

01674



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

90

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

**CONFIABILIDAD DE PRUEBAS Y MÉTODOS PARA
EVALUAR EL COMPORTAMIENTO DEFENSIVO Y EL
TAMAÑO CORPORAL EN TRES GENOTIPOS
DE ABEJAS MELÍFERAS
(*Apis mellifera* L.)**

T E S I S

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

**P R E S E N T A
DANIEL PRIETO MERLOS**

**T U T O R:
DR. ERNESTO GUZMÁN NOVOA**

**COMITÉ TUTORAL:
DR. GABRIEL OTERO COLINA
DR. ENRIQUE GONZÁLEZ SORIANO**

México, D.F.

2002

**TEJES 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 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.

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

MVZ DANIEL PRIETO MERLOS

... a la Dirección General de Bibliotecas ...
... a difundir en formato electrónico e impreso ...
... de mi trabajo ...
NOMBRE: Daniel Prieto Merlos
FECHA: 4/09/02
FIRMA: *[Handwritten Signature]*

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

DEDICATORIAS

**A MIS PADRES:
SRA. CARMEN MERLOS SERRANO
SR. ABEL PRIETO PALOMINO
POR SU AMOR Y GRAN APOYO, GRACIAS**

**A LA MEMORIA DE MIS ABUELITOS:
JULIA SERRANO
RAYMUNDO MERLOS
FERNANDO PRIETO
POR TODO LO QUE FUERON, NO LOS OLVIDARE NUNCA**

**A LA ABUELITA:
LORENZA PALOMINO, CON CARÍÑO**

**A MI ESPOSA:
XÓCHITL, GRACIAS POR SU APOYO Y COMPRENSIÓN**

**A MIS HIJOS:
DANIEL Y ADRIAN, POR LA GRAN ALEGRÍA QUE LE HAN DADO HA MI VIDA**

**A MIS HERMANOS:
SANDRA Y CÉSAR, POR SU CARÍÑO Y APOYO INCONDICIONAL**

**A TODOS MIS TIOS, CUÑADOS, PRIMOS Y SOBRINOS:
POR AYUDARME SIEMPRE EN EL MOMENTO OPORTUNO, GRACIAS**

**A MI SUEGRA:
SRA. BERTHA CARMONA BAÑOS, POR SU APOYO, GRACIAS**

**A LA MEMORIA DE MI SUEGRO:
SR. ELIGIO CASTELLANOS BUSTOS, POR SU APOYO, GRACIAS**

**AL PRIMO FÉLIX CASTELLANOS CARMONA:
POR SU ALEGRÍA Y AMISTAD (q.e.p.d.)**

**AL AMIGO FERNANDO CRISTÓBAL AQUINO:
POR SU AMISTAD (q.e.p.d.)**

A TODA MI FAMILIA, GRACIAS

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

AGRADECIMIENTOS

**MI MÁS SINCERO AGRADECIMIENTO AL
DR. ERNESTO GUZMÁN NOVOA
POR SUS ENSEÑANZAS, SU ACERTADA ORIENTACIÓN, SU PACIENCIA Y
AMISTAD, GRACIAS POR TODO.**

**AL COMITÉ TUTORAL:
DR. GABRIEL OTERO COLINA
DR. ENRIQUE GONZÁLEZ SORIANO
POR SUS ENSEÑANZAS Y ORIENTACIÓN DURANTE EL DESARROLLO DE MI
MAESTRÍA**

**A LOS MIEMBROS DEL JURADO:
DR. CARLOS VÁSQUEZ
POR SU AMABILIDAD, APOYO EN LA REVISIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS DE ESTE
TRABAJO, GRACIAS
AL MVZ. J. ANTONIO ZOZAYA:
POR SU APOYO Y CONSEJOS, GRACIAS**

**AL DR. JAVIER FLORES COVARRUBIAS
POR SU AMABILIDAD Y APOYO, GRACIAS**

**A MIS AMIGOS:
ANGEL, JUAN, NEGRETE Y MUCHOS MÁS, POR SU AMISTAD Y APOYO QUE
SIEMPRE ME HAN BRINDADO**

**A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE LA UNIVERSIDAD Y DE LA MAESTRIA,
GRACIAS POR SU AMISTAD**

**ALFREDO, DEYANIRA Y NORMA, POR SU VALIOSO APOYO EN EL DESARROLLO
DE LA FASE EXPERIMENTAL DE ESTE TRABAJO, GRACIAS**

**A MIS PROFESORES QUE ME IMPARTIERON CLASES EN POSGRADO, GRACIAS
POR COMPARTIR SUS CONOCIMIENTOS**

**AL DR. ROBERTO CERVANTES
POR SU AMISTAD Y CONSEJOS**

**A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA Y POSGRADO
POR LA FORMACIÓN, GRACIAS**

**ESTE TRABAJO FUE FINANCIADO PARCIALMENTE CON LA AYUDA DEL
PROGRAMA DE APOYO A PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN
TECNOLÓGICA (PAPIIT) DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE ASUNTOS DEL
PERSONAL ACADÉMICO (DGAPA) DE LA UNAM, A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, CON EL PROYECTO "IN201900".**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

ÍNDICE

RESUMEN	V
SUMMARY	VII
Lista de cuadros	IX
Lista de figuras	X
1.0. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes de la apicultura en México	1
1.2. Problemática de las abejas africanizadas	2
1.3. Métodos para medir el comportamiento defensivo de las abejas	5
1.4. Métodos para medir el tamaño de las abejas	7
1.5. Justificación	8
1.6. OBJETIVOS	9
1.7. HIPÓTESIS	9
2.0. MATERIAL Y MÉTODOS	10
2.1. Área de estudio	10
2.2. Instalación de las colonias experimentales	10
2.3. Pruebas de campo para evaluar el comportamiento defensivo de las abejas	11
2.4. Medición de variables ambientales	14
2.5. Método de laboratorio para evaluar el comportamiento defensivo de las abejas	14
2.6. Método simplificado para medir las alas de las abejas	15
2.7. Análisis de datos	18
3.0. RESULTADOS	20
3.1. Confiabilidad de las pruebas	20
3.2. Variación entre genotipos	21
3.3. Efectos de colonia y ambientales	22
3.4. Métodos de medición de alas	22
4.0. DISCUSIÓN	24
4.1. Confiabilidad de las pruebas	24
4.2. Variación entre genotipos	27
4.3. Efectos de colonia y ambientales	28
4.4. Métodos de medición de alas	29
4.5. Tiempo y costos invertidos	30
4.6. Usos prácticos de los métodos en la selección de abejas dóciles	30
5.0. CONCLUSIONES	33
6.0. REFERENCIAS CITADAS	35
7.0. CUADROS Y FIGURAS	40

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

Daniel Prieto Merlos. Confiabilidad de pruebas y métodos para evaluar el comportamiento defensivo y el tamaño corporal en tres genotipos de abejas melíferas (*Apis mellifera* L.). Bajo la dirección del: Dr. Ernesto Guzmán Novoa, Comité tutorial: Dr. Gabriel Otero Colina y Dr. Enrique González Soriano.

El objetivo de este trabajo fue determinar la confiabilidad de pruebas de campo y métodos de laboratorio para evaluar el comportamiento defensivo y el tamaño corporal de las abejas (*Apis mellifera* L.) para discriminar entre abejas defensivas y dóciles y para identificar abejas con características europeas o africanizadas, con fines de estudio, regulación o mejoramiento genético. Se establecieron 18 colonias con tres genotipos diferentes: europeo, africanizado e híbrido (seis colonias de cada genotipo), para contar con colonias de comportamiento defensivo variable. Además de lo anterior, abejas de genotipos de alto y bajo comportamiento de defensa (africanizadas y europeas), se mezclaron en colonias comunes para determinar efectos genotípicos y ambientales sobre la respuesta de defensa de las abejas. Cuatro pruebas de campo fueron evaluadas: apreciación, bandera, caja y feromona y una de laboratorio: choque eléctrico. Factores ambientales tales como la humedad y temperatura fueron medidos en las pruebas de campo. Finalmente, se desarrolló y determinó la confiabilidad y ventajas de un sistema simplificado para medir las alas de las abejas para clasificarlas de acuerdo a su tamaño y grado de africanización. Para medir la confiabilidad de las cuatro pruebas en campo se obtuvieron coeficientes de variación (CV). La prueba de apreciación tuvo un CV promedio entre repeticiones de 17.01%, contra 71.84, 90.40 y 67.26% de las pruebas de bandera, caja y feromona, respectivamente. Por lo tanto, la prueba de apreciación resultó ser la más confiable, económica y práctica. La medición de la persecución de las abejas a los operadores de las colmenas, resultó ser el componente que separó más a las colonias dóciles de las defensivas. El número de abejas africanizadas persecutoras fue de 81 a 154 veces mayor que para el caso de abejas europeas. La prueba del choque eléctrico fue confiable, ya que los resultados de esta prueba permitieron discriminar entre

genotipos de abejas de alto, intermedio y bajo comportamiento defensivo ($P < 0.0001$) y además estuvieron relacionados con los obtenidos con las pruebas de campo. Las abejas de colonias más defensivas de acuerdo a las pruebas de campo, fueron las que tuvieron los más bajos umbrales de respuesta al choque eléctrico. La humedad y la temperatura no influyeron significativamente en las respuestas defensivas de las abejas ($P > 0.05$). La longitud de alas estuvo alta y significativamente correlacionada con el comportamiento defensivo de las abejas, particularmente con los componentes del método de apreciación ($r = - 0.56$ a $- 0.62$, $P < 0.0001$). Las colonias con abejas de alas más cortas fueron más defensivas que las colonias con abejas de alas más largas. Además, el método simplificado fue relativamente confiable, más económico y fácil de aplicar que el método morfométrico rápido (FABIS). Hubo una correlación de 0.65 ($P < 0.0001$) entre estos métodos y además el costo y tiempo de aplicación del método simple, fue $>40\%$ menor que el de FABIS.

Palabras clave: *Apis mellifera* L. / comportamiento defensivo / pruebas / confiabilidad / abejas africanizadas / longitud de ala / choque eléctrico

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SUMMARY

This study was conducted to determine the reliability of assays and methods to evaluate the defensive behavior and size of honey bees (*Apis mellifera* L.), to discriminate defensive and gentle bees, as well as to identify bees with European or African characteristics, for study, regulatory or breeding aims. Six colonies of each of three different genotypes (European, Africanized, and hybrid) were established. Additionally, bee's from genotypes of extreme defensiveness (Africanized and European), were cofostered in common hives, to detect genotypic and environmental effects on the bee's defensive behavior. Four field assays: ratings, flag, box, and pheromone, and one laboratory assay: electric shock, were evaluated. Environmental factors such as humidity and temperature were measured during field trials. Finally, the reliability and advantages of a new method to measure the worker's wing –length was determined in order to classify samples of bees according to their size and level of Africanization. To determine the reliability of the four field assays, coefficients of variation (CV) were calculated. The ratings assay had a CV = 17.01%, versus 71.84, 90.40, and 67.26% for the flag, box, and pheromone assays, respectively. The pursuing behavior of the experimental bees was the component of the field assays that best separated gentle and defensive colonies. The mean number of pursuing Africanized bees was 81 to 154 times higher than that of pursuing European bees. The electric-shock assay was reliable, because it was capable of discriminating among bee genotypes of high, medium, and low defensiveness ($P < 0.0001$). In addition, the results of the electric-shock assay were related to those obtained with field assays. The bees from the most defensive colonies according to the field trials, were the ones with the lowest thresholds of response to the electric stimulus. Humidity and temperature did not affect the defensive responses of the bees tested ($P > 0.05$). The size of the wings was significantly correlated with the defensive responses of the experimental colonies, particularly with those of the ratings assay ($r = -0.56$ to -0.62 , $P < 0.0001$). Moreover, the simple method was relatively reliable, more economic and easier to implement than the official morphometric fast method

(FABIS). There was a correlation of 0.65 ($P < 0.0001$) between these methods, and the cost and implementation of the simple method was >40% lower than that of FABIS.

Key words: *Apis mellifera* L. / defensive behavior / assays / reliability / Africanized honey bees / wing length / electric shock

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Medias de coeficientes de variación (%) de los valores obtenidos para las variables medidas con cuatro pruebas de campo, en 18 colonias de abejas melíferas con diferentes grados de comportamiento defensivo.

Cuadro 2. Medias de coeficientes de variación (% CV) y de los valores obtenidos (\pm E.E.) de pruebas de apreciación (valor categórico), bandera (No. agujones), caja (% abejas picadoras) y feromona (No. abejas reclutadas), en seis colonias de cada uno de tres genotipos (africanizado, híbrido, europeo) de abejas melíferas.

Cuadro 3. Número promedio y (porcentaje) de abejas por genotipo (africanizado, híbrido y europeo), que persiguieron a los operadores después de pruebas de apreciación y de bandera, a cinco distancias progresivas de su colmena.

Cuadro 4. Umbral promedio de un estímulo eléctrico (mA) \pm E.E. requerido para provocar el agujoneo de abejas de una colonia africanizada, dos híbridas y una europea (n= 75, 200, 200 y 150, respectivamente).

Cuadro 5. Tiempo promedio (s) \pm E.E. que tardaron 104 abejas de dos colonias africanizadas y 110 abejas de dos colonias europeas en picar, al ser expuestas a un estímulo eléctrico de 1 mA.

Cuadro 6. Relación entre variables medidas con cuatro pruebas de campo y la intensidad de un estímulo eléctrico de una prueba de laboratorio a la cual picaron las abejas.

Cuadro 7. Propensión a picar y a perseguir medidas con una prueba de bandera, entre abejas africanizadas y europeas en un medio ambiente común.

Cuadro 8. Media (\pm intervalo de confianza, 95%) para el número de abejas cuyas alas rebasaron la escala de 9.00 mm de la plantilla usada con el método simple de medición, en muestras de 30 obreras cada una. Las muestras fueron clasificadas como abejas con medidas africanizadas, europeas e intermedias, de acuerdo con Rinderer *et al.* (1986).

Cuadro 9. Coeficientes de correlación (r) y de determinación (r^2) entre la longitud promedio de ala de las obreras y las variables medidas en las siguientes pruebas de campo: apreciación, bandera, caja y feromona.

Cuadro 10. Tiempo estimado, costo aproximado en materiales (pesos, M. N.) e inversión en equipo (pesos, M. N.) necesarios para la realización de cinco pruebas para medir el comportamiento defensivo de las abejas melíferas y de dos métodos para medir su longitud de ala anterior.



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. La prueba de apreciación consiste en evaluar el grado categórico al que las abejas corren, vuelan, chocan, pican y persiguen, en condiciones de una revisión de rutina.

Figura 2. Hoja de registro para categorizar el comportamiento defensivo de colonias de abejas melíferas, mediante la prueba de apreciación.

Figura 3. Prueba de bandera sobre cámara de cría. Consiste en agitar un parche de cuero sobre la cámara de cría de una colonia de abejas durante 20 s. Posteriormente, se cuentan los aguijones dejados por las abejas en el parche de cuero

Figura 4. Prueba de bandera en caja. Consiste en hacer pasar un número arbitrario de abejas de su colmena a una caja de acrílico que se inserta en la piquera de la colmena. En el interior de la caja, se agita una bandera durante 60 s y luego se determina el porcentaje de abejas que haya picado el parche de cuero de la bandera.

Figura 5. Prueba de reclutamiento a una feromona de alarma. Consiste en tomar dos fotografías: una antes de aplicar la feromona y otra 20 s después de aplicar 3 μ L de esta en la entrada de la colmena. La diferencia en el número de abejas entre ambas fotografías se toma como parámetro para establecer el grado de reacción defensiva de la colonia de abejas probada.

Figura 6. Esquema del electroestimulador usado para cuantificar el umbral de corriente eléctrica requerido para provocar el aguijoneo de abejas melíferas. Los dos polos del aparato son conectados a los alambres paralelos. (Modificado de Paxton *et al.* 1994).

Figura 7. El método simplificado para medir las alas de las abejas consiste en comparar la longitud del ala anterior de 30 abejas con la escala de 9.00 mm de una plantilla. El número de abejas cuyas alas rebasen la escala, determinará su clasificación en abejas con medidas europeas, africanizadas o intermedias.

Figura 8. Regresión entre la longitud media de ala anterior (mm) de abejas obreras de 209 colonias, obtenida mediante el método FABIS (sistema rápido de identificación de abejas africanizadas) y el número de abejas con alas iguales y/o menores a 9.00 mm, medidas con el método simple ($r = 0.65$; $r^2 = 0.42$; $P < 0.0001$).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.0. INTRODUCCION

1.1. Antecedentes de la apicultura en México

La explotación de la abeja melífera por parte del hombre es tan antigua como la humanidad misma. El hombre primitivo aprendió a robar la miel de colonias de abejas que anidaban en troncos huecos o en grietas de las rocas, como lo demuestra una pintura rupestre de la era mesolítica en la Cueva de la Araña, en Valencia, España, la cual data de unos 7,000 años A. C. (Benedetti 1990). La apicultura propiamente dicha comenzó cuando el hombre aprendió a salvaguardar el futuro de las colonias de abejas, utilizando un cierto cúmulo de conocimientos, cuidados y supervisión.

La apicultura es una actividad que en México se practica desde antes de la llegada de los españoles al Continente Americano. Los antiguos mayas cultivaban las abejas de los géneros *Melipona* y *Trigona*, que son abejas sin aguijón. El cultivo de estas abejas tuvo una gran importancia para los mayas como soporte de su nutrición, farmacopea y comercio con otros pueblos. Sin embargo, a pesar de que estas abejas eran fáciles de cultivar con mínima inversión y no picaban, la cantidad de miel almacenada por ellas no era comparable con la obtenida con abejas europeas (*Apis mellifera* L.), abejas traídas a México en la época colonial. Por eso, su cultivo disminuyó y la explotación de abejas europeas se incrementó notablemente (Labougle y Zozaya 1986).

La apicultura en México tiene una gran importancia social, económica y ecológica. De ella dependen alrededor de 400,000 personas, ya sea de manera directa, trabajando como apicultores, o de manera indirecta, elaborando equipo apícola o comercializando los productos de las abejas. Además, la apicultura es una de las tres primeras fuentes captadoras de divisas del subsector ganadero en México. En 1998 se produjeron 55,297 ton de miel y se exportaron 26,321, que generaron divisas del orden de los 35 millones de dólares (PNCAA 1998). La apicultura mexicana es manejada por aproximadamente 40,000 apicultores, la mayoría campesinos que con la venta de la miel y cera obtienen un aumento sustancial en

el ingreso familiar. Por otro lado, la polinización que realizan las abejas melíferas contribuye al equilibrio ecológico de muchas especies vegetales silvestres, mientras que en los cultivos agrícolas mexicanos tiene un valor estimado en más de 18,000 millones de pesos cada año (Guzmán-Novoa 1996).

1.2. Problemática de las abejas africanizadas

La apicultura nacional está afectada por una variedad de problemas, siendo las abejas africanizadas uno de los factores que más daña el área productiva. Otros problemas que afectan la productividad son enfermedades como la varroosis y las loques, así como variaciones climáticas y falta de capacitación técnica de los apicultores mexicanos. En 1985, antes de la llegada de las abejas africanizadas a México, el número de colmenas se estimó en 2'300,000, la producción de miel en más de 62,000 ton y la exportación en 48,000 ton. Sin embargo, durante el último lustro, tanto el número de colmenas como la producción y exportación de miel han disminuido considerablemente. Durante 1995 por ejemplo, la producción fue menor a 48,000 ton, mientras que la exportación fue de sólo 25,000, lo que representa 52% de la miel que se exportaba hace menos de 15 años. En cuanto al número de colmenas, no hay cifras precisas, pero el Programa Nacional para el Control de la Abeja Africana de la SAGARPA consigna 1'800,000, aunque el número podría ser menor (Guzmán-Novoa, 1996).

Las abejas africanizadas son híbridos de la cruce de razas de abejas europeas y africanas que se originaron en Brasil en 1957. Las diferentes razas de abejas europeas se cruzaron con genotipos de *Apis mellifera scutellata* importados de África con la finalidad de establecer un programa de mejoramiento genético (Kerr 1967). Estas abejas llegaron a nuestro país desde finales de 1986, año en que entraron los primeros enjambres a través de la frontera con Guatemala, luego de 29 años de migración desde Brasil (Moffett *et al.* 1987). Entre los rasgos indeseables de las abejas africanizadas están su alto comportamiento defensivo y migratorio, su tendencia a abandonar las colmenas (evasión) y su baja productividad (Guzmán-Novoa y Page 1994b). Uribe (2001) encontró en el Estado de México que las colonias de abejas con ADN mitocondrial africano, producían

significativamente menos miel que las colonias que tenían ADN mitocondrial europeo.

Por ser híbridos de razas diferentes, pero de la misma especie (*Apis mellifera*), las abejas africanizadas son muy difíciles de diferenciar de las abejas europeas a simple vista; sin embargo, se sabe que además de ser más defensivas, estas abejas son más pequeñas que las europeas. El comportamiento defensivo y el tamaño de las abejas son características altamente relacionadas en zonas en donde se han establecido las abejas africanizadas. Guzmán-Novoa y Page (1999a) reportaron en un estudio hecho en más de 600 colonias, una correlación altamente significativa y negativa ($r = -0.54$) entre el aguijoneo de las abejas y la longitud de ala, una característica usada para determinar el tamaño de las abejas. Es un hecho que debido a diversas circunstancias, la producción de miel se ha desplomado en todos los países donde las abejas africanizadas se han establecido. Los países centroamericanos por ejemplo, producen menos de 40% de la miel que producían antes de la africanización de sus colonias, y aunque en México el impacto no ha sido tan grande, es el problema que más afecta a la industria apícola (Rinderer *et al.* 1985; Guzmán-Novoa 1996)

El alto comportamiento defensivo es la característica más indeseable de las abejas africanizadas. Varios estudios han demostrado que las abejas africanizadas son significativamente más defensivas que las abejas europeas (Stort 1974, 1975a,b,c; Collins *et al.* 1982; Villa 1988; Guzmán-Novoa y Page 1993, 1994a) y que esta característica es altamente heredable (Stort 1975a; Collins *et al.* 1984, Collins 1986). Además, esta característica parece ser genéticamente dominante (Stort 1975a; Guzmán-Novoa y Page 1993, 1994a; Guzmán-Novoa *et al.* 2002a). En México, la alta respuesta de defensa de estas abejas ha ocasionado más de 3,000 accidentes de picaduras a personas, de las cuales han muerto más de 300 (Cajero 1995). Por otro lado, aunque no existen estadísticas sobre el número de animales muertos, éste seguramente es de miles, a juzgar por lo común que es escuchar quejas sobre animales picados y muertos en todas las regiones apícolas de México. La consecuencia directa de esta agresividad sobre la

apicultura, es que los apicultores abandonan la actividad o reducen su número de colmenas, pues el encontrar sitios apropiados para establecer apiarios se ha dificultado. Los dueños de terrenos no aceptan fácilmente el establecimiento de apiarios y los lugares en donde se pueden poner apiarios por no representar problemas de accidentes, son generalmente poco accesibles como para darles una atención adecuada a las abejas.

Además de los problemas causados por su comportamiento defensivo, la alta tendencia de las abejas africanizadas a abandonar las colmenas (Winston *et al.* 1979) ha provocado una pérdida importante de colonias. El tener abejas agresivas y evasivas aumenta los costos de producción porque obliga a los apicultores a ubicar sus apiarios en sitios más remotos, con el consecuente aumento de los costos de transportación y de mano de obra (cada hombre trabaja menos colmenas por día en relación a trabajar con abejas europeas). También los costos aumentan por concepto de equipo de protección como overoles y guantes que antes no se utilizaban (Guzmán-Novoa y Page 1994b).

De lo arriba mencionado puede concluirse que la apicultura en México es hoy día más compleja y costosa que antes de la africanización y que de no tomarse medidas adicionales, la tendencia es que se sigan perdiendo más colmenas y que la producción y exportación de miel sigan bajando. Debido a lo antes expuesto, puede inferirse la importancia que tiene buscar soluciones para controlar o aminorar los efectos nocivos de la africanización de las colonias de abejas.

Dados sus inconvenientes para ser utilizadas en explotaciones comerciales, es importante poder identificar y discriminar abejas con características africanas de aquéllas con características europeas. Por ello, gobiernos, científicos y apicultores, necesitan métodos confiables y prácticos para medir el comportamiento defensivo y el tamaño de las abejas melíferas, para identificar colonias defensivas y dóciles, y colonias con características europeas o africanas con fines de estudio, regulación, cría y/o mejoramiento genético.

1.3. Métodos para medir el comportamiento defensivo de las abejas

Para medir el comportamiento defensivo de las abejas en campo, se han utilizado pruebas que incluyen el uso de un objeto suspendido y en movimiento (blanco), hecho de muselina (Free 1961) o cuero (Maschwitz 1964; Stort 1974; Collins y Kubasek 1982; Villa 1988; Guzmán-Novoa y Page 1993, 1994a), que es presentado frente a la entrada de la colmena (piquera), para incitar a las abejas a picar. Spangler *et al.* (1990) registraron la respuesta defensiva de varias colonias de abejas africanizadas con un dispositivo electrónico, el Probador del Temperamento de Abejas Melíferas (PTAM) (Spangler y Erickson 1991). Este dispositivo usa como blanco una botella negra de plástico, que contiene un pequeño micrófono en su interior. El blanco es suspendido con un cable eléctrico el cual está conectado a un módulo electrónico digital, que fue diseñado para detectar y registrar un conteo de señales eléctricas. Cuando las abejas chocan con la botella plástica del dispositivo, al intentar picarla, producen señales eléctricas que se registran en el módulo electrónico del aparato. Guzmán-Novoa *et al.* (1999b) compararon la confiabilidad de una prueba tradicional de un parche de cuero en movimiento, con la del PTAM. El método tradicional o de bandera consiste en agitar un rectángulo de cuero sostenido por una varilla de madera para incitar a las abejas a picarlo. Los investigadores reportaron que ambos métodos podían discriminar entre colonias dóciles y colonias altamente defensivas. Sin embargo, debido a la alta variación encontrada entre repeticiones dentro de las colonias, los métodos podían clasificar incorrectamente a las colonias con grados intermedios de respuesta defensiva.

García (1997) comparó la confiabilidad del método tradicional de bandera de cuero con la de un método de apreciación. El método de apreciación consiste en categorizar varios componentes del comportamiento defensivo de las colonias al abrir una colmena. Se encontró una variación significativa entre colonias con ambos métodos, lo que sugiere que ambas pruebas pueden separar las colonias manejables de las agresivas; sin embargo, la variación entre repeticiones en colonias individuales, fue menor con el método de apreciación, por lo que resultó

ser más confiable que el tradicional. El método de bandera tuvo un coeficiente de variación entre repeticiones de 82.33%, mientras que el del método de apreciación fue de 23.70%. Factores ambientales como la fortaleza (número de abejas obreras) de las colonias, influyeron significativamente en los resultados. Por ello, se requiere desarrollar métodos que controlen las variables ambientales en la mayor medida posible y que permitan una mayor manifestación de los efectos genéticos.

Otros métodos de campo han utilizado productos químicos para medir la reacción defensiva de las abejas a estos productos (Boch *et al.* 1962; Boch y Shearer 1965, 1971), al ser aplicados en la entrada de las colmenas. El número de abejas que responde es usado como parámetro del grado de defensa de la colonia probada. Sin embargo, nunca se ha evaluado la confiabilidad de estos métodos.

Un método de laboratorio confiable podría ahorrar tiempo y controlar efectos ambientales en la evaluación del comportamiento defensivo de colonias de abejas. Por ello, se ha intentado medir este comportamiento a través de pruebas de laboratorio. Entre estas pruebas se incluyen las de electrocución, que consisten en aplicar un estímulo eléctrico a las abejas para provocar que piquen un sustrato (Kolmes y Ferguson-Kolmes 1989; Paxton *et al.* 1994). También se incluyen pruebas donde se estimula a las abejas a mostrar un comportamiento defensivo por medio de feromonas de alarma, como el acetato de isopentilo (Collins 1981). Sin embargo, en ningún caso se ha correlacionado la respuesta defensiva de diferentes genotipos de abejas entre pruebas de campo y de laboratorio, para confirmar que el comportamiento medido en el laboratorio es consistente con el medido en el campo; tampoco se han realizado estudios comparativos de métodos de laboratorio entre abejas africanizadas y europeas. Adicionalmente, se han realizado muy pocos estudios para determinar la confiabilidad de los métodos usados.

Es claro que no existe una tecnología bien pulida y confiable para medir el comportamiento de defensa de las abejas melíferas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.4. Métodos para medir el tamaño de las abejas

En la actualidad los únicos métodos aceptados para medir e identificar a las abejas melíferas son los métodos morfométricos. Daly y Balling (1978) diseñaron un método que se basa en la medición de 25 características morfológicas y que requiere de un promedio de cinco horas de trabajo por muestra. Sin embargo, el método de Daly y Balling (1978) y otros que son modificaciones del mismo (Daly *et al.* 1982; Sylvester y Rinderer 1987; Rinderer *et al.* 1993), no resultan muy confiables, como lo demostró el estudio de Guzmán-Novoa *et al.* (1994), quienes concluyeron que los métodos morfométricos identifican correctamente el 100% de las muestras de abejas altamente africanizadas o europeas, pero diagnostican incorrectamente a más del 50% de las muestras de abejas híbridas. A pesar de lo anterior, se encontró que la longitud de ala es la característica más confiable para diagnosticar africanización en las abejas, cuando se usan métodos morfométricos. Frente a la necesidad de contar con un método rápido de identificación de abejas africanizadas, investigadores del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos desarrollaron un método, al cual denominaron con las siglas FABIS (Fast Africanized Bee Identification System), que en español significa Método Rápido de Identificación de Abejas Africanizadas (Sylvester y Rinderer 1987). El método se basa en la medición de la longitud del ala anterior y en la del fémur del tercer par de patas de abejas obreras. La medición de la longitud del ala anterior se conoce como FABIS 1 y la medición de la longitud del fémur se conoce como FABIS 2. El FABIS 1 requiere de un tiempo promedio de 15 minutos por muestra, mientras que el FABIS 2 es más tardado.

A pesar de que con el método FABIS se simplificó mucho la identificación de muestras de abejas, en relación con el método de Daly *et al.* (1982), todavía sigue siendo laborioso y requiere de equipo y materiales de laboratorio que lo ponen fuera del alcance de la mayoría de los apicultores. Por lo anterior, aún se requiere desarrollar un método más fácil, rápido, económico y confiable para determinar la longitud de las alas de las abejas. En lo particular, el método que se desarrolló y probó en este trabajo simplificaría uno de los pasos del programa de selección

para abejas manejables, seguido por Guzmán-Novoa y Page (1999a). Los estudios de estos investigadores concluyeron que abejas con promedios de longitud de ala mayores a 9.1 mm, tienden a ser más europeas y menos defensivas que aquéllas que poseen alas de menor tamaño.

1.5. Justificación

Evaluar el comportamiento defensivo de las abejas es importante para poder diferenciar las dóciles de las defensivas. Por estudios anteriores, se sabe que las abejas con mayor grado de africanización son menos productivas y más defensivas. Seleccionar abejas manejables y con características europeas disminuiría los accidentes y fatalidades por picaduras de abejas al hombre y a los animales, lo que aumentaría la aceptación de los apicultores en las localidades donde ubican sus apiarios. Además, tener abejas con estas características mantendría o incrementaría la producción de miel y otros productos apícolas. Sin embargo, los métodos usados para determinar el comportamiento defensivo de las abejas muestran mucha variación y se desconoce la confiabilidad comparativa de los mismos. En relación con los métodos de laboratorio, tampoco se ha determinado su confiabilidad. Hasta ahora no se habían probado métodos de laboratorio para discriminar entre abejas europeas y abejas africanizadas. Esta discriminación es importante para realizar estudios de regulación, cuarentena, investigación y mejoramiento genético en abejas melíferas. Por otra parte, los métodos usados para diagnosticar africanización de las abejas son los morfométricos y el más simple de ellos (FABIS 1) no está al alcance de todos los criadores de abejas reinas y apicultores, por ello se requiere de un método confiable, económico y práctico. En este estudio se estudiaron diferentes pruebas y su confiabilidad para medir el comportamiento defensivo de las abejas en campo. Además, se relacionaron los datos de pruebas de campo y de laboratorio para diferenciar abejas de diferentes genotipos. También se desarrolló un método práctico y confiable para medir la longitud de alas de las abejas melíferas.

1.6. OBJETIVOS

1. Determinar la confiabilidad de cuatro pruebas para medir el comportamiento defensivo de abejas melíferas en campo.
2. Determinar la confiabilidad de una prueba de choque eléctrico para medir el comportamiento defensivo de abejas melíferas en el laboratorio.
3. Desarrollar un método simple para la medición de alas de abejas melíferas y determinar su confiabilidad.

1.7. HIPÓTESIS

1. De las pruebas de campo existentes, al menos una es más confiable para medir el comportamiento defensivo de las abejas melíferas.
2. Una prueba de choque eléctrico de laboratorio puede discriminar el comportamiento defensivo de colonias de abejas melíferas, tan confiablemente o mejor que los métodos de campo.
3. Un método simple de medición de alas puede discriminar abejas europeas y abejas africanizadas de manera confiable.

2.0. MATERIAL Y METODOS

2.1. Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en el municipio de Villa Guerrero, Estado de México. El municipio de Villa Guerrero se encuentra al suroeste del Estado de México, situado a 18° 58' de latitud norte y a 99° 38' de longitud oeste, con una altitud media sobre el nivel del mar de 2,160 m. Este municipio cuenta con un clima templado subhúmedo (w), con lluvias en verano y una temperatura promedio de 14° a 20° C. Colinda al norte con Tenango del Valle, Temascaltepec y Calimaya, al oeste con Tescaltitlán, al sur con Coatepec Harinas y al este con Tenancingo (INEGI 1998).

2.2. Instalación de las colonias experimentales

Se instalaron seis apiarios (sitios) separados al menos 200 m uno de otro. En cada apiario se ubicaron tres colonias de los genotipos: europeo, africanizado e híbrido. Estas colonias se obtuvieron mediante la introducción previa de reinas de cada genotipo. Las colonias europeas se derivaron de reinas importadas de los E.U.A. y Canadá. Las reinas de los E.U.A procedían de criaderos de California con características de la raza italiana. Las abejas traídas de Ontario, Canadá tenían características de la raza carniola. Las colonias africanizadas se derivaron de reinas procedentes de enjambres locales y las colonias híbridas se derivaron a partir de reinas africanizadas y europeas que fueron apareadas libremente en la región donde se llevaron a cabo los experimentos. El genotipo de las abejas experimentales se corroboró mediante el método descrito por Nielsen *et al.* (1999), que incluye técnicas morfométricas y de ADN mitocondrial. En cada uno de los apiarios, las colmenas que alojaron a las colonias experimentales fueron separadas entre ellas al menos 10 m, para evitar que abejas de una colonia, estimuladas con las pruebas de defensa, perturbaran a abejas de otras colonias. Las colonias se manejaron de manera similar; es decir, fueron alimentadas con una solución de sacarosa al 50% (agua y sacarosa a partes iguales) *ad libitum* y recibieron un tratamiento preventivo contra loque americana (*Paenibacillus larvae larvae*) mediante 6 g de Terramicina® (Laboratorios Pfizer) disuelta en el jarabe y

otro tratamiento contra *Varroa destructor* mediante dos tiras plásticas impregnadas con fluvalinato (Apistan®, Laboratorios Novartis).

Adicionalmente a las 18 colonias experimentales antes descritas, se prepararon seis colonias pequeñas (núcleos) para contener en un medio ambiente común abejas de origen africano y europeo. Esto se hizo para medir y analizar los comportamientos de aguijoneo y persecución en un ambiente común para ambos tipos de abejas (la misma colmena), con el fin de detectar efectos genotípicos. Para lograr esto, se hicieron emerger abejas europeas y africanizadas en una incubadora mantenida a 32° C con 60% de HR. Para ello, se introdujeron a la incubadora panales con cría operculada próxima a emerger, dentro de bastidores tipo jaula, cubiertos con malla de criba con abertura de 4 mm. Después de emergidas, se pintaron más de 6,000 abejas obreras de cada tipo, usando distintos colores de pintura de aceite sobre su tórax, de acuerdo a sus genotipos. Las abejas pintadas se introdujeron en los seis núcleos de tres bastidores, previamente poblados con abejas africanizadas y/o europeas en similares proporciones para determinar cómo se manifiestan las tareas de aguijoneo y persecución de los genotipos estudiados en un medio ambiente común. Se utilizaron tres fuentes (colonias) de abejas europeas (dos de raza carniola y una de raza italiana) y tres fuentes de abejas africanizadas. El origen genético de las abejas de las colonias fuente fue corroborado por medio de análisis morfométricos (Sylvester y Rinderer 1987) y de ADN_{mt} (Nielsen *et al.* 1999,2000) realizados en la Universidad de Indiana por el PhD Greg Hunt.

2.3. Pruebas de campo para evaluar el comportamiento defensivo de las abejas

Diez días antes de realizar pruebas de defensa el tamaño de la población en cada colonia fue homogeinizada a través de eliminar abejas adultas y cría, con la finalidad de que las poblaciones de todas las colonias fueran similares durante las pruebas de campo. Cada colonia experimental quedó con una población promedio de seis panales cubiertos con abejas y aproximadamente 6,000 cm² de cría operculada, después de ser homogeneizada.

Se llevaron a cabo cuatro pruebas diferentes en cada una de estas colonias. Cada colonia se sometió a cada una de las cuatro pruebas durante una ocasión en un lapso de 48 h y en 20 días alternos se realizaron ocho repeticiones de estas pruebas. Las pruebas de campo a las que se sometieron las colonias fueron:

a) Prueba de apreciación de Arechavaleta y Guzmán-Novoa (1996). Esta prueba se hace de la siguiente manera: sin usar guantes, cada una de las colmenas se abre en forma rutinaria, utilizando el ahumador para introducir dos bocanadas de humo a través de la piquera y dos bocanadas entre los bastidores de la cámara de cría (quitando previamente el alza sin revisarla). Se sacan dos bastidores del centro de la cámara de cría y se inspeccionan como si fuera una revisión de rutina, para asignar un valor categórico a cada una de las siguientes características de comportamiento de las abejas obreras: tendencia a correr, tendencia a volar, tendencia a chocar con el apicultor y tendencia a picar (Fig. 1). La evaluación se hace siguiendo un sistema de valores numéricos, para clasificar el nivel de cada característica. Una escala de 1 a 5 es usada para indicar el grado de cada característica: 1 indica un grado muy bajo de defensa, 2 bajo, 3 regular, 4 alto y 5 muy alto. Esta información se capturó en una hoja de registro especialmente diseñada para este fin (Fig. 2).

Para este estudio, se adicionó un parámetro más a la prueba. Éste consistió en medir la persecución de las abejas; para ello, después de realizar cada prueba, los operadores caminaron a distancias progresivas de 25, 50, 100 y 200 m y en cada una de estas distancias se contó el número de abejas que los persiguieron. Las pruebas fueron realizadas por dos personas, por lo que al detenerse en cada distancia, cada una de ellas contó el número de abejas que volaban alrededor de la otra persona y estos datos se sumaron y anotaron en la hoja de registro (Fig. 2).

b) Prueba de bandera sobre cámara de cría. Esta prueba se plantea como una modificación de la prueba descrita por Guzmán-Novoa y Page (1993), y consiste en utilizar un pedazo de gamuza de cuero de color negro (10 x 8 cm) suspendido en una tira de madera (0.7 x 0.5 x 100 cm). Para proveer el estímulo que desencadenó el comportamiento defensivo de las colonias experimentales, éstas

se manejaron de la siguiente manera: en cada colmena se ahumó la piquera durante dos ocasiones y posteriormente se quitó el alza, exponiendo así la parte superior de la cámara de cría a manera de emular una revisión rutinaria. Inmediatamente después y con movimientos en zig-zag, se agitó la bandera aproximadamente a 5-10 cm sobre los cabezales de los bastidores de la cámara de cría por un lapso de 30 s, al cabo de los cuales se retiró e introdujo en una bolsa de polietileno previamente identificada con el número de la prueba y de la colonia probada (Fig. 3). Posteriormente se contaron los aguijones dejados por las abejas en la gamuza de cada colonia probada y se anotó su número en una hoja de registro. Después de realizar la prueba, los operadores caminaron a distancias progresivas de 25, 50, 100 y 200 m y en cada una de ellas se contaron las abejas persecutoras de la misma manera en que se describe para la prueba de apreciación.

c) Prueba de bandera en caja. Esta prueba se llevó a cabo con base en modificaciones hechas a las pruebas descritas por Brandeburgo *et al.* (1982) y por Guzmán-Novoa y Page (1993), considerando las recomendaciones hechas por García (1997). En esta prueba se utilizó una caja cerrada de acrílico transparente (42 x 20 x 25 cm), la cual se instaló en la piquera de las colmenas. La caja consta una compuerta deslizable que cierra la piquera de la colmena y que se puede abrir parcial o totalmente, para permitir el paso controlado de un número determinado de abejas de la colmena a la caja. En la parte superior de la caja hay una abertura cubierta por malla mosquitera de plástico, a través de la cual se introduce una bandera, para ser agitada en el interior de la caja como se describe en la prueba anterior. La prueba consistió en permitir el paso de un número arbitrario de abejas al interior de la caja de acrílico y de agitar la bandera hasta que picó la primera abeja. Se registró el tiempo transcurrido hasta que ocurrió el primer piquete y a partir de ese momento se permitió que las abejas continuaran picando el parche de cuero durante 1 minuto (Fig. 4). Al final de este periodo y con la ayuda de un ahumador, se proyectó humo de la combustión de nitrato de amonio al interior de la caja de acrílico, para anestesiarse a las abejas y así poder contarlas y contar

también el número de aguijones dejados por éstas en el parche de cuero de la bandera. Con estos datos, se obtuvo el porcentaje de abejas que picaron el parche de cuero. Finalmente, la caja se lavó en su interior con jabón neutro, para eliminar cualquier resto de feromonas de alarma dejado por las abejas antes de ser usada en otra colmena.

d) Prueba de reclutamiento a feromona de alarma. Esta prueba consistió en medir el número de abejas reclutadas a la piquera de la colmena, al ser expuestas al estímulo de acetato de isopentilo (IPA). Por ello, se tomó una fotografía de diapositiva de la piquera de cada colmena, con una cámara fotográfica (Canon® T50) provista con un lente macro. Inmediatamente después de tomada la fotografía, se colocó un pequeño papel absorbente que contenía 3 μL de IPA al centro del piso en la entrada de la colmena, frente a su piquera y 20 s después se tomó una segunda fotografía (Fig. 5). Se proyectaron las fotografías en una pantalla blanca y cuadrículada, donde se contaron las abejas presentes en la piquera de la colmena en ambas fotografías. La diferencia en el número de abejas entre la primera y la segunda fotografía, se utilizó como el parámetro indicador de la reacción defensiva de las abejas a la feromona de alarma.

2.4. Medición de variables ambientales

Durante los días en que se realizaron las pruebas de campo en las colonias experimentales, se tomaron datos de humedad relativa y temperatura ambiental, ya que se sabe que tanto la humedad como la temperatura influyen en el comportamiento defensivo de las abejas (Rothenbuhler 1974; Brandeburgo *et al.* 1977; Collins y Rothenbuhler 1978; Collins 1981). Las abejas manifiestan un mayor comportamiento defensivo a temperaturas y humedad relativa altas.

2.5. Método de laboratorio para evaluar el comportamiento defensivo de las abejas

Se midió el umbral de respuesta de las abejas obreras de varios genotipos, tanto para la intensidad como para el tiempo de exposición a un estímulo eléctrico, al cual abejas individuales reaccionaron picando un señuelo de cuero. Para probar el umbral de reacción de abejas individuales, se colectaron abejas de una colonia

africanizada, de dos híbridas y de una europea. Las abejas se colectaron usando una jaula de madera (15 x 15 x 25 cm), forrada con malla criba con abertura de 3 mm. Esta jaula carecía de malla en una de sus paredes laterales. En esta pared se instaló un pedazo de cartulina blanca, la cual permitía el paso de abejas que regresaban del campo (pecoreadoras) al interior de la jaula, cuando ésta se colocó en la entrada de cada colmena. Previamente se cerró totalmente la piquera de la colmena a muestrear, para impedir la entrada de las abejas al interior de la misma y para forzarlas a penetrar en la jaula. Se colectaron aproximadamente 50 abejas de cada una de las colonias experimentales en jaulas independientes.

Las abejas se sometieron a un choque eléctrico progresivo (Kolmes y Fergusson-Kolmes 1989; Paxton *et al.* 1994) con la ayuda de un electroestimulador: Isostim 360. En forma individual, las abejas se tomaron con pinzas entomológicas y se pusieron bajo una caja de Petri pequeña (57 mm de diámetro), que se colocó sobre una parrilla de alambres de acero de aproximadamente 2 mm de diámetro, instalados en forma paralela (con polaridades alternas de un alambre a otro) y con una distancia de 3.5 mm entre ellos. Bajo los alambres, se colocó un parche de gamuza de cuero negro, el cual era cambiado después de que cada abeja era probada. La parrilla estaba conectada al electroestimulador. Una vez colocada cada abeja sobre la parrilla, la corriente se aumentó progresivamente con incrementos de 1 mA por s, iniciando con 0 mA. La prueba se detenía hasta que la abeja picaba o flexionaba el abdomen intentando picar el sustrato de gamuza. En ese momento se registraba la corriente eléctrica a la cual la abeja había respondido al estímulo eléctrico (Fig. 6).

Además, se midió el tiempo (s) que requirieron las abejas para picar ante una intensidad fija del estímulo eléctrico (1 mA). Esto se hizo con 110 abejas de dos colonias europeas y 104 de dos colonias africanizadas. Adicionalmente, se relacionaron las respuestas defensivas de esta prueba con las obtenidas en las pruebas de campo para las mismas colonias.

2.6. Método simplificado para medir las alas de las abejas. El método ensayado se basó en medir la longitud de alas anteriores de abejas obreras, sin

necesidad de que éstas fueran desprendidas del cuerpo de las abejas y sin utilizar instrumentos de laboratorio. La idea de proponer y validar este método fue para satisfacer la necesidad de contar con un método sencillo pero confiable que pueda ser utilizado por los apicultores para evaluar el grado de africanización de sus abejas y para seleccionar abejas con medidas europeas.

Se tomaron muestras de abejas obreras adultas de 209 colonias escogidas al azar, de apicultores comerciales cooperantes. En cada colmena, la muestra se tomó de un bastidor lateral de la cámara de cría, depositando al menos 30 abejas en un frasco de boca ancha, que contenía etanol al 70%. Cada muestra se identificó sobre la tapa del frasco con un marcador de aceite; además, se anotó con lápiz el nombre del apiario y número de colmena en un pedazo pequeño de papel, el cual se introdujo al interior del frasco.

Las 209 muestras se sometieron a la medición de las alas de las abejas tanto con el método de FABIS 1 (Sylvester y Rinderer 1987) como con el método simplificado que se propuso probar. El procesado de las muestras con el método simple requirió de la elaboración de una plantilla medidora, con la que se comparó la longitud del ala anterior. Para elaborar esta plantilla, se utilizó papel milimétrico, con el que se hizo un cuadrilátero, dos de cuyos lados tenían una longitud de 3.5 cm; el tercer lado medía 5 mm y el lado restante 2 mm. Sobre el cuadrilátero de papel milimétrico se marcó con un lápiz una línea delgada, a una distancia de 9.00 mm a partir del extremo de 2 mm. Luego, se fabricó otro cuadrilátero hecho de mica transparente adherente, con iguales dimensiones a las del cuadrilátero de papel. Esto se hizo con la finalidad de dar rigidez al papel, para que no se doblara al momento de medir las alas. Además, la mica protegió al papel del alcohol en las muestras de abejas. Estando lista la plantilla, se tomaron 30 abejas de cada muestra y se colocaron sobre papel absorbente (por ejemplo papel estraza o periódico), para que el alcohol se absorbiera.

Se midieron las alas anteriores de 30 abejas por muestra. Cada obrera se sujetó del tórax entre los dedos pulgar e índice y en una posición dorso ventral (con las patas hacia abajo). Posteriormente, con los dedos de la mano contraria, se estiró

una de las alas anteriores, para que quedara perpendicular al tórax, como si la abeja estuviese volando. La medición se hizo colocando la plantilla en la parte ventral del ala, con el lado del cuadrilátero que mide 2 mm, tocando el tórax de la abeja (Fig. 7). Las mediciones se hicieron siempre midiendo el ala del mismo lado en todas las abejas de cada muestra. Para determinar el tamaño de cada ala, se verificó si el vértice de ésta era mayor, igual o menor que la escala de 9.00 mm marcada con lápiz en el cuadrilátero. Se contó y registró el número de abejas cuyo tamaño de ala fue mayor que la escala. Las muestras se clasificaron como muestras con abejas con medidas "europeas" "africanizadas" o "intermedias" dependiendo de cuántas alas hubieran rebasado la línea de 9.00 mm de la plantilla medidora.

Alas de las mismas muestras de abejas se midieron con el método de FABIS 1 (Sylvester y Rinderer 1987). Para realizar este procedimiento se requirió de un microscopio estereoscópico, pinzas de entomología, monturas para transparencias, cubreobjetos, micrómetro calibrado, regla de 50 cm de plástico transparente y proyector de transparencias. Brevemente, las muestras se procesaron de la siguiente manera. Las alas anteriores y derechas de 12 abejas de cada colonia, fueron colocadas entre dos cubreobjetos (22 x 40 mm) que se montaron en una armazón de diapositiva de 35 mm, la cual fue proyectada sobre una pantalla blanca. La imagen proyectada se calibró con un micrómetro para producir una imagen magnificada a 50X. La longitud de las alas se midió con la regla de plástico transparente y la cifra resultante se dividió entre 50. Finalmente, se calculó el promedio de longitud de ala de las 12 obreras. De acuerdo con este método, las abejas cuya longitud promedio de ala es mayor a 9.040 mm se consideran europeas, mientras que las que tienen una longitud menor a 8.945 mm, se consideran africanizadas. Aquéllas cuyo promedio se encuentra entre 9.039 y 8.946 mm se consideran intermedias y dudosas.

También se registró el tiempo invertido para la realización de cada uno de los dos métodos y se estimó el costo de los materiales y equipos necesarios para cada prueba, con el fin de hacer un análisis comparativo entre ellos.

2.7. Análisis de datos

Las variables vuela, corre, choca, pica y persecución de las abejas fueron analizados a través de un análisis de varianza representado como:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + G_j + E_{(ij)k}$$

Donde Y_{ijk} = variable de respuesta corre, vuela, choca, pica y persigue asociada a la i -ésima replica ($R_i = 1, 2, \dots, 8$) y al j -ésimo grupo ($G_j = A, H, E$).

μ = media poblacional.

$E_{(ij)k}$ = error aleatorio NID(0, σ^2).

Se realizó el análisis de correlación y coeficientes de variación entre las repeticiones de cada prueba en colonias individuales. Los coeficientes de variación obtenidos de las respuestas defensivas de las colonias individuales sometidas a pruebas repetidas, se usaron como un indicador de la confiabilidad de cada prueba en particular. Entre más grande fue la variación entre las repeticiones de una prueba, menor se consideró el grado de confiabilidad de la prueba y viceversa. Además de lo anterior, los datos de la respuesta defensiva de las abejas probadas con el método de laboratorio se compararon con los datos obtenidos con las pruebas de campo para las mismas colonias analizadas. Estos análisis se realizaron para determinar qué tan relacionada y predecible es la prueba de laboratorio, en comparación con las pruebas de campo.

Los datos de las mediciones de alas obtenidos con el método simplificado se sometieron a análisis de correlación y de regresión simple (variable de respuesta) para determinar qué tan confiable es este método, con relación a los datos obtenidos con el método de FABIS 1 (variable explicativa), representado como:

$$y_i = \alpha + \beta x_i + e_i$$

Donde y_i = variable de respuesta número de abejas iguales o menores a 9.00 mm.

α = valor de la variable de respuesta cuando la variable explicativa (longitud de ala (mm)) vale cero.

β = valor de la variable de respuesta por cada unidad (mm) que aumente la variable explicativa.

e_i = error aleatorio NID $(0, \sigma^2)$.

Además, se realizaron pruebas de correlación entre los datos de temperatura y humedad, y los datos de comportamiento defensivo de las abejas.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

3.0. RESULTADOS

3.1. Confiabilidad de las pruebas

Pruebas de campo. Los coeficientes de variación (CV) de las cuatro pruebas de campo fueron de 17.0, 71.8, 90.4 y 67.3%, para las pruebas de apreciación, bandera, caja, y feromona, respectivamente. El Cuadro 1 muestra los CV de las variables medidas con cada una de las pruebas de campo. Las variables de la prueba de apreciación fueron las que tuvieron los CV más bajos, con un intervalo de 16.80-23.2%, para las variables corre y pica, que fueron las de los CV más bajo y alto, respectivamente. Después de las variables de la prueba de apreciación, las medidas con la prueba de feromona fueron las que tuvieron los CV más bajos, con un intervalo de 43.3-67.3%. La prueba de la caja fue la que presentó los más altos CV en su variables, los cuales fueron superiores a 90%.

Los valores promedio para las variables medidas con las diferentes pruebas de campo se presentan en Cuadro 2. En todos los casos hubo diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre los genotipos de abejas probados, siendo el genotipo europeo el que mostró las medias mas bajas y el africanizado el que mostró las medias más altas. Las colonias de abejas híbridas resultaron intermedias en sus valores, en relación con las africanizadas y las europeas.

La media para el número de abejas que persiguieron a los operadores al finalizar las pruebas de apreciación varió de 0.23 en colonias de abejas europeas, a 35.3 en colonias de abejas africanizadas, considerando las cinco distancias en las que se midió la persecución. Hubo diferencias significativas ($P < 0.01$) en el número de abejas persecutoras entre los genotipos de abejas probados. Aproximadamente 50% de las abejas africanizadas e híbridas que persiguieron, lo hicieron a una distancia de 25 m, mientras que la totalidad (100%) de las abejas europeas persecutoras se registraron a esta distancia (Cuadro 3).

La media para el número de abejas que persiguieron a los operadores al finalizar las pruebas de bandera varió de 2.34 en colonias de abejas europeas, a 73.46 en colonias de abejas africanizadas, considerando las cinco distancias en las que se midió la persecución. Hubo diferencias significativas ($P < 0.0001$) para el número de

abejas persecutoras entre los genotipos de abejas probados. Entre el 39 y el 48% de las abejas africanizadas e híbridas que persiguieron, lo hicieron a una distancia de 25 m, mientras que 67% de las abejas europeas persecutoras se registraron a esta distancia (Cuadro 3).

Prueba de laboratorio. La prueba del choque eléctrico demostró diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre colonias con defensividad alta, mediana y baja. Las diferencias se observaron tanto para la intensidad (Cuadro 4) como para el tiempo de exposición a un estímulo eléctrico (Cuadro 5). Las abejas de colonias africanizadas picaron a una intensidad menor del estímulo (2.50 mA) que las híbridas (2.71 y 3.11 mA) y las europeas (3.81 mA, Cuadro 4). Adicionalmente, las abejas de colonias africanizadas picaron más rápido que las de colonias europeas, cuando se mantuvo un estímulo eléctrico constante (4.4 vs. 22.8 s, Cuadro 5).

Al comparar los resultados del umbral de respuesta de las abejas de tres colonias específicas a la intensidad del estímulo eléctrico, con las respuestas defensivas de pruebas de bandera, apreciación, caja y feromona realizadas en las mismas colonias, se observó una relación alta. La colonia Y-33 (africanizada) fue la más defensiva, mientras que la H Can (europea) fue la menos defensiva (Cuadro 6).

3.2. Variación entre genotipos

Hubo variación entre los genotipos de abejas dependiendo de la prueba aplicada. Estas variaciones no siguieron un patrón como en el caso de los valores de las variables medidas. Las colonias con genotipo europeo fueron las menos variables en las pruebas de apreciación (CV = 16.0%, Cuadro 2) y de caja (CV = 118.12%, Cuadro 2), mientras que las colonias con el genotipo híbrido resultaron ser las más variables para las mismas pruebas (CV = 45.02 y 286.03%, respectivamente, Cuadro 2). Por otro lado, las abejas con el genotipo africanizado fueron las menos variables para las pruebas de bandera y feromona (CV = 54.02 y 61.16%, respectivamente, Cuadro 2), mientras que las de genotipo europeo fueron las más variables para estas pruebas (CV = 302.17 y 131.44%, respectivamente, Cuadro 2).

3.3. Efectos de colonia y ambientales

Hubo diferencias significativas en la propensión a aguijonear entre las abejas con diferentes genotipos cuando se probaron en sus propias colmenas (Cuadros 2), pero no cuando compartieron un medio común (v.gr. la misma colonia, Cuadro 7). Sin embargo, para el caso de la propensión a la persecución, las diferencias se encontraron tanto al probar los genotipos de abejas en sus propias colmenas, como cuando se probaron en colonias comunes (Cuadros 3, 7). Las condiciones en las que se realizó la prueba de choque eléctrico dentro de un laboratorio no parecieron influir en el rango de clasificación de defensa de las abejas probadas. Las abejas que resultaron ser más defensivas en las pruebas de campo también lo fueron en la prueba de laboratorio (Cuadro 6).

La temperatura ambiental y humedad relativa promedio a las que se realizaron las pruebas fueron de $25.5 \pm 0.21^\circ \text{C}$ y $73.6 \pm 0.55 \%$. No se encontró correlación entre ninguna de las variables defensivas medidas y estos factores ambientales, con excepción de dos de las variables asociadas a la prueba de la feromona. El número de abejas en la piquera de las colmenas antes y después de aplicada la feromona, tuvo correlación con la temperatura ambiental ($r = 0.35$ y $r = 0.17$, $n = 108$, $P < 0.01$). Sin embargo, no hubo correlación entre los datos ambientales y los de la diferencia entre los valores de antes y después de aplicada la feromona.

3.4. Métodos de medición de alas

La regresión de las variables medidas con el método simple de determinación de longitud de ala anterior, sobre los datos de longitud de las mismas alas obtenidos con el método de FABIS, mostró que 42% de la variación encontrada es atribuible al método simple ($r^2 = 0.42$; $P < 0.0001$). La correlación entre ambos métodos fue de 0.65 ($P < 0.0001$; Fig. 8). Adicionalmente, hubo diferencias significativas entre las medias, para el número de abejas cuyas alas rebasaron la marca de 9.00 mm de la plantilla usada con el método simple, entre los grupos clasificados como abejas con medidas africanizadas, europeas e intermedias ($H = 72.14$; $n = 209$; $P < 0.0001$; prueba de rango de Kruskal-Wallis). En las muestras que resultaron con medidas africanizadas, solo 8.89 obreras de 30 medidas por muestra, tuvieron

alas con una longitud mayor a 9.00 mm, mientras que en las clasificadas como abejas con medidas europeas, 23.89 rebasaron esa longitud (Cuadro 8).

El método de FABIS mostró que las abejas de colonias europeas tenían alas significativamente más largas que las de colonias híbridas y africanizadas ($P < 0.0001$), pero no hubo diferencias en el tamaño de alas entre abejas de colonias híbridas y africanizadas.

El tamaño de las abejas tuvo correlación con el comportamiento defensivo de las mismas. Colonias cuyas abejas tenían alas más cortas, estuvieron significativamente correlacionadas con valores más altos de defensa en todas las pruebas de campo realizadas (Cuadro 9). Las asociaciones más altas se dieron para la característica "corre" y para los valores sumados de la prueba de apreciación ($r = -0.62$ y -0.56 , respectivamente; $P < 0.0001$; Cuadro 9).

El Cuadro 10 muestra el tiempo y costo en materiales y equipo estimados para llevar a cabo las cuatro pruebas de campo y la de laboratorio, para medir el comportamiento defensivo de las abejas, así como para los métodos de medición de ala. Las pruebas de apreciación y de feromona fueron las que requirieron menos tiempo (4 min), mientras que la de laboratorio fue la más tardada (15 min). La prueba de apreciación fue la menos costosa, mientras que las de feromona y de choque eléctrico resultaron ser las más caras. Adicionalmente, el método simple de medición de alas resultó ser más económico y rápido de realizar que el de FABIS.

4.0. DISCUSIÓN

4.1. Confiabilidad de las pruebas

Pruebas de campo. Los resultados muestran que la prueba de apreciación fue la más confiable de las cuatro pruebas de campo evaluadas. Las variables de la prueba de apreciación fueron las que tuvieron los CV más bajos (<23.21%). La prueba de caja fue la menos confiable, ya que manifestó los CV más altos (>90%), mientras que la de feromona fue la segunda prueba más confiable (CV = 43.30-67.26%, Cuadros 1,2).

Es difícil comparar estos resultados con los de otros estudios, ya que además de éste, sólo se han llevado a cabo dos estudios más para determinar la confiabilidad de métodos de campo usados para medir el comportamiento defensivo de las abejas melíferas. Guzmán-Novoa *et al.* (1999b) reportaron CV de 73.9 y 69.8% para el tiempo de reacción y para el número de aguijones en una prueba de bandera. En este estudio se encontró que el CV para el tiempo de reacción fue de 90.33%, mientras que el CV para el número de aguijones fue de 71.84%. El CV para el número de aguijones resultó muy similar al de Guzmán-Novoa *et al.* (1999b), pero el de tiempo de reacción fue 16.43% más alto en este estudio. Esto pudo deberse a que el tiempo de reacción en este estudio se realizó dentro de una caja plástica cerrada, mientras que en el estudio de Guzmán-Novoa *et al.* (1999b), el tiempo se tomó frente a la piquera, sin limitaciones para el desplazamiento de las abejas. García (1997) también encontró que el método de apreciación era el más confiable al ser comparado con el de bandera. Los CV consignados por García (1997) fueron de 23.7 y 82.3% para las pruebas de apreciación y bandera, respectivamente. Estos parámetros también son similares a los de este estudio y refuerzan la conclusión de que el método de apreciación es la opción más confiable para detectar efectos genotípicos sobre el comportamiento defensivo de las abejas en campo.

En cuanto a persecución, la prueba de apreciación separó más los comportamientos asociados a los diferentes genotipos de abejas europeas y africanizadas que la de bandera. El número de abejas persecutoras a 25 m y al

total de las cinco distancias establecidas (25-200 m), fue de 81.26 y 153.52 veces mayor para abejas africanizadas en relación con las europeas. Las diferencias para estas mismas distancias con la prueba de bandera fueron de 22.56 y 31.39 veces, respectivamente (Cuadros 3). Stort (1974) estudió la persecución de abejas africanizadas en Brasil, pero no anotó cifras del número de abejas persecutoras; sin embargo, sí encontró diferencias entre abejas europeas y africanizadas para la distancia a la que perseguían al operador. Las abejas africanizadas persiguieron a los investigadores un promedio de 160.2 m, mientras que las europeas lo hicieron a 21.5 m. Estos últimos datos son coincidentes con los encontrados en este estudio, ya que en ningún caso las abejas de colonias europeas persiguieron a los operadores a más de 25 m, mientras que en algunos casos, las africanizadas los persiguieron a más de 200 m. Las grandes diferencias encontradas en este estudio entre el genotipo dócil y el agresivo apoyan la recomendación de incluir esta característica en la medición del comportamiento defensivo de las abejas. La separación fue mayor con la prueba de apreciación, por lo que podría incorporarse como una característica adicional a esta prueba, pero con un peso ponderado mayor que el de las otras cuatro características de la prueba, ya que la separación obtenida entre abejas con genotipos dóciles y defensivos es mayor.

Es posible que la prueba de apreciación haya resultado más confiable que las otras tres, por el hecho de haberse medido 1) cuatro atributos, en comparación de sólo una para la prueba de bandera y dos para la de caja, y 2) por estar estos atributos genéticamente correlacionados, como lo demostraron Guzmán-Novoa *et al.* (2002a). Además, en la prueba de apreciación las abejas se evaluaron en condiciones naturales y de manejo simuladas, mientras que en la de caja, las abejas fueron confinadas a un espacio reducido y antinatural. Collins *et al.* (1980) propusieron un modelo de cuatro pasos consecutivos para la manifestación del aguijoneo de las abejas. Es posible que uno de los pasos, el de orientación, pudo haber sido interrumpido, ya que las abejas requieren volar para orientarse hacia la fuente del estímulo agresivo y al estar confinadas en la caja no pudieron hacerlo.

Las abejas europeas fueron significativamente menos defensivas que las híbridas y las africanizadas. Tres de las cuatro pruebas de campo pudieron discriminar entre los tres genotipos de abejas; sólo la prueba de bandera no mostró diferencias significativas entre colonias africanizadas e híbridas, aunque sí diferenció a estos dos genotipos de las abejas europeas (Cuadros 2). Estos resultados concuerdan con los de otros autores. Muchos estudios han demostrado que las abejas africanizadas son más defensivas que las europeas (Stort 1974, 1975a,b,c; Collins *et al.* 1982; Villa 1988; Guzmán-Novoa y Page 1993, 1994a, Guzmán-Novoa *et al.* 2002b). Por otro lado, Uribe (2001) demostró concluyentemente que este comportamiento se hereda de manera dominante en los genotipos híbridos.

Los resultados indican que todas las pruebas de campo estudiadas pueden separar a los individuos con genotipos con defensividad extrema; sin embargo, no todos resultan tan confiables dentro de genotipos y dentro de colonias individuales, como ya se discutió arriba.

Prueba de laboratorio. La prueba de laboratorio fue capaz de discriminar entre abejas de colonias de comportamiento defensivo alto, intermedio y bajo. Las abejas del genotipo más defensivo (africanizadas) tuvieron un umbral de respuesta significativamente más bajo, tanto para la intensidad como para el tiempo de exposición a un estímulo eléctrico (Cuadros 4, 5). Además, hubo relación entre los rangos de respuesta obtenidos con la prueba del choque eléctrico en colonias específicas y los obtenidos en las mismas colonias con varias pruebas de campo (Cuadro 6).

Kolmes y Fergusson-Kolmes (1989) y Paxton *et al.* (1994) probaron una fuente de poder de corriente directa para medir el umbral de respuesta a un estímulo eléctrico con corriente fija, pero a diferencia de los datos citados en mA en este estudio, ellos citan el umbral al cual picaron las abejas, midiendo la intensidad del estímulo en V. Por lo anterior, nuestros resultados no son comparables con los de estos investigadores; sin embargo, los resultados de este estudio y los de los investigadores arriba citados coinciden en que las abejas de colonias más

defensivas requirieron de un menor estímulo eléctrico para picar. Adicionalmente, los investigadores citados sólo probaron abejas de dos colonias de genotipo diferente y ninguno de ellos fue de origen africano.

Moritz (1986) sugiere que al evaluar a una abeja en forma individual no se debe asignar un fenotipo o genotipo para características que se manifiestan normalmente como comportamientos de grupo, como es el caso del aguijoneo. Sin embargo, los resultados encontrados en este estudio, así como los de otros investigadores (Kolmes y Fergusson-Kolmes 1989, Paxton *et al.* 1994), coinciden en la relación que existe entre umbrales bajos de respuesta de obreras individuales con una respuesta defensa alta en evaluaciones de colonias de abejas en campo. Además, el procedimiento descrito permite que las abejas muestren su propensión a aguijonear de manera natural en el laboratorio sin la influencia de efectos de grupo complejos y de efectos ambientales, que son inevitables cuando se prueban colonias en el campo.

4.2. Variación entre genotipos

Las abejas con genotipos diferentes variaron en sus respuestas defensivas. El genotipo europeo mostró los valores más bajos en todas las pruebas, mientras que el africanizado mostró los valores más altos. Sin embargo, el CV entre repeticiones fue diferente para todos los genotipos, dependiendo de la prueba aplicada. En las pruebas donde la intensidad del estímulo defensivo fue mayor (bandera y feromona), las abejas del genotipo más defensivo (africanizado), fueron menos variables en sus respuestas que las del genotipo dócil (europeo), pero cuando se emplearon pruebas con menor intensidad de estímulo (apreciación y caja), ocurrió lo contrario. Las abejas del genotipo dócil fueron menos variables en sus respuestas que las del genotipo defensivo. Lo anterior sugiere que las abejas de origen africano son más sensibles y tienen un menor umbral de respuesta que las de origen europeo. Los datos de este estudio, así como los de otros (Stort 1974, 1975a,b,c; Collins *et al.* 1982; Villa 1988; Guzmán-Novoa y Page 1993, 1994a) refuerzan esta hipótesis. Stort y Rebutini (1998) encontraron que las abejas africanizadas tienen más receptores odoríferos en sus antenas que las

abejas europeas, lo que las puede hacer más sensibles a responder a estímulos defensivos. En otro estudio reciente, se encontró que en colonias que contenían abejas europeas y africanizadas mezcladas, casi 90% de las abejas que iniciaron el agujoneo en pruebas de defensa eran africanizadas (Uribe 2001), lo que apoya lo antes mencionado.

4.3. Efectos de colonia y ambientales

Los resultados comparativos de las respuestas defensivas de las abejas de diferentes genotipos en sus propias colonias y en colonias con genotipos mezclados, muestran que existen efectos genotípicos, de interacción entre individuos y ambientales. Las diferencias en el agujoneo entre genotipos fueron amplias cuando se probaron en sus propias colmenas. Sin embargo, en colonias comunes no se encontraron diferencias en el número de agujones depositados por las abejas en la prueba de bandera. Estas mismas colonias fueron utilizadas en un estudio previo (Uribe 2001) en el que se demostró que las primeras abejas en iniciar el agujoneo eran africanizadas. Al parecer, las abejas con un umbral más bajo de respuesta a un estímulo defensivo (las africanizadas), inician el ataque e inmediatamente después reclutan a abejas con umbrales de respuesta más altos (las europeas), a través de aumentar la intensidad de estímulos defensivos. No se sabe cómo las abejas africanizadas pueden aumentar la intensidad de estímulos defensivos, pero es probable que liberen grandes cantidades de feromonas de alarma que activan a las abejas con umbrales de respuesta más altos. Esta hipótesis es plausible, pero habría que probarla. En cuanto a persecución, sí hubo diferencias entre los genotipos tanto en sus propias colmenas, como en colmenas con genotipos mezclados, lo que apoya el uso de esta variable para discriminar entre abejas defensivas y dóciles.

En la prueba de laboratorio se excluyeron efectos de colonia y de grupo y los resultados fueron congruentes con los obtenidos en campo, por lo que es posible que los efectos genéticos hayan podido influir más en la respuesta defensiva de cada individuo, que los efectos ambientales presentes en el laboratorio. Por lo anterior, esta prueba también podría ser recomendable.

La temperatura y la humedad fueron factores ambientales que no tuvieron una influencia significativa en la mayoría de las variables medidas. Para el caso de la prueba de feromona, hubo un número significativamente mayor de abejas antes y después de la aplicación de feromona cuando las temperaturas fueron más altas. Sin embargo, no existió influencia significativa de la temperatura en la respuesta defensiva de las colonias (diferencia en el número de abejas entre antes y después de aplicada la feromona), por lo que este factor ambiental no afectó la prueba. El hecho de que haya habido un mayor número de abejas en las piqueras antes de iniciar las pruebas en algunas colonias, pudo obedecer más al hecho de que las colonias requieren más ventilación cuando hace más calor (Winston 1987).

4.4. Métodos de medición de alas

El método simple de medición de alas estuvo significativamente correlacionado con el de FABIS ($r= 0.65$, $n= 209$, $P<0.0001$), lo cual lo hace relativamente confiable. Además, hubo diferencias significativas entre abejas de diferentes genotipos, en el número de obreras cuyas alas rebasaron la escala de los 9.00 mm en la plantilla de medición. Las muestras de abejas de colonias con medidas europeas, tuvieron casi tres veces más individuos cuyas alas rebasaron la escala, en comparación con las muestras de abejas con medidas africanizadas (Cuadro 8), lo que apoya esta inferencia. Para fines prácticos, este método puede ser usado por los apicultores para diagnosticar niveles de africanización en sus colonias o para seleccionar abejas con medidas europeas.

La medición de ala también puede servir para apoyar pruebas de comportamiento defensivo tendientes a discriminar entre colonias defensivas y dóciles, ya que la longitud de ala está altamente correlacionada con variables defensivas, en particular con las del método de apreciación. Estos resultados también son apoyados por otros investigadores que han encontrado una relación entre un menor tamaño de ala y una respuesta de defensa más alta (Collins *et al.* 1994, Guzmán-Novoa *et al.* 1994).

4.5. Tiempo y costo invertidos

El análisis de inversión, costo y tiempo necesarios para llevar a cabo las pruebas y métodos estudiados (Cuadro 10), muestra que la prueba de apreciación es la que requiere menos tiempo y gasto para ser ejecutada, y por ello, además de por su alta confiabilidad, es la prueba de elección a recomendar para los criadores de abejas reinas. Las pruebas de feromona y choque eléctrico son pruebas bastante confiables que podrían usarse en trabajos de investigación científica, aunque tienen el inconveniente de requerir más alta inversión en equipo. Las pruebas de bandera y caja son las menos recomendables en cuanto al tiempo que requieren y en cuanto a su confiabilidad, aunque la inversión en equipo es baja.

En lo referente a los métodos de medición de ala anterior, es claro que aunque menos confiable, el método simple requiere de menos tiempo, costo e inversión que el de FABIS (Cuadro 10), por lo que es el método a recomendar para los criadores de abejas reinas. El método de FABIS por ser más preciso, es recomendable para investigaciones científicas y para tener mayor precisión en la selección de abejas con medidas europeas.

4.6. Usos prácticos de los métodos en la selección de abejas dóciles

Guzmán-Novoa y Page (1999a) demostraron que es posible seleccionar abejas menos defensivas en zonas africanizadas, usando la prueba de bandera. En cinco años de selección en una población de >3,000 colonias, fueron capaces de disminuir el promedio de aguijones por minuto de casi 100 a 43. Al ser más confiables las pruebas de apreciación y feromona, es de esperarse que el progreso en la selección sea mayor y más rápido si se implementaran.

Con base en lo anterior y en propuestas de selección ensayadas en México por Guzmán-Novoa y Prieto (1997a, 1997b) se propone el siguiente programa de selección para los productores comerciales de miel y para criadores de abejas reinas:

1. Preseleccionar el 15-30% de las colonias más productivas. Para ello podrían seguirse las recomendaciones de Estrada y Guzmán-Novoa (1991) o las de Calderone y Fondrk (1991), que consisten en seleccionar las colonias más

productivas con base en el número de panales cosechados de cada colonia, o con base en aumentos de peso a corto plazo, registrados con una báscula de escala.

2. Someter a las colonias preseleccionadas por producción de miel a pruebas de apreciación, incluyendo la persecución a 25 m. Para ello se recomienda seguir el método antes descrito y anotar los datos en una hoja de registro como la mostrada en la Fig. 2. Al mismo tiempo que se lleve a cabo la evaluación del comportamiento defensivo, se puede evaluar de manera categórica (usando los mismos parámetros que para apreciación), la continuidad de la cría operculada (patrón de postura). Las colonias cuya cría operculada sea muy continua y con pocas celdillas vacías, tendrán un valor bajo (1, 2), mientras que las que tengan hasta un 50% de cría discontinua, tendrán un valor alto (5). Después de sumar los valores de las variables de la prueba de apreciación, más los del número de abejas persecutoras y los de la calidad de la cría en dos evaluaciones, se escogerá el 20-30% de las colonias con los valores más bajos, para ser muestreadas.
3. Las colonias de abejas que hayan pasado por las dos etapas anteriores deberán ser muestreadas para coleccionar al menos 30 abejas obreras de los panales laterales de la cámara de cría, o de una alza en cada una de ellas. Posteriormente deberán medirse las alas anteriores de 30 abejas por colonia, como se describe en la metodología. Finalmente, y de acuerdo al Cuadro 6, se seleccionarán las 5 a 10 colonias cuyas obreras tengan el mayor número de individuos con alas que rebasen la escala de 9.00 mm en la plantilla de medición, de preferencia que hayan sido clasificadas como muestras de abejas con medidas europeas.
4. Las colonias seleccionadas deberán transportarse a un apiario individual, para realizar traslarves de la cría de las reinas de estas colonias, con el objeto de criar y reemplazar la totalidad de las reinas de la empresa apícola, así como para producir un número excedente de reinas para la venta comercial, si es el caso.

5. Aunado a todos los manejos antes mencionados, es de vital importancia la producción de zánganos seleccionados (hijos de reinas seleccionadas), para saturar las áreas de congregación de zánganos, lo cual incrementaría la competencia con los zánganos africanizados. Se recomienda tener una colonia productora de zánganos por cada 10 espacios de fecundación.

5.0. CONCLUSIONES

1. La prueba de apreciación y la de feromona, en ese orden, fueron las más confiables para detectar efectos genotípicos y para discriminar entre colonias con comportamiento defensivo variable en campo. Los resultados permiten recomendar en primer lugar el uso de la prueba de apreciación como prueba de campo, no sólo por haber sido la más confiable, sino porque también fue la que requirió menor inversión en tiempo y costo para su ejecución.
2. Se recomienda la inclusión de la estimación de la persecución de las abejas dentro de las pruebas de campo, ya que es el componente de las pruebas que más separa los genotipos de abejas defensivos de los dóciles.
3. La prueba del choque eléctrico de laboratorio fue capaz de discriminar entre abejas de colonias con respuestas defensivas altas, intermedias y bajas, permitiendo un análisis del umbral de reacción a estímulos defensivos en las abejas, sin la influencia de factores de grupo y ambientales de la colonia, por lo que también es recomendable, en particular para trabajos de investigación.
4. Las pruebas utilizadas permitieron detectar efectos genotípicos, siendo los genotipos europeos los que presentaron los valores defensivos más bajos y los africanizados los más altos.
5. Los resultados sugieren que las abejas africanizadas y las híbridas tienen umbrales de reacción a estímulos defensivos más bajos que las abejas europeas y por eso reaccionan más rápidamente y con mayor intensidad.
6. La interacción entre genotipos en un medio ambiente común (colonias con genotipos mezclados), ocasionó que las abejas del genotipo dócil (las europeas), picaran tanto como las del genotipo defensivo (las africanizadas).
7. La temperatura y humedad ambientales no tuvieron una influencia significativa en la mayoría de las variables medidas en el lugar y en las condiciones en que se llevó a cabo este trabajo.
8. Las colonias con abejas de alas más cortas tienden a ser más defensivas que las colonias con abejas de alas largas en una zona africanizada.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

9. El método simple de medición de alas es relativamente confiable y permite discriminar entre genotipos de abejas con medidas europeas, intermedias y africanizadas.

10. El método simple de medición de alas es fácil de realizar y requiere de menos tiempo e inversión que el método rápido de FABIS. Por ello es el método a recomendar para ser usado por apicultores y criadores de abejas reinas.

11. Las pruebas evaluadas y el método de medición de alas desarrollado, permitirán contar con tecnología confiable para discriminar colonias de abejas con comportamiento defensivo variable y constituyen herramientas para que investigadores, autoridades reguladoras y apicultores, puedan llevar a cabo controles, estudios y trabajos de mejoramiento genético.

6.0. REFERENCIAS CITADAS

Arechavaleta VM, Guzmán-Novoa E. Evaluación de la defensividad de las abejas melíferas mediante un método de apreciación. Memorias de X Seminario Americano de Apicultura; 1996 agosto 2-4; Boca del Río (Veracruz) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, AC, 1996:27-29.

Benedetti L, Pieralli L. Apicultura. Barcelona: Omega, 1990.

Boch R, Shearer DA, Stone BC. Identification of isoamyl acetate as an active component in the sting pheromone of the honey bee. *Nature* 1962;195: 1018-1020.

Boch R, Shearer DA. 2-heptanone in the mandibular gland secretion of the honey bee. *Nature* 1965;206:530.

Boch R, Shearer DA. Chemicals releasers of alarm behavior in the honey bee, *Apis mellifera*. *J Insect Physiol* 1971;17:217-221.

Brandeburgo MAM, Gonçalves LS, Kerr WE. Estudo da correlação entre caracteres comportamentais (agressividade) de abelhas africanizadas e condições climáticas. *Ciênc Cult* 1977; (supl. 29):750.

Brandeburgo MAM, Gonçalves LS, Kerr WE. Effects of Brazilian climatic conditions upon the aggressiveness of Africanized colonies of honeybees. *Université Paris Nord:JAISSON*,1982:255-280.

Cajero AS. Logros del Programa Nacional Para el Control de la Abeja Africana. Memorias del II Congreso Internacional de Actualización Apícola; 1995 mayo 26-28; México. México (DF): Asociación Nacional de Médicos Veterinarios Especialistas en Abejas, AC,1995:9-10.

Calderone NW, Fondrk MK. Selection for high and low colony weight gain in the honey bee, *Apis mellifera*, using selected queens and random males. *Apidologie* 1991;22:49-60.

Collins AM, Rothenbuhler WC. Laboratory tests of the response to an alarm chemical, isopentyl acetate by *Apis mellifera*. *Ann Entomol Soc Am* 1978;71:960-969.

Collins AM, Rinderer TE, Tucker KW, Sylvester HA, Lockett JJ. A model of honey bee defensive behaviour. *J Apic Res* 1980;19:224-231.

Collins AM. Effects of temperature and humidity on honeybee response to alarm pheromones. *J Apic Res* 1981;20:13-18.

Collins AM, Kubasek KJ. Field test of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony defensive behavior. *Ann Entomol Soc Am* 1982;75:383-387.

Collins AM, Rinderer TE, Harbo JR, Bolten AB. Colony defense by Africanized and European honey bees. *Science* 1982;218:72-74.

Collins AM, Rinderer TE, Harbo JR, Brown MA. Heritabilities and correlations for several characters in the honey bee. *J Hered* 1984;75:135-140.

Collins AM. Bidirectional selection for colony defense in Africanized honey bees. *Am Bee J* 1986;126:827-828.

Collins AM, Daly HV, Rinderer TE, Harbo JR, Hoelmer K. Correlations between morphology and colony defence in *Apis mellifera* L. *J Apic Res* 1994;33:3-10.

Daly HV, Balling SS. Identification of Africanized bees in the Western hemisphere by discriminant analysis. *J Kans Entomol Soc* 1978;51:857-869.

Daly HV, Holmer K, Norman P, Allen T. Computer-assisted measurement and identification of honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Ann Entomol Soc Am* 1982;75:591-594.

Estrada de la Mora E, Guzmán-Novoa E. Selección práctica para alta producción de miel en abejas melíferas (*Apis mellifera* L.). Memorias del V Seminario Americano de Apicultura; 1991 septiembre 6-8. Guadalajara (Jalisco) México: Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Unión Nacional de Apicultores, 1991: 69-71.

Free JB. The stimuli releasing the stinging response of honey bees. *Anim Behav* 1961;9:193-196.

García LL. Comparación de la confiabilidad de dos métodos para medir la defensividad de las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1997.

Guzmán-Novoa E, Page RE. Backcrossing Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) queens to European drones reduces colony defensive behavior. *Ann Entomol Soc Am* 1993;86:352-355.

Guzmán-Novoa E, Page RE, Fondrk MK. Morphometric techniques do not detect intermediate and low levels of Africanization in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Ann Entomol Soc Am* 1994;87:507-515.

Guzmán-Novoa E, Page RE. Genetic dominance and worker interactions affect honey bee colony defense. *Behav Ecol* 1994a;5:91-97.

Guzmán-Novoa E, Page RE. The impact of Africanized bees on mexican beekeeping. *Am Bee J*.1994b;134:101-106.

Guzmán-Novoa E. La apicultura en México y Centroamérica. Memorias de V Congreso Iberolatinoamericano; 1996 junio1-3; Mercedes (Uruguay) Uruguay: Unión Nacional de Apicultores, AC, 1996:14-17.

Guzmán-Novoa E, Prieto MD. Pasos generales para la selección de abejas productivas y manejables. Memorias del 4º Congreso Internacional de Actualización Apícola; 1997 mayo 16-18. Morelia (Michoacán) México: Asociación Nacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Abejas, AC, 1997a:106-107.

Guzmán-Novoa E, Prieto MD. Selección de abejas productivas y manejables. Memorias del XI Seminario Americano de Apicultura; 1997 agosto 7-10. Acapulco, (Guerrero) México: Unión Nacional de Apicultores, 1997b:91-93.

Guzmán-Novoa E, Page RE. Selective breeding of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in Africanized areas. *J Econ Entomol* 1999a;92 521-525.

Guzmán-Novoa E, Page RE, Spangler HG, Erickson EH. A comparison of two assays to test the defensive behaviour of honey bees (*Apis mellifera* L.). *J Apic Res* 1999b;38:205-209.

Guzmán-Novoa E, Hunt GJ, Uribe JL, Smith C, Arechavaleta-Velasco ME. Confirmation of QTL effects and evidence of genetic dominance of honey bee defensive behavior: results of colony and individual behavioral assays. *Behav Genetics* 2002a;32:95-102.

Guzmán-Novoa E, Hunt GJ, Page RE, Fondrk MK. Genetic correlations among honey bee (Hymenoptera: Apidae) behavioral characteristics and wing length. *Ann Entomol Soc Am* 2002b;95:402-406.

Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Anuario estadístico del estado de México. México (DF): INEGI, 1998.

Kerr WE. The history of the introduction of African bees to Brazil. *S Afr Bee J* 1967;39:3-5.

Kolmes SA, Fergusson-Kolmes LA. Measurements of stinging behaviour in individual worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *J Apic Res* 1989;28:71-78.

Labougle JM, Zozaya RJA. La apicultura en México. *Ciencia y Desarrollo* 1986;69:17-36.

Maschwitz UW. Gefahrenalarmstoffe und gefahrenalarmierung bei sozialen Hymenopteran. *Physiologie* 1964;47:596-655.

Moffett JO, Maki DL, Andre T, Fierro MM. The Africanized bee in Chiapas, Mexico. *Am Bee J* 1987;127:571-520.

Moritz RFA. Estimating the genetic variance of group characters: social behaviour of honeybees (*Apis mellifera* L.). *Theor Appl Genet* 1986;72:513-517.

Nielsen DI, Ebert PR, Hunt GJ, Guzmán-Novoa E, Kinee SA, Page RE. Identification of Africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) incorporating morphometrics and an improved PCR mitotyping procedure. *Ann Entomol Soc Am* 1999;92:167-174.

Nielsen DI, Ebert PR, Page RE, Hunt GJ, Guzmán-Novoa E. Improved polymerase chain reaction-based mitochondrial genotype assay for identification of the Africanized honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Ann Entomol Soc Am* 2000;93:1-6.

Paxton RJ, Sakamoto CH, Rugiga FCN. Modification of honey bee (*Apis mellifera* L.) stinging behaviour by within colony environment and age. *J Apic Res* 1994;33:75-82.

Programa Nacional para el Control de la Abeja Africana. Situación actual y perspectiva de la apicultura en México. México (DF): PNCAA, 1998.

Rinderer TE, Collins AM, Tucker KW. Honey production and underlying nectar harvesting activities of Africanized and European honey bees. *J Apic Res* 1985;23:161-167.

Rinderer TE, Bucu SM, Rubink WL, Daly HV, Stelzer JA, Riggio RM, Baptista FC. Morphometric identification of Africanized and European honey bees using large reference populations. *Apidologie* 1993;24:569-585.

Rothenbuhler WC. Further analysis of committee's data on the Brazilian bee. *Am Bee J* 1974;114:28.

Spangler HG, Schmidt JO, Thoenes SC, Erickson EH. Automated testing of the temperament of Africanized honey bees- A progress report. *Am Bee J* 1990;130:731-733.

Spangler HG, Erickson EH. System for assessing bee temperament, inventories. U.S. patent No. 5,015,212. 1991 may 14.

Stort AC. Genetic study of the aggressiveness of two subspecies of *Apis mellifera* in Brazil. I. Some tests to measure aggressiveness. J Apic Res 1974;13:33-38.

Stort AC. Genetic study of the aggressiveness of two subspecies of *Apis mellifera* in Brazil. II. Time at which the first sting reached the leather ball. J Apic Res 1975a;14:171-175.

Stort AC. Genetic study of the aggressiveness of two subspecies of *Apis mellifera* in Brazil. IV. Number of stings in the gloves of the observer. Behav Genet 1975b;5:269-274.

Stort AC. Genetic study of the aggressiveness of two subspecies of *Apis mellifera* in Brazil. V. Number of stings in the leather ball. J Kans Entomol Soc 1975c;48:381-387.

Stort AC, Rebutini ME. Differences in the number of some antennal sensilla of four honey bee (*Apis mellifera*) types and comparisons with the defensive behaviour. J Apic Res 1998;37:3-10.

Sylvester HA, Rinderer TE. Fast Africanized bee identification system (FABIS) manual. Am Bee J 1987;127: 511-516.

Uribe RJL. Loci y efectos genéticos que afectan el comportamiento productivo y componentes del comportamiento defensivo de las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) (tesis de Maestría) México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2001.

Villa JD. Defensive behaviour of Africanized and European honeybees at two elevations in Colombia. J Apic Res 1988;27:141-145.

Winston ML, Otis GW, Taylor OR. Absconding behavior of the Africanized honeybee in South America. J Apic Res 1979;18:85-94.

Winston ML. The biology of the honey bee. Cambridge MA, USA: Harvard University Press.1987.

7.0. CUADROS Y FIGURAS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 1. Medias de coeficientes de variación (%) de los valores obtenidos para las variables medidas con cuatro pruebas de campo, en 18 colonias de abejas melíferas con diferentes grados de comportamiento defensivo.

VARIABLES MEDIDAS	COEFICIENTES DE VARIACIÓN (%)
CORRE (A)	16.80
VUELA (A)	20.31
CHOCA (A)	19.60
PICA (A)	23.21
No. DE AGUIJONES (B)	71.84
TIEMPO DE REACCIÓN (C)	90.33
ABEJAS PICADORAS (C)	90.40
No. ABEJAS SIN FEROMONA (F)	50.01
No. ABEJAS CON FEROMONA (F)	43.30
No. ABEJAS, DIFERENCIA (F)	67.26

Distintas literales indican el tipo de prueba; A: apreciación, B: bandera, C: caja, F: feromona.

Cuadro 2. Medias de coeficientes de variación (% CV) y de los valores obtenidos (\pm E.E.) de pruebas de apreciación (valor categórico), bandera (No. agujones), caja (% abejas picadoras) y feromona (No. abejas reclutadas), en seis colonias de cada uno de tres genotipos (africanizado, híbrido, europeo) de abejas melíferas.

PRUEBA	GENOTIPO	% CV	VALORES
APRECIACIÓN	AFRICANIZADO	28.64	12.7 \pm 0.5 ^a
	H Í B R I D O	45.02	9.9 \pm 0.6 ^b
	E U R O P E O	16.05	4.3 \pm 0.1 ^c
BANDERA	AFRICANIZADO	54.02	88.1 \pm 6.9 ^a
	H Í B R I D O	92.31	75.8 \pm 10.1 ^a
	E U R O P E O	302.17	7.6 \pm 3.3 ^b
CAJA	AFRICANIZADO	133.94	37.3 \pm 3.1 ^a
	H Í B R I D O	286.03	27.7 \pm 2.8 ^b
	E U R O P E O	118.12	7.5 \pm 2.2 ^c
FEROMONA	AFRICANIZADO	61.16	126.8 \pm 11.2 ^a
	H Í B R I D O	69.69	86.4 \pm 8.7 ^b
	E U R O P E O	131.44	36.1 \pm 6.8 ^c

Distintas literales dentro de cada prueba indican diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre las medias, obtenidas de análisis de varianza y de pruebas de diferencia mínimo cuadradas. Las pruebas estadísticas fueron realizadas con datos transformados mediante raíz cuadrada, ya que los mismos no eran homocedásticos. Las medias \pm errores estándar son valores reales no transformados.

Cuadro 3. Número promedio y (porcentaje) de abejas por genotipo (africanizado, híbrido y europeo), que persiguieron a los operadores después de pruebas de apreciación y de bandera, a cinco distancias progresivas de su colmena.

DISTANCIA DE PERSECUCIÓN (m)	AFRICANIZADO		HÍBRIDO		EUROPEO	
	*APREC.	BANDERA	APREC.	BANDERA	APREC.	BANDERA
25	18.69 (52.92)	35.19 (47.90)	16.81 (48.39)	35.40 (39.21)	0.23 (100)	1.56 (66.66)
50	10.12 (28.67)	22.25 (30.28)	10.60 (30.52)	27.31 (30.25)	0.00 (0.00)	0.67 (28.63)
100	4.16 (11.82)	10.08 (13.72)	5.06 (14.56)	16 (17.72)	0.00 (0.00)	0.11 (4.70)
150	1.69 (4.78)	4.31 (5.86)	1.77 (5.09)	7.83 (8.67)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
200	0.64 (1.83)	1.63 (2.22)	0.5 (1.44)	3.73 (4.13)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
TOTAL	35.31 (100)	73.46 (100)	34.74 (100)	90.27 (100)	0.23 (0.00)	2.34 (100)

n = 6 colonias por genotipo. Cada colonia fue probada en ocho ocasiones.
 En las pruebas de χ^2 se usaron dos grados de libertad. En todos los casos la $P < 0.01$, excepto para los 50, 100, 150 y 200 m para la prueba de apreciación en que $P < 0.05$.
 * APREC = APRECIACIÓN

Cuadro 4. Umbral promedio de un estímulo eléctrico (mA) \pm E.E. requerido para provocar el aguijoneo de abejas de una colonia africanizada, dos híbridas y una europea (n= 75, 200, 200 y 150, respectivamente).

COLONIA	CORRIENTE (mA)	\pm E.E.
AFRICANIZADA	2.50	0.139 ^a
HÍBRIDA	2.71	0.074 ^{a,b}
HÍBRIDA	3.12	0.083 ^b
EUROPEA	3.80	0.013 ^c

Distintas literales indican diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre las medias, obtenidas de análisis de varianza y de pruebas de diferencia mínimo cuadradas. Las pruebas estadísticas fueron realizadas con datos transformados mediante raíz cuadrada, ya que los mismos no eran homocedásticos. Las medias \pm errores estándar son valores reales no transformados.

Cuadro 5. Tiempo promedio (s) \pm E.E. que tardaron 104 abejas de dos colonias africanizadas y 110 abejas de dos colonias europeas en picar, al ser expuestas a un estímulo eléctrico de 1 mA.

COLONIAS	TIEMPO(s)	\pmE.E.
AFRICANIZADAS	4.42	0.63 ^a
EUROPEAS	22.74	2.17 ^b

Distintas literales indican diferencias significativas entre las medias, basadas en una prueba U de Mann-Whitney (U= 1.734, P<0.0001).

Cuadro 6. Relación entre variables medidas con cuatro pruebas de campo y la intensidad de un estímulo eléctrico de una prueba de laboratorio a la cual picaron las abejas.

COLONIA Y GENOTIPO	AGUIJONES ¹	TOTAL ² APRECIACIÓN	PERSECUCIÓN, APRECIACIÓN ³	TIEMPO DE REACCIÓN ⁴	% ABEJAS PICADORAS ⁵	DIFERENCIAL DE ABEJAS ⁶	mA ⁷
Y-33 AFRICANIZADO	141	16	18	2	25	126	2.5
Y-96 HÍBRIDO	112	13	30	1	44	117	2.7
H-CAN EUROPEO	0	4	0	42	3	21	3.8

¹ Número de aguijones dejados por las abejas en 20 s con la prueba de bandera.

² Suma de cuatro variables medidas con la prueba de apreciación (corre, vuela, choca y pica).

³ Número de abejas que persiguieron a los operadores a una distancia de 25 m con la prueba de apreciación.

⁴ Tiempo (s) al primer piquete de las abejas con la prueba de caja.

⁵ Porcentaje de abejas obreras que picaron con la prueba de caja.

⁶ Número de abejas que reaccionaron al estímulo de una feromona de alarma (acetato de isopentilo).

⁷ Intensidad de corriente (mA) a la cual picaron las abejas obreras con la prueba del choque eléctrico.

Cuadro 7. Propensión a picar y a perseguir medidas con una prueba de bandera, entre abejas africanizadas y europeas en un medio ambiente común.¹

TIPOS DE ABEJAS	No. AGUIJONES	No. ABEJAS PERSECUTORAS
AFRICANIZADAS	84 ^a	480 ^a
EUROPEAS	75 ^a	348 ^b

¹ Se introdujo un número similar de abejas africanizadas y abejas europeas (6000 abejas) en cada de seis colonias que fueron probadas en cinco ocasiones.

No hubo diferencias entre abejas africanizadas y europeas en su propensión a picar ($\chi^2_1 = 1.08$, $P > 0.2$), como lo indican las mismas literales, pero si en su propensión a perseguir ($\chi^2 = 36.6$, $P < 0.0001$).

Cuadro 8. Media (\pm intervalo de confianza, 95%) para el número de abejas cuyas alas rebasaron la escala de 9.00 mm de la plantilla usada con el método simple de medición, en muestras de 30 obreras cada una. Las muestras fueron clasificadas como abejas con medidas africanizadas, europeas e intermedias, de acuerdo con Rinderer *et al.* (1986).

CLASIFICACIÓN	N	No. ABEJAS	P*
MUESTRAS AFRICANIZADAS	27	8.89 (\pm 2.86)	≤ 12
MUESTRAS EUROPEAS	63	23.89 (\pm 1.61)	≥ 22
MUESTRAS INTERMEDIAS	119	14.47 (\pm 1.43)	$> 12 < 22$

* $P < 0.05$, para el número mínimo, máximo e intermedio de abejas cuyas alas rebasan la escala de 9.00 mm de la plantilla usada con el método simple de medición, que se requieren para ser clasificadas como africanizadas, europeas o intermedias, en una muestra de 30 obreras.

Cuadro 9. Coeficientes de correlación (r) y de determinación (r^2) entre la longitud promedio de ala de las obreras y las variables medidas en las siguientes pruebas de campo: apreciación, bandera, caja y feromona.

VARIABLES MEDIDAS	r	r^2
Corre, apreciación	-0.619*	0.383
Vuela, apreciación	-0.554*	0.307
Choca, apreciación	-0.476*	0.227
Pica, apreciación	-0.466*	0.217
Total, apreciación	-0.555*	0.308
Persecución 25 m, apreciación	-0.531*	0.281
Persecución 50 m, apreciación	-0.483*	0.234
No. agujones, bandera	-0.487*	0.237
Persecución 25 m, bandera	-0.571*	0.327
Persecución 50 m, bandera	-0.526*	0.276
Tiempo (s) al primer piquete, caja	0.475*	0.226
% Abejas picadoras, caja	-0.399*	0.159
No. abejas antes de feromona	-0.509*	0.259
No. abejas después de feromona	-0.541*	0.292
Diferencial de abejas, feromona	-0.463*	0.215

n= 18 colonias. Cada colonia fue probada en ocho ocasiones.

* P<0.0001.

Las correlaciones se efectuaron con datos transformados a raíz cuadrada para normalizarlos.

ESTA TESIS NO SALIÓ
DE LA BIBLIOTECA

Cuadro 10. Tiempo estimado, costo aproximado en materiales (pesos, M.N.) e inversión en equipo (pesos, M.N.) necesarios para la realización de cinco pruebas para medir el comportamiento defensivo de las abejas melíferas y de dos métodos para medir su longitud de ala anterior.

PRUEBA O MÉTODO	TIEMPO (min)	COSTO MATERIALES	INVERSIÓN EQUIPO
APRECIACIÓN	4	0.05	0.00
BANDERA	7	1.50	100.00
CAJA	7	3.00	200.00
FEROMONA	4	6.00	10,000.00
CHOQUE ELÉCTRICO	15	1.00	12,000.00
ALAS, FABIS	15	3.00	20,000.00
ALAS, SIMPLE	9	1.00	100.00

Todas las pruebas de comportamiento defensivo de las abejas requieren de dos operadores.

Figura 1. La prueba de apreciación consiste en evaluar el grado categórico al que las abejas corren, vuelan, chocan, pican y persiguen, en condiciones de una revisión de rutina.



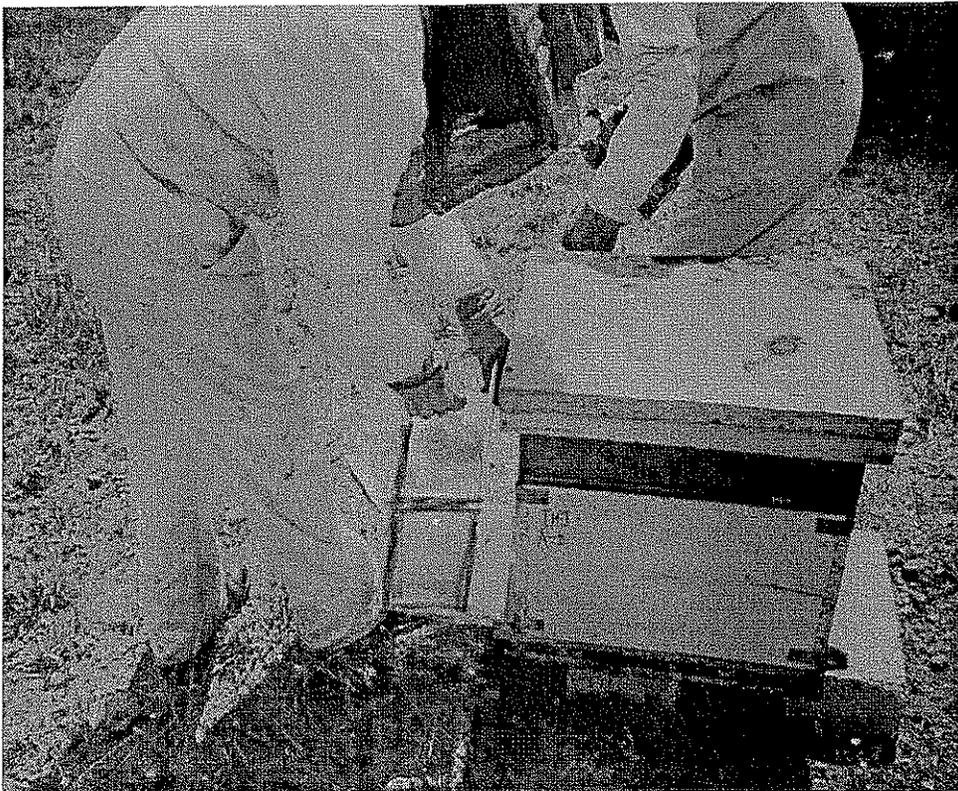
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Figura 3. Prueba de bandera sobre cámara de cría. Consiste en agitar un parche de cuero sobre la cámara de cría de una colonia de abejas durante 20 s. Posteriormente, se cuentan los agujijones dejados por las abejas en el parche de cuero.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 4. Prueba de bandera en caja. Consiste en hacer pasar un número arbitrario de abejas de su colmena a una caja de acrílico que se inserta en la piquera de la colmena. En el interior de la caja, se agita una bandera durante 60 s y luego se determina el porcentaje de abejas que haya picado el parche de cuero de la bandera.

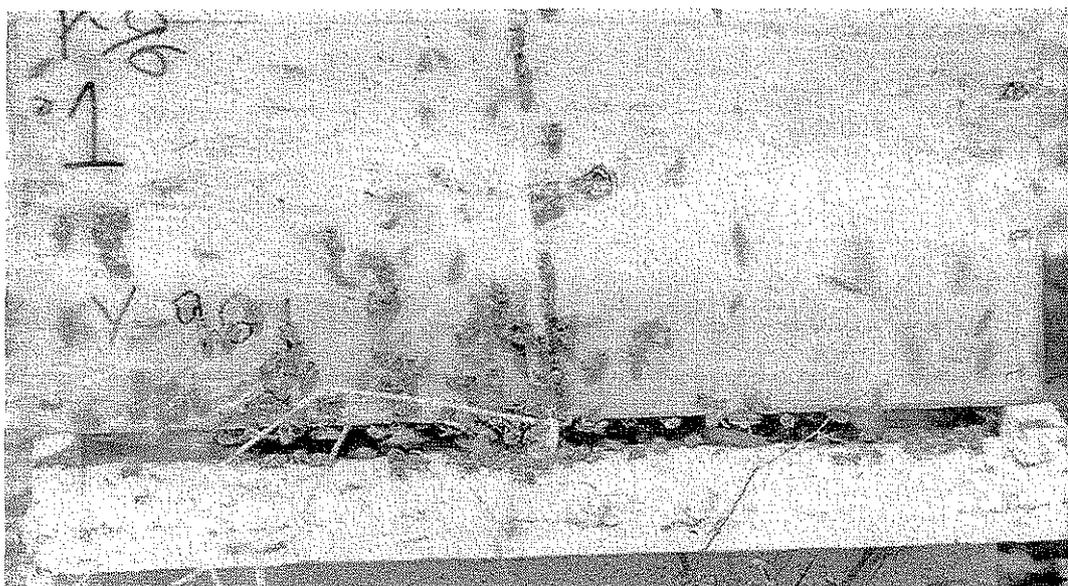


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 5. Prueba de reclutamiento a una feromona de alarma. Consiste en tomar dos fotografías: una antes de aplicar la feromona y otra 20 s después de aplicar 3 μ L de esta en la entrada de la colmena. La diferencia en el número de abejas entre ambas fotografías se toma como parámetro para establecer el grado de reacción defensiva de la colonia de abejas probada.



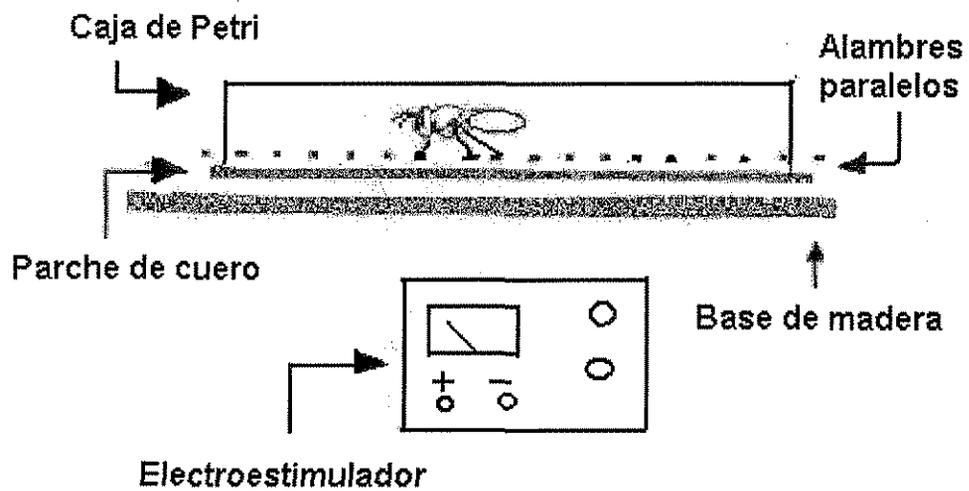
Primera fotografía: antes de aplicar la feromona



Segunda fotografía: 20 s después de aplicar la feromona

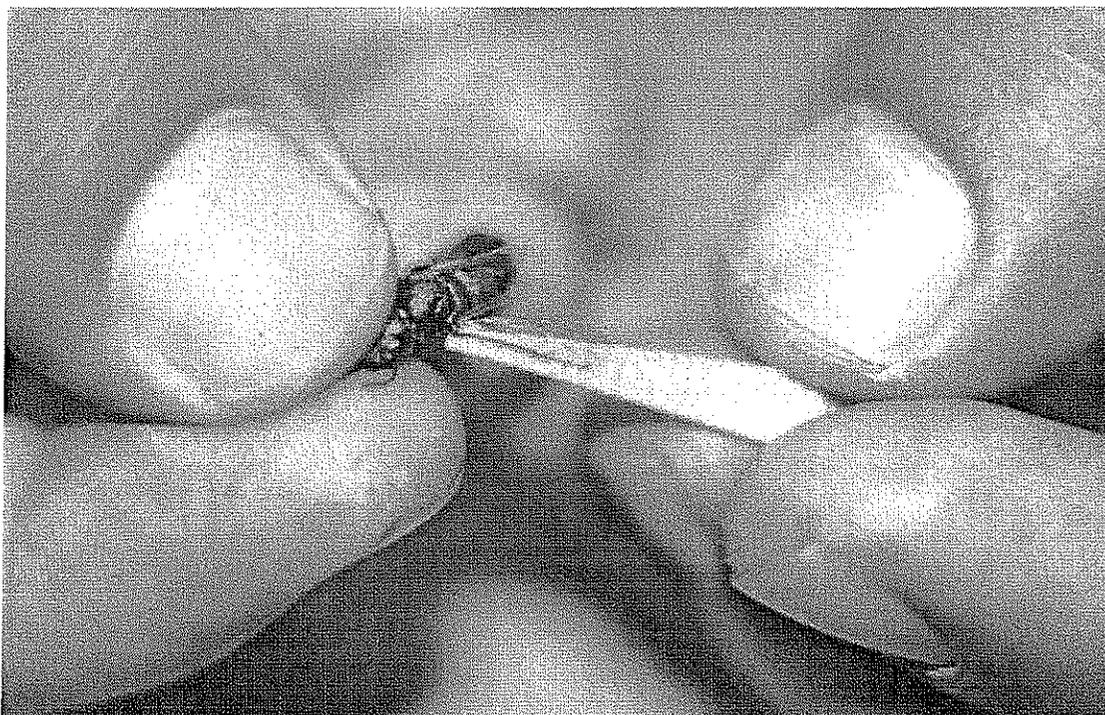
Figura 6. Esquema del electroestimulador usado para cuantificar el umbral de corriente eléctrica requerido para provocar el agujoneo de abejas melíferas. Los dos polos del aparato son conectados a los alambres paralelos.

(Modificado de Paxton *et al.* 1994).



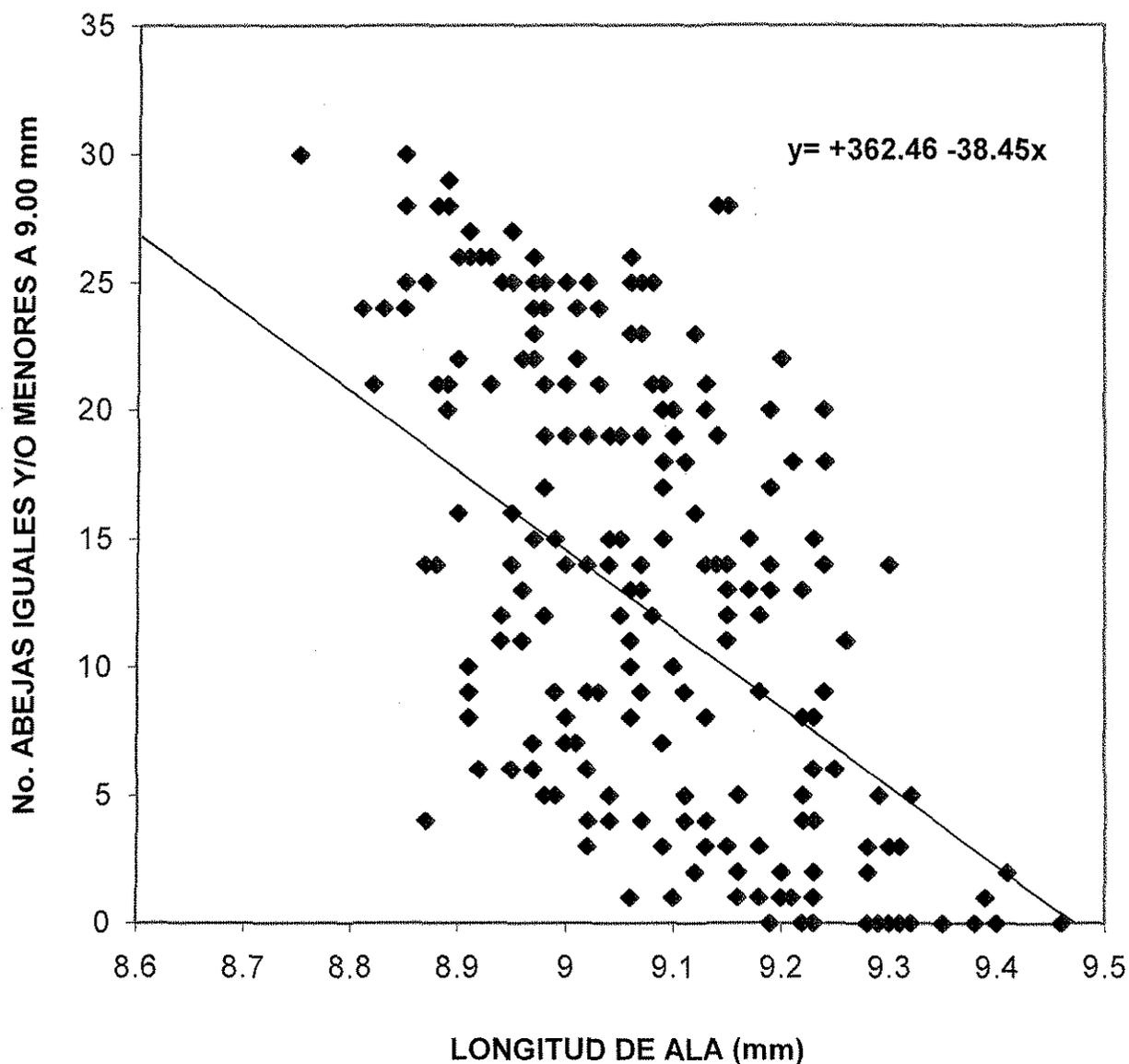
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 7. El método simplificado para medir las alas de las abejas consiste en comparar la longitud del ala anterior de 30 abejas con la escala de 9.00 mm de una plantilla. El número de abejas cuyas alas rebasen la escala, determinará su clasificación en abejas con medidas europeas, africanizadas o intermedias.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 8. Regresión entre la longitud media de ala anterior (mm) de abejas obreras de 209 colonias, obtenida mediante el método FABIS (sistema rápido de identificación de abejas africanizadas) y el número¹ de abejas con alas iguales y/o menores a 9.00 mm, medidas con el método simple ($r=0.65$; $r^2= 0.42$; $P<0.0001$).



¹ Se midieron las alas de 30 abejas por muestra.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN