

# Efecto de la africanización sobre la producción de miel, comportamiento defensivo y tamaño de las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) en el altiplano mexicano

## The effect of africanization on honey production, defensive behavior and size of honeybees (*Apis mellifera* L.) in the mexican high plateau

José Luis Uribe Rubio<sup>\*, \*\*\*</sup>  
Ernesto Guzmán Novoa<sup>\*, \*\*\*</sup>  
Greg J. Hunt<sup>\*\*</sup>  
Adriana Correa Benítez<sup>\*\*\*</sup>  
J. Antonio Zozaya Rubio<sup>\*\*\*</sup>

### Abstract

This study was conducted to determine the effect of african genes on the production of honey, stinging behavior and size of honeybees (*Apis mellifera* L.) from colonies commercially exploited in an africanized area of the mexican high plateau. Data on honey production, stinging behavior and size of workers from 416 colonies having european or african mitochondrial DNA (<sub>mt</sub>DNA) were analyzed. Bees from colonies with african mitotype were significantly less productive, more defensive and smaller than the bees from colonies with european mitotypes ( $P < 0.01$ ). The honey yield per colony was 23.5, 31.5 and 31.8 kg, for bees with african, western european and eastern european mitotype, respectively. The number of stings per colony was 101.7, 56.9 and 41.9, for bees with african, western european, and Eastern European mitotype, respectively. The wing length was 8.9, 9.1 and 9.2 mm for bees with african, western european, and eastern european mitotype, respectively. The defensiveness of the experimental colonies was negatively correlated with the size of the bees ( $r = -0.51$ ,  $P < 0.01$ ). Honey yield did not show correlation neither with stinging behavior, nor with bee size ( $P > 0.05$ ). Results mentioned demonstrate that the introgression of african genes into honeybee populations decreases the size of the bees and their honey production, as well as increasing their defensiveness. Thus, the introgression of european genes into these populations is advisable to keep productive and manageable bees. Several alternatives for achieving this goal are discussed.

**Key words:** *APIS MELLIFERA* L., DEFENSIVE BEHAVIOR, AFRICANIZED BEES, HONEY PRODUCTION, STINGING.

### Resumen

Este trabajo se llevó a cabo con el objetivo de establecer el efecto de la introgresión de genes africanos en poblaciones de abejas (*Apis mellifera* L.) sobre la producción de miel, comportamiento defensivo y tamaño de éstas. Con ese propósito se estudiaron abejas de 416 colonias explotadas comercialmente en una región

Recibido el 11 de febrero de 2002 y aceptado el 26 de abril de 2002.

\* CENIFMA-Ajuchitlán, Romero 107, int. 119, Col. Niños Héroe de Chapultepec, 03440, México, D.F. Correo electrónico: uribe@cuahtli.veterin.unam.mx

\*\* Department of Entomology, Purdue University, West Lafayette, Indiana, 47907, U.S.A.

\*\*\* Departamento Especies Productivas no Tradicionales: Producción Apícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

del altiplano de México, con la finalidad de relacionar las características anteriores con su tipo de ADN mitocondrial (ADN<sub>mt</sub>). Los resultados mostraron que las abejas de colonias con mitotipo africano fueron menos productivas, tuvieron comportamiento más defensivo y fueron más pequeñas que las abejas de colonias con mitotipos europeos ( $P < 0.01$ ). La producción de miel por colonia fue de 23.5, 31.5 y 31.8 kg, para abejas con mitotipo africano, europeo del oeste y europeo del este, respectivamente. El número de agujones por colonia fue de 101.7, 56.9 y 41.9, para abejas con mitotipo africano, europeo del oeste y europeo del este, respectivamente. La longitud de ala fue de 8.9, 9.1 y 9.2 mm, para abejas con mitotipo africano, europeo del oeste y europeo del este, respectivamente. El comportamiento defensivo de las abejas en general estuvo negativamente correlacionado con el tamaño de sus alas ( $r = -0.51$ ,  $P < 0.01$ ). La cantidad de miel producida por las colonias no tuvo correlación con el comportamiento defensivo ni con el tamaño de las abejas ( $P > 0.05$ ). Los resultados demuestran que la introgresión de genes africanos en las poblaciones de abejas disminuye su producción de miel y el tamaño de las abejas y aumenta su comportamiento de defensa, por lo que la introgresión de genes europeos en estas poblaciones se hace necesario para criar abejas productivas y manejables. Se proponen alternativas para introducir genes europeos en colonias de abejas explotadas comercialmente.

**Palabras clave:** *APIS MELLIFERA* L., COMPORTAMIENTO DEFENSIVO, ABEJAS AFRICANIZADAS, PRODUCCIÓN DE MIEL, AGUIJONEO.

## Introduction

**A**fricanized honeybees are a major problem for the Mexican beekeeping industry. Africanized bees are hybrids of European and African races of honeybees introduced in Brazil in 1957 with the aim of developing a selective breeding program.<sup>1</sup> The first swarms of Africanized bees became established in Mexico at the end of 1986, after crossing the border with Guatemala, as a result of 29 years of migration from Brazil.<sup>2</sup> High defensiveness, absconding and migratory behaviors are among the most undesirable characteristics of Africanized bees.<sup>3</sup>

Africanized bees have existed for more than 44 years in the Americas, causing a decrease in honey production in all countries where they have become established, Brazil being the only exception.<sup>3,4</sup> This is one of the reasons why there is controversy about whether or not these bees are more efficient for honey production than European bees; but the most important reason for this controversy is the fact that very few comparative experiments between these two eco-types of bees have been conducted; and, in those that have been conducted, no more than 17 colonies per treatment were used,<sup>1,5,6</sup> which is a very small sample size to draw general conclusions, given that the variation for honey production among colonies is very high.<sup>3</sup> Additionally, results of these experiments have been inconsistent. For example, Kerr<sup>1</sup> found that Africanized bees were more productive than European bees, Rinderer *et al.*<sup>5</sup> concluded that European bees produce more honey than Africanized bees, while Spivak *et al.*<sup>6</sup> did not find differences.

## Introducción

**U**n problema prioritario para la industria apícola mexicana es la africanización de las poblaciones de abejas. Las abejas africanizadas son híbridos de razas de abejas europeas y africanas que se crearon en Brasil en 1957 con la finalidad de desarrollar un programa de mejoramiento genético.<sup>1</sup> Llegaron a México desde finales de 1986, cuando entraron los primeros enjambres a través de la frontera con Guatemala, después de 29 años de migración desde Brasil.<sup>2</sup> Entre los principales efectos indeseables de las abejas africanizadas están su comportamiento altamente defensivo y migratorio, así como su tendencia a abandonar o evadirse de las colmenas.<sup>3</sup>

Las abejas africanizadas han existido durante más de 44 años en el continente americano, causando una disminución de la producción de miel en todos los países en que se han establecido, con excepción de Brasil.<sup>3,4</sup> Ésta es una de las razones por las que existe controversia respecto a si estas abejas son o no más eficientes en la producción de miel comparadas con abejas de razas europeas; pero la razón más importante de esta controversia se sustenta en que se han hecho muy pocos experimentos comparativos entre abejas europeas y africanizadas,<sup>1,5,6</sup> en los que nunca se utilizó un número mayor de 17 colonias por tratamiento, lo cual es un tamaño de muestra insuficiente que no permite obtener resultados concluyentes porque la variación entre colonias para la producción de miel es muy alta.<sup>3</sup> Además, los resultados de estos experimentos han sido diferentes. Por ejemplo, Kerr<sup>1</sup> encontró que las abejas africanizadas son más productivas que las de razas europeas, en tanto que Rinderer *et al.*<sup>5</sup> concluyeron que las abejas de razas europeas producen más miel que las africanizadas, y Spivak *et al.*<sup>6</sup> no encontraron diferencias.

Several studies have demonstrated that Africanized bees are more defensive than European bees,<sup>7-14</sup> and that this characteristic is highly heritable.<sup>8,14-17</sup>

In Mexico, the high defensiveness of Africanized bees has resulted in more than three thousand stinging incidents to people, in which more than 300 have died.<sup>18</sup> There are no statistics regarding stinging incidents to animals, but these probably number in the thousands since it is very common to find animals that were stung to death in all beekeeping regions of Mexico. One of the direct consequences of bees' defensive behavior is that beekeepers find other means of employment or reduce their number of colonies, given that it has become increasingly difficult to find suitable places to establish apiaries.<sup>3</sup> It is a fact that keeping aggressive bees increases costs of production because beekeepers have to relocate their apiaries to more remote areas, increasing the investment in transportation and labor (each beekeeper works less colonies per day). Guzmán-Novoa and Page<sup>3</sup> reported that costs also increase due to the acquisition of additional safety equipment such as coveralls and gloves.

There is no doubt that the highly defensive behavior of Africanized bees is their most undesirable characteristic. However, there are not enough studies to fully understand the genetic basis of this behavior, in order to find solutions for the beekeeping industry. For instance, no studies have been conducted with a high enough number of colonies under commercial conditions, only a few experimental and feral colonies have been used, and there is no certainty about whether or not it is possible to breed Africanized bees that are relatively gentle and productive. Many beekeepers believe that there are many Africanized colonies with gentle and productive bees.

Since they are hybrids from different races, but within the same species (*Apis mellifera* L.), it is very difficult to discriminate between European and Africanized bees with the naked eye. Daly and Balling<sup>19</sup> found that besides being defensive, Africanized bees are smaller than European bees. Defensiveness and size of honeybees are correlated characteristics in Africanized areas. Guzmán-Novoa and Page<sup>20</sup> reported a high and negative correlation ( $r = -0.54$ ) between the bees' stinging behavior and their wing length. Wing length is a measurement used to estimate the size of honeybees.

The only internationally recognized methods used to identify Africanized bees are morphometric methods, yet these methods are not totally reliable. Guzmán-Novoa *et al.*<sup>21</sup> demonstrated that the above methods correctly diagnose 100% of the bee samples from highly Africanized or European colonies, but they are not

Varios estudios han demostrado que las abejas africanizadas son significativamente más defensivas que las abejas europeas<sup>7-14</sup> y que esta característica es altamente heredable.<sup>8,14-17</sup>

En México, el comportamiento altamente defensivo de estas abejas ya ha ocasionado más de tres mil accidentes por picaduras a personas, de éstas más de 300 han muerto.<sup>18</sup> 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 del país. Una de las consecuencias directas de esta agresividad, es que los apicultores abandonan la actividad o reducen su número de colmenas, seguramente por la dificultad para encontrar sitios apropiados para ubicar sus apiarios.<sup>3</sup> Es una realidad que tener abejas agresivas aumenta los costos de producción porque obliga a los apicultores a ubicar sus apiarios en sitios más remotos, con el consecuente aumento en los costos de transportación y de mano de obra (cada hombre revisa menos colmenas por día). Guzmán-Novoa y Page<sup>3</sup> indican que los costos también aumentan por concepto del uso de equipo de protección adicional como overoles y guantes.

Sin duda, el comportamiento altamente defensivo es la característica más indeseable de las abejas africanizadas. A pesar de esto no existen suficientes estudios sobre este comportamiento para entenderlo mejor y para buscar soluciones a mediano y largo plazos. Por ejemplo, no se han llevado a cabo estudios en un número representativo de colonias explotadas comercialmente (sólo se han hecho estudios en muy pocas colonias silvestres y experimentales) y persiste la duda de si es posible seleccionar abejas africanizadas que sean relativamente dóciles y productivas. Muchos apicultores creen que hay muchas colonias africanizadas mansas y productivas.

Por ser híbridos de razas diferentes, pero de la misma especie (*Apis mellifera* L.), las abejas africanizadas son muy difíciles de diferenciar de las abejas europeas a simple vista. Daly y Balling<sup>19</sup> encontraron que además de tener un elevado comportamiento defensivo, estas abejas son más pequeñas que las europeas. La defensividad y tamaño de las abejas son características altamente relacionadas en zonas africanizadas. Guzmán-Novoa y Page<sup>20</sup> notificaron una correlación altamente significativa y negativa ( $r = -0.54$ ) entre el aguijoneo de las abejas y su longitud de ala, la cual constituye una característica importante para determinar el tamaño de las abejas.

Los métodos morfométricos para identificar a las abejas africanizadas son los más usados, pero no son totalmente confiables. Guzmán-Novoa *et al.*<sup>21</sup> demostraron que los métodos morfométricos diagnostican correctamente el total de las colonias altamente africanizadas o europeas, pero que no son lo suficientemente sensibles

sensitive enough to identify hybrid bees. Recently Nielsen *et al.*<sup>22</sup> proposed a method that combines morphometry and mitochondrial DNA ( $_{mt}$  DNA), and which correctly identifies more than 95% of the bee samples. When  $_{mt}$  DNA is used, it is possible to identify the maternal lineage of the bees without error, though not the paternal lineage, since mitochondrial DNA is only inherited through the mother. This technique is very useful because it allows the discrimination of Eastern European (*A. m. ligustica*, *A. m. carnica*, *A. m. caucasica*), Western European (*A. m. mellifera*, *A. m. iberica*), and African honeybees (*A. m. scutellata*).

Based on the above, one can infer the importance of conducting studies that generate reliable information about the effect that the introgression of African genes in commercial populations of honeybees has on their defensive behavior and honey production capability.

Both the defensive behavior and honey production of honeybees are highly influenced by genetic effects.<sup>15,23-25</sup> Therefore, this study had the objective of determining if the introgression of African genes in commercially exploited honeybee colonies established in two areas of the Mexican high plateau, affected their honey production, their defensiveness, and the size of the bees. The interaction between genotype and location was also analyzed.

## Material and methods

This study was conducted in the Mexican high plateau (the second most important beekeeping region in Mexico for honey production and in number of colonies), in the counties of Coatepec Harinas, Villa Guerrero, Ixtapan de la Sal, and Tonatico, in the State of Mexico, Mexico. Africanized bees were first identified in this region in 1990.<sup>3</sup> The counties of the study area are located at 18°58' north latitude and 99°38' west longitude, at 1,900 m above sea level. These counties have a sub-humid temperate climate (w), with rains during the summer and an average temperature of 14° C. They have borders with Tenango del Valle, Temascaltepec, and Calimaya to the north, Tescaltitlan to the west, and Tenancingo to the east, all in the State of Mexico, as well as with Pilcaya, state of Guerrero, to the south.<sup>26</sup>

### Data collection

Records of honey production and defensive behavior, as well as samples of bees from 416 randomly chosen commercial colonies, for wing length and  $_{mt}$  DNA determination, were obtained. These colonies were located at two different altitudes (areas), one "high" and one "low." The high area had colonies established between 2,200 and 2,600 m above

para la identificación de abejas híbridas. Recientemente Nielsen *et al.*<sup>22</sup> propusieron un método combinado de morfometría y ADN mitocondrial ( $ADN_{mt}$ ) que identifica correctamente más de 95% de las muestras de abejas. Cuando se utiliza exclusivamente el  $ADN_{mt}$  se puede determinar sin ninguna probabilidad de error el origen genético de la línea materna de las abejas, aunque no el de la línea paterna, porque el  $ADN_{mt}$  se hereda únicamente a través de la madre. La identificación del tipo de  $ADN_{mt}$  de las abejas (mitotipo) es muy útil porque permite diferenciar entre razas de abejas del este de Europa (*A. m. ligustica*, *A. m. carnica*, *A. m. caucasica*), del oeste de Europa (*A. m. mellifera*, *A. m. iberica*) y de África (*A. m. scutellata*).

Con base en lo anterior, se infiere la importancia de realizar estudios que generen información confiable sobre el efecto de la introgresión de genes africanos en poblaciones comerciales que pueden afectar la producción de miel y el comportamiento defensivo de las abejas.

Tanto la producción de miel como el comportamiento defensivo de las abejas están altamente influenciados por efectos genéticos.<sup>15,23-25</sup> Por ello este trabajo tuvo como objetivo determinar si la introgresión de genes africanos en abejas melíferas explotadas comercialmente en dos zonas de una región del altiplano mexicano, afectan su producción de miel, su comportamiento defensivo y su tamaño, así como analizar el grado de interacción entre el genotipo de las abejas y la zona de explotación.

## Material y métodos

Este estudio se llevó a cabo en una región del altiplano mexicano (segunda zona apícola en importancia en México por producción de miel y número de colmenas), en los municipios de Coatepec Harinas, Villa Guerrero, Ixtapan de la Sal y Tonatico, Estado de México, México. Las abejas africanizadas fueron identificadas por vez primera en esta región en 1990.<sup>3</sup> Los municipios del área de estudio se localizan al suroeste del Estado de México, situados a 18° 58' de latitud Norte y a 99° 38' de longitud Oeste, a 1 900 msnm. Estos municipios cuentan con un clima templado subhúmedo (w), con lluvias en verano y temperatura promedio de 14°C. Colindan al norte con Tenango del Valle, Temascaltepec y Calimaya; al oeste con Tescaltitlán; al este con Tenancingo, todas estas poblaciones en el Estado de México; y al sur con Pilcaya, Guerrero.<sup>26</sup>

### Registro de datos

Se tomaron registros sobre producción de miel y comportamiento defensivo, además de muestras de abejas obreras para determinar su longitud de ala anterior y tipo de  $ADN_{mt}$ , de 416 colonias comerciales escogidas al azar en dos zonas, una alta y una baja. La zona alta tiene colonias establecidas a 2 200 y 2 600 msnm, mientras que la zona baja tiene colonias a 1 400 y 1 600 msnm.

sea level, while the low area had colonies established between 1,400 and 1,600 m above sea level.

### **Honey production**

Honey production was estimated, using the methodology described by Estrada and Guzmán-Novoa<sup>27</sup> and modified by Guzmán-Novoa and Prieto,<sup>28</sup> during the autumn blossom season (October and November).

### **Defensive behavior**

The bees' defensive behavior was measured after the blossom season. Two replicates of a traditional field test<sup>29</sup> were conducted. The test is based on the number of stings embedded by the bees in a leather patch, after exposing it over the brood nest of colonies for a brief period of time.

### **Mitotype and size**

Samples of worker bees were collected from the same colonies as above for  $_{mt}$  DNA and morphometric analyses. Each sample consisted of 30 workers collected from the brood nest and deposited in jars containing 96% ethanol. To determine the bees' mitotype, the samples were subjected to the methodology described by Nielsen *et al.*,<sup>22,30</sup> whereas to determine their size, the bees fore-wing length was measured following the Fast Africanized Bee Identification System (FABIS), using the methodology described by Sylvester and Rinderer.<sup>31</sup> Both morphometric and molecular assays were used to show the introgression of African genes into the experimental population of honeybees, as well as to classify the colonies according to type. Colonies whose bees had African  $_{mt}$  DNA were classified as Africanized, whereas colonies whose workers had European  $_{mt}$  DNA were classified as Eastern or Western European  $_{mt}$  DNA-type, since the technique allows these differentiations.

The  $_{mt}$  DNA analyses were done in the Honeybee Genetics Laboratory of the Department of Entomology at Purdue University, Indiana, USA. The morphometric studies were carried out at the INIFAP-SAGARPA Center for Beekeeping Development in Villa Guerrero, State of Mexico, Mexico.

Data on honey production, number of stings and size of wings, were square-root transformed, and then subjected to factorial analyses of variance under a completely randomized design, with the following model:

$$Y_{ijk} = m + a_i + b_j + (ab)_{ij} + E_{ijk}$$

where

$Y_{ijk}$  = variable measured (honey production, defensiveness, size) in the two areas

### **Producción de miel**

La producción de miel se midió durante la floración de otoño (octubre y noviembre), siguiendo la metodología de Estrada y Guzmán-Novoa<sup>27</sup> modificada por Guzmán-Novoa y Prieto.<sup>28</sup>

### **Comportamiento defensivo**

Este comportamiento se midió después de la floración de otoño, mediante dos repeticiones de una prueba tradicional de campo<sup>29</sup> que se basa en el conteo del número de agujones dejados por las abejas en un parche de cuero, después de una exposición sobre el nido de cría por un tiempo breve.

### **Mitotipo y tamaño**

De cada una de las mismas colonias de donde se tomaron registros de producción de miel y se realizaron pruebas de comportamiento defensivo, se tomaron muestras de más de 30 abejas adultas colectadas del nido de cría y se depositaron en frascos que contenían etanol al 96%. Estas muestras se utilizaron para determinar el tipo de ADN  $_{mt}$ , según la metodología de Nielsen *et al.*<sup>22,30</sup> y el tamaño de las abejas, a través de medir su longitud del ala anterior mediante la prueba rápida de identificación de abejas africanizadas (FABIS), usando la metodología de Sylvester y Rinderer.<sup>31</sup> Tanto la prueba molecular como la morfométrica, sirvieron para inferir la introgresión de genes africanos en las colonias de abejas comerciales y para clasificarlas. Colonias cuyas obreras resultaron con ADN  $_{mt}$  africano fueron clasificadas como colonias africanizadas, mientras que colonias cuyas obreras tenían ADN  $_{mt}$  europeo fueron clasificadas como colonias con mitotipo del este europeo o del oeste europeo, ya que la técnica permite hacer estas diferenciaciones.

Las determinaciones de ADN  $_{mt}$  se llevaron a cabo en el Laboratorio de Genética Apícola del Departamento de Entomología de la Universidad de Purdue, Indiana, Estados Unidos de América. Las pruebas morfométricas se realizaron en el Centro de Desarrollo Apícola del INIFAP-SAGARPA, en Villa Guerrero, Estado de México, México.

Los datos de producción de miel, agujoneo y tamaño de alas, se transformaron a raíz cuadrada para normalizarlos y luego se sometieron a un análisis factorial de varianza bajo un diseño completamente aleatorio con el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = m + a_i + b_j + (ab)_{ij} + E_{ijk}$$

donde:

$Y_{ijk}$  = variable medida (producción, defensa, tamaño) en las zonas.



m = population mean for the variable analyzed  
 ali = mitotype effect (i = 1, 2, 3)  
 b<sub>j</sub> = area effect (j = 1, 2)  
 (ab)<sub>ij</sub> = interaction effect for mitotype and area  
 E<sub>ijk</sub> = error

Data were also subjected to correlation analyses.<sup>32</sup> The European and African mitotypes were compared for honey production, number of stings, and wing length in both areas (high and low).

## Results

Results show that 57 (13.7%) out of 416 experimental colonies had an African mitotypes, while the rest had European mitotypes, though most of the colonies (295 or 70.91%) had Eastern European mitotype. Despite the fact that more than half of the samples were from the high area (228 or 55%), only 31.6% of all colonies with African mitotype came from this area. Chi-square analyses showed that the proportion of bee colonies having African<sub>mt</sub> DNA was significantly greater in the low area than in the high area ( $X^2 = 10.84$ , n = 57, P < 0.01).

The colonies having bees with African<sub>mt</sub> DNA were significantly less productive (Figure 1), more defensive (Figure 2), and their bees had shorter wings (Figure 3) than the colonies having bees with European<sub>mt</sub> DNA. The colonies having bees with Eastern<sub>mt</sub> DNA were the least defensive (Figure 2)

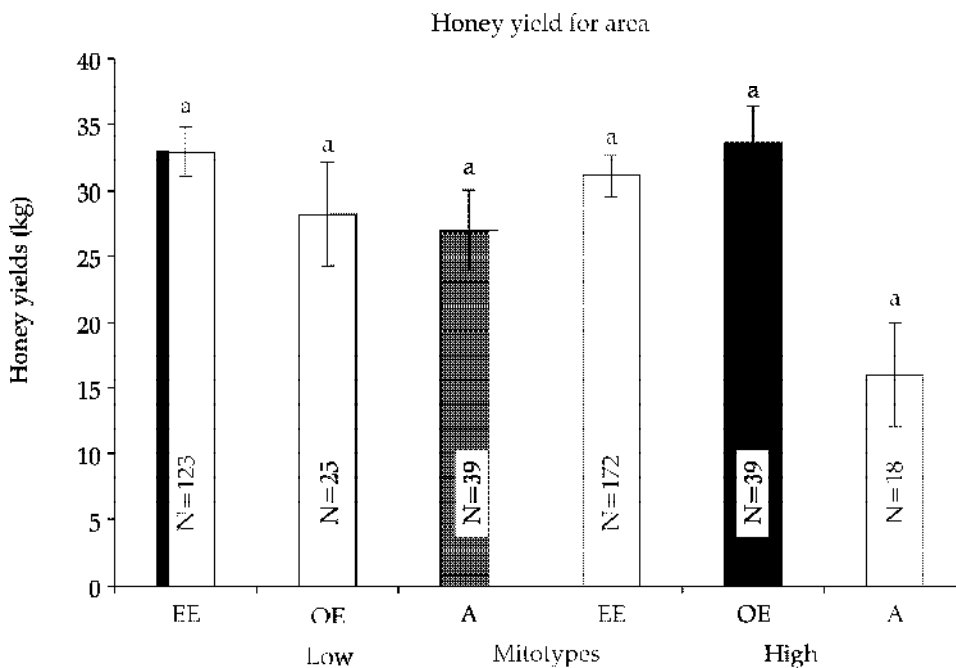
m = media de la población para la variable analizada  
 ali = efecto de mitotipo (i = 1, 2, 3)  
 b<sub>j</sub> = efecto de zona (j = 1, 2)  
 (ab)<sub>ij</sub> = efecto de interacción entre mitotipo y zona.  
 E<sub>ijk</sub> = error

Los datos también se sometieron a análisis de correlación.<sup>32</sup> Los mitotipos europeos y africano fueron comparados en cuanto a su producción de miel, número de aguijones y tamaño de alas en las dos zonas (alta y baja).

## Resultados

Los resultados muestran que 57 (13.7%) de las 416 colonias experimentales resultó con mitotipo africano y el resto con mitotipos europeos, aunque la mayoría de las colonias (295 o 70.91%) tuvo mitotipo del este de Europa. A pesar de que más de la mitad de las muestras (228 o 55%) provinieron de la zona alta, esta última contribuyó con solamente 31.6% del total de las muestras que resultaron con mitotipo africano. Un análisis de Ji-cuadrada demostró que la proporción de colonias de abejas con mitotipo africano fue significativamente mayor en la zona baja que en la alta ( $X^2 = 10.84$ , n = 57, P < 0.01).

Las abejas de colonias con mitotipo africano fueron significativamente menos productoras de miel (Figura 1), más defensivas (Figura 2) y de menor longitud de ala (Figura 3) que las abejas de colonias con mitotipo europeo. Las abejas de colonias con mitotipo europeo del este fueron las menos defensivas (Figura

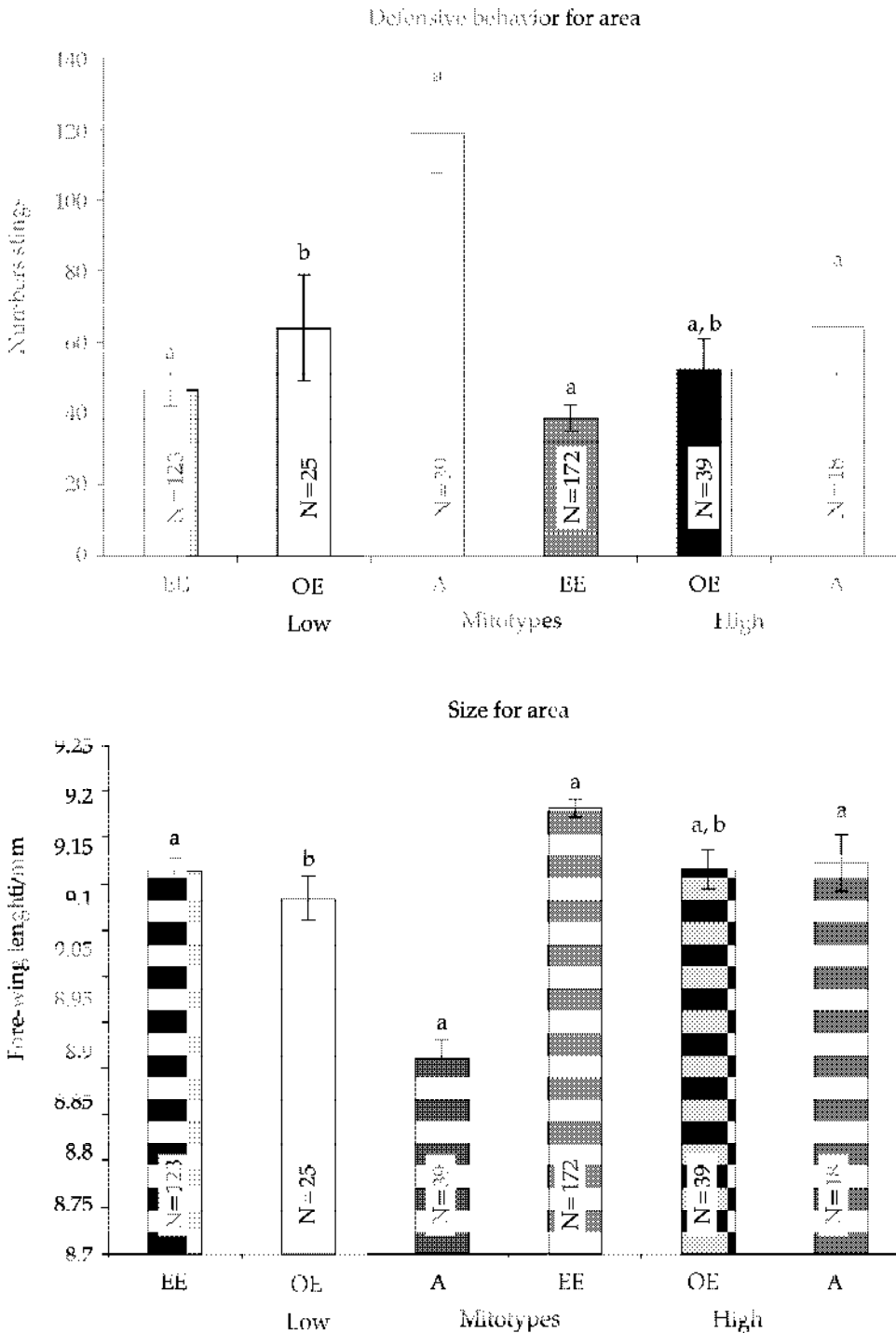


**Figura 1.** Media  $\pm$  error estándar para la producción de miel (kg) en 416 colonias ubicadas en dos zonas y clasificadas de acuerdo con su tipo de ADN mitocondrial en colonias del este europeo (EE), del oeste europeo (OE) y africano (A).  
 Mean  $\pm$  standard error for honey yield (kg) from 416 honeybee colonies located in two areas, and classified according to their<sub>mt</sub> DNA as eastern european (EE), western european (OE), and african colonies (A).  
 \*Different superscripts within the same area indicate significant differences between means. Data were subjected to analyses of variance and LSD tests (P < 0.01). Statistical tests were performed with square-root transformed data because the data were not homoscedastic. Means and SE are actual non-transformed values.



and their bees had the longest wings (Figure 3). The colonies having bees with Western European<sub>mt</sub> DNA were significantly more defensive and their bees had smaller wings than those from colonies with Eastern European<sub>mt</sub> DNA, but there were no differences between these for honey production (Figures 1-3). There were effects of mitotype, area, as well as interactions between area and mitotype for the vari-

2) y de mayor longitud de ala (Figura 3). Las abejas con mitotipo del oeste de Europa fueron significativamente más defensivas y de menor longitud de ala que las que poseían mitotipo del este de Europa, aunque no hubo diferencias en cuanto a su producción de miel (Figuras 1-3). Hubo efecto de los mitotipos de abejas, de las zonas, e interacción entre mitotipos y zonas para las variables medidas, con excepción de las



**Figura 2.** Media  $\pm$  error estándar para el número de agujones dejados por las abejas en un parche de cuero en 60 seg. Se probaron 416 colonias ubicadas en dos zonas y clasificadas de acuerdo con su tipo de ADN mitocondrial en colonias del este europeo (EE), del oeste europeo (OE) y africano (A).  
 Mean  $\pm$  standard error for the number of stings left by the bees in a leather patch in 60 seconds. 416 colonies located in two areas and classified according to their<sub>mt</sub> DNA as eastern european (EE), western european (OE), and african colonies (A) were tested.  
 \*Different superscripts within the same area indicate significant differences between means. Data were subjected to analyses of variance and LSD tests ( $P < 0.01$ ). Statistical tests were performed with square-root transformed data because the data were not homoscedastic. Means and SE are actual non-transformed values.

**Figura 3.** Media  $\pm$  error estándar para la longitud de ala delantera (mm) de abejas obreras de 416 colonias ubicadas en dos zonas y clasificadas de acuerdo con su tipo de ADN mitocondrial en colonias del este europeo (EE), del oeste europeo (OE) y africano (A).  
 Mean  $\pm$  standard error for fore-wing length (mm) of worker bees from 416 colonies located in two areas and classified according to their<sub>mt</sub> DNA as eastern european (EE), western european (OE), and african colonies (A).  
 \*Different superscripts within the same area indicate significant differences between means. Data were subjected to analyses of variance and LSD tests ( $P < 0.01$ ). Statistical tests were performed with square-root transformed data because the data were not homoscedastic. Means and SE are actual non-transformed values.

ables measured, except for area effect on honey production, which was no different in either the low or high area (Table 1). The experimental bees, in general, stung more and were smaller in the low area than in the high area, although honey production was not different between areas. However, the colonies having bees with African mitotype produced significantly less honey in the high area than in the low area, and their wing length was also significantly greater (Figures 1-3, Table 1).

zonas sobre la producción, la cual no fue diferente entre las zonas baja y alta (Cuadro 1). Las abejas en general picaron significativamente más y fueron de menor tamaño en la zona baja, aunque la producción media de miel no fue diferente entre la zona baja y la zona alta. Sin embargo, las abejas con mitotipo africano produjeron significativamente menos miel en la zona alta que en la baja y su longitud de ala también fue significativamente mayor en la zona alta que en la baja (Figuras 1-3, Cuadro 1).

**Cuadro 1**

CUADRADOS MEDIOS DE UN ANÁLISIS DE VARIANZA DE TRES MITOTIPOS DE ABEJAS, ZONAS (ALTA Y BAJA) E INTERACCIÓN MITOTIPOS POR ZONAS, PARA NÚMERO DE AGUIJONES DEJADOS POR LAS ABEJAS EN UN PARCHO DE CUERO EN 60 SEG, PRODUCCIÓN DE MIEL (KG) Y LONGITUD DE ALA DELANTERA (mm), DE OBRERAS DE COLONIAS DE ABEJAS CON MITOTIPO DE LESTE EUROPEO, OESTE EUROPEO Y AFRICANO\*

MEANS SQUARES OF AN ANALYSIS OF VARIANCE FROM THREE HONEY BEE MITOTYPES, TWO AREAS (HIGH AND LOW), AND INTERACTION OF MITOTYPE BY AREA, FOR NUMBER OF STINGS LEFT BY THE BEES IN A LEATHER PATCH IN 60s, HONEY YIELD (kg) AND FORE-WING LENGTH (mm), FROM HONEY BEES WITH EASTERN EUROPEAN, WESTERN EUROPEAN AND AFRICAN MITOTYPES\*

| <i>Variation origin</i> | <i>gl</i> | <i>Honey Yield</i> | <i>Stings</i>       | <i>Fore-wing length</i> |
|-------------------------|-----------|--------------------|---------------------|-------------------------|
| Mitotypes               | 2         | 30.65**            | 274.57**            | 0.01***                 |
| Area                    | 1         | 4.93 <sup>ns</sup> | 118.14**            | 0.02***                 |
| Mitotypes*Area          | 2         | 16.05*             | 41.42 <sup>ns</sup> | 0.04**                  |
| Error                   | 410       | 4.55               | 17.13               | 0.005                   |

\*Means squares were obtained with square-root transformed data because the data were not homoscedastic.

<sup>ns</sup> = not significant

\*P < 0.05

\*\*P < 0.01

\*\*\*P < 0.0001

**Cuadro 2**

COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE EL NÚMERO DE AGUIJONES, PRODUCCIÓN DE MIEL (kg) Y LONGITUD DE ALA DELANTERA (mm), DE OBRERAS DE 416 COLONIAS DE ABEJAS DE UNA ZONA AFRICANIZADA DEL ALTIPLANO MEXICANO  
CORRELATION COEFFICIENTS BETWEEN NUMBER OF STINGS, HONEY YIELD (kg), AND FORE-WING LENGTH (mm) OF WORKER HONEY BEES FROM 416 COLONIES LOCATED IN AN AFRICANIZED REGION OF THE MEXICAN HIGH PLATEAU.

|                  | <i>Stings</i>      | <i>Honey yield</i> |
|------------------|--------------------|--------------------|
| Honey yield      | 0.01 <sup>ns</sup> |                    |
| Fore-wing length | -0.51*             | 0.06 <sup>ns</sup> |

Correlation coefficients were obtained with square-root transformed data because the data were not homoscedastic.

<sup>ns</sup> = not significant

\*P < 0.0001



The defensive behavior was, in general, negatively correlated with wing length ( $r = -0.51$ ,  $n = 416$ ,  $P < 0.01$ ). Honey production was not correlated neither with defensive behavior, nor with wing length (Table 2).

## Discussion

The African mitotype frequency in the population of honeybees sampled was low, which was probably due to two main reasons. First, there was a sub-detection of the percentage of highly Africanized colonies because the molecular technique used ( $_{mt}$  DNA) only shows the maternal African lineage, but not the paternal one. Second, it may be that the Africanization process in the study region has not yet reached equilibrium, and that gene flow is still occurring from the African to the European populations, as has been demonstrated in bee colonies of the Yucatan peninsula in Mexico.<sup>33-35</sup> The fact that the majority of the colonies had bees with Eastern European  $_{mt}$  DNA, demonstrates the influence of Italian and Carniolan honeybee races in the population studied, since these are the two main races of Eastern European honeybees that have been introduced in Mexico in the past. The Western European mitotype corresponds to the first bees originally introduced by the Spaniards, but during the last 50 years Mexican beekeepers have preferred races of honeybees from Eastern Europe, such as the Italian,<sup>36</sup> which explains the higher frequency of its mitotype in the population surveyed.

The results demonstrate that the introgression of African genes into the populations of commercial honeybee colonies in the Mexican high plateau, decreases their honey production, and increases their defensiveness. Additionally, it decreases the wing length of their workers. These results suggest that it is not desirable to have a high degree of Africanization in commercial populations of honeybees, since this will turn beekeeping into a risky, uncomfortable and less profitable activity.

Kerr<sup>1</sup> found that Africanized bee colonies were more productive, whereas Rinderer *et al.*<sup>5</sup> concluded that European bee colonies were more productive, and Spivak *et al.*<sup>6</sup> found no differences. The results in this study agree with those of Rinderer *et al.*<sup>5</sup> and demonstrate, using a greater amount of data than that of any of the above studies, that the Africanization of honeybee colonies decreases their honey production. The average yield of honey per colony was not different between areas, independent of their mitotype. However, the colonies with African mitotype produced considerably less honey than those with European mitotypes in the high area. It is possible that Africanized bees had foraged for less time in the high

El comportamiento defensivo en general estuvo negativamente correlacionado con la longitud de ala de las abejas ( $r = -0.51$ ,  $n = 416$ ,  $P < 0.01$ ). La producción de miel, no tuvo correlación ni con el comportamiento defensivo ni con la longitud de ala de las abejas (Cuadro 2).

## Discusión

La frecuencia del mitotipo africano en la población de abejas muestreada fue bajo, lo cual se debe a dos razones principales. Primero, hubo una subdetección del porcentaje de colonias altamente africanizadas debido a que la técnica molecular utilizada ( $ADN_{mt}$ ) sólo muestra la herencia africana de las madres, pero no la de los padres de las abejas. Segundo, puede ser que el proceso de africanización en el área de estudio no haya aún llegado a un equilibrio y que exista todavía flujo de genes africanos hacia las poblaciones de abejas europeas, como se ha demostrado que sucede en la península de Yucatán, México.<sup>33-35</sup> El hecho de que la mayoría de las colonias tuviera mitotipo del este de Europa, demuestra la influencia de razas de abejas, como la Italiana y la Carniola, en la población estudiada, ya que éstas son las dos principales razas de abejas del este de Europa que se han introducido a México. El mitotipo del oeste europeo corresponde a las primeras razas de abejas introducidas por los españoles a México, pero en los últimos 50 años los apicultores mexicanos han preferido utilizar abejas de razas del este europeo como la Italiana,<sup>36</sup> lo cual explica su mayor frecuencia en la población estudiada.

Los resultados demuestran que la introgresión de genes africanos en las poblaciones de abejas explotadas comercialmente en el altiplano mexicano, disminuye de manera significativa la producción de miel y aumenta en forma importante la defensa de las colonias. Adicionalmente, disminuye la longitud de ala de las abejas obreras. Estos resultados sugieren que no es deseable tener un alto grado de africanización en poblaciones de abejas comerciales, pues esto hará de la apicultura una actividad riesgosa, incómoda y menos rentable.

Kerr<sup>1</sup> encontró que las abejas africanizadas son más productivas,<sup>1</sup> mientras que Rinderer *et al.*<sup>5</sup> concluyeron que las abejas europeas producen más miel que las africanizadas, y Spivak *et al.*<sup>6</sup> encontraron que no hay diferencias. Los resultados del presente trabajo concuerdan con los de Rinderer *et al.*<sup>5</sup> y demuestran con más datos que en todos los estudios anteriores, que la africanización disminuye la producción de miel. La producción media de miel por colonia no fue diferente entre las zonas, independientemente del mitotipo de éstas. Sin embargo, las colonias con mitotipo africano produjeron significativamente menos miel que las colonias con mitotipos europeos en la zona alta. Es posible que por existir condiciones de menor temperatura en la zona alta, las abejas africanizadas ha-

area because these bees are less adapted to the colder conditions of the high area than European bees, which are better suited to fly at lower environmental temperatures.<sup>37</sup>

The results also support the findings of different researchers who conclude that Africanized bees are highly defensive<sup>7-14</sup> and smaller than European bees.<sup>19,38</sup> The colonies having bees with shorter wings were more defensive, which may be a result of a higher degree of Africanization. Several studies conducted in Africanized regions have reported a negative correlation between the size of the bees and their degree of defensiveness.<sup>3,20,21,39</sup> However, these correlations are phenotypic and are a consequence of selection for multiple characteristics, and not to pleiotropic effects, as was demonstrated by Hunt *et al.*<sup>40</sup> and Guzmán-Novoa *et al.*<sup>25</sup> In spite of this, selecting bees with longer wings may result in less defensive genotypes in Africanized areas, since there is a loss of equilibrium for African characteristics, caused by the high probability that virgin queens will mate with Africanized drones.

Low areas apparently favor the process of Africanization, based upon the higher number of colonies having bees with African mitotype from the low area, as well as their shorter wings and greater defensiveness, as compared to those from the high area. It is possible that in high areas the cooler climate does not greatly favor the establishment of Africanized feral colonies, because these bees are better adapted to warmer climates.<sup>37</sup> This lower adaptability to high areas could be taken advantage of in order to install queen mating yards in such areas. This strategy presumably would lead to the breeding of queen bees with a higher proportion of European genes.

Honey production was not correlated with the size of the bees or with their defensiveness. This means that it is possible to find very defensive and productive colonies, as well as very defensive and unproductive colonies, and vice versa. The present study is the first to estimate correlations between these two characteristics. This result is desirable for selective breeding if it is also true for other honeybee populations, given that if the characteristics are not linked, it should be possible to breed productive and manageable bees.

This study provides strong evidence that the Africanization of commercially exploited honeybee colonies increases their defensiveness and decreases their honey production, particularly in temperate low areas. The artificial introduction of European genes into the populations of honeybees through the immigration of Eastern European bee stocks (by regular queen replacement), or through selective breeding programs with the aim of increasing the frequency of European characteristics while decreasing African characteristics, could contribute to augment honey production,

yan pecoreado menos tiempo durante el día que las abejas europeas, que están mejor adaptadas para volar a temperaturas más bajas.<sup>37</sup>

Los resultados también apoyan a los encontrados por diversos investigadores, quienes concluyen que las abejas africanizadas son altamente defensivas<sup>7-14</sup> y de menor tamaño que las europeas.<sup>19,38</sup> Las colonias con abejas de menor longitud de ala fueron más defensivas, hecho que seguramente responde a un mayor grado de africanización. Varios trabajos han descrito una correlación negativa entre el tamaño de las abejas y su defensividad en estudios realizados en zonas africanizadas.<sup>3,20,21,39</sup> Sin embargo, estas correlaciones son fenotípicas y obedecen a una selección de características múltiples en abejas africanizadas y no a efectos de pleiotropía, como lo demostraron Hunt *et al.*<sup>40</sup> y Guzmán-Novoa *et al.*<sup>25</sup> A pesar de lo anterior, seleccionar abejas con alas de mayor longitud puede generar genotipos menos defensivos en áreas africanizadas, ya que existe desequilibrio en el ligamento de características africanizadas, causado por la alta probabilidad de que las reinas vírgenes se apareen con zánganos africanizados.

Las zonas bajas aparentemente favorecen más el proceso de africanización, lo cual se infiere del mayor número de colonias con mitotipo africano, de la menor longitud de ala de las abejas, así como de su mayor defensividad. Esto último pudiera deberse a que en las zonas altas, el clima más templado no favorece tanto el establecimiento de colonias de origen africano, pues éstas se adaptan mejor a zonas más cálidas que a las templadas.<sup>37</sup> Esta menor adaptabilidad a zonas altas pudiera aprovecharse para establecer criaderos de abejas reinas en dichas zonas, para llevar a cabo los apareamientos en vuelo libre de las reinas y de esta manera criar abejas con mayor proporción de genes europeos que de africanos.

La producción de miel no estuvo relacionada ni con el tamaño de las abejas ni con su comportamiento defensivo. Esto significa que se pueden encontrar colonias muy defensivas y productivas y colonias muy defensivas y poco productivas y viceversa. El presente estudio es el primero en estimar correlaciones entre estas dos características. Este resultado es deseable para el mejoramiento genético, si es común para otras poblaciones de abejas, ya que de no estar ligadas estas características, será posible seleccionar abejas productivas y con bajo comportamiento de defensa.

Este trabajo proporciona fuertes evidencias de que la africanización de colonias de abejas explotadas comercialmente incrementa su defensa y disminuye su producción de miel, especialmente en las zonas bajas de regiones templadas. La introducción artificial de genes europeos en las poblaciones mediante la inmigración de genotipos de abejas de razas del este de Europa (por medio del cambio frecuente de reinas), o mediante la selección de abejas con características europeas en las poblaciones locales, pudiera contribuir a disminuir el comportamien-

and to diminish the defensive behavior of honeybee populations in Africanized regions. This goal has already been achieved by Guzmán-Novoa and Page,<sup>20</sup> who were able to decrease the defensive responses of their experimental population of honeybees by 50%, as well as increase the honey production of these bees by 16%, in a five year period, using selective breeding. These researchers worked with a population of more than 3,000 colonies and were also able to increase the size of the bees and the proportion of colonies whose bees had European<sub>mt</sub> DNA over time. The above results suggest that the process of Africanization was reversed, to some degree, through selective breeding. However, Guzmán-Novoa and Page<sup>20</sup> worked in a region that had been recently Africanized, thus, it is possible that the frequency of European genes in the population under selection had been high, which permitted a partial reversal of the Africanization process in the bees being selected. However, as has been demonstrated in several studies,<sup>10,14,17,41</sup> the highly defensive behavior of Africanized bees is inherited in a dominant fashion. This fact could slow down the genetic progress to generate gentle genotypes of honeybees, if these programs are carried out in highly Africanized regions. In this case, the best alternative would be the introduction of genotypes of Eastern European bees.

To better understand how the bees' honey production and defensive behaviors work, additional studies on genotype and genotype-environment interactions must be conducted in populations from different bee-keeping regions. These studies will broaden the knowledge about why Africanized bees have been so successful at colonizing new regions, as well as about how to breed gentle and productive honeybee stocks, which would reduce the number of people and animals killed in stinging incidents.

## Conclusions

It was found that the majority of the commercial colonies sampled had Eastern European<sub>mt</sub> DNA, which shows the influence of Italian (*Apis mellifera ligustica*) and Carniolan (*Apis mellifera carnica*) races of honeybees.

The introgression of African genes into commercial populations of honeybees in the Mexican high plateau decreases their honey production and their body size, and increases their defensive responses (stinging).

Honey production was not correlated with the size of the bees or with their defensiveness. This means that it is possible to find very defensive but productive colonies, as well as very defensive but unproductive colonies and vice versa. This is good for breeding, since, if the characteristics are not linked, it is possible to generate productive bees with low defensive responses.

to defensivo y a incrementar la producción de miel de las poblaciones de abejas en áreas africanizadas. Esto ya ha sido demostrado por Guzmán-Novoa y Page,<sup>20</sup> quienes después de cinco años de selección en una población de más de tres mil colonias, lograron disminuir la respuesta defensiva de las abejas en más de 50% y lograron aumentar la producción de miel en 16%. Asimismo, el tamaño de las abejas aumentó con el tiempo, así como la frecuencia de colonias con ADN<sub>mt</sub> europeo, lo que indica que el proceso de africanización de la población seleccionada pudo revertirse en cierto grado. Sin embargo, Guzmán-Novoa y Page<sup>20</sup> trabajaron en una región recientemente africanizada, por lo que es factible que la frecuencia de genes europeos en la población de abejas seleccionadas haya sido alta, lo que permitió revertir parcialmente el proceso de africanización y disminuir el comportamiento de defensa de las colonias bajo selección. Sin embargo, como lo demuestran varios estudios,<sup>10,14,17,41</sup> el comportamiento defensivo elevado de las abejas africanizadas se hereda de manera dominante, lo cual podría causar un lento progreso genético hacia una menor agresividad, si los programas de selección se llevaran a cabo en poblaciones de abejas en zonas altamente africanizadas. En este caso, la mejor alternativa sería la introducción de germoplasma de razas de abejas del este de Europa.

Para entender mejor cómo funcionan los comportamientos de defensa y productivo de las abejas, se requiere de estudios adicionales sobre los efectos y las interacciones genotípicas y genético-ambientales de las poblaciones de abejas de diferentes zonas apícolas. Estos estudios ampliarán el conocimiento sobre el porqué las abejas africanizadas han sido tan exitosas en la colonización de nuevas áreas, sobre cómo criar abejas más dóciles y productivas y sobre cómo reducir el número de personas y animales muertos por picaduras de abejas.

## Conclusiones

Se encontró que la mayoría de las colonias comerciales muestreadas tenían ADN<sub>mt</sub> del este de Europa, lo que demuestra la influencia de razas de abejas como la Italiana (*Apis mellifera ligustica*) y la Carniola (*Apis mellifera carnica*).

La introgresión de genes africanos a las poblaciones de abejas comerciales en el altiplano mexicano disminuye significativamente su producción de miel y su tamaño y aumenta significativamente su respuesta defensiva (aguijoneo).

La producción de miel no estuvo relacionada ni con el tamaño de las abejas ni con su comportamiento defensivo. Esto significa que se pueden encontrar colonias muy defensivas y productivas y colonias muy defensivas y poco productivas y viceversa. Esto es bueno para el mejoramiento genético, ya que al no estar ligadas estas características, es posible seleccionar abejas productivas y con baja respuesta defensiva.

Defensiveness and bee size were negatively correlated. Colonies whose bees had shorter wings stung in higher numbers than those having bees with longer wings. This is why it is recommended to select bees with long wings to breed colonies with lower defensive responses.

The degree of Africanization and the defensive responses of the colonies sampled were higher in the low area than in the high area. Therefore, it is recommendable to establish queen mating yards in high areas, in order to increase the likelihood of desirable mating.

## Acknowledgments

We thank Guillermo García, Froylan Gutiérrez, José Calvo, Daniel Prieto, and Ricardo García for their assistance. This study was partially financed by INIFAP, and by the Supporting Program for Research and Technological Innovation (PAPIIT) of the National Autonomous University of Mexico, project IN-201900. Additional support was obtained from the National Institutes of Health of the United States of America (NIH, Grant GM54850).

## Referencias

1. Kerr WE. The history of the introduction of African bees to Brazil. *S Afr Bee J* 1967;39:3-5.
2. Moffett JO, Maki DL, Andre T, Fierro MM. The Africanized bee in Chiapas, Mexico. *Am Bee J* 1987;127:517-520.
3. Guzman-Novoa E, Page RE. The impact of africanized bees on Mexican beekeeping. *Am Bee J* 1994;134:101-106.
4. Guzman-Novoa E. La apicultura en México y Centro América. *Memorias del V Congreso Ibero Latinoamericano de Apicultura*; 1996 mayo 30-junio 2; Mercedes, Uruguay. Mercedes, Uruguay: Moyano-Rabel, S.A.; 1996:14-17.
5. Rinderer TE, Collins AM, Tucker KW. Honey production and underlying nectar harvesting activities of Africanized and European honeybees. *J Apic Res* 1985;23:161-167.
6. Spivak M, Batra S, Segreda F, Castro AL, Ramírez W. Honey production by Africanized and European honey bees in Costa Rica. *Apidologie* 1989;20:207-220.
7. 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.
8. 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* 1975;14:171-175.
9. 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* 1975;5:269-274.
10. 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* 1975;48:381-387.
11. Collins AM, Rinderer TE, Harbo JR, Bolten AC. Colony defense by Africanized and European honey bees. *Science* 1982;218:72-74.

El comportamiento defensivo y el tamaño de las abejas estuvieron negativamente correlacionados. Colonias con abejas de menor longitud de ala picaron más que aquellas que tuvieron abejas con alas de mayor tamaño. Por eso se recomienda seleccionar abejas con alas de mayor longitud para criar colonias con una menor respuesta defensiva.

El grado de africanización y la respuesta defensiva de las colonias muestreadas fue mayor en la zona baja que en la zona alta, por lo que se recomienda establecer los criaderos de abejas reinas en zonas altas para aumentar la frecuencia de apareamientos deseables de las reinas.

## Agradecimientos

Agradecemos a Guillermo García, Froylán Gutiérrez, José Calvo, Daniel Prieto y Ricardo García su ayuda. El presente estudio fue parcialmente financiado por el INIFAP y por el proyecto IN-201900 del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Universidad Nacional Autónoma de México, así como por un apoyo del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América (NIH, Grant GM54850).

12. Villa JD. Defensive behaviour of Africanized and European honeybees at two elevations in Colombia. *J Apic Res* 1988;27:141-145.
13. Guzman-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.
14. Guzman-Novoa E, Page RE. Genetic dominance and worker interactions affect honey bee colony defense. *Behav Ecol* 1994;5:91-97.
15. Collins AM, Rinderer TE, Harbo JR, Brown MA. Heritabilities and correlations for several characters in the honey bee. *J Hered* 1984;75:135-140.
16. Collins AM. Bidirectional selection for colony defense in Africanized honey bees. *Am Bee J* 1986;126:827-828.
17. Guzman-Novoa E, Hunt GJ, Uribe JL, Smith C, Arechavaleta ME. Confirmation of QTL effects and evidence of genetic dominance of honey bee defensive behavior: results of colony and individual behavioral assays. *Behav Genetics* 2002;32.
18. Cajero AS. Logros del programa nacional para el control de la abeja africana. *Memorias del III Congreso Internacional de Actualización Apícola*; 1995 mayo 26-28; México (DF) México (DF): Asociación Nacional de Médicos Veterinarios Especialistas en Abejas, A.C.; 1995:9-10.
19. Daly HV, Balling SS. Identification of Africanized bees in the Western hemisphere by discriminant analysis. *J Kans Entomol Soc* 1978;51:857-869.
20. Guzman-Novoa E, Page RE. Selective breeding of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in Africanized areas. *J Econ Entomol* 1999;92:521-525.
21. Guzman-Novoa E, Page RE, Fondrk MK. Morphometric techniques do not detect intermediate and low levels of Africanization in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Ann Entomol Soc Am* 1994;87:507-515.

22. 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.
23. Bar-Cohen R, Alpern RG, Bar-Anan R. Progeny testing and selecting Italian queens for brood area and honey production. *Apidologie* 1978;9:95-100.
24. Szabo TI, Lefkovitch LP. Fourth generation of closed-population honeybee breeding. 1. Comparison of selected and control strains. *J Apic Res* 1987;26:170-180.
25. Guzman-Novoa E, Hunt GJ, Page RE, Fondrk MK. Genetic correlations among honey bee (Hymenoptera: Apidae) behavioral characteristics and wing length. *Ann Entomol Soc Am* 2002;95.
26. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Carta de climas de México. México (DF): INEGI, 1981.
27. Estrada E, Guzmán-Novoa E. Selección práctica para alta producción de miel en abejas melíferas (*Apis mellifera*). Memorias del V Seminario Americano de Apicultura; 1991 septiembre 6-8; Guadalajara (Jalisco) México. México (DF): Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 1991:69-71.
28. Guzmán-Novoa E, Prieto MD. Pasos generales para la selección de abejas productivas y manejables. Memorias del IV Congreso Internacional de Actualización Apícola; 1997 mayo 16-18; Morelia (Michoacán), México. México (DF): Asociación Nacional de Medicos Veterinarios Especialistas en Abejas A.C., 1997:106-107.
29. Guzman-Novoa E, Page RE, Spangler HG, Erickson EH. A comparison of two assays to test the defensive behaviour of honey bees (*Apis mellifera*). *J Apic Res* 1999;38:205-209.
30. Nielsen DI, Ebert PR, Page RE, Hunt GJ, Guzman-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.
31. Sylvester HA, Rinderer TE. Fast Africanized bee identification system (FABIS). *Am Bee J* 1987;127:511-516.
32. Daniel WW. Bioestadística: bases para el análisis de las ciencias de la salud. México (DF): Limusa, 1990.
33. Rinderer TE, Stelszer JA, Oldroyd BP, Bucu SM, Rubink WL. Hybridization between European and Africanized honey bees in the neotropical Yucatan peninsula. *Science* 1991;253:309-311.
34. Quezada-Euan JJG, Hinsull SM. Evidence of continued European morphometrics and *mt* DNA in feral colonies of honey bees (*Apis mellifera* L.) from the Yucatan peninsula. *J Apic Res* 1995;34:161-166.
35. Quezada-Euan JJG, Medina LM. Hybridization between European and Africanized honeybees (*Apis mellifera* L.) in tropical Yucatan, Mexico: I. Morphometric changes in feral and managed colonies. *Apidologie* 1998;29:555-568.
36. Labougle JM, Zozaya JA. La apicultura en México. *Ciencia y Desarrollo* 1986;69:17-36.
37. Dietz A, Vergara C. Africanized honey bee temperates zones. *Bee Wld* 1995;76:56-71.
38. Rinderer TE, Daly HV, Sylvester HA, Collins AM, Bucu SM, Hellmich RL, Danka RG. Morphometric differences among Africanized and European honey bees and their F1 hybrids (Hymenoptera: Apidae). *Ann Entomol Soc Am* 1990;83:346-351.
39. Collins AM, Daly HV, Rinderer TE, Harbo JR, Hoelmer K. Correlations between morphology and colony defense in *Apis mellifera* L. *J Apic Res* 1994;33:3-10.
40. Hunt GL, Guzmán-Novoa E, Fondrk MK, Page RE. Quantitative trait loci for honey bee stinging behavior and body size. *Genetics* 1998;148:1203-1213.
41. DeGrandhi-Hoffman G, Collins AM, Martin JH, Schmidt JO, Spangler HG. Nest defense behavior in colonies from crosses between Africanized and European honey bees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae). *J Insect Behav* 1998;11:37-45.