



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD  
ANIMAL**

**NÚMERO EFECTIVO DE ZÁNGANOS QUE SE APAREAN CON  
REINAS EUROPEAS, AFRICANIZADAS Y SUS HÍBRIDOS  
RECÍPROCOS BAJO DIFERENTES CONDICIONES MEDIO  
AMBIENTALES**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**Nuria Morfin Ramírez**

**TUTOR**

**Dr. Miguel Enrique Arechavaleta Velasco**

**COMITÉ TUTORAL**

**Dr. Carlos Gutiérrez Aguilar**

**Dr. Moisés Montaña Bermúdez**

**Ciudad Universitaria, México DF**

**Noviembre 2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

## CONTENIDO

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación	7
1.2 Objetivos	8
2. MATERIAL Y MÉTODO	9
2.1 Localización del área de estudio	9
2.2 Grupos experimentales	9
2.3 Cría y apareamiento de reinas vírgenes	10
2.4 Análisis Genético	11
2.4.1 Extracción de ADN	11
2.4.2 Generación de marcadores moleculares	11
2.5 Análisis estadístico	12
2.5.1 Estimación del número efectivo de zánganos con los que se aparea una abeja reina	12
2.5.2 Efecto del grupo genético de la reina y del medio ambiente sobre el número efectivo de zánganos con los que se aparea una abeja reina	13
3. RESULTADOS	14
3.1 Estimación del número efectivo de zánganos con los que se aparea una reina	14
3.2 Efecto del grupo genético y del medio ambiente sobre el número efectivo de zánganos con los que se aparea una abeja reina	15
4. DISCUSIÓN	15
5. CONCLUSIÓN	18
6. LITERATURA CITADA	19
7. CUADROS Y FIGURAS	23

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1. Media, error estándar, desviación estándar, rango, valor mínimo y valor máximo para el número efectivo de zánganos que se aparean con reinas europeas (EE), africanizadas (AA) y sus híbridos recíprocos (EA y AE).

Cuadro 2. Media, error estándar, desviación estándar, rango, valor mínimo y valor máximo para el número efectivo de zánganos que se aparean con reinas europeas (EE), africanizadas (AA) y sus híbridos recíprocos (AE y EA) en el medio ambiente A-1.

Cuadro 3. Media, error estándar, desviación estándar, rango, valor mínimo y máximo para el número efectivo de zánganos que se aparean con reinas europeas (EE), africanizadas (AA), y sus híbridos recíprocos (EA y AE) en el medio ambiente A-2.

Figura 1. Marcadores AFLP generados a partir de la reina (R) y las obreras (1-11) de la colonia de abejas 49, utilizando los oligonucleótidos E1 (5'AGA CTG CGT ACC AAT TCA A) y E3 (5'AGA CTG GCT ACC AAT TCA G)

Figura 2. Número efectivo promedio de zánganos ( $\pm$ EE) que se aparean con reinas en dos medios ambientes A-1 y A-2.

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar si el grupo genético y el medio ambiente influyen sobre el número efectivo de zánganos con los que se aparean abejas reinas (*Apis mellifera* L.). Para el desarrollo del estudio se utilizaron reinas de cuatro grupos genéticos: europeas (EE), africanizadas (AA) y sus híbridos recíprocos (EA y AE). Se produjeron celdas reales de cada uno de los grupos y se introdujeron en núcleos de fecundación que se instalaron en dos apiarios, ubicados en dos zonas geográficas distintas con base en la altitud sobre el nivel del mar y el tipo de vegetación predominante. El apiario A-1 está a una altitud de 1890 msnm y la vegetación predominante es bosque mesófilo de montaña con vegetación arbustiva y herbácea. El apiario A-2 está a 2840 msnm y la vegetación predominante es bosque mesófilo de montaña con vegetación de bosque de oyamel. Las reinas vírgenes que emergieron de las celdas reales se aparearon en vuelo libre y se permitió que iniciaran la postura de huevos. Se recolectaron muestras de pupas de abejas obreras hijas de cada reina y se generaron marcadores polimórficos AFLP utilizando el ADN de 11 pupas de obreras de cada reina. Con los datos generados se realizó un análisis de agrupamiento jerárquico, para posteriormente estimar el número efectivo de zánganos con los que se apareó cada reina, los resultados se sometieron a un análisis de varianza bajo un modelo factorial. El número efectivo promedio de zánganos con los que se apareó una reina en este estudio fue de  $6.97 \pm 0.37$ . No se encontraron diferencias en el número efectivo de zánganos con los que se aparearon las reinas europeas, africanizadas e híbridas ( $P > 0.05$ ), se encontraron diferencias entre los dos medios ambientes ( $P < 0.01$ ) y no se encontró que exista una interacción entre el grupo genético y el medio ambiente ( $P > 0.05$ ). El número promedio de zánganos con los que se apareó una reina en el ambiente A-1 fue de  $8.07 \pm 0.51$  y en el ambiente A-2 fue de  $5.87 \pm 0.40$ .

*Palabras clave:* *Apis mellifera* L., Poliandria, Número efectivo de apareamientos.

## ABSTRACT

This study was conducted to determine if the genetic group and the environment has an effect over the effective number of drones that mate with honeybee queens (*Apis mellifera* L.). Queens of four genetic groups: european (EE), africanized (AA) and their hybrids (EA and AE) were included in the study. Queen cells were produced and introduced into mating nucs located in two apiaries. The apiaries were located in two zones that differ in the altitude over the sea level and the type of vegetation. Apiary A-1 is at 1890 masl and the predominant vegetation is montane mesophilus forest with shrub and herbaceous vegetation. Apiary A-2 is at 2840 masl and the predominant vegetation is montane mesophilus forest with fir forest vegetation. The queens emerged from the queen cells and mated naturally with drones of each of the two environments. The queens started to lay eggs, and samples of worker pupae and the queen were collected. AFLP markers were generated from 11 worker pupae of each queen. A cluster analysis was performed with the marker data and the effective number of drones that mate with each queen was estimated. Data was analyzed using a two way analysis of variance. The mean effective number of drones that mated with a queen estimated in this study was  $6.97 \pm 0.37$ . No differences were found in the effective number of drones that mated with european, africanized and hybrid queens ( $P > 0.05$ ), differences were found between the two environments ( $P < 0.01$ ) and no significant interaction between genetic group and environment was found ( $P > 0.05$ ). The mean number of drones that mated with a queen in environment A-1 was  $8.07 \pm 0.51$  and for A-2 was  $5.87 \pm 0.40$ .

*Key words:* *Apis mellifera* L., Polyandry, Effective number of matings.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) son insectos eusociales, ya que la organización de la colonia se caracteriza por el traslape de generaciones, la cooperación de los insectos adultos en el cuidado de la cría y la presencia de reinas y zánganos, que son las castas especializadas en la reproducción de la especie (Gadagkar 1990).

Las colonias de abejas crían zánganos durante la época de floración y el número de estos depende de la población de abejas en la colonia y la disponibilidad de alimento. Los zánganos tardan aproximadamente 24 días en desarrollarse como insectos adultos y alcanzan la madurez sexual cuando tienen entre ocho y doce días de ser insectos adultos (Ruttner 1966, Colonello y Hartfelder 2003).

Las colonias crían reinas bajo tres situaciones: cuando la colonia va a enjambrar, cuando pierde a su reina o cuando la colonia necesita reemplazar a la reina. Las reinas tardan 16 días en desarrollarse en insectos adultos, alcanzan la madurez sexual después de seis días de ser insectos adultos y pueden aparearse durante un solo periodo de su vida, que dura de 14 a 28 días después de alcanzar la madurez sexual (Winston 1987).

Cuando los zánganos y las reinas maduran sexualmente realizan vuelos de apareamiento. Los vuelos de apareamiento generalmente ocurren entre las 14:00 y las 16:00 horas del día, aunque los horarios son flexibles y se adaptan a la situación climática (Howell y Usinger 1933, Taber 1954, Oertel 1956, Ruttner 1966, Taylor *et al.* 1986). El tiempo que duran los vuelos tanto para las reinas como para los zánganos es variable, pero generalmente tardan de 25 a 32 minutos (Howell y Usinger 1933, Oertel 1956, Witherell 1971). Las condiciones climáticas ideales para que se lleven a cabo los vuelos de apareamiento son: temperatura ambiental de 20°C, cielo despejado o poco nublado y velocidad del viento menor a 28km/h. Los zánganos pueden realizar de tres a cinco vuelos en un día, teniendo periodos de descanso de aproximadamente 15 minutos. Las reinas realizan de uno a cinco vuelos de

apareamiento en un periodo de dos a cuatro días, aunque esto depende de las condiciones climáticas (Laidlaw *et al.* 1956, Winston 1987).

En los vuelos de apareamiento las reinas y los zánganos se dirigen a áreas geográficas específicas, denominadas zonas de congregación, en donde confluyen reinas y zánganos de colonias diferentes, generalmente tanto las reinas como los zánganos escogen zonas de congregación que se encuentran en promedio a 2 km de distancia de su colonia (Ruttner 1966). En una zona de congregación se pueden observar zánganos volando en un área de 30 a 200 metros de diámetro y a una altura de 10 a 40 metros (Ruttner 1966, Müller 1950 *citado por Winston 1987*). Koeninger *et al.* (2005) estimaron que en una zona de congregación se pueden encontrar en promedio  $11,750 \pm 214$  zánganos, mientras que Page y Metcalf (1982) estimaron que en una zona de congregación puede haber zánganos de más de 200 colonias al mismo tiempo.

El apareamiento entre la reina y el zángano se lleva a cabo en la zona de congregación, una vez que la reina llega, los zánganos la detectan y vuelan hacia ella formando una estela. El apareamiento ocurre en el aire cuando uno de los zánganos se posiciona en la región dorsal de la reina y la sujeta con los tres pares de patas. El apareamiento dura menos de cinco segundos, durante este periodo la reina abre la cámara del agujón permitiendo la entrada del endófalco del zángano, el zángano cae hacia atrás por la presión que ejerce la hemolinfa, el abdomen se contrae provocando la eyaculación. Una vez que sucede la eyaculación, el zángano se separa de la reina quedando parte del endófalco dentro de la vagina y el zángano muere (Winston 1992, Dade 1994).

Las reinas muestran un comportamiento poliándrico, una reina se cruza con varios zánganos durante el periodo de tiempo en que puede aparearse después de alcanzar la madurez sexual y generalmente se aparea con más de un zángano durante un vuelo de apareamiento.

El número de zánganos con los que se aparea una reina ha sido estimado en diferentes poblaciones y este va de 6 a 20 zánganos (Taber *et al.* 1958, Woyke 1960, Adams *et al.* 1977, Estoup *et al.* 1994, Cornuet *et al.* 1986, Neumann *et al.* 1999<sup>a</sup>, Nuemann *et al.* 1999b, Neumann y Moritz 2000, Tarpy *et al.* 2004, Jensen *et al.* 2005, Kraus *et al.* 2005, Schlüns *et al.* 2005).

Como consecuencia de este comportamiento reproductivo, una colonia de abejas está formada por abejas obreras que pertenecen a varias familias de obreras que son medias hermanas ya que comparten la misma madre pero diferentes padres. Debido a que los zánganos son haploides y producen espermatozoides genéticamente iguales, las obreras de una misma familia, hijas de la reina y del mismo zángano, comparten en promedio el 75% de sus genes por descendencia, mientras que obreras de diferentes familias, hijas de la misma reina pero de diferentes zánganos, comparten en promedio el 25% de sus genes por descendencia. Asimismo, las obreras de dos familias pueden compartir en promedio el 50% de sus genes si los zánganos que dan origen a las familias son hermanos, de tal forma que la relación genética entre las obreras de una misma colonia puede ser de 0.25, 0.50 ó 0.75.

El número de zánganos con los que se aparea una reina y el parentesco entre estos es un factor importante para poder estimar la relación de parentesco promedio entre las abejas obreras de una colonia o entre las abejas obreras de colonias diferentes (Oldroyd y Moran 1983). La relación de parentesco promedio es necesaria para estimar parámetros genéticos para el desarrollo de programas de mejoramiento genético en abejas.

Se han propuesto varias hipótesis para tratar de explicar las consecuencias evolutivas de la poliandria, la más aceptada es la llamada “hipótesis de variabilidad genética”, esta plantea que aumentar la diversidad genética de las obreras de la colonia es conveniente desde el punto de vista reproductivo tanto para la reina como para la colonia, aunque los mecanismos que la regulan no se conocen totalmente (Crozier y Page 1985, Keller y Reeve 1994, Oldroyd *et al.* 1998, Cole y Wiernasz 1999, Palmer y Oldroyd 2000, Tarpy *et al.* 2000).

Además, se sabe que el genotipo de las obreras influye sobre las actividades que estas realizan en la colonia, de tal forma que las abejas de una de las familias que forman una colonia tienden a especializarse en alguna de las distintas tareas que se deben realizar dentro de la colmena, por lo que la diversidad genética en la población de obreras aumenta la aptitud genética de la colonia (Robinson y Page 1988, Breed *et al.* 1990, Page y Robinson 1991, Page *et al.* 2000, Arechavaleta-Velasco y Hunt 2003, Arechavaleta-Velasco *et al.* 2003). Asimismo, la diversidad genética de las obreras de una colonia influye en la resistencia a enfermedades (Schmid-Hempel 1994, Palmer y Oldroyd 2000, Tarpy y Nielsen 2002) y en la capacidad de la colonia para adaptarse al medio ambiente (Kolmes *et al.* 1989, Page y Mitchell 1998, Tarpy y Nielsen 2002). Los beneficios que explica la “hipótesis de variabilidad genética” están en función de la posible presión de selección que se ejerza sobre las colonias después de que la reina se haya apareado, sin embargo también debe considerarse el costo que implica para la colonia y para la reina que esta realice apareamientos múltiples, ya que el riesgo de muerte de la reina durante los vuelos de apareamiento aumenta en la medida que aumenta el número y duración de estos (Tarpy y Page 2000).

Las abejas tienen un sistema haplo-diploide de diferenciación sexual, los machos son haploides y las hembras son diploides. Además, en el caso de los individuos diploides existe un *locus* con alelos múltiples que también participa en la determinación del sexo (Laidlaw *et al.* 1956). Los individuos heterocigotos para este *locus* se desarrollan como hembras normales, mientras que los individuos homocigotos se desarrollan como machos diploides, los cuales son eliminados por las obreras en las etapas larvianas tempranas. Cuando una reina se aparee con zánganos que tienen los mismos alelos que ella para este *locus*, la presencia de individuos homocigotos en la progenie aumenta, lo que tiene como consecuencia que la cantidad de cría viable en la colonia se reduzca, lo que puede afectar el desarrollo y la supervivencia de la colonia. Es probable que la poliandria haya evolucionado en las abejas melíferas como un mecanismo para disminuir el número de zánganos diploides en las colonias (Tarpy y Nielsen 2002), ya que

la poliandria incrementa la probabilidad de que ocurran cruzamientos que generen individuos heterocigotos con respecto al *locus* sexual, aumentando de esta forma la posibilidad de supervivencia de la colonia (Winston 1987).

La abeja melífera es una especie de importancia económica en México en 2010 se produjeron en promedio 52,900 toneladas de miel, lo que colocó al país como sexto productor y tercer exportador de miel a nivel mundial (SAGARPA 2011). En 2010 el inventario apícola del país fue de 1,606,000 colmenas de abejas que además de producir miel, también contribuyeron al proceso de polinización de plantas silvestres y cultivadas, favoreciendo la industria agrícola del país (SAGARPA 2010, Financiera Rural 2011).

La apicultura en México sufrió cambios importantes debido a la llegada de la abeja africanizada en 1986 (Guzmán-Novoa y Page 1994). Estas abejas presentan un mayor comportamiento defensivo, una mayor tendencia a enjambrar e incluso en algunos estudios se reporta que producen menos miel que las abejas europeas (Collins *et al.* 1982, Winston 1992, Hunt *et al.* 1998, Uribe-Rubio *et al.* 2003). Las abejas africanizadas se generaron en Brasil al cruzarse abejas de origen europeo con abejas de origen africano que fueron introducidas en ese país en 1956 (Kerr 1967) y actualmente se encuentran distribuidas en la mayor parte del continente americano. Durante el proceso de africanización de las poblaciones, las abejas europeas fueron desplazadas por las abejas africanizadas, teniendo consecuencias drásticas en la apicultura e incluso en la salud pública (Schneider 2006).

El proceso de africanización se ha estudiado desde varias perspectivas, tratando de comprender como ocurre el reemplazo de los genotipos europeos por los africanizados en las poblaciones. Uno de los enfoques tiene que ver con el estudio de la transmisión de genes de una generación a la siguiente, ya que cuando una reina se aparea con zánganos europeos y africanizados las dos líneas paternas estarán presentes dentro de la colonia. Cuando esta reina es reemplazada y la colonia cría una nueva reina a partir de su progenie, la línea paterna de la nueva reina será conservada en la siguiente generación. Si las reinas de la línea africanizada

tienen ventajas sobre las reinas de la línea europea, esto podría explicar parcialmente porque los genotipos africanizados se conservan más que los genotipos europeos a nivel de las poblaciones. Dichas ventajas podrían explicarse considerando que la composición de líneas paternas dentro de una colonia es función del número y origen racial de los zánganos que se aparean con la reina, así como de la proporción de espermatozoides de los diferentes zánganos almacenados en la espermateca que son utilizados para la fertilización de huevos (DeGrandi *et al.* 2003). Cualquier mecanismo que incremente la utilización de espermatozoides de zánganos africanizados, como la competencia espermática dentro de la espermateca (Parker 1984 citado por DeGrandi *et al.* 2003) o la selección postcigótica (Koeninger y Koeninger 2000) será determinante para la transmisión del genotipo africanizado. Asimismo cualquier mecanismo que incremente o favorezca el que los zánganos que se aparean con las reinas sean de origen africanizado, como es que las reinas de cierto genotipo se apareen con un mayor número de zánganos o la posible tendencia de las reinas de cierto genotipo por aparearse con zánganos de un genotipo específico, incrementaría la proporción de cría de la línea paterna africanizada dentro de la colonia y por lo tanto la probabilidad de que alguna de esas larvas se convierta en reina.

## 1.2 Justificación

El proceso de africanización de las poblaciones de abejas ocurrió a través del cambio de los genotipos europeos por africanizados, sin embargo se conoce poco sobre los mecanismos mediante los cuales se dio la sustitución de los genotipos. Conocer si las reinas africanizadas, europeas e híbridas difieren en el número de zánganos con los que se aparean, y si el medio ambiente influye sobre esta variable, contribuirá a entender si el grupo genético de las reinas y el medio ambiente en donde ocurren los vuelos de apareamiento son parte de los mecanismos que contribuyen en el proceso de africanización de las poblaciones de abejas.

Para poder estimar parámetros genéticos para el desarrollo de programas de mejoramiento genético se necesita conocer las relaciones genéticas que existan entre los individuos de una población. Las abejas melíferas son poliándricas, lo que hace que en una colonia existan abejas con diferentes relaciones genéticas que dependen del número de zánganos con los que se aparean las reinas, generar un estimador para el número de zánganos con los que se aparean una reina y determinar si el grupo genético de las reinas y el medio ambiente influyen sobre esta variable será útil para generar estimadores de la relación genética promedio que exista entre las abejas obreras de una colonia y entre las colonias de una población.

## **1.2 Objetivos**

Estimar el número efectivo promedio de zánganos con los que se aparean reinas de origen europeo, africanizado y sus híbridos recíprocos.

Determinar si existen diferencias en el número efectivo promedio de zánganos con los que se aparean las reinas europeas, africanizadas y sus híbridos recíprocos.

Evaluar el efecto del medio ambiente sobre el número efectivo promedio de zánganos con los que se aparean reinas de origen europeo, africanizado y sus híbridos recíprocos.

## **2. MATERIAL Y MÉTODO**

### **2.1 Localización del área de estudio**

El trabajo se llevó a cabo en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal del INIFAP. El trabajo de campo se desarrolló en el municipio de Villa Guerrero, Estado de México, localizado entre los 18° 34' y 19° 05' de latitud norte y entre los 99° 36' y 99° 46' de longitud oeste, con una altitud media de 2,660 msnm. El clima se clasifica como templado subhúmedo con lluvias en verano, Cw. La temperatura promedio anual es de 18.8°C, la máxima es de 39.0°C, la mínima es de 2.0 °C y la precipitación promedio anual es de 1,242.53 mm (INEGI, 1998).

### **2.2 Grupos experimentales**

Para el desarrollo del estudio se generaron reinas progenitoras de cuatro grupos genéticos; europeo (EE), africanizado (AA) y sus híbridos recíprocos (EA y AE) por medio de inseminación instrumental de reinas con el semen de seis zánganos. Las reinas progenitoras del grupo EE (n=1) se obtuvieron cruzando reinas y zánganos EE, las reinas progenitoras del grupo AA (n=2) se obtuvieron a partir de la cruce de reinas y zánganos AA, las reinas progenitoras del grupo AE (n=1) se obtuvieron cruzando reinas AA con zánganos EE y las reinas progenitoras del grupo EA (n=2) se obtuvieron a partir de la cruce de reinas EE con zánganos AA.

Se utilizaron 60 núcleos de fecundación de tipo cámara de cría dividida en tres compartimentos, cada uno con espacio para tres bastidores. En cada núcleo de fecundación se introdujo aproximadamente un kg de abejas obreras adultas, dos bastidores con cría y un alimentador tipo Doolittle.

Los núcleos de fecundación se instalaron en dos apiarios ubicados en dos zonas geográficas que difieren en la altitud sobre el nivel del mar y el tipo de vegetación predominante, en cada apiario se instalaron 30 núcleos de

fecundación. El primer apiario (A-1) se encuentra ubicado en el municipio de Villa Guerrero, y está localizado a 18°53'41'' de latitud norte y 99°38'27'' de longitud oeste a 1890 msnm. Se caracteriza por tener un clima templado subhúmedo con lluvias en verano y la vegetación predominante es bosque mesófilo de montaña con vegetación arbustiva y herbácea (SEDUV 2007). El segundo apiario (A-2) se ubica en el municipio de Coatepec Harinas, localizado a 19°00'12'' de latitud norte y 99°47'55'' de longitud oeste, a un altitud de 2840 msnm. Se caracteriza por tener un clima templado subhúmedo con lluvias en verano y el tipo de vegetación que predomina es bosque mesófilo de montaña con vegetación de bosque de oyamel (SEDUV 2007).

### **2.3 Cría y apareamiento de reinas vírgenes**

A partir de las reinas progenitoras de cada grupo genético se criaron reinas vírgenes, utilizando larvas de tres días de edad que se transfirieron a copa-celdas de cera y se colocaron en una colonia incubadora huérfana. Nueve días después, las celdas reales se recolectaron de las incubadoras, se trasladaron a los apiarios experimentales y se introdujeron en los núcleos de fecundación. Siete días después se revisaron los núcleos de fecundación para determinar si las reinas habían emergido. Las reinas vírgenes que emergieron se aparearon en vuelo libre con zánganos de la zona geográfica donde se localiza cada apiario experimental, A-1 y A-2.

El proceso de cría y apareamiento de reinas se realizó de octubre de 2009 a marzo de 2010, que es la época del año en que las colonias de abejas crían zánganos ya que coincide con las floraciones de otoño y de primavera en la zona de estudio.

Se permitió que las reinas fecundadas iniciaran la postura de huevos en los núcleos de fecundación y cuando la cría de la reina cumplió entre 16 y 17 días de edad se recolectaron 50 pupas de obreras hijas de la reina y reina en dos frascos con alcohol al 70%. Las muestras se mantuvieron a -20°C hasta su análisis. En cada uno de los dos ambientes se recolectaron cinco

muestras de reinas y su cría para cada uno de los cuatro grupos genéticos.

## **2.4 Análisis Genético**

### **2.4.1 Extracción de ADN**

Se extrajo el ADN de la reina y de cada una de las 11 pupas de obrera de cada muestra. La extracción de ADN involucró la maceración de las pupas y las reinas en solución de lisis (1% bromuro de hexadeciltrimetil-amonio, 50 mM Tris pH 8.0, 10 mM EDTA, 1.1 M NaCl), seguido de una extracción con fenol/cloroformo y precipitación del ADN en etanol (Hunt 1997). El ADN de cada abeja se cuantificó con un espectofotómetro y se diluyó a una concentración final de 100 ng/μl en agua bidestilada.

### **2.4.2 Generación de marcadores moleculares**

Para determinar el número de zánganos con los que se aparearon las reinas se produjeron marcadores polimórficos por longitud de los fragmentos amplificados (AFLP, por sus siglas en inglés), utilizando el ADN de 11 pupas de abejas obreras y de las reinas correspondientes a cada muestra (Vos *et al.* 1995, Suazo y Hall 1999, Arechavaleta y Hunt 2004).

El procedimiento consistió en digerir el ADN genómico utilizando la enzima *EcoRI* para producir fragmentos de restricción. Posteriormente se ligaron adaptadores para *EcoRI* a los extremos de los fragmentos de restricción generados que funcionaron como sitios de acoplamiento para oligonucleótidos en una reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Se realizó una primera PCR denominada preamplificación, en donde se utilizó el oligonucleótido 5'AGA CTG CGT ACC AAT TC. Las condiciones de la reacción fueron 20 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30s, alineamiento a 56°C por 1min y extensión a 72°C por 1min. Los productos de la preamplificación se diluyeron en una proporción 1:50 y se almacenaron a -20°C para posteriormente ser utilizados para realizar una segunda PCR,

denominada amplificación selectiva, en esta reacción se utilizaron tres oligonucleótidos, E1 5'AGA CTG CGT ACC AAT TCA A, E2 5'AGA CTG CGT ACC AAT TCA C y E3 5'AGA CTG CGT ACC AAT TCA G. La PCR consistió en un ciclo a 94°C por 30s, 65°C por 30s y 72°C por 1min, seguidos de 13 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30s, alineamiento a 65°C por 30s y una rampa de tiempo de 5min para alcanzar la temperatura de extensión a 72°C por 1min. La temperatura para alineamiento se redujo en -0.7°C por ciclo durante los 12 últimos ciclos. La reacción continuó con 22 ciclos a 94°C por 30s, 65°C por 30s y 72°C por 60s. Se realizaron en total seis amplificaciones selectivas para cada muestra con base en todas las combinaciones posibles de los tres oligonucleótidos.

Los productos de la amplificación selectiva se resolvieron en geles de agarosa al 2.5%, en TBE 0.5X, a 80 Volts por 3h, y posteriormente se tiñeron con bromuro de etidio para ser visualizados por medio de luz ultravioleta. Se generaron imágenes digitales de los geles utilizando un analizador de imágenes para su posterior análisis.

Se generaron 153 marcadores AFLP y se seleccionaron 39 marcadores polimórficos que se pudieron identificar en todas las colonias incluidas en el estudio (Figura 1).

## **2.5 Análisis estadístico**

### **2.5.1 Estimación del número efectivo de zánganos con los que se aparea una abeja reina**

Se analizaron las imágenes de los geles y se identificaron los patrones de bandas generados por los 39 marcadores clasificándolos como presente o ausente para cada individuo. Con esta información se elaboraron bases de datos para cada muestra. Los datos se sometieron a un análisis de agrupamiento jerárquico bajo el método de Ward utilizando el programa JMP® (Breckenridge 1989, Fondrk *et al.* 1993, Langfelder *et al.* 2008, Andreopoulos *et al.* 2009).

Con los resultados obtenidos en el análisis de agrupamiento jerárquico para el número de grupos de obreras dentro de cada muestra, se estimó el número efectivo de zánganos que se aparean con cada reina, utilizando la siguiente ecuación (Nielsen *et al.* 2003, Tarp *et al.* 2004):

$$\hat{K}_e = \frac{(n+1)^2}{\sum_{i=1}^{k_0} p_i^2 (n+1)(n-2) + 3 - n}$$

En donde,

$k_e$  = número efectivo de zánganos que se aparearon con la reina

$n$  = número de obreras incluidas en la muestra

$p_i$  = proporción obreras incluidas en la muestra que pertenecen a un mismo grupo

$k_0$  = número de grupos encontrados en la muestra de obreras

### **2.5.2 Efecto del grupo genético de la reina y del medio ambiente sobre el número efectivo de zánganos con los que se aparean una abeja reina**

Para determinar si existen efectos del grupo genético de las reinas y del medio ambiente en el número efectivo de zánganos que se aparean con las reinas se realizó un análisis de varianza bajo el siguiente modelo:

$$y_{ijk} = \mu + g_i + z_j + gz_{ij} + e_{ijk}$$

En donde:

$y_{ijk}$  = número efectivo de zánganos que se aparean con una reina

$\mu$  = media poblacional

$g_i$  = efecto del  $i$ ésimo grupo genético de la reina

$z_j$  = efecto de la  $j$ ésimo medio ambiente

$gz_{ij}$  = efecto de la interacción entre grupo genético de la reina y medio ambiente

$e_{ijk}$  = error experimental

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Estimación del número efectivo de zánganos con los que se aparea una reina

El número efectivo promedio de zánganos con los que se aparea una reina que se estimó en este estudio fue de  $6.97 \pm 0.37$ , con una desviación estándar de 2.33 y un rango de 10.99, con valores mínimo y máximo de 2.95 y 13.94 zánganos respectivamente.

El número efectivo promedio de zánganos que se aparean con una reina del genotipo EE, fue  $6.81 \pm 0.60$ , del genotipo EA fue  $6.90 \pm 0.62$ , del genotipo AE  $7.42 \pm 0.98$  y para las reinas del genotipo AA fue  $6.75 \pm 0.77$  (Cuadro 1).

En el medio ambiente A-1 la media para el número efectivo de zánganos que se aparearon con una reina fue  $8.07 \pm 0.51$  con una desviación estándar de 2.30, un rango de 9.44 con un valor mínimo de 4.30 y un máximo de 13.94 zánganos. El número efectivo promedio de zánganos que se aparearon con una reina del genotipo EE en este medio ambiente fue  $8.31 \pm 0.44$ , del genotipo EA fue  $7.86 \pm 0.87$ , del genotipo AE fue  $9.45 \pm 1.26$  y del genotipo AA fue  $6.66 \pm 1.23$  (Cuadro 2).

En el medio ambiente A-2 el número promedio de zánganos con los que se aparea una reina fue  $5.87 \pm 0.40$ . La desviación estándar fue 1.80 y el rango 8.22 con 2.95 y 11.16 zánganos como valores mínimo y máximo, respectivamente. El número efectivo promedio de zánganos que se aparean con una reina del genotipo EE en este medio ambiente fue  $5.32 \pm 0.57$ , con una reina del genotipo EA fue  $5.93 \pm 0.70$ , del genotipo AE fue  $5.41 \pm 0.85$  y del genotipo AA  $6.83 \pm 1.09$  (Cuadro 3).

### **3.2 Efecto del grupo genético y del medio ambiente sobre el número efectivo de zánganos con los que se aparea una abeja reina**

No se encontraron diferencias en el número efectivo de zánganos con los que se aparearon reinas de origen europeo, africanizado y sus híbridos recíprocos ( $F=0.23$ ;  $gl= 3, 32$ ;  $P>0.05$ ), se encontraron diferencias significativas debidas al efecto del medio ambiente ( $F=11.44$ ;  $gl= 1, 32$ ;  $P<0.01$ ) (Figura 2) y no se encontró que exista una interacción entre el grupo genético de las reinas y el medio ambiente para el número efectivo de zánganos con los que se aparearon las reinas ( $F=1.90$ ;  $gl= 3, 32$ ;  $P>0.05$ ).

## **4. DISCUSIÓN**

El número efectivo promedio de zánganos con los que se aparea una reina estimado en este estudio ( $6.97\pm 0.37$ ) se encuentra dentro del rango de los estimadores reportado en la literatura para esta variable (Adams *et al.* 1977, Taber y Wendel 1958, Cornuet *et al.* 1986, Estoup *et al.* 1994, Neumann *et al.* 1999<sup>a</sup>, Nuemann *et al.* 1999b, Tarpy *et al.* 2004, Jensen *et al.* 2005, Kraus *et al.* 2005, Schlüns *et al.* 2005).

No se encontró que existan diferencias en el número efectivo de zánganos con los que se aparean reinas africanizadas, europeas e híbridas. Estos resultados sugieren que el grupo genético de la reina no influye sobre el número de zánganos con los que se aparea. El número de apareamientos efectivos determina la variabilidad genética dentro de una colonia y en consecuencia su aptitud genética (Neumann y Moritz 2000). Los resultados de este trabajo sugieren que la variabilidad y aptitud genética de una colonia no está determinada por el genotipo de la reina en términos del número de zánganos con los que esta se aparea.

Las colonias africanizadas tienden a producir una mayor cantidad de zánganos y durante un mayor número de días durante el año que las colonias europeas, además los zánganos africanizados se introducen y son aceptados en colonias de abejas europeas utilizando los recursos de estas colonias para sobrevivir, mientras que los zánganos europeos no son aceptados en las

colonias africanizadas (Rinderer *et al.* 1985, Vergara *et al.* 1989, Danka *et al.* 1992, Dewey 2001, Schneider 2006, Guzmán-Novoa *et al.* 2011). El horario durante el día en que los zánganos africanizados vuelan hacia las zonas de congregación es más amplio que el de los zánganos europeos (Schneider *et al.* 2006) y los zánganos africanizados tienden a volar distancias menores hacia las zonas de congregación que los europeos (Taylor y Rowell 1988). Todo lo anterior hace que haya una mayor cantidad de zánganos africanizados en las zonas de congregación en comparación con los zánganos europeos, lo que en teoría aumenta la probabilidad de que las reinas se apareen con zánganos africanizados. Los resultados de este estudio indican que el número efectivo de zánganos con los que se aparee una reina africanizada o híbrida no es diferente al número de zánganos con los que se aparee una reina europea, lo que sugiere que esta variable no es un factor que contribuya en el proceso de africanización de las poblaciones de abejas, ya que un mayor número de apareamientos por parte de reinas africanizadas o híbridas podría representar una ventaja para el establecimiento del genotipo africanizado en una población al incrementar la probabilidad de que estas reinas se apareen con más zánganos africanizados como consecuencia de aparearse un mayor número de veces.

Existen pocos trabajos que busquen estimar el efecto del medio ambiente sobre el número de zánganos con los que se aparean las abejas reinas. Los resultados de este trabajo indican que el medio ambiente influye significativamente en el número efectivo de zánganos con los que se aparearon las reinas. Otros estudios reportan que el medio ambiente influye sobre esa variable, Neumann *et al.* (1999a) encontraron diferencias en el número efectivo de zánganos con los que se aparearon reinas en tres islas diferentes localizadas en el mismo lago, mientras que Neumann *et al.* (1999b) compararon el efecto de tres ambientes distintos; isla, valle y montaña, encontrando que el número efectivo de zánganos con los que se aparearon las reinas en la isla fue significativamente menor que el número de apareamientos que ocurrieron en el valle y en la montaña. Jensen *et al.* (2005) no encontraron diferencias para esta variable en dos valles que presentaban condiciones medio ambientales similares.

En el presente estudio se encontró que la diferencia en el número efectivo promedio de zánganos con los que se aparean las reinas entre los dos medios ambientes fue de 2.20. Las principales diferencias entre los dos medios ambientes que pueden explicar la diferencia en el número efectivo de zánganos con los que se aparearon las reinas están dadas por la altitud sobre el nivel del mar y el tipo de vegetación ya que el tipo de clima es similar en los dos medios ambientes. El medio ambiente A-1, en donde el promedio de apareamientos efectivos fue mayor, se encuentra a 1890 msnm y el tipo de vegetación que predomina es de bosque mesófilo de montaña con vegetación arbustiva y herbácea. Mientras que el medio ambiente A-2, en donde el promedio de apareamientos efectivos fue menor, se caracteriza por estar a 2940 msnm y el tipo de vegetación predominante es de bosque mesófilo de montaña con vegetación de bosque de oyamel.

Conocer el número de zánganos con los que se aparea una reina y el parentesco entre estos es necesario para poder estimar la relación de parentesco promedio entre las abejas obreras de una colonia o entre las abejas obreras de colonias diferentes, lo que es necesario para poder estimar parámetros genéticos. Los resultados de este estudio indican que el genotipo de las reinas no influyó sobre el número efectivo de apareamientos, pero el medio ambiente sí tuvo un efecto significativo. Esto indica que para poder obtener estimadores precisos de los parámetros genéticos para una población de colonias en particular, se deberá considerar el efecto que tiene el medio ambiente sobre el número efectivo de zánganos con los que se aparea una reina.

El presente estudio se realizó en la región en donde se lleva a cabo el programa de investigación en mejoramiento genético apícola del CENID Fisiología y Mejoramiento Animal del INIFAP, los estimadores que se obtuvieron para el número efectivo de zánganos con los que se aparean las reinas serán útiles para estimar con mayor precisión los parámetros genéticos asociados al desarrollo del programa.

## **5. CONCLUSIÓN**

Se encontró que el grupo genético de las reinas no influye en el número efectivo de zánganos con los que se aparean. El número de apareamientos no fue diferente entre reinas africanizadas, europeas y sus híbridos recíprocos en dos medios ambientes diferentes.

El medio ambiente tuvo un efecto significativo sobre el número efectivo de zánganos con los que se aparean las reinas, por lo que es una variable que se debe considerar para estimar el número de familias que existen en una colonia para calcular las relaciones de parentesco promedio que existen entre las abejas de una colonia y entre las colonias de una población, para estimar los parámetros genéticos necesarios para el desarrollo de programas de mejoramiento genético en abejas.

## 6. LITERATURA CITADA

- Adams J, Rothman ED, Kerr WE, Paulino ZL. Estimation of the number of sex alleles and queen mating form diploid male frequencies in a population of *Apis mellifera*. *Genetics* 1977;86:583-596
- Andreopoulos B, Aijun A, Xiaogang W, Schroeder M. A roadmap of clustering algorithms: finding a match for biomedical application. *Bioinformatics* 2009;10:297-314
- Arechavaleta-Velasco ME, Hunt GJ. Genotypic variation in the expression of guarding behavior and the role of guards in the defensive response of honey bee colonies. *Apidologie* 2003;34:439-447
- Arechavaleta-Velasco ME, Hunt GJ, Emore C. Quantitative trait loci that influence the expression of guarding and stinging behaviors of individual honey bees. *Behavior Genetics* 2003;33:355-362
- Arechavaleta-Velasco ME, Hunt GJ. Binary trait loci that influence honey bee (Hymenoptera Apidae) guarding behavior. *Ann Entomol Soc Am* 2004;97:177-183
- Breed MD, Robinson GE, Page RE Jr. Division of labor during honeybee colony defense. *Behav Ecol Sociobiol* 1990;27:395-401
- Breckenridge J. Replicating cluster analysis: method, consistency and validity. *Multivariate Behavioral Research* 1989;24(2):147-161
- Cole BJ, Wiernasz DC. The selective advantage of low relatedness. *Science* 1999;285:891-893
- Collins AM, Rinderer TE, Harbo J. Colony Defense by Africanized and European honey bees. *Science* 1982;218:72-74
- Collonelo NA, Hartfelder K. Protein content and pattern during mucus gland maturation and its ecdysteroid control in honeybee drones. *Apidologie* 2003;34:257-267
- Cornuet JM, Daoudi A, Chevalet C. Genetic pollution and number of matings in a black honey bee (*Apis mellifera mellifera*) population. *Theor Appl Genet* 1986;73:223-227
- Crozier RH, Page RE. On being the right size: male contributions and multiple mating in social Hymenoptera. *Behav Ecol Sociobiol* 1985;18:105-115
- Dade HA. *Anatomy and Dissection of the Honeybee*. 4<sup>ta</sup> ed. The Alden Press, Oxford 1994
- Danka RG, Hellmich RL II, Rinderer TE. Nest usurpation, supersedure and colony failure contribute to Africanization of commercially managed European honey bees in Venezuela. *J Apic Res* 1992; 31:119-123
- DeGrandi G, Tarpy DR, Schneider SS. Patriline composition of worker populations in honeybee (*Apis mellifera*) colonies headed by queens inseminated with semen from African and European drones. *Apidologie* 2003;34:111-120
- Estoup A, Solignac M, Cournuet JM. Precise assessment of the number of patrilines and of genetic relatedness in honeybee colonies. *Proc R Soc Lond* 1994;258:1-7
- Financiera Rural, Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial. *Monografía de la Miel*. 2011

- Fondrk MK, Page RE, Hunt GJ. Paternity analysis of worker honeybees using random amplified polymorphic DNA. *Naturwissenschaften* 1993;80:226-231
- Gadakar R. Origin and evolution of eusociality: A perspective from studying primitively eusocial wasps. *J Genet* 1990;2:113-125
- Guzmán-Novoa E, Page REJ. The impact of Africanized bees on Mexican beekeeping. *Ann Bee J* 1994; 124(2): 101-106
- Guzmán-Novoa E, Benitez-Correa Adriana, Espinosa-Montaña LG, Guzmán-Novoa G. Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México. *Vet Mex* 2011; 42(2): 149-178
- Howell, DE, Usinger RL. Observations on the flight and length of life of drones bees. *Ann Entomol Soc Amer* 1933;26:239-246
- Hunt GJ. Insect DNA extraction protocol. In fingerprinting methods based on arbitrarily primed PCR, MR. Michelli y R. Bova (eds.). Springer, Berlin Germany 1997;21-24
- Hunt G, Guzmán-Novoa E, Fondrk MK, Page RE. Quantitative trait loci for honey bee stinging behavior and body size. *Genetics* 1998;149: 1203-1213
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Anuario Estadístico del Estado de México (DF): INEGI, 1998
- Jensen AB, Palmer KA, Chaline N, Raine NE, Tofilsky A, Martin SJ, *et al.* Quantifying honey bee mating range and isolation in semi isolated valleys by microsatellite paternity analysis. *Conserve Genet* 2005;6:227-527
- Keller L, Reeve HK. Genetic variability, queen number and polyandry in social Hymenoptera. *Evolution* 1994;139:1371-1382
- Kerr WE. The history of the introduction of Africanized bees to Brazil. *S Afr Bee J* 1967;39:3-5
- Koeninger N, Koeninger G. Reproductive isolation among species of the genus *Apis*. *Apidologie* 2000;31:313-339
- Koeninger N, Koeninger G, Gries M, Tingek S. Drone competition at drone congregation areas in four *Apis* species. *Apidologie* 2005;36:211-221
- Kolmes SA, Winston ML, Ferguesson LA. The division of labour among worker honey bees (Hymenoptera:Apidae): the effects of multiple patriline. *J Kans Entomol Soc* 1989;62:80-95
- Kraus FB, Neumann P, Moritz RFA. Genetic variance of mating frequency in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Insect Soc* 2005; 52:1-5
- Laidlaw HH, Gomes FP, Kerr WE. Estimation of the number of lethal alleles in a panmitic polupation of *Apis mellifera* L. *Genetics* 1956; 108:985-997
- Langfelder P, Zhang B, Horvath S. Defining cluster form a hierarchical cluster tree: the dynamic tree cut package for R. *Bioinformatics*. 2008; 24: 719-720
- Nielsen R, Tarp DR, Reeve HK. Estimating effective paternity number of social insects and the effective number of alleles in a population. *Molecular Ecology* 2003;12:3157-3164
- Neumann P, Praagh JP, Moritz RFA, Dustman JH. Testing reliability of a potential island mating apiary using DNA microsatellites. *Apidologie* 1999a; 30:257-276

- Neumann P, Moritz FRA, Praagh J van. Queen mating frequency in different types of honeybee mating apiaries. *Journal of Apicultural Research* 1999b; 38: 11-18
- Neumann P, Moritz RFA. Testing genetic variance hypothesis for the evolution of polyandry in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Insect Soc* 2000;47:271-279
- Oertel E. Observations on the flight of drone honeybees. *Ann Entomol Soc Amer* 1956;49:497-500
- Oldroyd BE, Clifton MJ, Parker K, Wongsiri S, Rinderer TE, Crozier RH. Evolution of mating behaviour in the genus *Apis* and an estimate of mating frequency in *Apis cerana* (Hymenoptera:Apidae). *Ann Entomol Soc Am* 1998;91:700-709
- Page RE, Metcalf RA. Multiple mating, sperm utilization and social evolution. *Amer. Nat.* 1982; 124:680-281
- Page RE, Mitchell SD. Self organization and the evolution of division of labour. *Apidologie.* 1998; 29:171-190
- Page RE Jr y Robinson GE. The genetics of division of labour in honeybee colonies. *Adv Insect Physo* 1991;23:117–169
- Page RE Jr, Fondrk MK, Hunt GJ, Guzmán-Novoa E., Humphries MA, Nguyen K, Greene AS. Genetic dissection of honeybee (*Apis mellifera* L.) foraging behavior. *J Hered* 2000;91:474–479
- Palmer KA, Oldroyd BP. Evolution of multiple mating in the genus *Apis*. *Apidologie* 2000;31:235-248
- Pamilo P. Polyandry and allele frequency differences between the sexes in the ant *Formica aquilonia*. *Heredity* 1993;70:472-480
- Rinderer TE, Helmich RL II, Danka RG, Collins AM. Male Reproductive Parasitism: A factor in the Africanization of European honey bee populations. *Science* 1985;228 (4703):1119-1121
- Rinderer TE, Collins AM, Hellmich RL II, Danka RG. Differential drone production by Africanized and European honey bee colonies. *Apidology* 1987;18(1):61-68
- Robinson GE, Page RE Jr. Genetic determination of guarding and undertaking in honeybee colonies. *Nature* 1988;333:356–358
- Ruttner F. The life and flight activity of drones. *Bee World* 1966;47:93-100
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, (DF): SAGARPA, Sala de Prensa 2011 URL: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/boletines2/paginas/2011B391.aspx>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Manual de Polinización Apícola. SAGARPA 2010 URL: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Manuales%20apcolas/Attachments/4/manpoli.pdf>
- Schlüns H, Moritz RFA, Neumann P, Kryger P, Koeniger G. Multiple nuptial flights, sperm transfer and the evolution of extreme polyandry in honeybee queens. *Animal Behaviour* 2005;70,125-131
- Schmid-Hempel. Infection and colony variability in social insects. *Phil Trans R Soc Lond B* 1994;346:313-321

- Schneider S, DeGrand-Hoffman G, Smith D, Tarpy D. The African honey bee. *Bee Culture* 2006:1-8
- Secretaría de Desarrollo Urbano Estado de México. Vegetación, 2007 [mapa Estado de México. Secretaría de desarrollo Urbano 2007]
- Suazo A, Hall HG. Modification of the AFLP protocol applied to honey bee (*Apis mellifera* L.) DNA. *BioTechniques* 1999;26:704-709
- Taber S. The frequency of multiple mating of queen honeybees. *J Econ Entomol* 1954;47:995-998
- Taber S, Wendel J. Concerning the number of times queen bees mate. *J Econ Entomol* 1958;51:786-789
- Tarpy DR, Page RE. No behavioral control over mating frequency in queen honey bee (*Apis mellifera* L.) Implications for the evolution of extreme polyandry. *The American Naturalist* 2000;155 (6):820-827
- Tarpy DR, Nielsen DI. Sampling error, effective paternity, and estimating the genetic structure of honey bee colonies (hymenoptera:apidae). *Ann Entomol Soc Am* 2002;95:513-528
- Tarpy DR, Nielsen R, Nielsen DI. A scientific note on the revised estimates of the effective paternity frequency in *Apis*. *Insect Soc* 2004; 51:203–204
- Taylor OR, Kingsolver RW, Otis GW. A neutral mating model for honeybees (*Apis mellifera* L.) *Apic Res* 1986;23:21-24
- Taylor OR, Rowell GA. Drone abundance, queen flight distance, and the neutral mating model for the honeybee, *Apis mellifera*. Africanized honey bees and bee mites 1988: 173-183
- Uribe-Rubio JL, Guzmán Novoa E, Hunt GJ, Correa-Benitez, Zozaya JA. Efecto de la africanización sobre la producción de miel, comportamiento defensivo y tamaño de las abejas melíferas (*Apis mellifera*) en el altiplano mexicano. *Vet Mex* 2003;34 (1):47-59
- Vergara C, Dietz A, Perez A. Usurpation of managed honey bee colonies in Tabasco, Mexico. *Ann Bee J* 1989; 129:824-825
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res* 1995;23:4407-4414
- Winston ML. The biology of the honey bee. Harvard University Press. EUA 1987
- Winston ML. The Biology and management of the Africanized honey bees. *Annu Rev Entomol* 1992;37:173-193
- Witherell PC. Duration of flight and interflight time of drone bees, *Apis mellifera*. *Ann Ent Soc Am* 1971;64: 609-612
- Woyke J. Natural and artificial insemination of queen honey bees. *Bee World* 1960;11:65-75

## 7. CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1. Media, error estándar, desviación estándar, rango, valor mínimo y valor máximo para el número efectivo de zánganos que se aparean con reinas europeas (EE), africanizadas (AA) y sus híbridos recíprocos (EA y AE).

Genotipo	n	Media	EE	DE	Rango	Valor mínimo	Valor máximo
EE	10	6.81	0.60	1.91	5.31	4.00	9.31
EA	10	6.90	0.62	1.95	7.16	4.00	11.16
AE	10	7.42	0.98	3.11	10.99	2.95	13.94
AA	10	6.75	0.77	2.45	6.86	4.30	11.16

Cuadro 2. Media, error estándar, desviación estándar, rango, valor mínimo y valor máximo para el número efectivo de zánganos que se aparean con reinas europeas (EE), africanizadas (AA) y sus híbridos recíprocos (AE y EA) en el medio ambiente A-1.

Genotipo	n	Media	EE	DE	Rango	Valor mínimo	Valor máximo
EE	5	8.31	0.44	0.99	2.32	6.99	9.31
EA	5	7.87	0.87	1.95	4.95	6.21	11.16
AE	5	9.45	1.26	2.81	7.73	6.21	13.94
AA	5	6.66	1.23	2.75	6.86	4.30	11.16

Cuadro 3. Media, error estándar, desviación estándar, rango, valor mínimo y máximo para el número efectivo de zánganos que se aparean con reinas europeas (EE), africanizadas (AA), y sus híbridos recíprocos (EA y AE) en el medio ambiente A-2.

Genotipo	n	Media	EE	DE	Rango	Valor mínimo	Valor máximo
EE	5	5.32	0.57	1.27	2.99	4.00	6.99
EA	5	5.93	0.70	1.57	3.98	4.00	7.98
AE	5	5.41	0.85	1.91	5.03	2.95	7.98
AA	5	6.83	1.09	2.44	5.57	5.59	11.16

Figura 1. Marcadores AFLP generados a partir de la reina (R) y las obreras (1-11) de la colonia de abejas 49, utilizando los oligonucleótidos E1 (5'AGA CTG CGT ACC AAT TCA A) y E3 (5'AGA CTG GCT ACC AAT TCA G)

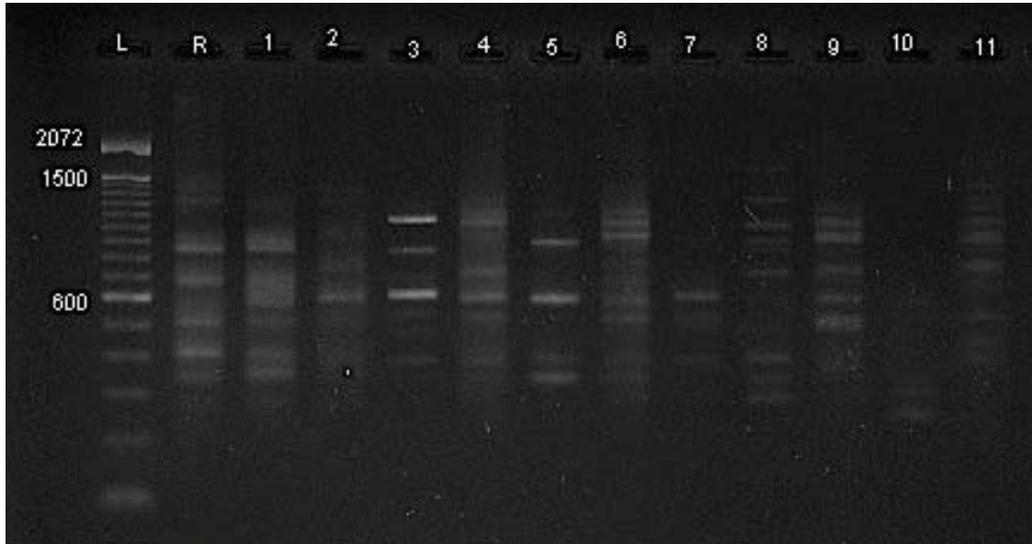


Figura 2. Número efectivo promedio de zánganos ( $\pm$ EE) que se aparean con reinas en dos medios ambientes, A-1 (n=20) y A-2 (n=20). Letras diferentes indican diferencias significativas basadas en un ANOVA ( $F=11.44$ ;  $gl=1, 32$ ;  $P<0.01$ ).

