



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

**DETERMINACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA
CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS MINERALES DE
VESÍCULAS SEMINALES DE ZÁNGANOS (*Apis mellifera* L.)
SEXUALMENTE MADUROS, MEDIANTE
ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN, EMISIÓN
ATÓMICA Y COLORIMETRÍA**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

GUTIÉRREZ GAMIÑO EVA YOLOTZIN

Asesores:

MVZ Adriana Correa Benítez
M en C Juan Alberto Balcázar Sánchez
M en C René Rosiles Martínez



MÉXICO, D. F.

Octubre, 2011



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.

DEDICATORIAS

A mis padres! Evangelina y Daniel que sin su apoyo incondicional y el amor que me brindan, no estaría logrando mis metas.

A mis hermanos! Daniela y Horacio que desde niños me han acompañado y me han brindado siempre su apoyo.

A Mario! Mi hemocito, mi pareja ideal y mi futuro esposo que desde un principio me dio todo su amor.

A todos ustedes muchas gracias por todo! Los amo!!!

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a mi familia, que desde siempre me han demostrado amor, cariño y me ha enseñado todo lo necesario para ser una mejor persona.

A mi Amudgin que me brinda su amor en todo momento y me apoya en todo los aspectos.

A la familia Armenta que me acepto como parte de su familia y me apoya desde Orizaba.

A todos los miembros del Departamento de Abejas que me brindaron su ayuda siempre que pudieron. Principalmente a la Dra. Adriana, Dra. Laura y Dra. Angelica quienes me dieron sus mejores consejos. A Richy e Itzel que queriendo o sin querer hicieron mi estancia desde el servicio social, extremadamente divertida y agradable y también al Dr. Rodrigo que gracias a él, me incline por esta especie.

A mis asesores que siempre estuvieron dispuestos a darme buenos consejos para llevar a cabo esta tesis.

A los miembros del jurado que con sus opiniones se completo de una manera exitosa esta investigación.

A todos aquellos amigos que me acompañaron en la universidad y principalmente a Karina que desde el primer semestre me brindo su valiosa amistad.

A las carneras, con un especial agradecimiento a mi coach el mostro, a mi QB Andrea, a Jaqueline y Maricela a quienes conocí gracias a este maravilloso deporte.

A todos mis amigos que siempre me apoyan (Nancy, Lupe, Samuel, Isaac, Emmanuel y Ariadna)

Gracias a todos ustedes por existir en mi vida. Los quiero mucho!!

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Biología reproductiva de las abejas melíferas	3
1.2. Biología del zángano	5
1.3. Anatomía y fisiología del aparato reproductor	6
1.4. Producción de espermatozoides	8
1.5. Morfología del espermatozoide	9
1.6. Composición del semen	12
1.7. Función de los minerales	13
1.8. Métodos de colección de semen	14
1.9. Métodos instrumentales de análisis	17
2. JUSTIFICACIÓN	19
3. OBJETIVO GENERAL	19
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
5. HIPÓTESIS	20
6. MATERIAL Y MÉTODOS	21
6.1. Localización del área de estudio	21
6.2. Estimulación para la producción de zánganos	21
6.3. Captura y eutanasia de zánganos	22
6.4. Disección de vesículas seminales	23

6.5. Manejo en el laboratorio del Departamento de Reproducción.....	24
6.6. Medición de la concentración de elementos minerales.....	25
7. RESULTADOS.....	27
8. DISCUSIÓN.....	31
9. CONCLUSIONES.....	33
10. REFERENCIAS.....	34
11. LISTA DE FIGURAS.....	37
12. LISTA DE CUADROS.....	38
13. ANEXO.....	39

RESUMEN

GUTIÉRREZ GAMIÑO EVA YOLOTZIN. Determinación y evaluación de la concentración de elementos minerales de vesículas seminales de zánganos (*Apis mellifera* L.) sexualmente maduros, mediante espectrometría de absorción, emisión atómica y colorimetría (bajo la supervisión de MVZ Adriana Correa Benítez, M en C Juan Alberto Balcázar Sánchez y M en C René Rosiles Martínez).

En mamíferos, la función de los minerales potasio, sodio, calcio y magnesio radica en el mantenimiento de la presión osmótica, equilibrio ácido base y permeabilidad tisular, así mismo el zinc se haya involucrado en el mantenimiento del equilibrio ácido base. El potasio, magnesio, calcio, cobre, hierro y sodio son necesarios para la motilidad espermática. Los espermatozoides son ricos en fósforo para almacenar y transportar energía.

El objetivo del estudio fue determinar y evaluar la concentración de elementos minerales de vesículas seminales de zánganos (*Apis mellifera* L.) sexualmente maduros, para saber cuales están presentes y conocer en qué cantidad.

Las muestras se obtuvieron de la disección de vesículas seminales de zánganos de colonias del Centro de Educación Ambiental “Acuexcomatl”. Las cuales fueron mantenidas en congelación hasta su liofilización, en el Laboratorio de Toxicología de la FMVZ-UNAM^A se realizó la medición de minerales mediante espectrometría de absorción y emisión atómica, excepto para fósforo, el cual fue medido mediante colorimetría con vanadato de amonio. La transformación de la absorbancia de cada muestra a concentración se hizo por una regresión simple con cantidades conocidas del elemento mineral a determinar. Una vez obtenida la concentración inicial, ésta se multiplicó por la dilución y se dividió entre el tamaño de muestra. Los resultados fueron: potasio (4277.95 ug/g), sodio (3297.89 ug/g), magnesio (686.8 ug/g), calcio (1009.58 ug/g), cobre (237.67 ug/g), zinc (65.72 ug/g) y fósforo (967.83 ug/g) y nulas concentraciones de fierro y manganeso.

Palabras clave: *Zángano, semen, vesículas seminales, minerales.*

^A Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Biología reproductiva de las abejas melíferas

Las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) son insectos que viven en sociedades o colonias constituidas por dos castas: machos y hembras, éstas últimas pueden ser obreras o reinas. Cada casta cumple una función específica, es así que la abeja reina y el zángano son los únicos individuos capaces de reproducirse.^{1,2}

Con respecto a las obreras, presentan un fenómeno conocido como traslape generacional, es decir, mientras algunos individuos cumplen con su ciclo de vida, la siguiente generación se encarga de las labores de la colonia, esto asegura la supervivencia de la misma. Una colonia de abejas está compuesta por una superfamilia y a su vez está conformada por subfamilias de obreras que pueden ser medias hermanas^B, hermanas completas^C y superhermanas^D. El número de subfamilias de una colonia dependerá de la cantidad de zánganos que copularon con la reina. En este contexto las abejas se organiza en torno a un sistema social, el que es mantenido por un complejo de feromonas y comportamientos regulados por mensajes químicos para todos los individuos de la colonia.^{1,2}

Dzierzon en 1845, señaló que las reinas se originan a partir de huevos fertilizados al igual que las abejas obreras, por lo tanto poseen información genética de la madre y el padre.² La metamorfosis de la reina tiene una duración promedio de 16 días, al eclosionar del huevo es alimentada con jalea real por las abejas obreras nodrizas, después de emerger

^B Medias hermanas= abejas hijas de machos que no tienen parentesco en común

^C Hermanas completas= abejas hijas de padres que son hermanos

^D Superhermanas = abejas hijas del mismo padre

y alcanzar la madurez sexual (5 a 7 días), sale de la colmena para realizar uno o dos vuelos de orientación, los cuales se llevan a cabo en la tarde y duran unos cuantos minutos.³

Al finalizar los vuelos de orientación, la reina esta lista para reproducirse. El apareamiento de estos insectos ocurre en zonas de congregación (áreas en el aire donde se reúnen los zánganos para esperar a las reinas vírgenes y llevar a cabo el proceso de apareamiento), para lo cual debe existir ciertas condiciones climáticas, como cielo despejado sin precipitación pluvial, una temperatura no menor a 20°C y vientos a una velocidad menor a los 20-28 km/h. La reina y los zánganos salen a los llamados vuelos de apareamiento entre las 14 y 16 horas, duran un promedio de 25 a 32 minutos, aunque pueden prolongarse hasta 60 minutos y sólo se aparean durante este primer periodo de su vida.³

Las reinas pueden realizar más de un vuelo y aparearse hasta con 17 zánganos, o bien, puede regresar a su colonia. Una vez que la reina ha realizado su último vuelo de apareamiento, de 3 a 5 días después, empieza a ovopositar alrededor de 1500 huevos diariamente.^{3,4}

Una vez fertilizada, la reina contrae su abdomen para cerrar el orificio vaginal, pudiendo haber un promedio de 80 a 90 millones de espermatozoides en los oviductos laterales, los espermatozoides migran por quimiotactismo positivo^E y contracciones musculares del oviducto medio a un saco esférico llamado espermateca donde la reina tiene capacidad de almacenar de 5 a 7 millones de espermatozoides y que éstos permanezcan viables de 3 a 5 años.³⁻⁶

Lo anterior se atribuye a tres enzimas antioxidantes presentes en semen y espermateca, catalasa (CAT), glutatión S-transferasa (GST) y superóxido dismutasa (SOD),

^E Quimiotactismo positivo es un estímulo que se produce por una sustancia química de atracción

las cuales se relacionan con la reducción de daño espermático causado por el estrés oxidativo.⁷ Aunado a ello, las abejas han desarrollado un mecanismo, hasta ahora no estudiado, que permite que sus espermatozoides permanezcan viables; al respecto Collins (2000) evaluó la viabilidad del semen almacenado, a temperatura ambiente (25°C) y en refrigeración (12°C). En ambas temperaturas, informó un rango de supervivencia del 70-80% a las seis semanas y a las 39 semanas permanecieron con una supervivencia de 45-65% de espermatozoides viables.^{6,8}

La principal función de la reina es la postura de huevos, mientras que las obreras se encargarán del mantenimiento, construcción y abastecimiento de todo lo necesario para la colonia, por lo que los machos tienen como única función básica, el acoplarse con la reina.³

1.2 Biología del zángano

Se estima que sólo 10% del total de individuos de la colonia son machos en época de floración. Los zánganos tienen un periodo de metamorfosis de 24 días, a partir de que la reina pone un huevo no fertilizado (partenogénesis), por lo que cuentan con un número haploide de cromosomas (16n), de tal modo que mantienen únicamente la información genética de la madre.^{9,10}

Los zánganos al eclosionar de las celdas son alimentados por las obreras y realizarán vuelos de orientación a partir del día 6 al 8 después de emerger y a partir del doceavo día alcanzarán la madurez sexual y saldrán de la colonia en busca de las áreas de congregación, las cuales se encuentran ubicadas normalmente entre 90 -120 m del apiario. Las reinas sobrevuelan las zonas de congregación y por comunicación química (feromonas) atraen a los zánganos hacia ellas, volando a una altura de entre 10-40 m del piso, los machos

sexualmente maduros volarán tras ella tratando de alcanzarla formando lo que se conoce como cometas de zánganos, llamados así porque los machos vuelan en grupos compactos y aparecen como densas nubes. El zángano se acopla con la hembra en vuelo, cuando uno de ellos la alcanza, la sostiene entre sus patas, de manera que queda posado sobre el dorso de la reina, al tocarla tiene un primer estímulo sexual que hace que él evierta una primera parte de su aparato reproductor, exponiendo un par de cornículas, localizadas en la base del endófalo y que le sirven para poder sujetarse a la reina; el zángano curva el abdomen y por efectos de excitación evierte totalmente el endófalo, penetrando la vagina de la reina, abatiendo la válvula vaginal y llegando al oviducto medio donde eyacula; expulsando a través de una severa compresión abdominal el semen desde las vesículas seminales a través del conducto eyaculador y el cual es seguido por una secreción de moco que impide la salida del semen.²⁻⁶

Una vez que el zángano eyaculó, suelta a la hembra, gira su cuerpo y la acción eyaculatoria separa al macho de la reina, rompiendo el endófalo, el zángano cae al suelo y muere en minutos u horas. Este proceso dura menos de 5 segundos y se conoce como signo de apareamiento. Durante la cópula, cada zángano eyacula de 6 a 10 millones de espermatozoides (1 μ l de semen) en la vagina de la reina y de aquí migrarán en un lapso de 24 h hacia la espermateca, donde serán almacenados hasta que la reina decida ocuparlos para la fertilización de un huevo que dará origen a una hembra.²⁻⁴

1.3 Anatomía y fisiología del aparato reproductor del zángano

En la parte interna del abdomen del macho se encuentra el aparato reproductor u órgano intromitente, presenta forma de “S”; lo constituye el endófalo, conducto eyaculador,

dos testículos, un par de vesículas seminales, las cuales se unen a un par de glándulas mucosas.¹⁻³ (Figura 1)

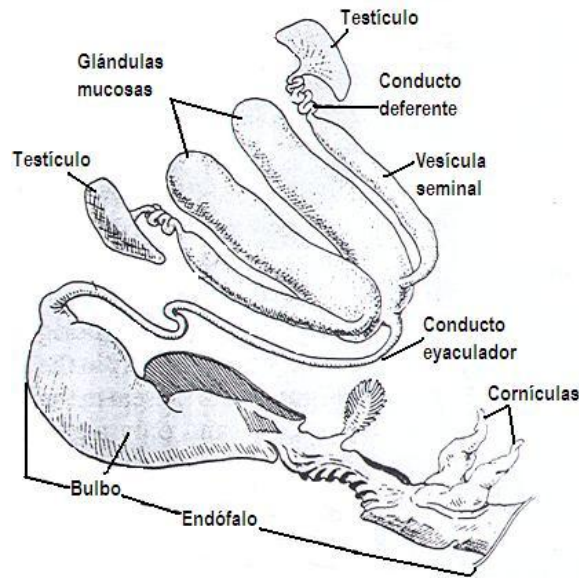


Figura 1. Anatomía del aparato reproductor del zángano¹¹

El **endófalo** es un saco blando, membranoso que se encuentra invaginado en el abdomen, cuando se evierte es transparente y está lleno de aire y hemolinfa, en su extremo distal se localiza el bulbo, placa quitinosa en forma de coma. En la base es más ancho, de aquí salen las cornículas, cuya forma asemeja la de cuernos, los cuales cambian de color de acuerdo a la madurez sexual del zángano, recién emergidos de la celda, las cornículas serán de color blanco e irán tornándose amarillo hasta un naranja intenso, conforme se aproximen a los 12 días de emergidos, teniendo su capacidad reproductiva al 100% en ese momento.³

El **conducto eyaculador** corre a través del endófalo, por lo que es el medio de transporte para el semen y por su posición anatómica, conecta al endófalo con los testículos y las vesículas seminales.

Los **testículos** son estructuras pares, de forma ovalada, color crema (en zángano maduro), de consistencia blanda y esponjosa, con una longitud de 5 a 6 mm. Aquí se llegan

a producir 10 millones de espermatozoides, entre el tercer y octavo día de vida en la fase de pupa de los zánganos, poco antes de eclosionar de la celda, los espermatozoides pasan por el conducto deferente hasta llegar a las vesículas seminales.³

Las **vesículas seminales** tienen forma de un saco alargado y ligeramente curvo, que aumentan de longitud como de grosor a medida que reciben los espermatozoides desde los testículos, sus paredes musculares se alinean con el tejido glandular, el cual proporciona la secreción seminal que mantiene nutridos a los espermatozoides hasta el momento del apareamiento.¹¹

Las **glándulas mucosas** son órganos accesorios y la parte más evidente de todo el aparato reproductor del macho. Forman una “U” al unirse a la salida de las vesículas seminales. Estas glándulas segregan una sustancia que al contacto con el aire se solidifica, su objetivo es empujar al semen a través del conducto eyaculador y sellar la salida del semen de la vagina de la reina para evitar su pérdida.³

1.4 Producción de espermatozoides

Alrededor del octavo día de la fase de pupa, en los testículos se lleva a cabo la espermatogénesis o producción de espermatozoides (10 millones en 1 a 1.25 μ l). Posteriormente, antes de emerger de la celda ocurre la espermiogénesis.^{2,9}

La espermatogénesis ocurre de la siguiente manera: la célula germinal haploide (16n) da origen a la espermatogonia, la cual madura a espermatozocito primario, al ocurrir la meiosis I, un corpúsculo polar se aborta por lo que se denomina meiosis abortiva, el único espermatozocito secundario sufre la meiosis II, donde se desaparece la membrana nuclear y produce dos espermátidas, una de las cuales posee la mayor parte del contenido

citoplasmático y la otra muy poco. La espermatίδα de mayor tamaño darรก origen a un espermatozoide funcional mientras que el otro se degenera (Figura 2).¹²

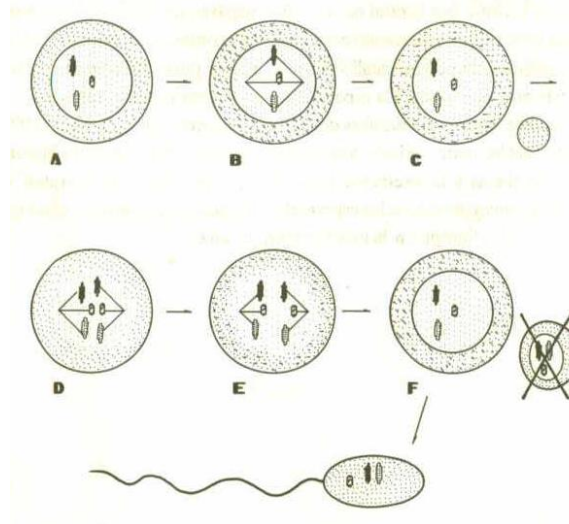


Figura 2. Formación de espermatozoides en abejas macho. **A.** Célula germinal haploide. **B.** División mitótica. **C.** Meiosis I abortiva. **D.** Pérdida de la membrana nuclear. **E y F.** Meiosis II anómala¹²

Los zánganos recién emergidos no son sexualmente maduros, aunque parte de los espermatoцитos se han transformado ya en espermatozoides perfectos. No es sino hasta la madurez sexual cuando las espermatίδes maduran a espermatozoides por medio de la espermiogénesis, la cual se lleva a cabo en el *germarium* localizado en la parte distal de los testículos.^{9,13}

1.5 Morfología del espermatozoide

Peng *et al* (1993), describieron las estructuras funcionales más importantes de los espermatozoides de *Apis mellifera* L., entre ellas, el axonema, núcleo y derivados mitocondriales. Establecieron que están compuestos por una cabeza elongada asimétrica, cuello y cola o flagelo de aproximadamente 250 – 270 μ de largo por 0.7 μ de ancho (Figura 3), más largos y delgados que los espermatozoides de mamíferos (Figura 4).^{3,5,14}

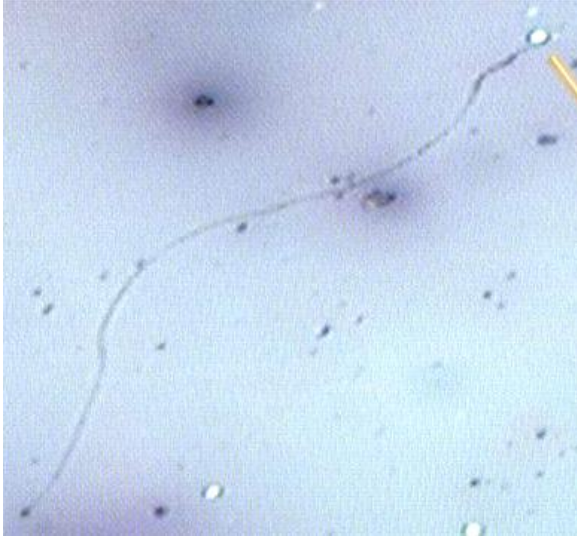


Figura 3. Espermatozoide de zángano



Figura 4. Espermatozoide de humano

Las estructuras que lo componen son:

a) **Cabeza.** Esta estructura está compuesta por un acrosoma o *perforatorium* y el núcleo. Mide alrededor de 10 a 12 micras de largo y 0.5 micras de ancho. El acrosoma forma el complejo acrosomal, mide 1 micra de longitud y 0.25 micras de ancho, este complejo está formado por las siguientes estructuras: (Figura 5)

- **Apéndice acicular anterior**, estructura tubular que se encuentra en la parte apical del acrosoma (**Aa**)

- **Región esférica** (contiene material extra acrosomal), estructura elongada que se localiza en la parte final del apéndice acicular anterior (**Em**)

- **Vesícula acrosomal (Av)**

- **Corpúsculo central interno (Cc)**

- **Barra interna acrosomal (Ar)**

- **Cavidad subacrosomal (Sc)**

- **Membrana plasmática (Pm)**

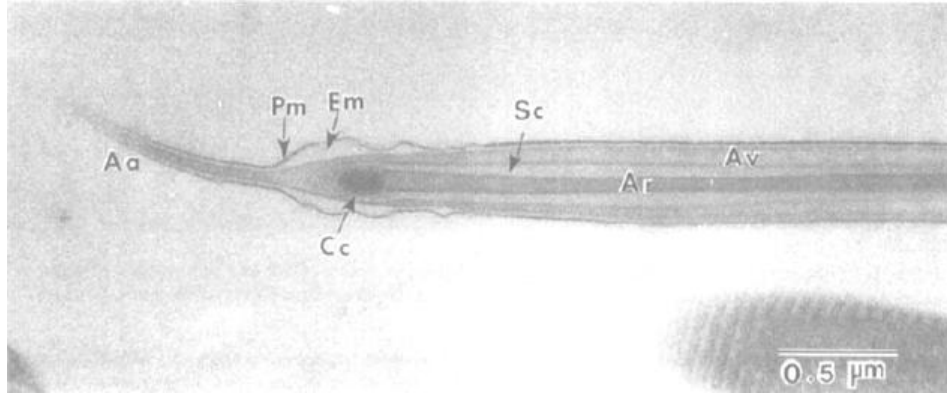


Figura 5. Complejo acrosomal¹⁴

El acrosoma se amplía en su parte posterior y forma la galea, posterior a ésta, la cabeza comienza a tornarse ovalada y forma el núcleo. El núcleo mide 5 micras de largo, 0.3 micras de espesor, es una estructura elíptica cuya parte posterior es cónica, del cual se originan los dos derivados mitocondriales.^{9,14}

b) Cuello. Esta estructura une (indicado en la Figura 6 con una flecha) al núcleo con el axonema (**Ax**) y los derivados mitocondriales (**Md**) de la cola. En la porción anterior de los derivados mitocondriales se localiza el cuerpo triangular (*), el cual, probablemente funciona como complemento centriolar en otros insectos.^{5,14} (Figura 6)

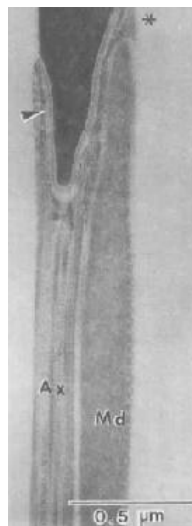


Figura 6. Cuello de espermatozoide de zángano¹⁴

c) **Cola o flagelo.** Formado por un axonema, localizado en la parte posterior del polo nuclear, dos derivados mitocondriales de diferente tamaño, adyacentes al axonema y dos cuerpos accesorios en forma triangular.⁹⁻¹⁰

1.6 Composición del semen

El semen es un líquido de color crema, muy diferente al color blanco del moco producido por las glándulas mucosas. Entre más elevado sea el número de espermatozoides y avance la edad del zángano, más intenso será su color y viscosidad.²

El semen del zángano está compuesto principalmente por el plasma seminal y espermatozoides en una proporción 1:1 o 2:1, dependiendo de las condiciones climáticas y época del año. El pH oscila entre 6.8 a 7.0, independientemente de la temporada y según Verma (1973) presenta una concentración osmótica de 467 ± 13 mOsmol/ml. Según Mackensen, Tryasko y Woyke (1978), 1 μ L de semen contiene 4 millones de espermatozoides, aunque la concentración espermática varía de acuerdo al grado de madurez del zángano.^{2,5,15}

Respecto a la composición química del semen, el eyaculado de zángano contiene tres tipos de azúcares: glucosa, fructosa y trehalosa; aminoácidos como la tirosina, metionina, cistina, entre otros; ácidos grasos libres, triglicéridos, fosfolípidos, esteroides y minerales como Mg, Ca, Na, Fe, Mn y Cu^F, sin embargo, los autores no mencionan en qué cantidad existen cada uno de los minerales en el semen de zánganos sexualmente maduros.²

^F Abreviaturas de magnesio, calcio, sodio, hierro, manganeso y cobre, respectivamente.

1.7 Función de los minerales

En mamíferos, la función de los minerales radica principalmente en que el K^G, Na, Ca y Mg intervienen en el mantenimiento de la presión osmótica, equilibrio ácido base y permeabilidad tisular; así mismo el Zn^H se haya involucrado en el mantenimiento del equilibrio ácido base y forma parte de la enzima anhidrasa carbónica.^{16,17} Además el K y Mg junto con el Ca son necesarios para la motilidad espermática.¹⁸ Al respecto, García *et al* (1995), citan posibles efectos del Cu y Fe sobre la motilidad espermática.¹⁶ Verma (1973), encontró la presencia de Na, K, Ca y Mg en semen de zángano de la abeja melífera, donde refiere al Na y K como base iónica para el control de la motilidad espermática y el resto de los minerales estudiados participan en la producción de energía.¹⁹

Así mismo, los espermatozoides son ricos en P^I, estando la mayor parte asociada al ácido desoxirribonucleico (ADN), lo utilizan para almacenar y transportar la energía mediante el adenosín trifosfato (ATP). Además, la adición y eliminación de grupos fosfato a las proteínas, es el mecanismo principal para regular la actividad de proteínas intracelulares y de ese modo el metabolismo de las células eucariotas tales como los espermatozoides.²⁰

El Mg actúa como componente y activador de sistemas enzimáticos para la producción de energía, el Fe, Cu^J y Zn ayudan a la formación de compuestos orgánicos para el transporte de energía en todas las células.^{16,21-22} En caso de la célula espermática, el Mg y K favorecen su vitalidad.²²

^G Potasio

^H Zinc

^I Fósforo

^J Cobre

Respecto al Zn, una función importante es la que efectúa en el sistema enzimático necesario para la síntesis del ácido ribonucleico (ARN). Por lo tanto, es esencial para el crecimiento de las células germinales.

La actividad del Mn no está bien determinada en vivo, sin embargo, *in vitro* funciona como activador de numerosos sistemas enzimáticos.^{17,21}

El Fe es compuesto formador de la enzima antioxidantes catalasa, la glutatión-s-transferasa requiere del selenio (Se) para sintetizarse, mientras que la superóxido dismutasa requiere de Cu y Zn para formarse.

Algunos insectos consumen agua con elevadas cantidades de Na, comportamiento que realizan para acumular este mineral y transferirlo a la hembra durante el apareamiento, ya que el Na incrementa la fertilidad en hembras.¹³

1.8 Métodos de colección de semen

Para la colección del semen, los zánganos pueden ser capturados directamente de la colmena o cuando regresen de los vuelos de apareamiento, este último resulta más eficiente puesto que se captura una menor cantidad de machos inmaduros.

Los zánganos salen a los vuelos de apareamiento durante las 14:00 y 16:00 h, por lo tanto, la colocación de jaulas o excluidores colocados obstruyendo recargados en el exterior de la entrada de la colmena hace que se posen en la malla o excluidor, caminen sobre ella y permitan su fácil captura.

Después de ser capturados se liberan en una cámara de vuelo durante 10 a 15 min para estimular la defecación antes de la colección de semen y así evitar contaminarlo.⁵ Se toma de manera individual a cada zángano para la obtención del semen.

La colección de semen puede hacerse mediante diferentes métodos: la estimulación manual del zángano, disección de vesículas seminales y lavado de semen.

a) Estimulación del zángano

La estimulación para la eyaculación del semen del zángano se logra rotando la cabeza del macho entre los dedos índice y pulgar y al mismo tiempo ejerciendo presión en el tórax, hasta lograr la eversión parcial del endófalo. Posteriormente, la presión se irá corriendo a los lados del abdomen, desde la base hasta la punta del mismo en forma constante para conseguir la eversión total del endófalo y la salida del semen junto con el moco, el semen se colecta directamente con la ayuda de un tubo capilar, un microscopio de disección y jeringas especializadas. Se utiliza el equipo de inseminación instrumental Schley (Figura 7) con la jeringa Harbo, la cual es la versión mejorada de la jeringa Mackensen. La nueva versión del tubo de almacenamiento es removible y puede utilizarse tanto para inseminar abejas reinas como para colectar semen. La jeringa Harbo utiliza una jeringa micrométrica *Gilmont*^K, la cual se conecta a una punta de vidrio que presenta la misma longitud del tubo para colectar fluido. Este sistema permite la adición de un tubo capilar estéril, que funciona como un depósito adyacente a la punta de la jeringa. La jeringa es controlada con un micromanipulador que permite ajustes finos, al igual que el uso del micrómetro, y con él se puede medir la cantidad exacta del semen que se utiliza.^{5,7,9}

^K Gilmont Instrumets, Barrington, IL



Figura 7. Aparato de inseminación instrumental Schley (Compact II)

b) Disección de vesículas seminales

Esta forma de colección de semen fue descrita por Mackensen y Ruttner (1976),² en esta técnica se retiran las vesículas seminales, con unas pinzas se les ejerce presión en la parte distal para estimular los movimientos peristálticos que forzan a los espermatozoides a salir hacia la punta del endófalo, para finalmente coleccionar el semen con una jeringa.

Collins (2004) realizó un estudio en el cual comparó esta técnica de disección utilizando la jeringa Harbo, manipulando distintas variables determinó que con la disección de vesículas seminales se obtiene una alta proporción de espermatozoides vivos, poca cantidad de semen y se requiere mayor tiempo para su recolección. Por otro lado, no recomienda su uso en inseminación instrumental, ya que el semen mantiene contacto con otros tejidos, por lo que se contamina la muestra.^{2,7}

c) Lavado de semen

Kaftanoglu y Peng (1989)³ describieron esta técnica, la cual consiste en diluir el semen y el moco en solución Kiev estéril y se homogenizan, esta mezcla se centrifuga a 2500 rpm durante 10 min, con lo cual se obtiene la separación de los tres componentes. La rapidez de este método le otorga ventaja ante los métodos convencionales propuestas por Mackensen y Harbo, además de que permite mezclar el semen de diferentes zánganos de manera homogénea a diferentes proporciones.³

La elección del método dependerá de cuál sea el más adecuado para la determinación y evaluación de elementos minerales.

1.9 Métodos instrumentales de análisis

La emisión y absorción atómica por medio de espectrometría son métodos de detección de minerales. En cada método un fino rocío de la solución de la muestra se introduce en una llama donde es vaporizado y atomizado. El uso de un espray de solución permite una distribución uniforme e introducción de una porción representativa de cada muestra a través de la llama.²³

En la **emisión** de átomos y moléculas por medio de espectrometría, la llama se eleva a un estado de excitación electrónica a través de choques térmicos con los componentes de los gases que quema la llama. A su regreso a un estado de inferioridad y baja electrónica, los átomos y moléculas emiten radiaciones que son característicos de cada elemento. La radiación que emerge pasa a través de un monocromador que aísla la característica espectral deseada. El espectro es registrado por una celda fotoeléctrica, la cual se amplifica y se registra en un medidor o una grabadora. La correlación de la intensidad de emisión con

la concentración de la sustancia de ensayo en la solución es la base de la evaluación cuantitativa.²³

En la **absorción** atómica por medio de espectrometría, la absorción de la radiación atómica de una fuente externa de luz, pasa a través de la llama, emitiendo la(s) línea(s) espectral(es) que corresponden a la energía necesaria para una transición electrónica del estado fundamental a un estado excitado, la radiación absorbida pasa a través de un monocromador que aísla la línea espectral excitante de la fuente de luz y la capta un detector. La absorción de los gases de la llama del elemento de prueba son tratados como un medio que contiene átomos libres, con lo cual se absorbe una radiación que corresponda a la energía necesaria para una transición electrónica del estado fundamental a un nivel excitado superior. Para cada elemento se utiliza una determinada fuente de luz. La absorción se mide por la diferencia entre las señales transmitidas de la fuente de luz y el elemento prueba.²³ (Figura 8)

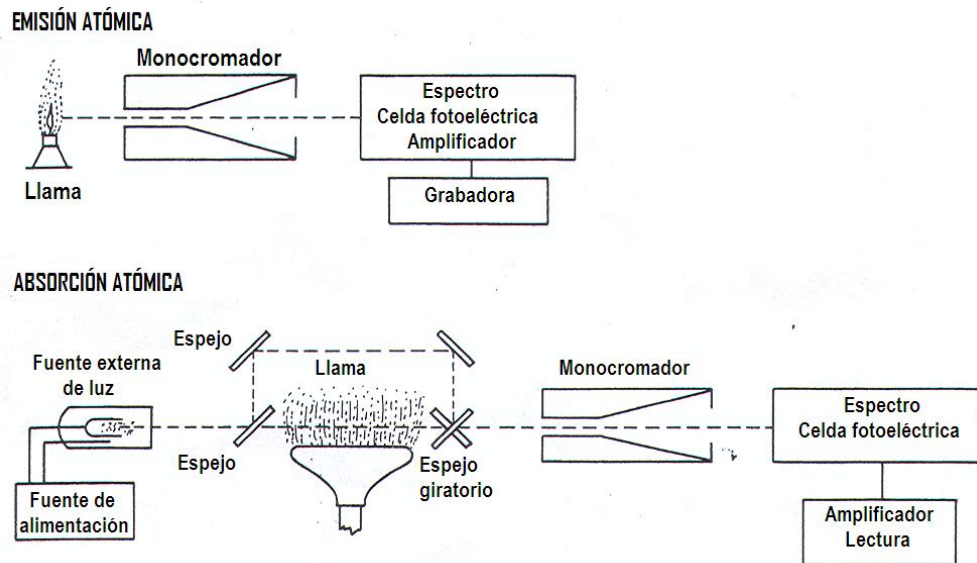


Figura 8. Diagrama de la medición por medio de emisión y absorción atómica²³

2 JUSTIFICACIÓN

Se conoce que en el polen que recolectan las abejas melíferas hay ciertas cantidades de minerales que varían dependiendo de la época del año,²⁴ los cuales son consumidos por los individuos de la colonia, sin embargo, a pesar de que en estos insectos se ha utilizado la inseminación instrumental y el mejoramiento genético, no se ha determinado ni evaluado los componentes minerales en vesículas seminales del zángano en forma concreta, se llegan a encontrar reportes (Verma en 1973)²² en los que se mencionan ciertos componentes (Na, K, Ca y Mg en semen de zángano) pero sin profundizar en el tema.

Una característica importante en el semen del zángano es su capacidad para mantenerse viable a temperatura ambiente por más de 72 horas, sin necesidad de ser mezclado, diluido y a ciertas temperaturas como sucede en mamíferos, sin saber hasta la fecha cual es el componente o componentes que le atribuyen estas características de resistencia y viabilidad.

En mamíferos se sabe que los elementos minerales presentes en el semen confieren características antioxidantes que los mantienen vivos, por lo que es importante determinar estos elementos minerales presentes en el semen de zángano para así comprender y determinar la función que cumplen cada uno de ellos en el mismo. Mientras que en los espermatozoides es conocido que cumplen una función importante para su capacitación, decapitación y llevar a cabo la reacción acrosomal.²⁵

3 OBJETIVO GENERAL

Determinar y evaluar la concentración de elementos minerales de vesículas seminales de zánganos (*Apis mellifera* L.) sexualmente maduros, mediante espectrometría de absorción, emisión atómica y colorimetría.

4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar y evaluar la concentración de Na, K de vesículas seminales de zánganos sexualmente maduros, mediante espectrometría de emisión atómica.

Determinar y evaluar la concentración de Ca, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn de vesículas seminales de zánganos sexualmente maduros, mediante espectrometría de absorción atómica.

Determinar y evaluar la concentración de P de vesículas seminales de zánganos sexualmente maduros, mediante colorimetría con vanadato de amonio.

5 HIPÓTESIS

La espectrometría de absorción, emisión atómica y colorimetría permitirá determinar y evaluar la concentración de elementos minerales en vesículas seminales de zángano (*Apis mellifera* L.) sexualmente maduro.

6 MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Localización del área de estudio

Las muestras se obtuvieron a partir de zánganos de colonias ubicadas en el Centro de Educación Ambiental (CEA) “Acuexcomatl”. El centro se ubica en Avenida Año de Juárez No. 1900, Colonia Quirino Mendoza, San Luis Tlaxialtemaco, Xochimilco, D. F., México. Las actividades de laboratorio se realizaron en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (FMVZ-UNAM), en Ciudad Universitaria, Distrito Federal.

6.2 Estimulación para la producción de zánganos

Las cuatro colonias de abejas (*Apis mellifera* L.) localizadas en el CEA “Acuexcomatl”, las cuales son de origen “africanizado” de acuerdo al PCR^L (técnica que amplificó el ADN mitocondrial, para saber su origen) que se les realizó previamente, cada una de ellas con su respectiva reina, sirvieron para la producción de zánganos.

Gracias a los abundantes invernaderos en cercanía con el apiario y a la flora nativa de la zona, permiten que a lo largo de todo el año exista una floración constante, debido a esta condición la producción de zángano se da de forma natural, por lo cual, sólo se estimuló una mayor producción de machos. Se administraron dos litros de jarabe de azúcar preparado con una parte de agua y una de azúcar y se ofreció una mezcla de dos partes de polen multifloral con una de azúcar glass y miel necesaria para formar una pasta espesa. Esta alimentación se administró con intervalos de ocho días, durante dos meses.

^L Reacción en cadena de la polimerasa

Cada una de las reinas productoras de zángano dio origen a más de 50 zánganos. Cuando los zánganos emergieron, fueron identificados aproximadamente 150 machos durante cuatro días con marcadores comercial de abejas reinas de diferente color (azul, amarillo, rojo y verde respectivamente), para así saber su edad exacta y se devolvieron a la colmena conforme fueron marcados. Fueron marcadas en total 600 zánganos y colectados 15 días después de su marcaje, ya que se encontraban sexualmente maduros.²⁶

6.3 Captura y eutanasia de zánganos

Se recortó el excluidor de reinas al tamaño de la piquera, éste se colocó (Figura 9) durante cuatro días seguidos en un horario de 14:00 a 18:00 h (cuatro horas diarias) en la entrada de la colmena, de esta manera quedó bloqueada en forma temporal la entrada para los zánganos. Se dejaron dos horas más de lo que la literatura marca, debido a que la actividad de los zánganos se extendía hasta las 18:00 h ya que su actividad fuera de la colmena se extiende más en estas fechas por las horas luz y su comportamiento africanizado. Los zánganos que se posaban sobre el excluidor tratando de ingresar a la colmena fueron capturados en forma manual (Figura 10), recolectando 30 zánganos marcados al día de las cuatro colonias, por lo que se obtuvieron 120 zánganos en total durante los cuatro días de colecta.



Figura 9. Excluidor de reinas recortado y colocado en entrada de la colmena.



Figura 10. Zángano marcado con punto azul en la entrada de la piquera, lo que indica que tiene una edad de 15 días y es sexualmente maduro

Estos fueron colocados en cajas transportadoras, se les proporcionó alimento y agua hasta su eutanasia. Las cajas se llevaron al laboratorio del CEA “Acuexcomatl”, se pusieron en libertad los zánganos en una cámara de vuelo (Figura 11), de 40 cm X 40 cm X 40 cm de acrílico con una reja en la parte posterior para mantenerla ventilada, durante mínimo 10 min para fomentar la defecación antes de la disección de las vesículas seminales, disminuyendo en lo posible su contaminación. Posteriormente se mantuvieron en congelación (de 0 a -4°C) durante 5 min, para inducir a los zánganos en un estado de diapausa o hibernación. Como método de eutanasia, los machos fueron introducidos en un frasco con papel absorbente impregnado con acetato de etilo permaneciendo ahí durante 3 min, provocando la asfixia y muerte de los zánganos.



Figura 11. Cámara de vuelo para zánganos

6.4 Disección de vesículas seminales

Cada zángano se colocó en posición dorso ventral en una caja de Petri que contiene una base de parafina, se fijaron con alfileres entomológicos a la altura del tórax, así como de la parte más distal del abdomen. Con ayuda de un microscopio estereoscópico marca Leica® modelo EZ 4, y pinzas entomológicas, se comenzó la disección del abdomen, se abrió el exoesqueleto y los músculos abdominales (Figura 12), sin dañar las glándulas mucosas, ya que el contenido contaminaría las vesículas seminales. Posteriormente, el intestino fue retirado, seguido de las glándulas mucosas, lo que expuso las vesículas seminales, retirándolas con cuidado para no romperlas ni lesionarlas (Figura 13) y colocándolas en un micro tubo eppendorf y agua desionizada para homogenizar la muestra. Al día se colectaron 30 pares de vesículas, manteniéndolas en congelación, al siguiente día se incorporaron otros 30 pares de vesículas dando 60 pares de vesículas por micro tubo,

obteniéndose al final dos micro tubos con 120 pares de vesículas colectadas, se congelaron hasta el momento de su transporte.¹¹

Para su transporte al laboratorio del departamento de reproducción de la FMVZ-UNAM, se colocaron los micro tubos en hielo seco hasta el siguiente procedimiento.



Figura 12. Diseción de exoesqueleto y músculos abdominales para exponer órganos internos



Figura 13. Glándulas mucosas y vesículas seminales, estas últimas observándose en la parte baja de la fotografía

6.5 Manejo en el laboratorio del Departamento de Reproducción

En el Laboratorio del Departamento de Reproducción, las vesículas seminales se diluyeron con 700 μ l de agua desionizada, se rompieron y mezclaron con un homogenizador de tejidos y fueron centrifugadas a 9,000 xG (gravidades) por 30 minutos. Con la ayuda de una micro pipeta, las muestras se colocaron cada una en un vial de vidrio y se congelaron (-70°C) con hielo seco-acetona. Después, los viales fueron introducidos en el liofilizador hasta lograr deshidratar las muestras, y se mantuvieron a 4°C. Finalmente, se remitieron al Laboratorio de Toxicología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la FMVZ-UNAM para el análisis de minerales.

6.6 Medición de la concentración de elementos minerales

Antes de realizar la medición las muestras fueron identificadas como A y B, se pesaron en gramos. Fueron digeridas con 3 mL de ácido nítrico (HNO_3) y calor a baño María bajo condiciones controladas (para eliminar la materia orgánica) durante 20-24 horas aproximadamente. Posteriormente las muestras se filtraron y aforaron a 5 mL con agua desionizada y se colocaron en un recipiente de plástico con tapa.

La medición de los elementos minerales se realizó mediante espectrometría de absorción y emisión atómica. Se siguió la metodología señalada en el manual de operación del fabricante del equipo *AAAnalyst 100 (Atomic Absorption Spectrometry)*, *Perkin Elmer INC*. En las indicaciones específicas para la medición de los elementos Mg, Ca, Fe, Mn, Cu y Zn medidos por absorción atómica se especifican las siguientes variantes: a) longitud de onda, b) apertura espectral, c) sensibilidad, d) lámpara de cátodo hueco, e) gases para la flama (acetileno y aire, sin aceite, sin polvo y sin humedad). Los elementos Na y K fueron medidos por emisión atómica, como su nombre lo indica se obtuvieron mediante la emisión de luz producida por cada elemento.

La medición del P fue por colorimetría con vanadato de amonio. En un tubo de ensayo se colocaron 150 μL de la muestra, más dos mL de vanadato de amonio y se aforó a 10 mL con agua, en otros tres tubos de ensayo se colocaron los estándares, con 0 mL, 0.125 mL y 0.250 mL de PO_4NaH_2 (sulfato monosódico) a una concentración de 100 ppm de P, se les colocó 3 mL de vanadato de amonio y se aforó a 10 mL con agua. Finalmente se determinaron las absorbancias de los estándares, seguido de las absorbancias de las dos muestras.

La cuantificación estuvo basada en el tamaño de muestra, factor de dilución y concentración obtenida en la transformación de la absorbancia en concentración por medio de la curva estándar, para lo cual fue necesario determinar la absorbancia de los patrones a una concentración conocida para cada uno de los elementos. Para esta transformación, el estimado se realizó por medio de una regresión simple considerando la “Y” como concentración, que es igual a la intersección más la pendiente por el valor de la absorbancia.

$$Y = a + b (X)$$

Siendo:

Y: concentración

a: intersección

b: pendiente

X: absorbancia

Se realizó una corrección por los minerales que pudiera contener el ácido nítrico.

Al obtener la concentración inicial o CI (ug/mL) se realizó el cálculo para la obtención de la concentración de cada elemento mineral por gramo muestra (ug/g):

$$\text{Concentración por gramo de muestra} = CI \times \text{aforo} \div \text{peso de la muestra (g)}$$

7 RESULTADOS

El pesaje de la muestra A fue de 0.076 g y de la muestra B de 0.065 g.

Los datos obtenidos, cálculos y resultados de las muestras se observan de los Cuadros 1 al 4.

Cuadro 1. Concentración (ug/mL) de Mg y Ca en vesículas seminales de zángano (*Apis mellifera* L.) sexualmente maduro

MAGNESIO			CALCIO	
Patrón (ug/mL)	Absorbancias		Patrón (ug/mL)	Absorbancias
2	0.438		5	0.254
5	0.853		10	0.412
10	1.311		20	0.645
Variables			Variables	
a (intersección)	-2.307		a (intersección)	-5.247
b (pendiente)	9.193		b (pendiente)	38.706
r ² (índice de regresión)	0.993		r ² (índice de regresión)	0.996
Resultados			Resultados	
Muestra	CI*	Absorbancias	CI	Absorbancias
A	9.957	1.334	15.421158	0.534
B	9.341	1.267	13.060086	0.473

* CI = Concentración inicial (ug/mL)

Cuadro 2. Concentración (ug/mL) de Cu y Zn en vesículas seminales de zángano (*Apis mellifera* L.) sexualmente maduro

COBRE			ZINC	
Patrón (ug/mL)	Absorbancias		Patrón (ug/mL)	Absorbancias
1	0.049		0.5	0.113
2	0.103		1	0.262
5	0.262		2	0.471
Variables			Variables	
a (intersección)	0.072		a (intersección)	-0.025736
b (pendiente)	18.799		b (pendiente)	4.2283788
r ² (índice de regresión)	0.999		r ² (índice de regresión)	0.9956168
Resultados			Resultados	
Muestra	CI	Absorbancias	CI	Absorbancias
A	4.415	0.231	0.955	0.232
B	2.403	0.124	0.891	0.217

Cuadro 3. Concentración (ug/mL) de Na y K en vesículas seminales de zángano (*Apis mellifera* L.) sexualmente maduro

SODIO			POTASIO	
Patrón (ug/mL)	Absorbancias		Patrón (ug/mL)	Absorbancias
10	0.168		20	0.211
20	0.234		50	0.357
50	0.343		100	0.529
Variables			Variables	
a (intersección)	-31.254		a (intersección)	-35.745
b (pendiente)	233.238		b (pendiente)	252.723
r² (índice de regresión)	0.990		r² (índice de regresión)	0.995
Resultados			Resultados	
Muestra	CI	Absorbancias	CI	Absorbancias
A	45.714	0.33	27.940	0.252
B	46.647	0.334	87.330	0.487

Cuadro 4. Concentración (ug/mL) de P en vesículas seminales de zángano (*Apis mellifera* L.) sexualmente maduro

FÓSFORO		
Patrón (ug/mL)	Absorbancias	
0	0.002	
12.5	0.028	
25	0.062	
Variables		
a (intersección)	-0.202	
b (pendiente)	414.212	
r² (índice de regresión)	0.997	
Resultados		
Muestra	CI	Absorbancias
A	12.223	0.030
B	14.709	0.036

En el Cuadro 5 y la Figura 14 se observan las concentraciones de los minerales evaluados en las ambas muestras, para convertirlos a gramos por muestra, recordar la ecuación:

$$\text{Concentración por gramo de muestra} = CI \times \text{aforo} \div \text{peso de la muestra (g)}$$

Cuadro 5. Concentración (ug/g de muestra) de elementos minerales en vesículas seminales de zángano (*Apis mellifera* L.) sexualmente maduro

MINERAL	MUESTRA A	MUESTRA B
Magnesio	655.078	718.553
Calcio	1014.549	1004.622
Cobre	290.461	184.882
Potasio	1838.187	6717.724
Sodio	3007.528	3588.260
Zinc	62.845	68.601
Fósforo	804.201	1131.471
Hierro	NSD**	
Manganeso	NSD	

**NSD= no se detectó a más de 1 ug/mL

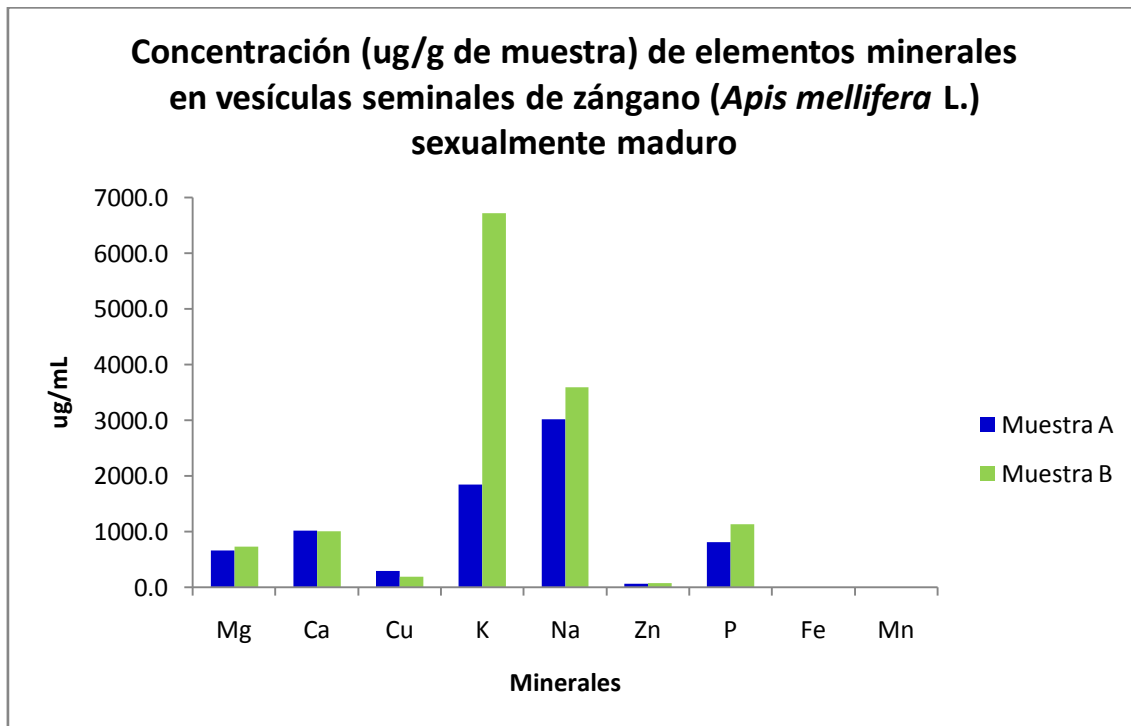


Figura 14. Concentración de elementos minerales de las muestras A (azul) y B (verde) donde se observan elevadas cantidades de potasio y sodio, bajas concentraciones de magnesio, calcio, cobre, zinc y fósforo, así como nulas concentraciones de hierro y manganeso

En el Cuadro 6 se calculó el promedio de ambas muestras (A y B), para así obtener el contenido mineral promedio en vesículas seminales de zánganos maduros del apiario ubicado en el “CEA” Acuexcomatl.

Cuadro 6. Concentración (ug/g) promedio de elementos minerales en vesículas seminales de zánganos (*Apis mellifera* L.) sexualmente maduros del apiario ubicado en el Centro de Educación Ambiental “Acuexcomatl” (Xochimilco, D.F.)

MINERAL	PROMEDIO
Magnesio	686.815
Calcio	1009.585
Cobre	237.672
Potasio	4277.956
Sodio	3297.894
Zinc	65.723
Fósforo	967.836
Hierro	NSD
Manganeso	NSD

8 DISCUSIÓN

A la fecha no se tiene conocimiento de un estudio en donde se determinen y evalúen los minerales de vesículas seminales de zánganos de *Apis mellifera* L., la información al respecto se basa en estudios donde se analizó el semen propiamente dicho y la hemolinfa. Es importante enfatizar que en nuestro estudio, las muestras se obtuvieron a partir de la disección de vesículas seminales de zánganos africanizados sexualmente maduros, los cuales fueron alimentados con polen recolectado por las obreras también africanizadas en el mes de Junio (verano), lo cual de acuerdo a la región de Xochimilco se considera temporada de floración baja. Es conocido que el aporte de minerales que un individuo presenta en el organismo está íntimamente relacionado con su consumo y este a su vez en las cantidades que presente el alimento; de esta manera Herbert *et al* (1986) determinaron las concentraciones de Cu, Zn, Mn, K, Mg, Fe y Ca en el polen recolectado por abejas melíferas europeas, mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica, mencionan que los minerales son proporcionados por el consumo de polen en la dieta, por ejemplo, en el caso del Cu y Zn, indican que algunas plantas tienen la habilidad de acumular estos minerales en el polen. Los resultados de nuestro trabajo muestran bajas cantidades de Cu y Zn lo que puede indicar que el consumo de estos minerales fue escaso, debido a que este estudio se realizó en una época considerada de poca floración. Respecto al K, estos mismos autores, señalan que la concentración de este mineral se incrementa en el polen durante el verano y disminuye conforme se acerca el otoño, lo cual se pudo confirmar de manera indirecta en nuestra investigación, ya que la concentración de este mineral fue una de las más elevadas.²⁵

Con respecto a las variaciones en la concentración de minerales en el semen, Verma (1973) realizó un estudio en donde a través de la colección de semen de zánganos europeos sexualmente maduros; mediante la técnica de estimulación manual, determinó la concentración de minerales mediante espectrometría de absorción atómica, misma técnica utilizada en nuestro estudio para determinar la concentración de minerales. Sus resultados muestran (ver Anexo) que existe una cantidad más elevada de K en el semen respecto al Na, lo que atribuye a que en el semen de las abejas macho existe una alta concentración de K en los espermatozoides, que a su vez parece ser una adaptación bioquímica de las células espermáticas con el medio interno durante las etapas de larva y pupa.²²

Los resultados de nuestro trabajo, a pesar de que se utilizaron zánganos africanizados, son consistentes con lo informado por Herbert *et al* (1986) y Verma (1973), ya que se puede observar que en la muestra B la concentración de K fue la más elevada, en comparación con los demás iones. Sin embargo, en la muestra A, el K no es tan elevado como en la muestra B, lo cual puede ser efecto del pecoreo que modifica las concentraciones de este mineral en relación al área de distribución de las obreras, porque a pesar de que se le proporcionó alimento de manera artificial, no se tuvo control en el pecoreo que realizan las obreras.

Rinderer (1986) menciona que el Mn y el Fe se encuentran presentes en el semen del zángano,³ sin embargo en nuestra investigación no se detectó la presencia de estos minerales, cabe recalcar que la medición sólo se detecta cuando la muestra presenta concentraciones superiores a 1 ug/mL, por lo que se desconoce si estos minerales están presentes a concentraciones inferiores, con lo que respecta al Mn, Herbert *et al* (1986), comentan que los niveles de este ion alcanzan su nivel máximo a principios de primavera y decrecen en julio,²⁵ probablemente al realizar el presente trabajo a finales de junio, las

concentraciones de estos minerales en el alimento proporcionado a los zánganos no fue en las concentraciones adecuadas por lo que no fue asimilado por los insectos.

En zánganos se conoce que el testículo produce los espermatozoides en un solo periodo de su metamorfosis y no vuelve a producir más, dichos espermatozoides son almacenados en las vesículas seminales, donde maduran y permanecen hasta el apareamiento,³ es conocido que en mamíferos la espermatogénesis no cesa, y los espermatozoides son almacenado y maduran en el epidídimo, lo que nos indica que las vesículas seminales en zángano podrían ser un análogo anatómico y funcional del epidídimo en mamíferos.

De igual manera, en mamíferos, los procesos metabólicos en testículos, epidídimo y una vez eyaculado el semen, son dependientes de la concentración de minerales; en el canal epididimario se dan ciertos factores, como contenido elevado de CO_2 (anaerobiosis), concentraciones elevadas de K con relación al Na, entre otros, que provocan que los espermatozoides completamente formados se encuentren en estado de reposo (anabiosis). Cuando ocurre la eyaculación los espermatozoides son diluidos en secreciones de glándulas anexas lo que ocasiona que las sustancias que ocasionan la inmovilidad bajen sus concentraciones, para lo cual deben existir variaciones en el potencial de membrana, aumento en la concentración de K + Na en las alteraciones de la permeabilidad de la membrana, así como una disminución en la presión osmótica en los espermatozoides. Durante estos fenómenos los espermatozoides, gradualmente se deshidratan y contraen, por lo que aumenta su peso específico²⁶ y suponiendo que el mecanismo en insectos es parecido, se espera que los iones se encuentren concentrados y de acuerdo a los resultados obtenidos existe una concentración elevada de K y Na.

Las vesículas seminales constituyen un almacén temporal de espermatozoides en el macho y la espermateca actúa de manera similar en la reina. Verma (1973) indica que el metabolismo de los espermatozoides disminuye a un estado de reposo, donde las células espermáticas sufren una decapitación (baja del metabolismo, para evitar que realicen la reacción acrosomal) por lo que suponemos que las concentraciones de iones en las vesículas seminales y en la espermateca se comporten de manera similar (ver Anexo), en este mismo contexto, menciona que en el homogenizado de la espermateca se concentran mucho más los iones de Na y K que en cualquier otro tejido o fluido.²²

Los resultados que obtuvo Verma (1973) en cuanto al Ca y Mg son similares a los obtenidos en este estudio, puesto que en ambos, las concentraciones de estos minerales son mucho más bajos en comparación con los de Na y K.²²

9 CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos, algunos elementos minerales pueden estar disminuidos en las vesículas seminales de zángano africanizado sexualmente maduro, debido a la disposición de alimento dependiendo de la época del año por lo que sería recomendable realizar una suplementación alimenticia con las mismas concentraciones minerales que están presentes en la época de floración para así mejorar la viabilidad de los espermatozoides.

Las vesículas seminales funcionan como almacén natural para los espermatozoides y su composición bioquímica permite la conservación natural del semen por lo que sería recomendable realizar más estudios respecto a los nutrientes o sustancias involucradas.

Este estudio es el primero en el que se evaluó las concentraciones de los elementos minerales contenidos en las vesículas seminales de zánganos africanizados, con lo cual se espera sea de provecho para la realización de investigaciones futuras al respecto.

10 REFERENCIAS

1. DADANT AND SONS. The hive and the honey bee. 4^a ed. Journal Printing Co., Carthage, Illinois, USA, 1975
2. RINDERER ET. Bee genetics and breeding. Orlando, Florida. Academic Press. 1986
3. CHAVACÁN AM. Avances en la criopreservación de semen de zánganos (*Apis mellifera* L.) (tesis de licenciatura). México (DF) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2006
4. MORFIN RN. Efecto de diferentes extenders y crioprotectores sobre la viabilidad, evaluada con tinciones nucleares (SYBR-14 e IP), de espermatozoides de *Apis mellifera* L. durante el proceso de criopreservación de semen (tesis de licenciatura). México (DF) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2008
5. WINSTON M. The biology of the honey bee. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts, London, England. 1991
6. LAIDLAW HH, PAGE RE. Queen rearing and bee breeding. Wicwas Press. Cheshire, USA. 1997
7. TAYLOR MA. The cryopreservation of honeybee (*Apis mellifera* L.) spermatozoa (tesis de maestría). Guelph (Ontario) Canadá: University of Guelph, 2008
8. COLLINS AM. Survival of Honey Bee (Hymenoptera:Apidae) spermatozoa stored at above-freezing temperatures. Journal of Economic Entomology 2000;93:568-571
9. COLLINS AM, WILLIAMS V, EVANS JD. Sperm storage and antioxidative enzyme expression in the honey bee, *Apis mellifera*. Insect Mol Biol 2004;13 Suppl 2:141-146
10. GUZMÁN NE, TAYLOR MA, MORFIN RN, BUHR MM. Improving viability of cryopreserved honey bee (*Apis mellifera* L.) sperm with selected diluents, cryoprotectants, and semen dilution ratios. Theriogenology 2009;72:149-159
11. DADE HA. Anatomy and dissection of the honeybee. The alden press. Oxford, UK. 1994
12. NATES-PARRA G., GONCALVES LS, STORT AC. Mejoramiento genético apícola. Programa regional para el manejo y control de la abeja africanizada. OIRSA. El Salvador, El Salvador. 1989
13. WILLIAMS JL. Effect of osmotic pressure on insemination success using incubated honey bee semen. Apicultural research 1983;123(12):849-852
14. PENG CY, YIN C, YIN L. Ultrastructure of honey bee, *Apis mellifera*, sperm with special emphasis on the acrosomal complex following high pressure freezing fixation. Physiol Entomol. 1993;18:93-101
15. SALISBURY GW, VANDEMARK NL, LODGE JR. Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los bovinos. Acribia. Zaragoza, España. 1978

16. GARCIA SA, CASTREJON MF, DE LA CRUZ PL, GONZÁLEZ GJ, MURILLO LM, SALINO RG. Fisiología Veterinaria. España: Mc Graw Hill, 1995
17. MAULE JP, editor. The semen of animals and artificial insemination. England: the central press, 1962
18. VIRGIL WH, MELVIN JS. Minerales y huesos. In: Dukes HH, Swenson MJ, editors. Fisiología de los animales domésticos. Limusa, México, 1999:517-531
19. HAFEZ ES, HAFEZ B. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ª ed. McGraw-Hill, México, 2002:98-112
20. DERIVAUX J. Reproducción de los animales domésticos. 2ª ed. Acribia. Zaragoza, España. 1982
21. CHAPMAN RF. The insects structure and function. 4ª ed. Cambridge University Press. United Kingdom. 1998
22. VERMA LR. An ionic basis for a possible mechanism of sperm survival in the spermatheca of the queen honey bee (*Apis mellifera* L.). Comp. Biochem. Physiol. 1973;44A:1325-1331
23. WILLARD HH, MERRITT JR, DEAN JA. Instrumental methods of analysis. 5ª ed. D. Van Nostrand Company. EUA. 1997
24. HERBERT EW, JR, MILLER-IHLI. Seasonal variation of seven minerals in honey bee collected pollen. American Bee Journal 1987;X:367-369
25. DIERICH S, ELLENDORFF F. Endocrinología y fisiología de la reproducción de los animales zootécnicos. Acribia. Zaragoza, España, 1972
26. ESPINOSA ML. Heredabilidades y correlaciones fenotípicas para algunas características que influyen en la resistencia de las abejas (*Apis mellifera*) al crecimiento poblacional del ácaro *Varroa destructor* en México (tesis de doctorado). México (DF) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2006

11 LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Anatomía del aparato reproductor del zángano.....	7
Figura 2. Formación de espermatozoides en abejas macho. A. Célula germinal haploide. B. División mitótica. C. Meiosis I abortiva. D. Pérdida de la membrana nuclear. E y F. Meiosis II anómala.....	9
Figura 3. Espermatozoide de zángano.....	10
Figura 4. Espermatozoide de humano.....	10
Figura 5. Complejo acrosomal.....	11
Figura 6. Cuello de espermatozoide de zángano.....	11
Figura 7. Aparato de inseminación instrumental Schley (Compact II).....	16
Figura 8. Diagrama de la medición por medio de emisión y absorción atómica.....	18
Figura 9. Excluidor de reinas recortado y colocado en entrada de la colmena.....	23
Figura 10. Zángano marcado con punto azul en la entrada de la piquera, lo que indica que tiene una edad de 15 días y es sexualmente maduro.....	23
Figura 11. Cámara de vuelo para zánganos.....	24
Figura 12. Disección de exoesqueleto y músculos abdominales para exponer órganos internos.....	25
Figura 13. Glándulas mucosas y vesículas seminales, estas observándose en la parte baja de la fotografía.....	25
Figura 14. Concentración de elementos minerales de las muestras A (azul) y B (verde) donde se observan elevadas cantidades de potasio y sodio, bajas concentraciones de magnesio, calcio, cobre, zinc y fósforo, así como nulas concentraciones de fierro y manganeso.....	30
Figura 15. Gráfica comparativa entre el contenido mineral de diferentes tejidos, donde se observa que los resultados en cuanto a proporción entre los elementos minerales son similares	41

12 LISTA DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Concentración (ug/mL) de Mg y Ca en vesículas seminales de zángano (<i>Apis mellifera</i> L.) sexualmente maduro.....	28
Cuadro 2. Concentración (ug/mL) de Cu y Zn en vesículas seminales de zángano (<i>Apis mellifera</i> L.) sexualmente maduro.....	28
Cuadro 3. Concentración (ug/mL) de Na y K en vesículas seminales de zángano (<i>Apis mellifera</i> L.) sexualmente maduro.....	29
Cuadro 4. Concentración (ug/mL) de P en vesículas seminales de zángano (<i>Apis mellifera</i> L.) sexualmente maduro.....	29
Cuadro 5. Concentración (ug/g de muestra) de elementos minerales en vesículas seminales de zángano (<i>Apis mellifera</i> L.) sexualmente maduro.....	30
Cuadro 6. Concentración (ug/g) promedio de elementos minerales en vesículas seminales de zánganos (<i>Apis mellifera</i> L.) sexualmente maduros del apiario ubicado en el Centro de Educación Ambiental “Acuexcomatl” (Xochimilco, D.F.).....	31
Cuadro 7. Comparación con las concentraciones (ug/g) de elementos minerales de semen de zángano en el estudio realizado por Verma (1973).....	41

13 ANEXO

Cuadro 7. Comparación con las concentraciones (ug/g)^M de elementos minerales de semen de zángano en el estudio realizado por Verma (1973)²²

AUTOR MINERAL	VERMA				Tesis (vesículas seminales)
	Semen	Plasma seminal	Espermatozoides	Homogenizado de espermateca	
Na	2114.16	1383.39	3343.59	5772.57	3297.89
K	7170.94	3558.1	8038.96	12121	4277.95
Mg	393.82	-	-	289.28	686.815
Ca	440.77	-	-	625.09	1009.58

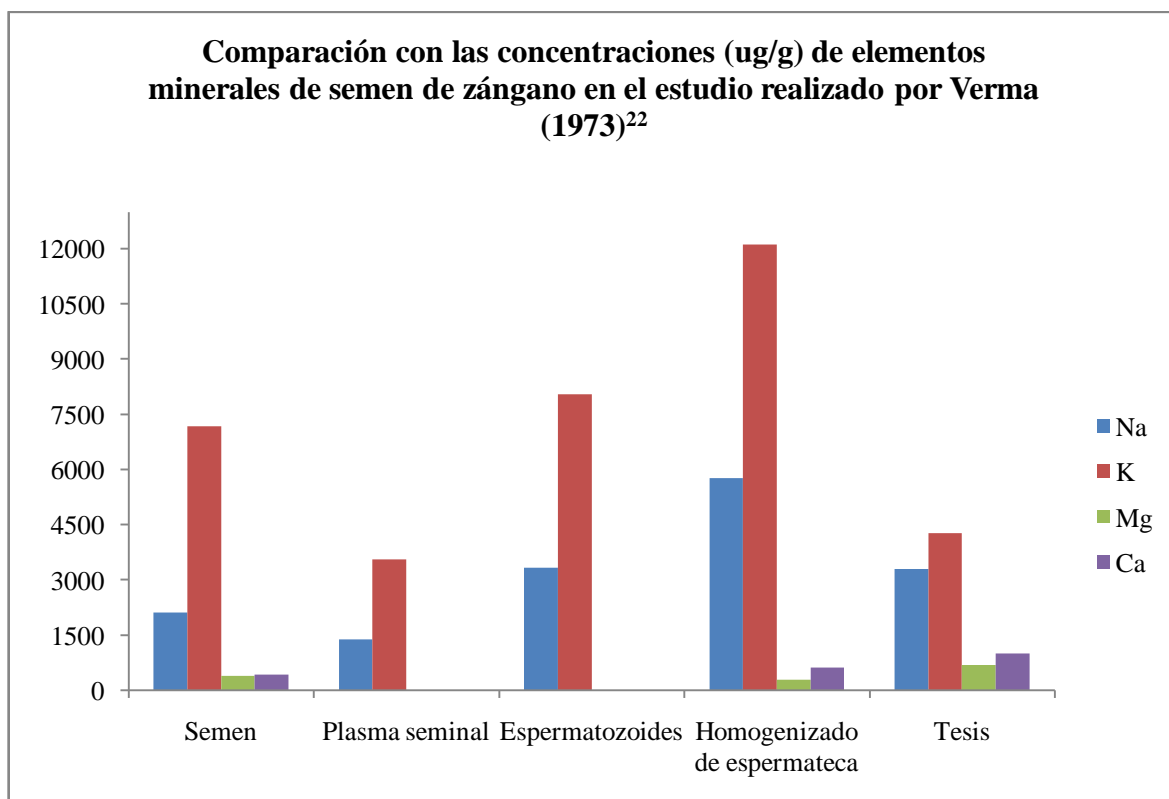


Figura 15. Gráfica comparativa entre el contenido mineral de diferentes tejidos, donde se observa que los resultados en cuanto a proporción entre los elementos minerales son similares

^M Verma (1973)²² menciona la concentraciones de los minerales en μm -equivalente/mL, para la transformación a ug/g, se multiplica la concentración de un mineral, por el peso atómico del mismo mineral