudió el desarrollo de abejas reinas de dos subespecies de *Apis mellifera* L. con el fin de comparar sus tiempos de desarrollo. Para ello se criaron reinas a partir de cuatro genotipos conocidos (un africano puro, un híbrido y dos genotipos europeos puros). Posteriormente, a la progenie de estas reinas se le hizo un análisis electroforético para comparar los genotipos obtenidos con sus respectivos tiempos de desarrollo, así como también para tratar de explicar uno de los pasos del proceso de africanización, ya que las reinas africanas son las que primero se desarrollan, lo que les da una ventaja sobre las europeas.

En este trabajo se obtuvieron 11 genotipos, en los cuales se pudo observar que los tiempos de desarrollo de las abejas africanizadas, así como el de las híbridas de madre africana, fueron los mas cortos (15 y 16 días) y que los tiempos de desarrollo de las abejas europeas e híbridas de madre europea fueron los mas largos (16 y 17 días).

Se pudo observar que los tiempos mas largos correspondieron a las híbridas de madre europea, en contraposición a lo que se pensaba en cuanto a que las abejas europeas presentarían tiempos de desarrollo mas largos.

Con base en los resultados obtenidos se concluye que el tiempo de desarrollo de las reinas es uno de los factores importantes, que influyen en el proceso de africanización de las poblaciones de abejas europeas.

2. INTRODUCCIÓN

Uno de los fenómenos biológicos mas controvertible y sorprendente de los últimos años ha sido la rápida dispersión de las abejas africanas en el continente americano. En 31 años, desde su establecimiento como población silvestre en el sur de Brasil (Kerr 1967), las abejas africanas han colonizado todas las regiones tropicales y subtropicales de América del Sur y América Central. México ha sido colonizado por estas abejas (Taylor 1988) y desde 1990 se están expandiendo en el Sur de los Estados Unidos de América. Ninguna otra especie había colonizado un área tan extensa en tan poco tiempo; a razón de 500 km. por año (Taylor 1985).

La llegada de las abejas africanas a una zona es seguida por: el rápido establecimiento de poblaciones silvestres, numerosos incidentes de picaduras tanto a hombres como a animales y por la africanización de los apiarios, con la eventual pérdida de abejas con características de las subespecies europeas y un descenso en la apicultura y la producción de miel (Taylor 1985 y Rinderer 1986).

Actualmente las abejas europeas en América del Sur y América Central se encuentran únicamente donde son mantenidas por los apicultores. Existe una pequeña población silvestre, probablemente porque las abejas europeas no están bien adaptadas a los trópicos. En cambio, la población africanizada, que se ha adaptado mejor a este medio, se está expandiendo como población

silvestre. Por lo tanto, solo unas pocas abejas europeas están presentes en muchas de las áreas donde las abejas africanizadas se están expandiendo. La oportunidad para el flujo génico de las abejas europeas es muy limitada (Sylvester, 1982).

Durante el proceso de africanización las poblaciones silvestres africanas que se establecieron se adaptaron muy bien a las condiciones tropicales. Estas abejas silvestres y los híbridos formados con las subespecies europeas se caracterizan por lo siguiente: defienden a sus nidos con gran intensidad, presentan enjambrazón excesiva (producción de colonias hijas), abandonan los nidos debido a la escasez de recursos o a su perturbación y desarrollan poblaciones silvestres de alta densidad, particularmente en tierras tropicales bajas (Kerr 1971). Numerosas preguntas han surgido acerca de este fenómeno que todavía no han sido aclaradas (Taylor 1991 b).

2.1 ANTECEDENTES

Las abejas melíferas pertenecen a un grupo de insectos, cuya clasificación es la siguiente: Orden Hymenoptera, suborden Apocrita, sección Aculeata (Hymenoptera con aguijón), superfamilia Apoidea (abejas), familia Apidae (dentro de esta se encuentran las abejas sociales), subfamilia Apinae, género *Apis* (abejas melíferas) (Morse y Hooper, 1985). Existen cuatro especies del género *Apis*, pero solo una de estas, *Apis mellifera* L., es usada comercialmente en la mayor parte del

mundo. *Apis florea*, la mas pequeña de las cuatro y *Apis dorsata*, la mas grande, se encuentran solo en los trópicos de Africa, mientras que *Apis cerana* y *Apis mellifera* se encuentran en climas tropicales y templados. Antes de que el hombre introdujera las especies de *Apis* a otras partes del mundo, la especie *A. mellifera* se encontraba solamente en Europa y África. En el Cercano Oriente la distribución de esta especie pudo haberse sobrepuesto con la de *Apis florea*. *Apis dorsata* se encontraba distribuida en Afganistán, Pakistán y actualmente también se encuentra en las Islas Filipinas. Por último, la distribución de *Apis cerana* probablemente se superpone con la de *Apis dorsata* y también se le encuentra en Asia tropical, y templada, incluyendo Japón, Corea y China. (Morse y Hooper, 1985).

Existen diferentes subespecies que se desarrollaron en distintas áreas que están separadas una de otra por barreras geográficas o por condiciones ecológicas. Estas subespecies presentan características morfológicas específicas y adaptaciones genéticas al ambiente (caracteres biológicos) adecuadas a su área original de distribución. Se han descrito cerca de 25 subespecies de *Apis mellifera*, incluyendo las que se usan en la apicultura. Esta especie se divide en tres grupos de razas geográficas: Europeas, Orientales y Africanas (Morse y Hooper, 1985).

Antes de 1770 no existían en América ninguna de las especies del género *Apis*: las culturas establecidas en mesoamérica

utilizaban otro grupo de abejas, las *Meliponinae* o abejas sin aguijón (Labougle y Zozaya, 1986).

La introducción de la abeja europea a México no fue directa, las evidencias indican que las abejas europeas de la raza *Apis mellifera mellifera* se introdujeron primero a Florida, a fines del siglo XVII, cuando esta península era posesión española, con la finalidad de obtener utilidad económica (Labougle y Zozaya, 1986). El experimento inicial en Florida no tuvo éxito, sin embargo, en 1764 se llevaron a Cuba colonias de *A. m. mellifera* de Florida y entonces la actividad apícola cobró gran importancia y tuvo una rápida dispersión en la isla. Es muy probable que haya sido entonces cuando se introdujo en la Nueva España desde Cuba, y a pesar de que no existe una fecha exacta de la introducción de esta abeja a México, hay algunas evidencias que sugieren que dicha introducción fue alrededor de 1770 y sólo en la región central del país (Labougle y Zozaya, 1986).

2.1.1 El proceso de Africanización en América.

En 1956 Warwick Kerr importó algunas reinas de abejas *Apis mellifera scutellata* de Sudáfrica al estado de Saõ Paulo, en el sur de Brasil. Su idea era utilizar estas abejas en un programa de mejoramiento genético, pero un año más tarde, en 1957, 26 abejas reinas junto con sus enjambres fueron accidentalmente liberadas (Kerr 1967). Se dice que a partir de ese momento las abejas africanas mostraron estar totalmente adaptadas al medio neotropical, e iniciaron un crecimiento explosivo que fue desplazando a las abejas europeas en Brasil (Taylor 1985.

Rinderer 1986). Comúnmente se cree que así fue como comenzó el proceso de africanización, pero hay dudas al respecto, ya que no parece lógico que a partir de 26 individuos reproductivos se haya dado una dispersión de tal magnitud, por lo que se piensa que hubo otros medios de introducción de estas abejas al medio ambiente y que muy probablemente esto fue mediante una distribución intencional de las reinas africanas a algunos apicultores de Brasil (White, 1991).

La dispersión de las abejas africanizadas alcanzó sus límites climáticos en Argentina (32° de latitud sur, 10° C de temperatura promedio) y tuvo en el oeste la barrera física y climática de los Andes. Hacia el norte alcanzó las Guayanas a principios de los años setenta, Venezuela en 1979, Panamá y Costa Rica en 1982 y 1983 (Labougle y Zozaya, 1986). Continuó su dispersión hacia el norte pasando por Centro América hasta su llegada a México en 1986 (Fig. 1) cuando fueron capturados los primeros enjambres en la región costera de Chiapas (Fierro *et al.*, 1987) (pasando por el Istmo de Tehuantepec Campeche, Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán). A partir de entonces han continuado su desplazamiento hacia el norte del país, principalmente a través de las costas y actualmente han ocupado ya la mayor parte del territorio nacional avanzando hacia el norte por las costas del Golfo, a través de San Luis Potosí, Tamaulipas en 1989, y las costas del Pacífico, pasando por Guerrero, Michoacán, Colima (1990) y Jalisco (Labougle, en prensa). En octubre de 1990 fueron detectadas por

primera vez en los EUA en el estado de Texas (USDA, 1990). Actualmente se encuentran dispersándose también por Nuevo México y fueron avistadas en Arizona en 1993 (Rinderer *et al.*, 1994).



Figura 1. Migración de las abejas africanizadas en América, (Rinderer *et al.*, 1994).

Ha habido controversias en cuanto al término más preciso para denominar a estas abejas híbridas que se han ido dispersando por todo el continente. Distintos autores proponen dos términos diferentes que pueden ser utilizados para llamar a estas abejas. El término de "abejas africanas" es sostenido por Taylor (1989)

que opina que estas abejas han permanecido distintas a las poblaciones de abejas europeas a causa de mecanismos de aislamiento reproductivo. también Hall y Muralidharan (1989) opinan que las abejas europeas prácticamente no han contribuido al acervo genético de las abejas africanas. El término de "abejas africanizadas" es sostenido por Rinderer (1986), quien opina que se ha dado un proceso de hibridación entre las abejas europeas y las africanas.

Sin embargo el término de "abejas africanas" no distingue entre las abejas de África y las que fueron introducidas en América e implica que las abejas de Latinoamérica son idénticas a sus ancestros africanos, que puede o no ser el caso (Winston 1992), por lo que para fines prácticos llamaremos a estas abejas "abejas africanizadas" en vez de africanas.

Las abejas europeas han evolucionado en climas templados, con recursos estables y pocos depredadores, mientras que las abejas africanizadas tienen un ancestro *A. m. scutellata* que evolucionó en clima tropical, caracterizado por presentar recursos impredecibles y muchos depredadores (como el caso de las sabanas en África), por lo que se han desarrollado como una subespecie de comportamiento hipersensible, muy activa y prolífica. Todas estas presiones han ocasionado que el comportamiento de las abejas africanizadas consista en desarrollar rápidamente sus colonias, que estas tengan alta capacidad de enjambrazón y de evasión (Taylor 1977, Otis 1982, Taylor y Spivak 1984), emigración a grandes distancias cuando las condiciones se vuelven adversas

(Taylor 1977) y un fuerte comportamiento defensivo de los recursos de la colonia ante cualquier depredador. Es decir; así como la abeja europea por selección natural y humana es un organismo bien adaptado a condiciones templadas, las abejas africanizadas son organismos con gran capacidad para responder a un medio tropical o subtropical (Taylor 1977).

El proceso de africanización de una región se puede dividir en tres fases (USDA, 1990):

1) Invasión: cuando las abejas africanas son detectadas en el área.

2) Hibridización: cuando las colonias de abejas africanas se vuelven una porción substancial de la población silvestre y se trasladan a los apiarios.

3) Dominación: cuando las abejas africanas dominan sobre las europeas y se estabiliza la población, es decir, las abejas europeas han casi desaparecido y las africanas se establecen tanto en las poblaciones silvestres como en los apiarios, normalmente la dominación se da a los 2 ó 3 años después de la invasión (USDA, 1990).

2.2 BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

En un ciclo de reproducción típico, una reina sale del nido 5 ó 6 días después de emerger, a aparearse en uno o varios vuelos de apareamiento, durante cada uno de los cuales se aparea con varios zánganos. El apareamiento se lleva a cabo en el aire en

grandes áreas de congregación de zánganos. Después, la reina regresa a su nido donde empieza a ovopositar para producir obreras, hasta que la colonia es suficientemente grande y fuerte para soportar la producción de los reproductivos: hijas reinas y zánganos. Las colonias de abejas se reproducen por un proceso conocido como enjambrazón. Éste consiste en la escisión de una parte de la colonia para formar otra nueva y comienza cuando las obreras inician la cría de reinas. El día o un día después de sellar la primera celda real, generalmente de 8 a 10 días después de que comienza la cría de reinas, la mayor parte de la colonia se va con la reina apareada, formando lo que se llama el enjambre primario. Cuando la primera reina virgen emerge, puede destruir al resto de las celdas reales, terminando así el proceso de enjambrazón (Winston, 1987 b). Sin embargo frecuentemente las obreras protegen las celdas reales impidiendo su destrucción. Después de uno a cuatro días un enjambre, llamado secundario, abandona la colonia con otra reina virgen emergida. Este proceso puede repetirse varias veces hasta que una reina destruye el resto de las celdas reales con ayuda de las obreras, sale y se aparea, convirtiéndose así en la única reina de la colonia. Cuando dos reinas emergen simultáneamente pelean hasta que solo una queda viva en el nido, ya que normalmente una colonia tiene una sola reina.

Desarrollo.

El desarrollo de las abejas mieleras se divide en cuatro estados: huevo, larva, pupa y adulto (Fig. 2). El tiempo de

desarrollo varía dependiendo del sexo (zángano o hembra), la casta (reina u obrera), la temperatura, la nutrición, así como también de la raza de las abejas.

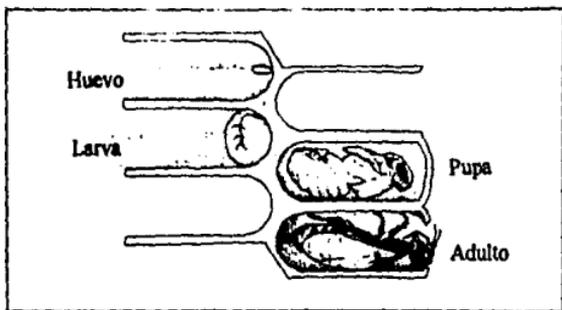


Figura 2. Etapas del desarrollo de la abeja melífera, (Winston, 1987 a).

Huevo.

Un sólo huevo es puesto por la reina en cada celdilla. El número de huevos que puede poner una reina es de aproximadamente 1500 diarios (Winston, 1987 a). Existe considerable variabilidad en el tamaño del huevo y en el tiempo de desarrollo: ambos tienen componentes genéticos y ambientales. El tiempo de desarrollo del huevo desde que es puesto hasta que queda en posición horizontal (antes de convertirse en larva), varía bastante (de 48 a 144 horas), con un promedio de 72 hrs. (3 días) aproximadamente. Las abejas tropicales tienen tiempos de desarrollo más cortos para todos los estados. El tiempo de desarrollo del huevo de las abejas africanas es de 70 a 71 hrs. en promedio y para las europeas es de 72 a 76 hrs. (Winston, 1987 a).

Larva.

Durante el estado larvario tanto obreras como reinas experimentan una muda diaria durante los cuatro primeros días y una quinta muda ocurre posteriormente. En los últimos días de vida de la larva ésta construye un capullo, a este último estado larval se le llama prepupa. La duración de los estados larvales también varía entre las castas y razas de abejas. El tiempo de desarrollo de las larvas es mas corto en las reinas, seguido por las obreras y finalmente por los zánganos. Para las reinas es de 3 a 5 días, el de las obreras varía entre 4 y 6 días y el de los zánganos de 4 a 7 días (Winston, 1987 a).

Pupa.

El estado de pupa presenta todas las características del estado adulto, excepto las alas, que son pequeñas y poco desarrolladas. Cuando la pupa se desarrolla, la cutícula se hace mas oscura. Los cambios de color se usan para determinar la edad de la pupa. La pupa no crece o cambia externamente de forma, pero internamente los músculos y órganos sufren cambios drásticos hacia la forma adulta. Este estado dura de 4 a 5 días en las reinas y de 8 a 9 días en obreras y zánganos.

Adulto

Al emerger, el cuerpo de la abeja es blando, la cutícula termina de endurecerse en las primeras 12 a 24 horas. La abeja completa su desarrollo durante los siguientes 8 a 10 días. Las obreras viven desde unos días hasta casi un año, dependiendo de las estaciones, la disponibilidad de alimento, la raza y las actividades que realicen durante su vida. Los zánganos

generalmente viven un promedio de 21 a 32 días durante la primavera y el verano, mientras que en el otoño pueden vivir hasta 90 días y durante el invierno son muy pocos los que sobreviven. Las reinas son las más longevas, generalmente viven de 1 a 3 años, aunque se han reportado tiempos de vida de 4 a 6 años (Winston, 1987 a).

Tiempo Total de Desarrollo.

El tiempo total de desarrollo citado para abejas europeas (desde la puesta del huevo hasta que emerge el adulto) es en promedio 16 días en reinas, 21 días en obreras y en zánganos 24 días (Fig. 3). Sin embargo existe variación considerable dependiendo del sexo y las castas, donde los rangos van de 14 a 17 días para reinas, de 16 a 24 días para obreras y de 20 a 28 días para los zánganos (Winston, 1987 a).

Según Winston (1987 a), gran parte de esta variabilidad se debe a factores ambientales, particularmente temperatura y nutrición. También hay bases genéticas para las diferencias del tiempo de desarrollo. Las abejas africanas tienen tiempos de desarrollo más cortos tanto para las obreras como para las reinas. Los híbridos de obreras entre razas europeas y africanas muestran tiempos de desarrollo intermedios, aproximadamente 20 días del huevo al adulto.



Figura 3. Tiempos de desarrollo de los estadios de abejas europeas (obreras, zánganos y reinas). (Winston, 1987 a).

Determinación del sexo y de las castas

Las abejas *Apis mellifera* son haplo-diploides; la determinación del sexo se da de la siguiente manera: huevos haploides (no fertilizados) dan origen a machos (zánganos) y huevos diploides (fertilizados) dan origen a hembras (reinas y obreras), a este tipo de determinación del sexo se le ha definido como haplodiploidía (Wilson, 1971 b).

Controlando la salida de esperma antes de la puesta del huevo, la reina determina cuando un huevo se convertirá en macho o hembra, ya que deposita huevos no fertilizados en celdas grandes para zánganos y huevos fertilizados en celdas chicas para obreras; para ello, es necesario que determine el tamaño de la celda antes de la puesta del huevo, para lo cual la reina realiza una inspección metiendo la cabeza y las patas delanteras dentro de la celda antes de ovipositar (Winston, 1987 b).

En la determinación de la casta (Fig. 4), intervienen varios factores, como son los distintos requerimientos nutricionales y hormonales, diferentes mecanismos de alimentación así como el tipo de celda (tamaño y posición), tanto en los estados larvales como en los estados adultos para cada caso. Aunque el tipo de celda es importante para determinar el desarrollo en reina u obrera, este no es el único factor determinante, la cantidad y calidad del alimento dado a una larva hembra en desarrollo define su casta y estos factores nutricionales actúan a través del sistema hormonal. Al alimento que se les proporciona a las larvas de reinas se le llama *jalea real* y está constituida por las secreciones de las glándulas hipofaríngeas de las obreras nodrizas y en menor proporción por la de las glándulas mandibulares. Incluye también componentes de las glándulas postcerebral y torácica. A este conjunto de glándulas se le denomina "complejo de la glándula salival" (Wilson, 1971 a). El alimento para obreras difiere en que tiene mas secreciones de glándulas mandibulares de las obreras y en la menor cantidad que se le da a la cría. La cantidad de *jalea real* no explica totalmente la diferenciación entre reinas y obreras. La larva de reina debe consumir mas alimento que las obreras para poder desarrollarse en reina adulta.

El principal estimulante alimenticio para las larvas de reinas es la *jalea real*, que contiene 34% de azúcar, a diferencia del alimento de las obreras, que consiste en una menor proporción de *jalea real* con solamente 12% de azúcar y a partir del tercer

dia de vida se les alimenta principalmente con néctar y polen (Winston, 1987 a).

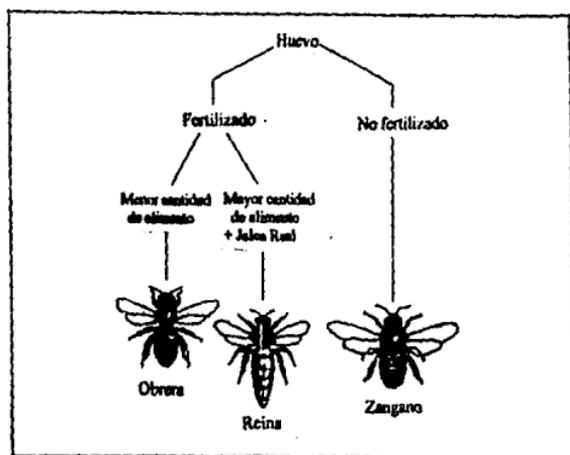


Figura 4. Factores que determinan la diferenciación del sexo y de las castas. (Winston, 1987 a).

Durante los primeros 3 días de vida a todas las larvas se les alimenta con lo mismo. La diferenciación de la casta se inicia a partir del cuarto día cuando cambia la alimentación y es un fenómeno gradual (Winston, 1987 a).

Cuando la alimentación de la larva se ha completado (aproximadamente 8 días), las obreras cierran la celda. Las celdas que contienen a las larvas de reinas son mas grandes que las de las obreras y el extremo terminal de la celda se dirige hacia abajo (formando lo que se conoce como el *cacahuete real*), en vez de quedar horizontalmente, como en celdas de zánganos y obreras (Free, 1977).

Cría de Reinas.

En una colonia no manipulada (silvestre), las obreras producen celdas especializadas para reinas (celdas reales), justo antes de la enjambración reproductiva, o para el reemplazo natural de una reina no deseada. La reina madre deposita un huevo en estas celdas reales y como ya se mencionó, el desarrollo del huevo o de la larva en obrera o reina es determinado por el tipo de celda en la cual se cría y por el tipo de alimentación que recibe de las obreras nodrizas. Generalmente, cualquier larva menor de 48 hrs. destinada a ser una obrera puede ser transplantada a una celda real y criarse como una reina, aunque en situaciones experimentales o situaciones extremas en una colonia, pueden usarse larvas de hasta 4 ó 5 días. Cuando se necesitan grandes números de reinas, las larvas pueden ser traslarvadas a copas artificiales llamadas copaceldas que son del mismo diámetro que las celdas reales normales. Estas copaceldas pueden colocarse en colonias sin reina y destinarse para la cría de reinas. Las obreras empiezan a extender estas copas hasta formar los cacahuates reales y transforman a estas larvas de obreras en reinas. De esta manera se puede desarrollar la cría artificial de reinas (Morse y Hooper, 1985).

2.3 TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN Y ESTUDIO

Se han usado diferentes técnicas para distinguir a las abejas europeas, africanas o africanizadas (USDA, 1990):

- Morfometría (medida de las diferentes partes del cuerpo).
- Medición del tamaño de las celdillas.
- Determinación de hidrocarburos cuticulares.
- Análisis electroforéticos de las enzimas MDH y HK.
- Análisis de DNA mitocondrial en sitios de restricción.
- Estudio de fragmentos de restricción nuclear.

Estos son algunos de los métodos para la identificación de abejas obreras, pero no todos se usan para la identificación de abejas reinas (USDA, 1990).

Rinderer y Sylvester (1981) han discutido las dos técnicas primarias que son usadas para identificar el proceso de africanización: los análisis morfométricos (medición y análisis de la forma y las distintas partes del cuerpo) y los análisis electroforéticos (Sylvester, 1982). Debido a la relevancia que tiene el distinguir a las abejas africanizadas, los métodos de identificación mediante electroforesis son más importantes para este fin, ya que son más confiables que los morfométricos.

La electroforesis se puede definir como la migración de partículas bajo la influencia de un campo eléctrico (Richardson *et al.*, 1986). Durante la electroforesis cada proteína se

desplaza o migra a través del sustrato, en un sentido y a una velocidad que depende de su carga eléctrica neta, de su tamaño y forma, de su peso molecular y de la viscosidad del sustrato. Esto permite una separación mas efectiva de moléculas de carga similar pero de diferente tamaño, así las moléculas mas grandes son mas lentas por la dificultad de moverse a través de los poros del sustrato.

La técnica de electroforesis hace posible estudiar la variación genética, así como las similitudes y las diferencias entre organismos a nivel de sus enzimas u otras proteínas. Esta técnica muestra que la estructura primaria de los aminoácidos de casi todas las proteínas varía en cada individuo, aun entre aquellos de la misma población (Richardson *et al.* , 1986).

La identificación genética representa una aplicación muy poderosa de la técnica de electroforesis de aloenzimas. En contraste con los métodos morfométricos, los marcadores genéticos tienen la ventaja de que son característicos tanto del organismo como de cualquier tejido derivado del mismo. Por lo tanto estos marcadores genéticos pueden ser usados en situaciones donde los métodos convencionales son inapropiados o inaplicables (Richardson *et al.* , 1986).

Hay una gran variedad de posibles aplicaciones de la electroforesis de aloenzimas a la identificación genética. Dos de las mas importantes son: 1) la identificación genética a nivel individual y 2) la identificación a nivel de especie (Richardson *et al.* , 1986).

En este trabajo nos interesa la identificación genética de subespecies. Las distintas subespecies se caracterizan por tener distintos "pools genéticos", y por lo tanto cabe esperar que haya diferencias genéticas entre individuos de dos subespecies cualesquiera.

El requerimiento mas importante para la identificación de especies o subespecies es que ciertas diferencias genéticas a nivel fenotípico, puedan servir como características diagnósticas. Es poco confiable usar menos de dos de estos marcadores diagnósticos debido a que los loci que aparentemente muestran diferencias entre las subespecies, pueden estar de hecho compartiendo alelos con una frecuencia baja. Cuando se usa un solo locus, el caso de que se presente un heterocigoto no muy común puede causar problemas de interpretación (Ndiritu *et al.*, 1986).

2.3.1 Análisis Electroforético de aloenzimas.

Una de las técnicas más efectivas para el estudio del proceso de africanización es la electroforesis en gel. Ha sido utilizada como herramienta para análisis genéticos, empleando proteínas enzimáticas como marcadores de la variación genética (un ejemplo es la electroforesis de aloenzimas). Estos marcadores genéticos son muy útiles para la identificación de individuos, el análisis de la estructura de las poblaciones, la delineación de los límites de las especies, y para la reconstrucción filogenética (Richardson *et al.*, 1986).

Dos sistemas de isoenzimas polimórficas, la malatodeshidrogenasa (MDH) y la hexoquinasa (HK), difieren suficientemente en las frecuencias con que se presentan en las poblaciones de abejas africanas y europeas como para ser utilizadas en su identificación. Las distintas formas alélicas para estas enzimas pueden ser identificadas mediante electroforesis en acetatos de celulosa (Taylor *et al.* 1991 a). Con esta técnica los alelos se pueden diferenciar por los rangos de migración relativos en las bandas teñidas sobre el acetato. Estas bandas son la representación de los genotipos que posteriormente sirven para la comparación con los genotipos de África, Europa y América del Sur.

Algunos datos provenientes de la electroforesis de las aloenzimas MDH y HK sugieren que los caracteres europeos presentes en la fase temprana de los procesos de hibridación de las poblaciones de abejas africanizadas y europeas se pierden rápidamente en la población silvestre (Del Lama *et al.*, 1988; Lobo *et al.*, 1989), quedando en su mayoría las características de las abejas africanas.

La electroforesis en geles y en acetatos de celulosa de poblaciones de abejas africanas y europeas ha mostrado que las dos subespecies difieren en las frecuencias alélicas en dos loci: malato deshidrogenasa (MDH) y hexoquinasa (HK). Estas diferencias raciales son de gran utilidad para monitorear el proceso de africanización de un área cuando las abejas africanizadas migran y se convierten en el tipo dominante de abeja en esa zona (USDA, 1990).

En estudios hechos con aloenzimas, se ha visto que solo la MDH, HK y PGM (fosfoglucomutasa) tienen alelos múltiples en frecuencia suficiente para ser usados en estudios de flujo génico y solamente la MDH y la HK muestran diferencias en las frecuencias alélicas entre los tres linajes identificados por DNA mitocondrial (Tabla 1). La MDH tiene 3 alelos comunes, que llamaremos MDH-1 (la proteína migrante mas rápida), MDH-2 (intermedia) y MDH-3 (lenta). Se ha citado que las abejas *A. m. mellifera* del oeste de Europa están representadas por MDH-2, las abejas del este del Mediterráneo presentan altas frecuencias de MDH-1 y MDH-3. Las abejas africanas presentan altas frecuencias de MDH-1 y MDH-2 y la MDH-3 está presente en muy bajas frecuencias. La HK tiene dos alelos; las poblaciones de abejas europeas son aparentemente monomórficas para el alelo mas rápido, HK-1; las abejas africanas *A. m. scutellata* poseen ambos alelos de la HK, con frecuencias de HK-2 en un rango de 0.49 a 0.69 en distintas poblaciones (Tabla 2).

La Hexoquinasa muestra diferencias en las frecuencias alélicas entre las abejas de Sudáfrica *A. m. scutellata* (fuente de población de las abejas neotropicales africanas derivadas) y ambos linajes de abejas europeas (Smith *et al.*, 1989).

Los alelos se han identificado por los rangos relativos de migración de las bandas teñidas (Ndiritu *et al.*, 1986). Como ha sido sugerido por Sylvester (1976) y confirmado por Contel y colaboradores (1977), se asume que las abejas heterocigas para dos alelos muestran tres bandas y las abejas homocigas muestran una sola banda (ver Fig. 5).

Europa del oeste	Localidad	No. Colonias	No. Abejas	MDH 1	MDH 2	MDH 3
<i>A. m. mellifera</i>	Noruega	6	405	0.04	0.05	0.11
	Noruega, Suecia, Dinamarca	9	90	0.03	0.95	0.02
Mediterraneo del este						
<i>A. m. agustica</i>	Italia	0	220	0.23	0.02	0.75
	Italia	5	313	0.29	0.07	0.64
<i>A. m. carnica</i>	Austria, Croacia	9	90	0.33	0.07	0.59
Africa						
<i>A. m. subellata</i>	Sud Africa	10	460	1.00	0.00	0.00
	Sud Africa	15	278	0.99	<.01	<.01
Europa del este						
<i>A. m. mellifera</i>	Localidad	No. Colonias	No. Abejas	HK 1	HK 2	
	Noruega	6	180	1.00	0.00	
<i>A. m. mellifera</i>	Noruega, Suecia, Dinamarca	9	90	1.00		
	Mediterraneo del este					
<i>A. m. agustica</i>	Italia	5	120	1.00	0.00	
<i>A. m. agustica</i>	Italia	15	90	1.00	0.00	
<i>A. m. carnica</i>	Austria, Croacia	9	90	1.00	0.00	
Africa						
<i>A. m. subellata</i>	Sud Africa	15	263	0.29	0.71	

Tabla 1. Frecuencias alélicas para Mdh y Hk en las poblaciones de abejas de Europa y Africa. Referencias: Smith et al., 1989; Del Lama et al., 1988

Localidad	MDH			HK		Col.	No.	Ind.
	1	2	3	1	2			
Irene	0.98	0.01	0.01	0.61	0.49	21		504
Pretoria	0.99	<.01	<.01	0.36	0.64	20		480
Wambatho	0.97	0.01	<.01	0.31	0.69	20		480
Tzaneen	0.99	<.01	0	0.37	0.63	12		288
Louis Trichardt	0.94	<.01	0.05	0.47	0.53	9		216
White River	0.98	0.01	<.01	0.43	0.57	34		916
Genotipos de reinas de la región Transval de Sud Africa								
	MDH			HK				
	1,1	1,2	1,3	1,1	1,2			No.
	0.957	0.026	0.017	0.086	0.664			116

Tabla 2. Frecuencias alélicas de las poblaciones de abejas de la región Transval de Sud Africa. Referencia: Taylor, 1993 en prep.

Una vez que se ha efectuado la electroforesis en gel o acetato, es necesario identificar las posiciones de los productos de las proteínas de un locus particular, que se manifiestan en forma de bandas en distintas posiciones sobre el sustrato. La manera más conveniente para detectar cada clase de proteína es tificando los *especímenes histológicos* mediante la utilización de ciertas tinciones histoquímicas. Las técnicas de tinción mas comunes usadas en electroforesis detectan algunas enzimas particulares. Como cada enzima cataliza una reacción específica, cualquier enzima puede ser localizada histoquímicamente, ya que el producto relacionado con su reacción se puede hacer visible. De esta manera se observaran bandas coloreadas en el acetato, dondequiera que el producto se haya formado por acción de la enzima correspondiente (Richardson *et al.* , 1986).

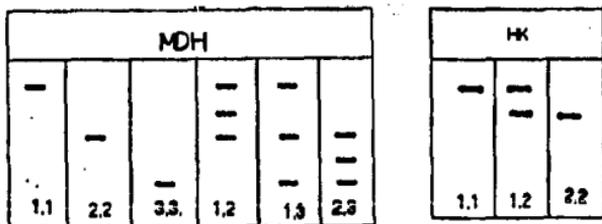


Figura 5. Patrón electroforético de MDH y HK en *Apis mellifera*.

3. OBJETIVOS

- Comparar los tiempos de desarrollo de las reinas de *Apis mellifera mellifera* y *Apis mellifera scutellata* para determinar cual de estas se desarrolla mas rápido.

- Relacionar los genotipos de las reinas con sus respectivos tiempos de desarrollo mediante el análisis electroforético de estas reinas, utilizando como marcadores genéticos las enzimas MDH y HK.

- Comprobar la hipótesis de que el tiempo diferencial de desarrollo es importante para explicar parte del proceso de africanización de poblaciones de abejas europeas.

4. MATERIAL Y METODO

Se trabajó con cuatro reinas, una africana pura (genotipo MDH 1.1 HK 2.2), una híbrida (MDH 2.3 HK 1.2) y dos europeas puras (MDH 3.3 HK 1.1 y MDH 2.3 HK 1.1), todas estas de la especie *Apis mellifera*, provenientes de enjambres de un sistema de trapeo, en la zona de Linares, N.L., en marzo de 1992.

Los enjambres se removieron de las trampas y posteriormente se analizaron mediante electroforesis para conocer el genotipo de estos. Esto se hizo para posteriormente comparar el tiempo de desarrollo de las reinas de las dos subespecies (*Apis mellifera scutellata* y *Apis mellifera mellifera*), así como también el de las híbridas.

Primero se utilizaron dos de las reinas (una africana y otra europea) y a los cinco días, se realizó una repetición con otro juego de reinas (una híbrida y una europea). Con la progenie de éstas cuatro reinas se determinó la duración del desarrollo de las reinas.

4.1 TRABAJO DE CAMPO

4.1.1 Cría de reinas

Se confinaron las reinas para tener un control preciso de su ovoposición y así poder establecer la edad exacta de las larvas que posteriormente se utilizarían para el traslarve. Las primeras dos reinas se confinaron el 12 de marzo de 1992 y las otras dos el 17 de marzo de 1992.

A cada reina se le colocó en un bastidor vacío que se introdujo en un confinador. (caja con dos excluidores de cada lado), que permite a las obreras el paso libre a través de los excluidores manteniendo a la reina reclusa (Morse y Hooper, 1985).

Al cuarto día de haberla confinado, la reina fue liberada y se sacó el bastidor con cría para el traslarve. Se sacaron las larvas y se colocaron cada una en una copa celda preparada previamente con un poco de jalea real. Las fechas en que se realizó el traslarve fueron: el 15 de marzo para la cría del primer juego de reinas y el 20 de marzo para la cría del segundo juego de reinas.

En cada barra para traslarve hubo 20 copaceldas y en el bastidor para la cría de reinas se colocaron tres barras de éstas, disponiéndose en total de 60 copaceldas, para cada una de las reinas madres.

Cada barra se marcó con el número de la colonia y la fecha del traslarve. Una vez listo el bastidor, se colocó dentro de una nueva colonia destinada a la cría de reinas. Estas colonias carecían de reina, y así las obreras fueron estimuladas para criar nuevas reinas.

Del 5º al 8º día las colonias se alimentaron, se revisaron y se observó si las larvas fueron aceptadas y si estaban siendo alimentadas por las obreras, las cuales comenzaron a construir las celdas reales para las larvas aceptadas.

A los cuatro días (8º día) de haber introducido en la colmena el bastidor con las copaceldas para cría de reinas; cuando las celdas reales ya estaban operculadas, se retiraron los

bastidores y se transfirieron a una incubadora a 34.2°C. Las copaceldas se introdujeron en frasquitos individuales. Las fechas en que fueron transferidas a la incubadora las hijas del primero y segundo juego de reinas fueron respectivamente el 24 y el 29 de marzo.

Durante los siguientes ocho días, del 8º al 15º día, se revisaron diariamente las celdas reales, asegurándose de que la temperatura y las condiciones de la incubadora fueran constantes.

A partir del séptimo u octavo día de haberlas puesto en la incubadora (14º ó 15º día) según fueran africanas o europeas, se empezaron a revisar los frasquitos cada dos horas, y se observó cuales fueron las primeras reinas en emerger y así se continuó revisando hasta que emergió la última de las reinas. Conforme iban emergiendo, a cada una de las reinas se les pesó e introdujo en pequeños tubos con la fecha, el número de la reina y el número de la colonia a la que pertenecía. Finalmente se fueron almacenando los tubos en un congelador a -10°C, para posteriormente realizar los corrimientos electroforéticos de cada una de las reinas. Ver Figura 6.

4.2 TRABAJO DE LABORATORIO

4.2.1 Técnica de electroforesis

Se utilizó la técnica de electroforesis en acetatos de celulosa, usando las enzimas MDH (malato deshidrogenasa) y HK (hexoquinasa) para la caracterización de los genotipos de las reinas, descrita por Richardson et. al. (1986).

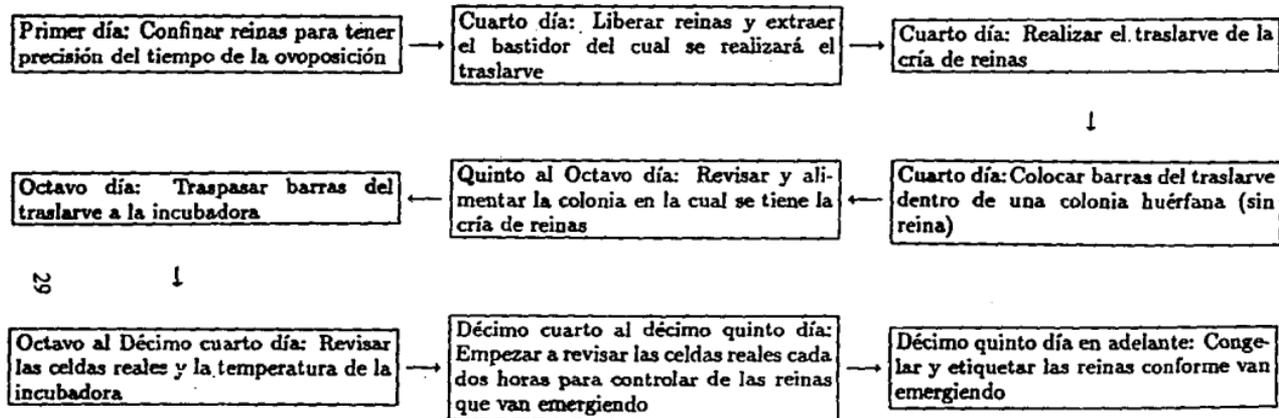


Figura 6. Metodología de la Cría de Reinas.

Para la extracción de las muestras se utilizó sólo la región del tórax de las reinas, las cuales fueron disectadas y colocadas cada una dentro de un microcontenedor de una charola serológica. A cada tórax se le agregaron dos gotas de buffer de extracción (mercapto etanol) y se maceraron con una varilla de vidrio, cuidando de limpiarla bien cada vez para no contaminar unas muestras con otras. Finalmente se agregaron otras tres gotas del mismo buffer y se dejaron las muestras reposando un mínimo de dos horas en el refrigerador a -4°C .

Para marcar los acetatos se procedió de la siguiente manera: Se tomó una alícuota de .05 ml de cada una de las muestras de tórax con una micropipeta de precisión (PIPETMAN), y se depositaron las alícuotas en cada uno de los 12 micropozos de una charola de aplicación. Una vez cargada la charola de aplicación, se tomó un acetato (previamente remojado en buffer "B" por lo menos durante 15 min.) y se le colocó en la base de aplicación. Con el aplicador, que consta de 12 microdosificadores de alambre, se toman simultáneamente las muestras de la charola de aplicación y se le coloca en la base de aplicación para marcar el acetato. Para la MDH se marcó sólo un origen y para la HK se marcaron dos orígenes. Se anotó en el acetato el tipo de enzima (MDH o HK), el número de la reina y el número de la colonia a la que pertenece.

Una vez marcados los acetatos se colocaron dentro de la caja de corrimiento, y se encendieron la fuente de poder y el cronómetro de acuerdo a la siguiente tabla (Richardson *et al.*, 1986):

MDH de 190 a 210 voltios durante 30 minutos

HK de 160 a 180 voltios durante 17 minutos

La caja de corrimiento electroforético consiste de una caja con dos charolas, que se llenan con una solución amortiguadora para electrodos (Buffer "F"), y a las cuales se les pone una tira de papel filtro que funciona como la conexión eléctrica entre el acetato y las charolas. A estas charolas van conectados dos electrodos, uno positivo (ánodo) en una de ellas y uno negativo (cátodo) en la otra. El acetato es colocado entre las charolas, sobre el borde de ellas, cuidando de que haga firme contacto con éstas. Al colocarlo, se pone la parte donde se marcó el origen del lado del cátodo, de manera que el corrimiento de las enzimas (a partir del origen) vaya desde el cátodo hacia el ánodo.

Se sacaron del congelador los frasquitos previamente preparados con la solución para las enzimas HK y MDH, se les puso en agua y en la obscuridad para que se descongelaran. Dicha solución es un sustrato específico para cada una de las enzimas (malato para MDH y glucosa para HK), el cual hará reacción con la enzima.

Se preparó la solución de agar al 1% (calentando la solución hasta ebullición), y se mantuvo su temperatura estable, lo suficientemente caliente para que el agar no se gelificara.

A los 17 y a los 30 minutos para HK y MDH respectivamente, se apagaron las fuentes de poder y se sacaron los acetatos, que fueron puestos en pequeñas cajas de plástico.

A continuación se vertió el contenido de los frasquitos para llevar a cabo la reacción del sustrato con la enzima y

posteriormente su revelado (tinción de las proteínas) para poder hacer visible dicha reacción enzimática.

Para llevar a cabo la tinción, se les agregó a los frasquitos:

para HK: 2 gotas de Glucosa-6 PDH y
2 gotas de PMS (metasulfato de fenacina), que
es usado para transferir el ion de hidrógeno
del NAD a una de las sales de tetrazolium.

para MDH: 2 gotas de PMS

Mas 1 ml. de agar en ambos casos.

Una vez listos los frasquitos, se vertió su contenido sobre el acetato correspondiente y se metieron las cajas con los acetatos durante unos minutos en un lugar oscuro para llevar a cabo la reacción y la tinción de las proteínas. Para esto se tuvo que esperar unos minutos y después revisar si ya se habían teñido. Una vez que se tiñeron, se enjuagaron y se procedió a hacer la lectura de éstos.

La lectura e interpretación de los acetatos se realizó de acuerdo al número de bandas desplegadas en el acetato. Cada banda representa una isoenzima, que en términos electroforéticos es definida como enzima que comparte un sustrato común pero con distinta movilidad electroforética. De esta manera se pudieron observar tres bandas en el caso de la MDH y dos bandas en el caso de la HK.

Finalmente se anotaron los resultados para posteriormente comparar los genotipos obtenidos con los tiempos de desarrollo de cada una de las reinas. Ver figura 7.

4.3 ANALISIS ESTADISTICO

El propósito de la tesis es el estudio del tiempo de desarrollo de 11 genotipos que se agrupan en 4 grupos:

- 1- Africanos puros
- 2- Híbridos de madre africana
- 3- Híbridos de madre europea
- 4- Europeos puros

Para el análisis estadístico se hizo una prueba que compara los tiempos medios de desarrollo de estos 4 grupos. Para evitar posibles violaciones a los supuestos en la prueba paramétrica que corresponde a un análisis de varianza con un criterio de clasificación, se realizó la prueba no-paramétrica correspondiente: la prueba de Kruskal Wallis (Conover, 1980). En ésta se establece como hipótesis nula que todos los grupos tienen tiempos medios de desarrollo iguales contra la hipótesis alternativa de que algunos de los grupos tienden a tener tiempos medios de desarrollo más grandes.

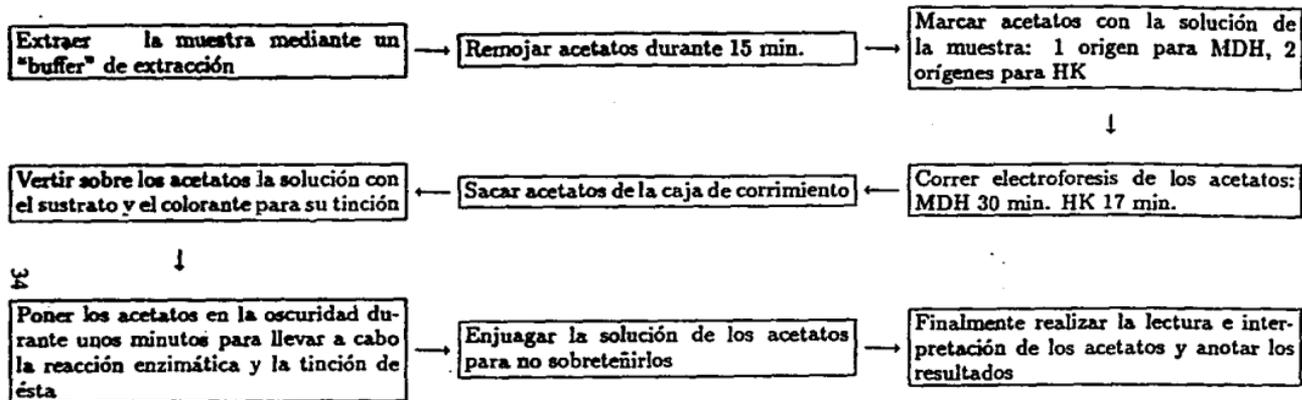


Figura 7. Metodología de la Electroforesis.

5. RESULTADOS

Se obtuvieron 11 genotipos distintos (con un total de 171 individuos) (Tabla 3). 6 provenientes de madre africana pura y madre híbrida africana (Gráfica 1) y 5 provenientes de madre europea pura (Gráfica 2).

El alelo 1 para MDH es característico de las abejas africanas y los alelos 2 y 3 para esta enzima son característicos de las abejas europeas. Para la HK la combinación de los alelos 1.2 y ocasionalmente 2.2 son características de las abejas africanas y la combinación 1.1 para esta enzima es característica de las abejas europeas (Smith *et al.*, 1989).

Los genotipos obtenidos fueron:

Genotipos de madre africana pura y madre híbrida africana:

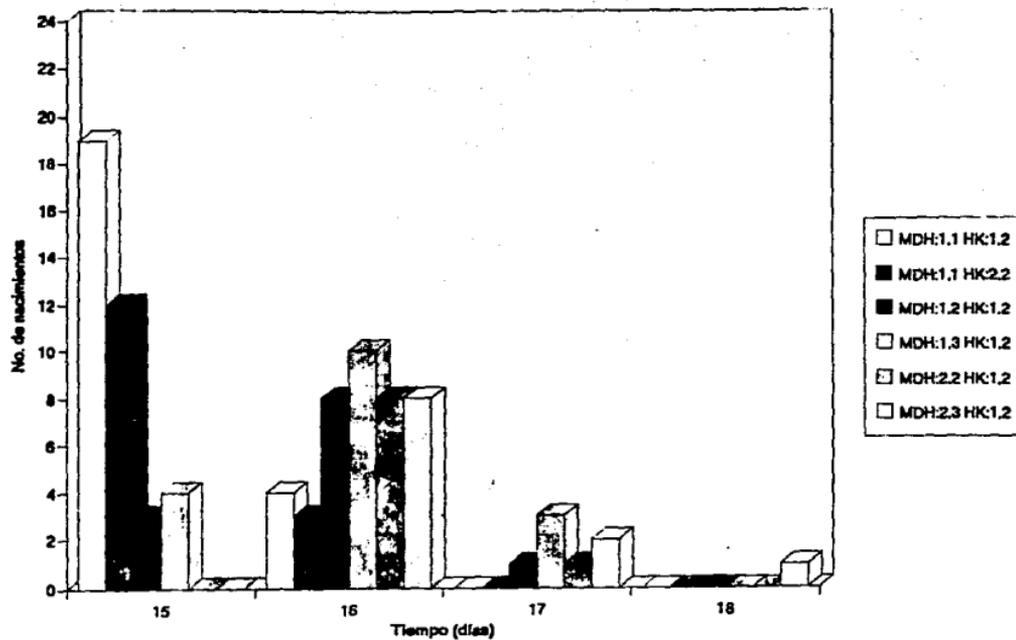
			Tot. Indiv.	Frec. Genotípica
MDH 1.1	HK 1.2	Africano puro	23	.13
1.1	2.2	" "	15	.09
1.2	1.2	Híbrido	12	.07
1.3	1.2	"	17	.10
2.2	1.2	"	9	.05
2.3	1.2	"	11	.06

Genotipos de madre europea pura:

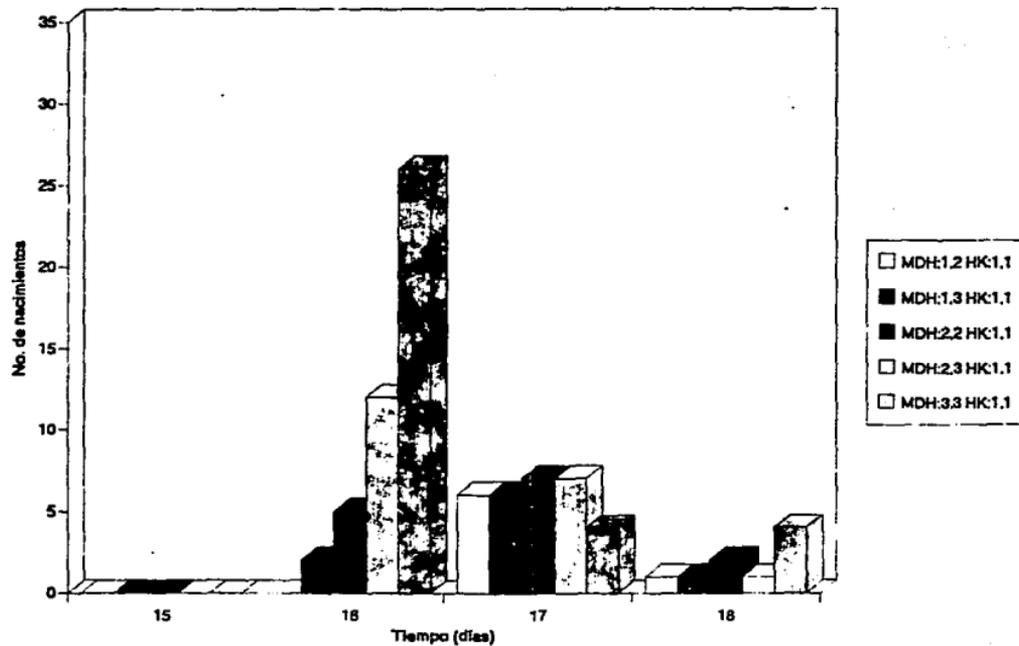
MDH 1.2	HK 1.1	Híbrido	7	.04
1.3	1.1	"	9	.05
2.2	1.1	Europeo puro	14	.08
2.3	1.1	" "	20	.12
3.3	1.1	" "	34	.20

hom	Genotipos Africanos						Genotipos Europeos					
	MDH-1.1 FHC-1.2	MDH-1.1 FHC-2.2	MDH-1.2 FHC-1.2	MDH-1.3 FHC-1.2	MDH-2.2 FHC-1.2	MDH-2.3 FHC-1.2	MDH-1.2 FHC-1.1	MDH-1.3 FHC-1.1	MDH-2.2 FHC-1.1	MDH-2.3 FHC-1.1	MDH-3.3 FHC-1.1	
366	4	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
368	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	
370	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
372	2	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
374	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
376	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
378	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
380	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
382	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
384	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
386												
388												
390	1	2	2	2	1	0	0	0	1	4	6	
392	2	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2	
394	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	4	
396	1	0	0	0	2	0	0	1	1	1	4	
398	0	0	2	1	2	3	0	0	1	2	2	
400	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	
402	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
404	0	0	2	2	0	3	0	0	0	1	4	
406	0	0	1	2	2	0	0	0	2	0	2	
408	0	0	1	3	1	1	0	0	0	0	0	
410												
412												
414	0	0	1	2	1	1	0	0	0	0	0	
416	0	0	0	0	0	0	3	0	2	2	3	
418	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
420	0	0	0	0	0	0	1	4	2	0	0	
422	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
424	0	0	0	0	0	0	2	0	2	1	0	
426	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0	
428	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
430	0	0	0	1	0	0	0	2	1	1	1	
432	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
434												
436												
438	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
440	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	2	
442	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	
T. prom. en hrs.	376.70	374.67	394.00	397.88	401.33	408.36	422.20	418.89	416.29	406.70	404.41	
Por. de indiv.	23	13	12	17	9	11	7	9	14	20	34	

Tabla 3. Tiempo de desarrollo en horas y número de individuos de los genotipos Africanos y Europeos.



Gráfica 1. Número de individuos de cada uno de los genotipos de madre Africana que nacieron en un periodo de 15 a 18 días.



Gráfica 2. Número de individuos de cada uno de los genotipos de madre Europea que nacieron en un periodo de 16 a 18 días.

Un dato adicional que se obtuvo fué el peso de las reinas en el momento en que estas emergieron. Los resultados que se obtuvieron mostraron una gran dispersión de los pesos promedio de todos los genotipos de las reinas africanas, híbridas y europeas, sobre todo de estas últimas, ya que estas tuvieron a los individuos tanto de mayor como de menor peso (Tabla 4 y Gráfica 3).

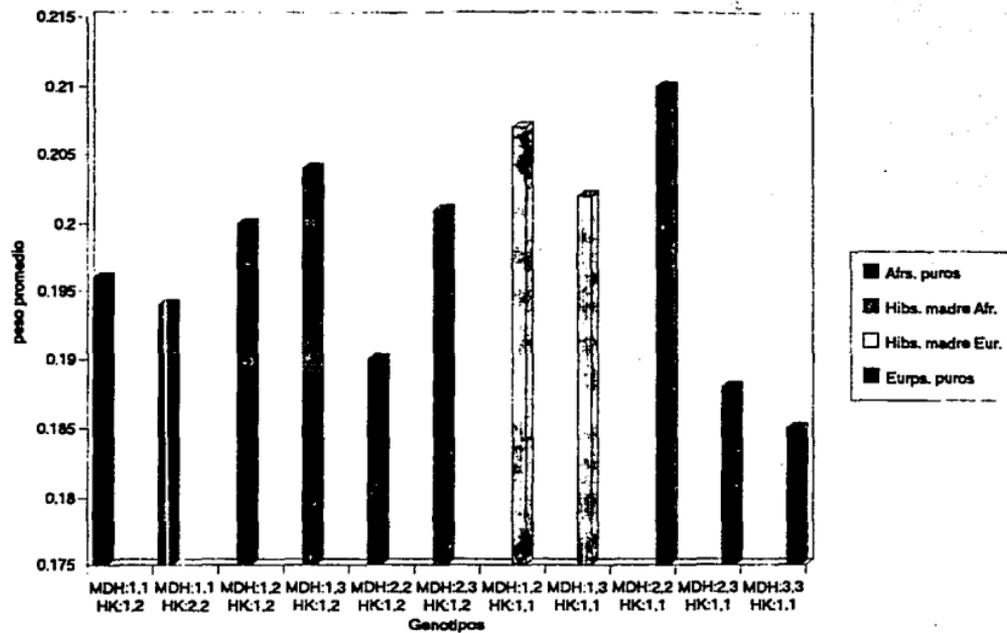
5.1 Interpretación de Resultados.

Se ha citado que las reinas africanas (*A. m. scutellata*) se desarrollan en 15 días, un día menos que las reinas europeas (Fletcher, 1978; Fletcher y Tribe, 1977, citado por Taylor, 1993 en prep.), ya que la tasa metabólica de las abejas africanas es mas alta que la de las abejas europeas (Harrison y Hall, 1993). Con los resultados obtenidos se observa claramente una diferencia cuantitativa en el tiempo de desarrollo de las reinas (Gráfica 4). Las reinas africanas nacieron a los 15 y 16 días, mientras que las reinas europeas nacieron un día después, es decir a los 16 y 17 días, habiendo un traslape de reinas africanas y europeas en el día 16.

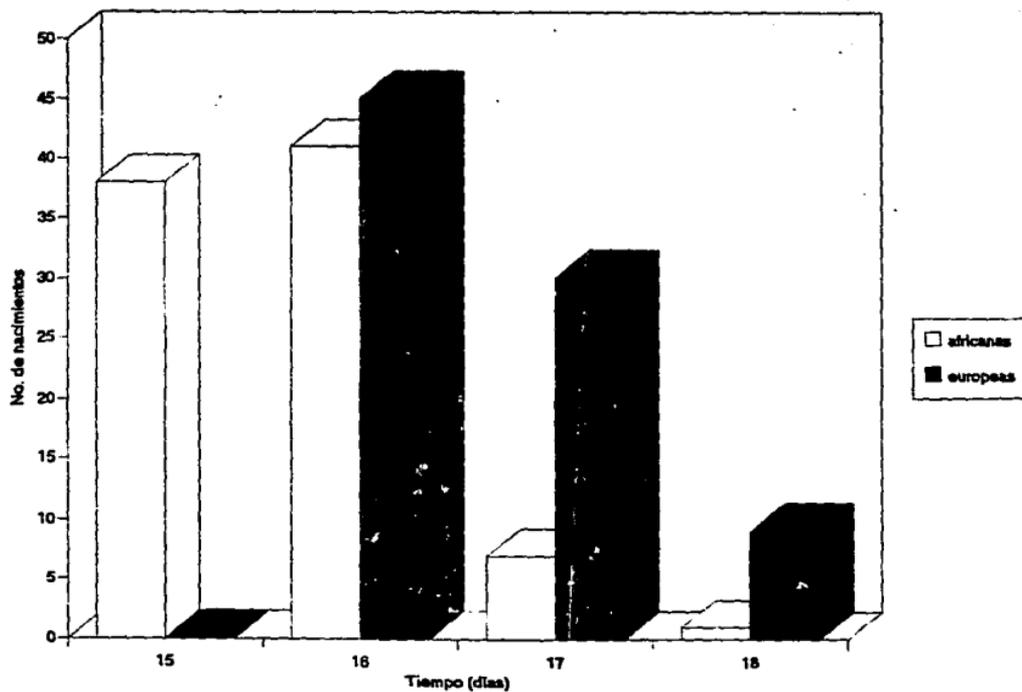
Debido a que una abeja reina se aparee con varios zánganos (Seeley, 1985, a), su progenie femenina se deriva de diferentes patrilíneas, dando como resultado una progenie híbrida, que presenta distintos genotipos que se desarrollan en diferentes tiempos. Esto se observa en las gráficas 1, 2 y 5.

Sem	Genotipos Africanos					Genotipos Europeos					
	MDH:1,1 HC:1,2	MDH:1,1 HC:2,2	MDH:1,2 HC:1,2	MDH:1,3 HC:1,2	MDH:2,2 HC:1,2	MDH:2,3 HC:1,2	MDH:1,3 HC:1,1	MDH:1,3 HC:1,1	MDH:2,2 HC:1,1	MDH:2,3 HC:1,1	MDH:3,3 HC:1,1
366	0.194	0.197		0.172							
368		0.209		0.196							
370	0.186	0.180	0.209								
372	0.177	0.194	0.202								
374	0.189		0.178								
376	0.194										
378	0.214	0.196									
380	0.207	0.199									
382				0.230							
384											
386											
388											
390	0.201	0.187	0.194	0.191	0.170				0.215	0.174	0.186
392	0.192	0.195							0.156	0.181	0.175
394									0.164	0.164	0.179
396	0.234				0.184			0.206	0.197	0.163	0.201
398			0.204	0.225	0.197	0.205			0.219	0.175	0.158
400						0.203					0.211
402											
404			0.202	0.209		0.209				0.184	0.176
406			0.187	0.215	0.186				0.209		0.204
408			0.210	0.203	0.217	0.192					
410											
412											
414			0.213	0.201	0.192	0.222					
416							0.197		0.215	0.195	0.198
418											
420							0.212	0.207	0.210		
422											
424							0.217		0.210	0.231	
426						0.195				0.219	
428											
430				0.205					0.211	0.210	0.212
432											0.242
434											
436											
438						0.167					
440							0.212	0.202	0.211	0.190	0.152
442									0.204	0.190	0.147
Peso promedio	0.199	0.195	0.200	0.205	0.191	0.199	0.210	0.196	0.210	0.190	0.186

Tabla 4. Peso promedio por hora de los genotipos Africanos y Europeos.



Gráfica 3. Peso promedio de los genotipos Africanos, Europeos e Híbridos.

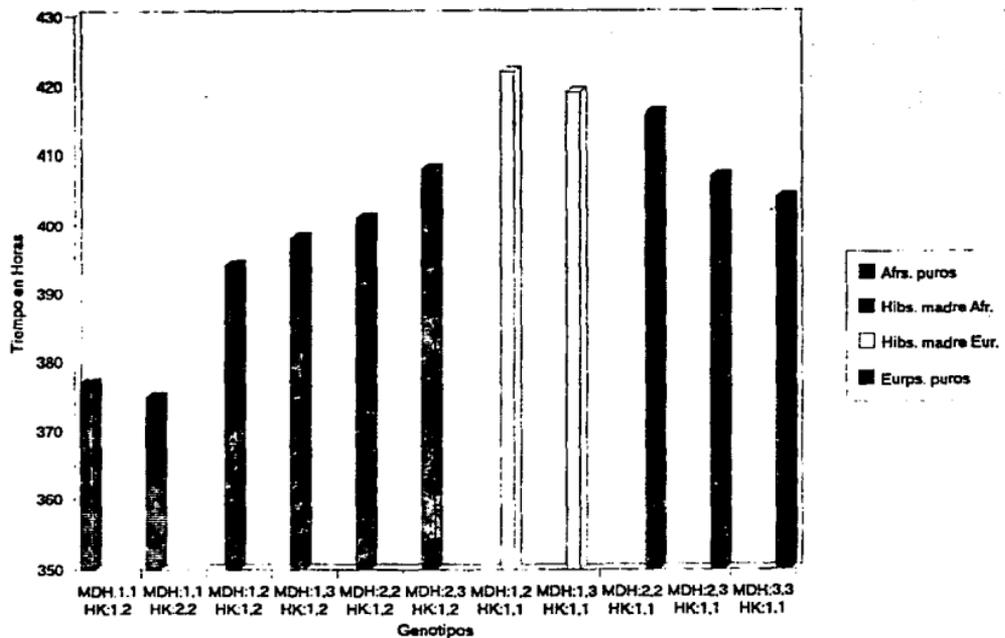


Gráfica 4. Número de nacimientos de abejas reinas Africanas y Europeas en 15, 16, 17 y 18 días.

Se espera que las reinas hijas con mayor proporción de caracteres africanos (reinas africanas apareadas con zánganos africanos) se desarrollen más rápido que las reinas híbridas y que las reinas europeas, lo que posiblemente les de mayor probabilidad de sobrevivir, ya que la primera reina en emerger destruye al resto de las reinas (Winston, 1987. b).

De los distintos genotipos obtenidos, los genotipos MDH 1.1 HK 1.2 y MDH 1.1 HK 2.2 (africanos puros), fueron los que primero se desarrollaron de todos los genotipos (Gráfica 5), teniendo el primero el mayor número de individuos en comparación con el resto de los genotipos africanos (Gráfica 1). Ese genotipo es el mismo que el genotipo característico de las poblaciones de África y Brasil, y es el genotipo representativo de las abejas africanas (Nunamaker *et al.*, 1984). Posteriormente se desarrollaron los genotipos híbridos de madre africana (pura o híbrida): MDH 1.2 HK 1.2 MDH 1.3 HK 1.2 MDH 2.2 HK 1.2 y MDH 2.3 HK 1.2 (Gráfica 5).

El genotipo MDH 3.3 HK 1.1 (el mas europeo), es el que cuenta con el mayor número de individuos que nacieron en 16 días (tiempo promedio de desarrollo para abejas europeas), Gráfica 2. Este genotipo también es el mismo que el genotipo característico de las poblaciones de abejas de Europa. Con este genotipo se desarrollan también casi al mismo tiempo los genotipos MDH 2.3 HK 1.1 (europeo puro) y MDH 2.3 HK 1.2 (híbrido de madre africana). El genotipo MDH 1.2 HK 1.1 (híbrido de madre europea) fue el último en desarrollarse de todos los genotipos (Gráfica 5).



Gráfica 5. Tiempo promedio de desarrollo de los genotipos Africanos, Europeos e Híbridos.

Los genotipos híbridos tanto de madre híbrida africana como de madre europea, resultado de cruzas de reinas africanas con zánganos europeos y de reinas europeas con zánganos africanos, en general tienen un tiempo de desarrollo mas lento comparativamente con el de los genotipos puros africanos y con los híbridos de madre africana pura, según se observa en la gráfica 5. Los genotipos híbridos de madre africana pura nacen antes que los genotipos europeos puros y los híbridos de madre híbrida africana nacen al mismo tiempo que los europeos puros. Los genotipos representados en la Gráfica 1 son unos de madre africana y otros de madre africana híbrida y los de la Gráfica 2 son todos de madre europea.

Entonces tenemos que los primeros en nacer son los genotipos africanos puros, después los genotipos híbridos de madre africana pura, luego nacen los genotipos europeos puros junto con los genotipos híbridos de madre híbrida africana y finalmente nacen los genotipos híbridos de madre europea pura, esto se observa en la Gráfica 5.

De estos resultados podríamos inferir que los genotipos híbridos de madre híbrida están en desventaja con respecto a los genotipos africanos e igual que los europeos. Pero los híbridos de madre africana pura están en ventaja con respecto a los genotipos europeos puros. Esto refuta la idea que se tenía con respecto a los híbridos, ya que se pensaba que estos estaban en ventaja con respecto a los genotipos europeos (Coelho y Mitton, 1988).

Según se deduce de la Gráfica 5, los genotipos híbridos "más africanos" se desarrollan antes que los genotipos híbridos "más europeos". A este respecto podríamos decir que dentro de los genotipos híbridos, los primeros están en ventaja con respecto a los últimos.

Los resultados del análisis estadístico son los siguientes:

Según la prueba de Kruskal Wallis (Conover, 1980), se calculó la variable estadística T mediante la siguiente fórmula:

$$T = \frac{1}{S^2} \left(\sum \frac{R_i^2}{n_i} - \frac{N(N+1)^2}{4} \right).$$

donde

$$S^2 = \frac{1}{N-1} \left(\sum R(X_{ij})^2 - N \frac{(N+1)^2}{4} \right)$$

y

N = número total de individuos

n = número de individuos de cada grupo

R = rango de cada grupo

Entonces tenemos que:

$$T = 74.90$$

Ahora comparamos este valor con el valor de X^2 en tablas.

Como $k=4$ (número de grupos), consideramos los cuantiles de una distribución $X^2_{(3)}$.

Considerando un valor de significancia de 0.001 (error) o bien de 0.999 (confiabilidad), tenemos que:

$$W = 16.27$$

Si comparamos el valor de T con el de W , podemos observar que son muy diferentes, por lo tanto, la prueba es altamente significativa, con $p \ll 0.001$ de error.

Lo que procede ahora es hacer una prueba de Comparaciones Múltiples, para saber que grupos son los que hacen la diferencia. Al comparar unos grupos con otros mediante esta prueba obtenemos lo siguiente:

Grupos	$\left \frac{R_i}{n_i} - \frac{R_j}{n_j} \right $	$t_{1-(\alpha/2)} (S^2 \frac{N-1-T}{N-k})^{1/2} (\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j})^{1/2}$
1 y 2	61.82	24.68
1 y 3	111.10	34.02
1 y 4	76.45	23.12
2 y 3	49.27	32.87
2 y 4	14.62	21.39
3 y 4	34.64	31.72

Donde:

$$N-k=171-4=167$$

$$t_{(167)}^{0.999} = 3.0902$$

Si en un mismo renglón el valor en la segunda columna es mayor que el de la tercera columna, esto indica que hay diferencia entre los grupos y si es menor significa que los grupos son iguales.

La prueba no paramétrica de comparaciones múltiples revela que todos los grupos son diferentes entre sí, excepto los grupos

2 y 4. Esto último significa que se puede considerar equivalente el tiempo medio de desarrollo de los híbridos de madre africana con el de los europeos puros.

Comparando estos resultados con la gráfica 5 podemos comprobar que los genotipos que más se asemejan en tiempo medio de desarrollo son precisamente dos de los genotipos híbridos de madre africana (el MDH 2.2 HK 1.2 y MDH 2.3 HK 1.2) con dos de los genotipos europeos puros (el MDH 2.3 HK 1.1 y MDH 3.3 HK 1.1). El resto de los genotipos son distintos entre sí en cuanto al tiempo de desarrollo.

6. DISCUSIÓN

Según Fletcher (1978) y Fletcher y Tribe (1977) (citado por Taylor, 1993 en prep.), las reinas de *Apis mellifera scutellata* se desarrollan mas rápidamente que las reinas de abejas europeas. Esto es debido al alto metabolismo que presentan las abejas africanas (Harrison y Hall, 1993). En experimentos hechos por Taylor (1993, en prep.) se hicieron distintas cruzas de reinas europeas (E) y africanas (A), mediante inseminación artificial con semen de líneas puras, con el fin de determinar y comparar los tiempos totales de desarrollo para los distintos genotipos de reinas hijas (EE, EA, AA y AE, respectivamente, según sean madre y padre europeos, etc.). Se citó que el tiempo de desarrollo para EE fue de 16.5 días y el de AA fue de 15.5 días. En contra de lo esperado, los tiempos de desarrollo para EA y AE no fueron intermedios entre los dos tipos puros AA y EE. Entre los híbridos, el tiempo medio de desarrollo no tiene un patron específico, ya que es casi el mismo que el de la línea materna, indicando un efecto materno muy fuerte (Taylor, 1993 en prep.).

En este trabajo se utilizaron reinas de libre fecundación con los zánganos existentes en el medio, a diferencia del trabajo de Taylor, donde las reinas fueron inseminadas artificialmente. Las reinas fueron obtenidas de una selección de 200 reinas provenientes de distintos enjambres, escogiendo los genotipos puros con respecto a los marcadores genéticos utilizados. La progenie mostró en algunos casos cierto grado de hibridación. Esto fue de gran ayuda, ya que nos dio un rango muy amplio de

genotipos para comparar entre si. 11 de los 18 distintos genotipos. De esta manera se pudieron comparar los 11 genotipos distintos con sus respectivos tiempos de desarrollo, pudiendo observar las diferencias que hay entre los genotipos africanos, europeos e híbridos.

Harrison y Hall' (1993) encontraron que la descendencia de madres africanas y padres africanos tienen las capacidades metabólicas mas altas y que la descendencia de madres y padres europeos tiene substancialmente capacidades metabólicas mas bajas. También encontraron que la F1 y las retrocruzas de híbridos tienen capacidades metabólicas tan bajas o aún mas bajas que las de los europeos "puros" y que la descendencia de reinas europeas y zánganos africanos tiene la capacidad metabólica mas baja.

Según Taylor (1993, en prep.), debido a que el alelo 2 de la HK está prácticamente ausente en las subespecies europeas y se encuentra en altas frecuencias en *A. m. scutellata* y en las poblaciones descendientes de esta subespecie, los factores que promueven la alta frecuencia de HK de reinas heterócigas (HK 1.2, genotipo característico de las poblaciones de África), deben de ser también factores que promueven la retención de genes africanos en la población neotropical africana silvestre.

Los factores que pueden favorecer a los heterócigos para la HK en reinas (Taylor, 1993 en prep.), incluyen:

1.- El desarrollo mas rápido de las reinas heterócigas para la HK. Si la larva de estas reinas madura y emerge mas rápidamente que la de las reinas homócigas para la HK (HK 1.1, genotipo característico de las poblaciones de Europa), esta reina podrá matar a sus reinas rivales que están en desarrollo y se convertirá en la nueva reina de la colonia.

2.- La selección que hacen las obreras durante el estado larval. Las obreras alimentarán preferencialmente a las larvas de reinas con genotipo heterócigo para la HK.

3.- La selección que hacen las obreras después de que emerge la reina. Algunas veces las obreras pueden matar a las reinas homócigas para la HK.

4.- Mayor longevidad de reinas heterócigas. Esto implica que un mayor número de reinas viven hasta la edad reproductiva. Por ejemplo, se producen mas enjambres primarios formados por reinas heterócigas que por las homócigas.

5.- Mayor tasa de sobrevivencia durante la dispersión.

Suponiendo que hubiera una preferencia de las obreras por escoger a reinas heterócigas, podríamos decir que éstas tienen cierta ventaja sobre las homócigas. Si además las reinas heterócigas emergen antes que las homócigas, entonces el tiempo de desarrollo es importante desde el punto de vista de la sobrevivencia.

Por otra parte, según Seeley (1985 a), la estructura de parentesco dentro de las colonias es importante. La estructura

social fundamental de una colonia de abejas es la de una familia matriarcal, en donde la reina es la madre de aproximadamente 30 mil miembros en una colonia típica. De estos, alrededor del 95% son obreras, y el otro 5% son los reproductivos, reinas y zánganos. Aunque los miembros de una colonia comparten la misma madre, los miembros femeninos no comparten todos el mismo padre, ya que la descendencia de una reina proviene de distintos zánganos (patrilíneas) con los cuales ésta se apareó. El efecto neto de la poliandria de la reina y la mezcla de esperma de distintos zánganos, se refleja en la complejidad de las relaciones genéticas dentro de una colonia. El punto más importante es que las hembras (reinas y obreras) producidas en una colonia no son todas completamente hermanas entre sí, éstas constituyen varios grupos de patrilíneas, donde las hembras de un mismo grupo están más relacionadas (hermanas completas) y las de distintos grupos, o medias hermanas, están menos relacionadas.

Un punto de posible conflicto entre las obreras de una colonia surge en la selección de la larva femenina que producirá la siguiente generación de reinas. La base de este conflicto es la paternidad múltiple mencionada arriba de las hembras de una colonia. Las obreras están más relacionadas a las reinas que son sus hermanas completas. Según Seeley (1985 a), el "coeficiente de relación" "r" en este caso es de 0.75, mientras que el de las medias hermanas es de 0.25. En el primer caso el coeficiente de relación es de 0.75, ya que las hermanas completas reciben la mitad del aporte genético por parte del padre (esto es 0.5) y la otra mitad, de la mitad de los genes de la madre (0.25) lo que de

un total de 0.75. en cambio en el segundo caso, las medias hermanas solo comparten lo que aporta la madre (es decir 0.25) (Wilson, 1976 b).

Las obreras tendrán preferencia por manipular a aquellas reinas en desarrollo que sean sus hermanas completas, ya que de estas surgirán sus futuras reinas. Para que esto suceda hay por lo menos dos requerimientos: a) las obreras deben distinguir entre sus hermanas completas y medias hermanas y b) las obreras de algunos grupos de patrilineas deben dominar a las obreras de otros grupos durante todo el proceso de la cría de reinas y la selección de éstas (Seeley, 1985 b).

Asumiendo que las obreras puedan distinguir entre hermanas completas y medias hermanas, entonces, para que un grupo correspondiente a una patrilinea dada influya en la cría de reinas de la colonia, favoreciendo a las reinas de su patrilinea, aparentemente se requiere que los miembros de ese grupo dominen en alguna forma a los de otros grupos durante todo el proceso de producción de reinas. Esta dominación probablemente requiere de superioridad numérica (Seeley, 1985 b).

Seeley (1985 b) se hace la siguiente pregunta: ¿Hay alguna evidencia de que las obreras favorezcan a sus hermanas completas durante la cría de reinas? Lo mas que se puede decir al presente es que si las obreras seleccionan a las reinas de una cierta patrilinea, evidentemente lo hacen antes de que las reinas alcancen el estado adulto. Por otro lado, cuando se dan varias reinas en una colonia, las obreras dejan que las mismas reinas peleen entre si para establecer cual de las reinas sobrevivirá

para reproducirse (Huber 1972 y Allen 1956, citado por Seeley 1985, b).

Lo anterior se contrapone a la idea de Taylor, que propone que las obreras tienen una preferencia por escoger a las larvas heterócigas, a diferencia de lo que opina Seeley, quien dice que las obreras seleccionan a sus parientas mas cercanas. Esto quiere decir que no importa si son o no homócigas o heterócigas, sino mas bien el porcentaje con el que están relacionadas las larvas con las obreras que se encargarán de seleccionarlas.

Por otro lado Winston (1991), opina que hay algunas diferencias raciales entre las abejas de climas templados y las de climas tropicales, en relación a las situaciones de emergencia cuando por alguna razón llega a faltar una reina en la colonia. Estas diferencias son notables en el tiempo empleado en producir una nueva reina. Un ejemplo de esto es que las colonias de abejas africanas en América del Sur, en comparación con las abejas de Africa y de Europa, tienden a usar larvas mas viejas para iniciar la cría de reinas, lo que tiene la ventaja de acortar el periodo sin reina, pero tiene la desventaja de reducir la viabilidad de la reina como resultado de usar larvas mas viejas. Las abejas en Africa, de las cuales se originaron las abejas africanizadas de América del Sur, usan larvas de edades similares a las de las razas europeas. Esto sugiere que haya ocurrido una selección hacia un periodo sin reina mas corto de las abejas africanizadas en América del Sur. En relación a esto, la duración del periodo

sin reina para las colonias de abejas africanas y africanizadas es solamente de 23 días, a diferencia del de las colonias europeas, que es de 29 días. Esto es debido en parte al tiempo mas corto de la cría de reinas para las abejas africanizadas y en parte a un tiempo mas corto para el establecimiento de la nueva reina de la colonia y su iniciación en la puesta de huevos. Finalmente, una alta proporción de colonias africanizadas enjambran durante situaciones de emergencia cuando se requiere de una reina, a diferencia de las colonias europeas y, usualmente, las primeras producen dos o tres enjambres, en comparación a las segundas, que solo producen un enjambre en este tipo de situaciones. Esta alta frecuencia de enjambración posiblemente sea un efecto de la alta tendencia de las colonias que han evolucionado en los trópicos a enjambrar bajo cualquier circunstancia (Winston, 1991).

Para poder considerar todos los aspectos antes mencionados y tratar de explicar su relación con el proceso de africanización, habrá que retomar algunos de los puntos mas importantes de este proceso; como empezó y como ha ido evolucionando.

Las colonias africanas en América del Sur empezaron siendo minoría y a lo largo de su migración encontraron en un inicio una mayoría de colonias europeas (Hall, 1991). No obstante, sus características conductuales no han sido atenuadas (Michener, 1975; Taylor, 1985, 1988; Fletcher, 1988, citado por Hall, 1991). Esto sugiere que mecanismos de selección muy fuertes han mantenido el genotipo africano en los trópicos.

Tales mecanismos de selección actuarían limitando la formación de híbridos o seleccionando en contra de los híbridos una vez formados. Si una reina africana se aparea con una mayoría de zánganos africanos, uno de estos será el probable padre de la reina de la próxima generación. Si es así, la hibridación manifestada en la progenie de las obreras de zánganos europeos no sería transmitida a la próxima generación. Si los tiempos de desarrollo más rápidos (Taylor, 1988 citado por Hall, 1991) o el proceso selectivo (Page y Erickson, 1984 y Page, 1989 citado por Hall, 1991) favorecen a las reinas de paternidad africana, estas serían fuerzas muy poderosas para mantener el genotipo africano. Si tales procesos operan en colonias europeas, éstos podrían explicar una rápida y efectiva africanización aún donde los zánganos africanos estén presentes como una minoría.

Lo anterior puede considerarse como uno de los pasos importantes del proceso de africanización. Otro de los factores en este proceso está en relación al número de zánganos con los cuales se aparea una reina. Cuando la población africana silvestre crece, la proporción de zánganos africanos en la población que se aparea se incrementa, dando como resultado que los zánganos africanos se aparezcan cada vez más en mayor proporción con nuevas reinas. Así el genoma nuclear de las reinas de los apiarios progresivamente se va africanizando cada vez más (Taylor, 1993 en prep.). Por lo tanto, si hay mayor cantidad de zánganos africanos, la descendencia será predominantemente africana y entonces será importante la selección que hagan las obreras dentro de las colonias, ya que éstas escogerán a las

larvas mas africanas para criarlas, además de que las larvas mas africanas se desarrollarán mas rápido y así es como podría propiciarse el proceso de africanización. Esto sería no en la primera generación o F1, sino después, cuando la cantidad de zánganos africanos superara a la de los europeos, que sería después de la segunda generación o F2 y el grupo dominante dentro de la colonia pasaría a ser el grupo africanizado que posiblemente seleccionará una reina africanizada (Taylor, 1993 en prep.).

Como se ha mencionado anteriormente, el crecimiento poblacional de las abejas europeas está en relación a los recursos alimenticios existentes en el medio, lo que indica que estas abejas han evolucionado en ecosistemas estables y predecibles. Así que dependiendo de la disponibilidad y abundancia del recurso en las distintas estaciones del año, estas abejas invertirán mayor o menor energía en su reproducción. Nuevamente, estas actividades son respuestas evolutivas que se han desarrollado debido a la estabilidad y predictibilidad de los ecosistemas europeos.

En cuanto a las abejas africanizadas respecta, la tasa de reproducción es muy elevada, por lo tanto pueden alcanzar una gran densidad poblacional en un periodo de tiempo muy corto. Esto lo hacen solo en respuesta a la existencia inmediata de los recursos de la cosecha. El incremento del área de cría dentro del nido o la reducción de ésta, está en relación a la presencia o ausencia inmediata de los recursos existentes en el medio

(Pesante, 1985 citado por Rinderer y Hellmich, 1991). Según Smith (1985), la rápida expansión está fundada en una alta fecundidad y en los tiempos de desarrollo individual mas cortos (Rinderer y Hellmich, 1991). Tales eventos del desarrollo poblacional de las colonias son claramente indicativos de abejas que han evolucionado para tener éxito en ecosistemas impredecibles, como es el caso de los trópicos de Africa (Rinderer y Hellmich, 1991).

Por todo lo anterior se podría decir que el proceso de africanización no es un proceso aislado, sino un proceso dinámico que depende de varios factores, tanto externos como internos a la colonia. Es un proceso en el cual hay selección de los individuos, selección del medio ambiente y otros factores, por lo que en lugar de considerar mecanismos aislados hay que tomar en cuenta la interrelación de todos los mecanismos antes mencionados.

7. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se pueden inferir las siguientes conclusiones:

- Los tiempos de desarrollo para las reinas africanas puras y para las híbridas de madre africana fueron los mas cortos, a diferencia de los tiempos para las europeas puras e híbridas de madre europea, siendo estos últimos los mas largos. Esto coincide parcialmente con lo que dicen Harrison y Hall (1993), quienes encontraron que la descendencia de africanas puras tiene las capacidades metabólicas mas altas y que la descendencia de europeas puras tiene substancialmente capacidades metabólicas mas bajas.

Con respecto a la F1 y a las retrocruzas encontraron que tienen capacidades metabólicas tan bajas o aún mas bajas que las de los europeos "puros" y que la descendencia de reinas europeas y zánganos africanos tiene las capacidades metabólicas mas bajas. Un resultado importante de este trabajo es el haber encontrado que los híbridos de madre africana presentaron un desarrollo mas rápido que el de los europeos puros y los genotipos híbridos de madre europea presentaron un desarrollo mas lento que el de los europeos puros.

De los resultados anteriores podríamos inferir que los genotipos híbridos de madre híbrida, al igual que los europeos puros, están en desventaja con respecto a los genotipos africanos

y a los híbridos de madre africana. Esto refuta la idea que se tenía con respecto a los híbridos, ya que se pensaba que todos estos estaban en ventaja con respecto a los genotipos europeos puros (Coelho y Mitton, 1988).

- Con respecto a los heterócigos de la HK, Taylor (1993 en prep.) dice que hay una fuerte selección a favor de ellos. Esto coincide con la alta frecuencia de los genotipos de reinas de HK 1.2 en las poblaciones de África y América del Sur. En este trabajo los genotipos que tuvieron el desarrollo mas rápido fueron los heterócigos para la HK.

- El peso en relación con el genotipo fue irrelevante, ya que no se encontró relación entre estos dos parámetros. Este está en relación con otros factores como son el tamaño de la celdilla, la cantidad de alimento, el tamaño del enjambre, etc., así como también por el número y la edad de las larvas que estan siendo criadas como reinas en un mismo tiempo (Winston, 1987 a).

- Este trabajo tiene relevancia tanto científica como apícola, ya que el tiempo total de desarrollo de las reinas es importante para explicar uno de los pasos del fenómeno de africanización y también, para ayudar a los apicultores a reconocer si las reinas son africanas o no puesto que las reinas africanas se desarrollan en menos tiempo que las reinas europeas.

- El proceso de africanización es debido a una compleja interacción entre varios factores, en particular, a los tiempos de desarrollo mas cortos que presentan estas abejas, a la selección del grupo mayoritario de obreras dentro de una colonia para desarrollar a su nuevo individuo reproductivo (reina), a la dominación numérica de las abejas africanizadas, a su alta fecundidad y a su mayor velocidad de dispersión, entre otros.

8. COMENTARIOS FINALES

- Sería importante efectuar estudios sobre las colonias híbridas, para determinar en que generación se da el proceso de africanización ya que el tiempo de desarrollo solamente nos dice cual genotipo se desarrolla primero.

- Otra recomendación sería hacer estudios sobre la selección que hacen las obreras para criar a ciertas larvas, ya que en este trabajo no se hizo este estudio, por lo que no podríamos decir si hubo una preferencia en seleccionar a ciertos genotipos.

- También este trabajo sirve como base para trabajos posteriores en el estudio de las patrilíneas, ya que conociendo los genotipos de la progenie obtenida y los genotipos de las madres, se pueden inferir los genotipos de los zánganos con los cuales se aparearon las reinas.

9. BIBLIOGRAFIA

- Coelho, J. R. y Mitton, J. B. 1988. Oxygen consumption during hovering is associated with genetic variation of enzymes in honey-bees. *Functional Ecology*, 2: 141-146.
- Conover, W. J. 1980. Practical Nonparametric Statistics. Segunda Edición. John Wiley and Sons. New York.
- Contel, E. P. B., Mestriner, M. A. y Martins, E. 1977. Genetic controlled developmental expression of malate dehydrogenase in *Apis mellifera*. *Biochemical Genetics* 15 (9-10): 859-876.
- Del Lama, M. A., Figueiredo, R. A., Soares, A. E. E. y Del Lama, S. N. 1988. Hexokinase polymorphism in *Apis mellifera* and its use for africanized honeybee identification. *Rev. Brazil. Genet.* 2 (2): 287-297.
- Fierro, M. M., Moffet, J. O., Maki, D. L. y Andre, T. 1987. The africanized bees in Chiapas, Mexico. *Am. Bee Jour.* 127 (7): 517-527.
- Fletcher, D. J. C. 1978. The African bee, *Apis mellifera adansonii*, in Africa. *Annu. Rev. Entomol.* 23: 151-171.
- Fletcher D. J. C. y Tribe, G. D. 1977. Swarming potential of African bee, *Apis mellifera adansonii* L. 25-34. In: Fletcher D. J. C. (ed.), African bee: taxonomy, biology and economic use. Apimondia, Pretoria.
- Fletcher, D. J. C. 1991. Interdependence of Genetics and Ecology in a Solution to the African Bee Problem. 77-94. In: The "African" Honey Bee. Spivak, M. et al., eds. Westview Press, Boulder, etc:

- Free, J. B. 1977. The Social Organization of Honeybees. Edward Arnold Publ. London. 66p.
- Hall, H. G. 1991. Genetic Characterization of Honey Bees Through DNA Analysis. 77-94. In: The "African" Honey Bee. Spivak, M. et al., eds. Westview Press, Boulder, etc.
- Hall, H. G. y Muralidharan. 1989. Evidence from mitochondrial DNA that African honey bees spread as continuous maternal lineages. *Nature*. 339: 211-213.
- Harrison J. F. y Hall, H. G. 1993. African-European honeybee hybrids have low nonintermediate metabolic capacities. *Nature*. 363: 258-260.
- Kerr, W. E. 1967. The history of the introduction of africanized bees to Brazil. *S. Afr. Bee Jour.* 39: 3-5.
- Kerr, W. E. 1971. Contribuicao a ecogenetica de algumas especies de abelhas. *Cienc. Cult. Sao Paulo*. 23 (suppl.): 89-90.
- Labougle, J. M. y Zozaya, J. A. 1986. La apicultura en México. *Ciencia y Desarrollo*. 69: 17-36.
- Lobo, J. A., Del Lama, M. A. y Mestriner, M. A. 1989. Population differentiation and racial admixture in the africanized honeybee (*Apis mellifera* L.). *Evolution*. 43(4): 794-802.
- Michener, CH. D. 1975. The Brazilian bee problem. *Am. Review of Entomology*. 20: 399-416.
- Morse, R. A. y Hooper, T., eds. 1985. The Illustrated Encyclopedia of Beekeeping. E. P. Dutton, Inc. New York. 25-27; 330-334.

- Ndiritu, D. W., Mutugi, N. y Ndung'u, S. 1986. Variation in malate dehydrogenase allozymes among honeybee populations in Kenya. *Journal of Apicultural Research*.25(4): 234-237.
- Nunamaker, R. A., Wilson, W. T. y Haley B. E. 1984. Electrophoretic detection of Africanized honeybees (*Apis mellifera scutellata*) in Guatemala and Mexico based on Malate dehidrogenase allozyme patterns. *J. Kans. Entomol. Soc.* 54: 622-631.
- Otis, G. W. 1982. Population biology of the africanized honey bee. en: P. Jaisson (ed.). *Social insects in the tropics*. Universite Paris-Nord. 209-219.
- Page, R. E. 1989. Neotropical African bees. *Nature*. 339: 181-182.
- Richardson, B. J., Baberstock, P. R. y Adams, M. 1986. *Allozyme Electrophoresis*. Academic Press, Sydney, etc.
- Rinderer, T. E. 1986. Africanized bees: The africanization process and potential range in the United States. *Bull. of the ESA* .: 222-227.
- Rinderer T. E. y Silvester H. A. 1981. Identification of Africanized Bees. *Am. Bee Jour.* 121 (7): 512-516.
- Rinderer, T. E. y Hellmich II, R. L. .1991. The Processes of Africanization. en: *The "African" Honey Bee*. Spivak, M. et al., eds. Westview Press, Boulder, etc.: 95-117.
- Rinderer, T. E., Oldroyd, B. P. y Sheppard, W. S. 1994. Dispersión de las abejas africanizadas. *Investigación y Ciencia*, 209: 38-45.

- Seeley, T. D. 1985 (a). The Honeybee Societies. Honeybee Ecology. Princeton University Press. Princeton, New Jersey.: 20-38.
- Seeley, T. D. 1985 (b). Reproduction. Honeybee Ecology. Princeton University Press. Princeton, New Jersey. pp. 49-70.
- Smith, D. R., Taylor, O. R. y Brown, W. M. 1989. Neotropical africanized honey bees have african mitochondrial DNA. *Nature*. 339: 213-215.
- Sylvester, H. A. 1976. Allozyme variation in honeybees (*Apis mellifera L.*). Ph. D. thesis. University of California. Davis, Calif.
- Sylvester, H. A. 1982. Electrophoretic identification of africanized honeybees. *Jour. of Apicultural Research*. 21(2): 93-97.
- Taylor, O. R.: 1977. The past and possible future spread of africanized honeybees in the Americas. *Bee World*. 58: 19-30.
- Taylor, O. R. 1985. Spread of the africanized honey bee. *Bull. of the ESA.*: 15-23.
- Taylor, O. R. 1988. Ecology and economic impact of African and Africanized honey bees. pp. 29-41. en: Needman, G. R., Page, R. E., Delfinado-Baker M. y Bowman C. E. (eds.), Africanized honey bees and bee mites, Ellis Howord Ltd., Chichester, Inglaterra.
- Taylor, O. R. y Spivak, M. 1984. Climatic limits of tropical african honeybees in the Americas. *Bee World*. 65(1): 38-47.
- Taylor, O. R., Long, M. y Rowell, G. A. 1988. Genetic differences between European and African bees in Mexico. *Am. Bee Jour.* 128(12): 809.

- Taylor, O. R., Rowell, G. A. y Spivak, M. 1988. Rate of spread and relative abundance of african honey bees in Mexico. *Am. Bee Jour.* 128(12): 809-810.
- Taylor, O. R., Smith, D. R. y Brown, W. M. 1989. Neotropical africanized honey bees have african mitochondrial DNA. *Nature*, 339: 213-215.
- Taylor, O. R., Delgado, A. y Brizuela, F. 1991 (a). Identification of Neotropical African, Hybrid and European Honey Bees with the use of Allozymes. *Am. Bee Jour.* 131: 782-783.
- Taylor, O. R., Delgado, A. y Brizuela, F. 1991 (b). Rapid loss of European traits from feral neotropical African honey bee populations in Mexico. *Am. Bee Jour.* 131: 783-784.
- United States Department of Agriculture. Texas Africanized Honey Bee Management Plan. 1990.
- White, W. 1991. The bees from Rio Claro. *The New Yorker*, September 16, 1991.: 36-60.
- Wilson, Edward O. 1971 (a). Caste: Social Bees and Wasps. The Insect Societies. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts and London, England. 548p.
- Wilson, Edward O. 1971 (b). The Genetic Theory of Social Behavior. The Insect Societies. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts and London, England. pp. 548p.
- Winston, M. L. 1987 (a). Development and Nutrition. The Biology of the Honey Bee. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts and London, England.: 46-71.

- Winston, M. L. 1987 (b). **Reproduction: Swarming and Supersedure.** *The Biology of the Honey Bee.* Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts and London, England. 181-198.

- Winston, M. L. 1987 (c). **Drones, Queens and Mating.** *The Biology of the Honey Bee.* Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts, London, England.: 199-213.

- Winston, M. L. 1991. **The Inside Story: Internal Colony Dynamics of African Bees.** en: *The "African" Honey Bee.* Spivak, M. et al., eds. Westview Press, Boulder, etc.: 201-212.

- Winston, M. L. 1992. **Killer Bees. The Africanized Honey Bee in the Americas.** Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.