

Africanización de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.). Revisión de Literatura

Diego Masaquiza Moposita¹, Lino Miguel Curbelo Rodríguez² & Amilcar Arenal Cruz³

¹ORCID <https://orcid.org/0000-0001-5176-8261>, Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”, Centro de Estudios para el Desarrollo de la Producción Animal, Camagüey, Cuba, ²ORCID <https://orcid.org/0000-0003-0453-2357>, Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”, Centro de Estudios para el Desarrollo de la Producción Animal, Camagüey, Cuba, ³ORCID <https://orcid.org/0000-0003-2912-9871>, Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”, Centro de Biología Molecular, Camagüey, Cuba.

Citación: Masaquiza Moposita, D., Curbelo Rodríguez, L., & Arenal Cruz, A. (2020). Africanización de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.). Revisión de Literatura. *Agrisost*, 26(2), 1-13. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7551547>

Recibido: 2 febrero 2020

Aceptado: 22 febrero 2020

Publicado: 2 mayo 2020

Financiamiento: No se declara.

Conflictos de interés: No se declaran conflictos de interés.

Correo electrónico: diegomasaquiza@reduc.edu.cu

Resumen

Contexto: El proceso de hibridación (africanización) de la abeja europea con abejas de origen africanos es un problema para los apicultores del continente americano, por su alta enjambrazón y defensividad, esta última dificulta en buena medida el manejo de las colonias y ha provocado accidentes en el caso de personas y animales, lo que hace de la apicultura una actividad riesgosa. En este sentido, se ve la necesidad de mejoramiento genético de la abeja melífera para lo cual es esencial la identificación de subespecies.

Objetivo: Evaluar el origen de la abeja melífera (*Apis mellifera*), así como el proceso de africanización y dispersión de las abejas africanizadas a través del continente americano y métodos de identificación.

Métodos: Se revisaron las bases de datos de Scienedirect, Google-Scholar, Scopus y NCBI con el empleo de las palabras claves: *Apis mellifera*, Apis, abejas africanizadas, morfometría geométrica, ADN mitocondrial. Se enfatizó en los artículos de los últimos cinco años.

Resultados: Se describen el origen y distribución de la abeja melífera, así como el proceso de africanización y dispersión de la abeja africanizada. Además, se actualiza sobre la evolución de los métodos de caracterización de subespecies de *Apis mellifera*.

Conclusiones: La africanización puede considerarse el proceso más importante en la transformación de las características conductuales y morfológicas de la abeja melífera, las que permitieron su rápida dispersión a través del continente americano. Los métodos de identificación tanto vía materna como paterna son esenciales para conocer posibles procesos de erosión genética y para plantear estrategias de conservación y mejoramiento de las abejas a nivel de cada región.

Palabras clave: *Apis mellifera*, abejas africanizadas, morfometría geométrica, ADN mitocondrial.

Africanization of honeybees (*Apis mellifera* L.). Review

Abstract

Context: The Africanization of the European bee is an obstacle for the beekeepers of the American continent. Africanized bees have high swarming and defensiveness behavior. The latter greatly hinders the management of colonies and causes accidents making beekeeping a risky activity. In this sense, the need for genetic improvement of the honey bee is essential.

Objective: To evaluate the origin of the bee (*Apis mellifera*) and their Africanization spread inside the American continent, as well as the methods for subspecies classification.

Methods: Scienedirect, Google-Scholar, Scopus, and NCBI databases were reviewed using the keywords: *Apis mellifera*, Apis, Africanized bees, geometric morphometry, mitochondrial DNA. Emphasis was made with the articles from the last five years.

Results: The article examined the origin and geographical distribution of the honey bee as well as the spread of the Africanization. The article also evaluated the subspecies characterization methods of *Apis mellifera*.

Conclusions: Africanization is the most critical process in the transformation of the behavioral and morphological characteristics of the honey bee its rapid dispersion throughout the American continent. Identification methods, both maternal and paternal, are essential to know about genetic erosion. It allows proposing strategies for the conservation and improvement of bees at the level of each region.

Key words: *Apis mellifera*, Apis, Africanized bees, geometric morphometric, mitochondrial DNA.

Introducción

El proceso de africanización constituye una de las invasiones biológicas más rápidas y sorprendentes de las que se tenga conocimiento a nivel mundial (Branchiccela et al., 2014; Medina-Flores et al., 2015), y existen criterios divergentes a favor y en contra de sus resultados para la apicultura en el continente americano. Para el enfrentamiento a este proceso se aplican varias acciones, como la reintroducción de germoplasma europeo y el aislamiento de las colonias, aunque ninguna de ellas ha impedido el avance de la misma. De acuerdo con esto, parece más lógico aprender a convivir con estas abejas, que tienen aspectos positivos, como el marcado comportamiento higiénico, alta producción de miel entre otras. Se hace importante entonces caracterizar las abejas para conocer cuál es el material genético que existe en cada región y trazar acciones a mediano y largo plazo para reducir la defensividad y la enjambrazón, aspectos negativos de los híbridos africanizados. En base a estos argumentos la reseña tiene como objetivo examinar el origen de la abeja melífera (*Apis mellifera*), el proceso de dispersión de las abejas africanizadas a través del continente americano y los métodos de identificación de las mismas.

Desarrollo

Origen y distribución de *Apis mellifera*

La evolución de la clase *Insecta* y del orden *Hymenoptera* ocurrió en el período Jurásico, hace aproximadamente 180 millones de años, como resultado de la coevolución con las plantas con flores, las que al tener ovarios y estigmas, que dependían de los insectos para poder realizar su reproducción - polinización entomófila (Carpana, 2004). La diversidad de especies es el resultado de la radiación del Temprano Pleistoceno por el cambio climático y de hábitats durante la pasada era de hielo (Combey, Quandahor & Mensah, 2018).

De las tres subfamilias que conforman la familia Apidae (Meliponinae, Bombinae y Apinae), la Apinae alcanzó las mejores adaptaciones, lo que permite que sean cosmopolitas (Verde, 2014). *A. mellifera* es la única especie de abejas que evolucionó en Europa, Medio Oriente y África, donde pueden reconocerse varias subspecies (Genchi, Reynaldi & Bravi, 2018). Según el origen geográfico existen 29

subespecies (Valido, Rodríguez-Rodríguez & Jordano, 2014; Abizanda, 2018) con diferencias morfológicas y genéticas apreciables (Wallberg et al., 2014), las cuales consiguen la mayor distribución en el mundo, con ecotipos de clima tropical y templado.

Las subspecies se agrupan en cinco linajes evolutivos, determinados principalmente por las variaciones climáticas y de la flora, como resultado de los periodos glaciares y post-glaciares (Miguel et al., 2016).

Meixner et al. (2013) indican que el linaje A incluye las subspecies africanas *A. m. intermissa* y *A. m. sahariensis* en el Norte; *A. m. lamarckii*, *A. m. simensis* y *A. m. adansonii* en el oeste y centro; *A. m. scutellata* en el centro y sur; *A. m. capensis* en el Sur, *A. m. monticola* en la región montañosa del sudeste de África; *A. m. litorea* en el sureste de África y finalmente *A. m. unicolor* que es endémica de Madagascar (Techer et al., 2017). El linaje M está formado por las subspecies de Europa Occidental que incluye *A. m. mellifera*; *A. m. iberiensis* (Kandemir, Özkan & Fuchs, 2011). El linaje C lo integran las subspecies de Europa Oriental entre ellas *A. m. ligustica*, *A. m. carnica*. El linaje O abarca a las subspecies de Oriente Próximo (Rúa, Martínez, Domingo & Gabaldón, 2013; Charistos, Hatjina, Bouga, Mladenovic & Maistros, 2014; Wallberg et al., 2014). El Y que incluye a la subespecie *A. m. jemenitica* de Etiopía (Meixner et al., 2013), y el linaje Z con poblaciones diseminadas en Libia (Péntek-Zakar, Oleksa, Borowik & Kusza, 2015)

Los colonizadores europeos en el siglo XVI introdujeron la abeja melífera (*A. mellifera*) al continente americano; se tienen datos sobre el proceso de dispersión con la presencia en América del Norte en 1622, Cuba 1763 y Brasil y Chile 1839 (Nogueira-Neto, 1972). En Ecuador, las primeras colmenas se introdujeron en 1870 y fueron del ecotipo de abeja mielera europea *A. m. ligustica* (Hidalgo & Mena, 2003).

En la segunda mitad del siglo XX, en la mayor parte del continente americano ocurrió un fenómeno de invasión biológica conocido como africanización (Kerr, 1967). El fenómeno (García et al., 2013) se debió al escape en el año 1957 de abejas africanas (*Apis mellifera scutellata*) de un apiario experimental en Brasil.

Africanización de la abeja melífera En 1956, *A. m. scutellata* del linaje Africano la introdujeron en Brasil desde Sudáfrica y Tanzania (Chapman et al., 2015), la misma comenzó como un proyecto de cría para aumentar la producción de miel de abejas europeas en el clima tropical de la cuenca amazónica. Debido a que las abejas de origen europeo en el trópico no vinculan su ciclo biológico con la longitud del día. Sin embargo, en zonas templadas enmarca la floración, aunque el trópico las floraciones responden a periodos de lluvias (Moore, Wilson & Skinner, 2015).

La idea era crear una “súper abeja”, un híbrido entre subespecies europeas y africanas con buen temperamento y hábitos de búsqueda (Whitfield et al., 2006).

Sin embargo, las abejas africanizadas presentan una gran variabilidad genética debido al carácter híbrido; también son conocidas por la alta productividad y tolerancia contra patógenos y parásitos tales como *Varroa destructor* (Strauss, Dietemann, Human, Crewe & Pirk, 2015; Tibatá et al., 2018).

Factores como la plasticidad genética y adaptabilidad de la abeja (Sousa, Araújo, Gramacho & Nunes, 2016), además de la amplia distribución geográfica y variabilidad medioambiental en el continente americano, permiten procesos de micro evolución de híbridos (Nunes, Araújo, Marchini & Moreti, 2012). Al entrar en contacto colonias africanas con europeas, el proceso de hibridación conllevó al desplazamiento y reemplazo de rasgos europeos por africanos (Rangel et al., 2016). Las abejas africanizadas se caracterizan por su elevado comportamiento defensivo (CD) y migratorio (Medina-Flores et al., 2015), su propagación causa problemas para la apicultura y tuvo importantes impactos sociales y económicos debido a su alta defensiva (Byatt, Chapman, Latty & Oldroyd, 2016).

Actualmente, las abejas africanizadas están presentes desde el centro y sur de los Estados Unidos (Szalanski & Tripodi, 2014; Portman, Tepedino, Tripodi, Szalanski & Durham, 2018), Centroamérica, hasta el norte de Argentina (Genchi et al., 2018), y ocupan un rango aproximado de 20 millones de km². Su alta capacidad colonizadora constituye una de las invasiones biológicas más rápidas de las que se tenga conocimiento (Branchiccela et al., 2014; Medina-Flores et al., 2015).

Jarnevich et al. (2014) acotan que las abejas híbridas africanizadas se extendieron y continúan expandiéndose en el continente (Fig. 1). Los primeros enjambres de abejas africanas arribaron a Ecuador, Colombia y Perú en la década de los 70 del pasado siglo (Graciano, 2018).

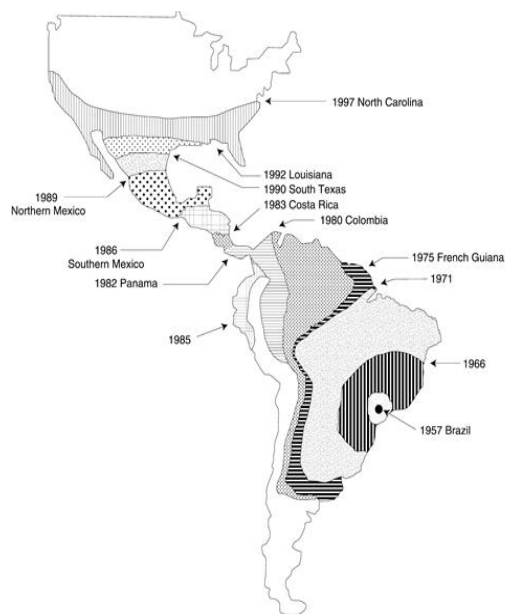


Fig. 1. Dispersión de la abeja africanizada en las Américas (Winston, 1992).

Wallberg et al. (2014) señalan que las abejas africanizadas en Sudamérica son en gran parte de ascendencia africana (70 – 90 %) y en los Estados Unidos (50 – 75 %). Esta distribución probablemente refleja la adaptación a las condiciones ambientales locales y la hibridación entre las subespecies de abejas melíferas (Coroian et al., 2014). El nivel de africanización puede tener implicaciones en la adaptabilidad, aptitud biológica, comportamiento, polinización y producción de miel de *A. mellifera* (Mendoza et al., 2014; Hamiduzzaman et al., 2015). En este sentido la conservación de la diversidad genética de las abejas melíferas es importante para preservar una alta adaptabilidad genética de las poblaciones en diferentes zonas (Büchler et al., 2014) y está estrechamente vinculada a la caracterización de las mismas.

Evolución de los métodos de caracterización de subespecies de *Apis mellifera*

Desde hace muchos años, varios métodos se emplean para la identificación y clasificación de *A. mellifera*, como la morfometría tradicional (Alpatov, 1929; Ruttner, 1988). Además, muchos métodos de análisis morfológicos y moleculares se utilizan para la identificación de híbridos de *A. mellifera*, tales como el Sistema Rápido de Identificación de Abejas Africanizadas (FABIS). Sus resultados permiten la identificación preliminar de abejas africanizadas (Sylvester & Rinderer, 1987).

El Sistema Universal para Detectar la Identificación de Africanización (USDA-ID) es utilizado para declarar casos oficiales de africanización (Sanford, 2006), resulta un proceso laborioso, debido a que se

necesitan veinticinco partes o estructuras del cuerpo montadas de cada espécimen. El Sistema Automático de Identificación de Abejas (ABIS) que compara las gráficas de ala-vena con una imagen digital de la parte anterior de la muestra, requiere de dos minutos por muestra y la confiabilidad se estima que es del 98,05 % entre las especies y del 94 % entre las subespecies de abejas melíferas (Francoy et al., 2008).

Actualmente, el método morfométrico geométrico tiene gran realce en la clasificación e identificación de insectos. Este método proporciona una herramienta poderosa para estudiar la clasificación biológica y la filogenética (Su, Cai & Huang, 2018). Los métodos morfométricos geométricos pueden usarse para resolver problemas en taxonomía y para visualizar diferencias claves en la forma de las especies (Canal, Hernández-Ortiz, Salas & Selivon, 2015; Qubaiová, Růžička & Šípková, 2015).

La clasificación de los diferentes linajes es apoyada por métodos más precisos como los bioquímicos: isoenzimas y aloenzimas (Nunamaker & Wilson, 1982; Ivanova et al., 2012); marcadores moleculares de ADN nuclear (Charistos et al., 2014); ADN mitocondrial (Szalanski & Tripodi, 2014); secuenciación (Branchiccela et al., 2014; Kono & Kohn, 2015); microsatélites (Rangel et al., 2016) e hidrocarburos cuticulares (Oyerinde, Salako & Rabiou, 2017). En los últimos años, el uso de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) también surge como una herramienta (Chávez-Galarza et al., 2015; Chapmaneta, 2015; Muñoz et al., 2015).

Morfometría

El concepto de taxonomía apícola lo introdujo Dupraw (1965) y fue desarrollado por Ruttner, Tassencourt & Louveaux (1978).

Las primeras clasificaciones sub específicas se basaron en atributos geográficos y conductuales según su distribución (Ruttner et al., 1978; Ruttner, 1988). Con la aparición de la morfometría, los métodos de diagnóstico se emplean en múltiples mediciones de muchos individuos; en variaciones físicas y estructurales, los que son distintivos universales para una población, género, especie o subespecie (Darger, 2013). En la actualidad la diferenciación de subespecies se sustenta en características morfométricas (Kandemir et al., 2011; Kono & Kohn, 2015; Sousa et al., 2016), las cuales muestran cambios graduales entre rangos, principalmente entre subespecies, que a menudo solo difieren ligeramente en los valores medios (Abizanda, 2018).

Morfometría tradicional

La morfometría tradicional permitió la identificación y clasificación de *A. mellifera* (Daly, Hoelmer, Norman & Allen, 1982; Ruttner, 1988). Se emplea el estudio de la varianza y covarianza de medidas de distancia entre pares de puntos, generalmente longitud y anchura de estructuras, además de proporciones y ángulos (Rohlf & Marcus, 1993). Las características morfométricas de las abejas se emplean, por otra parte, para la identificación de razas o subespecies geográficas; entre las primeras técnicas de clasificación morfométrica se encuentran las de Cochlov en 1916 citado por Ruttner (1988), quien comparó la longitud de la probóscide entre seis razas geográficas diferentes de *A. mellifera*.

Más tarde se introdujeron nuevos conjuntos de características por Goetze en 1940, como la longitud del pelo en los tergitos, el ancho del primer segmento del tarso y el diámetro longitudinal de los tergitos 3 y 4 (Ruttner, 1988), las cuales fueron muy eficientes para discriminar subespecies de *A. mellifera*. Howell, Daly & Balling (1978), desarrollaron el primer procedimiento eficaz que consistió en medir manualmente 25 caracteres: alas, esternitos y extremidades con un micrómetro ocular, con resultados fiables; estas mediciones la analizaron con estadística multivariada para su identificación. Posteriormente, Daly et al. (1982), mejoraron este método con la incorporación de mediciones digitales (sistema de medición conectado a un microordenador), que condujo a un procedimiento mucho más fácil y rápido.

Ruttner (1988) perfeccionó esta técnica y describió 36 caracteres morfométricos (distancias, ángulos, clases de pigmentación) para la discriminación de subespecies de abejas melíferas. Estos caracteres permitieron establecer los cuatro linajes evolutivos diferentes de abejas melíferas (Ruttner, 1992).

La morfometría tradicional incluye tanto caracteres alares como del cuerpo que proporcionaron una comprensión sustancial y buena discriminación entre las subespecies y poblaciones de abejas. En la búsqueda de optimizar el método se emplearon 10 caracteres de los descritos por Ruttner en 1988 (Meixner et al., 2013).

La eficiencia de esta clasificación depende de la elección de caracteres relevantes que eviten información errónea (da Silva et al., 2015). Sin embargo, aún se emplea en varias investigaciones para caracterizar subespecies como las del bosque montañoso de la zona de Crimea (Bykova, Triseleva, Ivashov & Safonkin, 2016), en República de Benín (Amakpe et al., 2018), en Colombia (Graciano, 2018).

Morfometría geométrica

Con la transición de la morfometría descriptiva a la cuantitativa, la identificación morfológica es más precisa y reproducible, al aprovechar la nueva técnica computacional (Adams , Rohlf & Slice, 2004). El análisis descriptivo de la variación de tamaño y forma es una herramienta fundamental para los estudios de biología orgánica (De Souza et al., 2015); la cual toma mayor realce a finales del siglo XX, con la fusión de la biología y geometría con el objetivo de extraer información geométrica de una forma biológica para propósitos comparativos (Torcida & Perez, 2012).

La morfometría geométrica (MG) desde sus inicios mostró tener un mejor poder descriptivo, además de un enfoque que proporciona una descripción relativa de la forma mediante el uso de puntos de referencias (Santana et al., 2014). Emplea un análisis estadístico integral para extraer información espacial de estructuras morfológicas, lo que aumenta la precisión respecto a la morfometría tradicional (Francoy, de Faria Franco & Roubik, 2012). Lo que permite un análisis estricto de la variación morfométrica de una estructura dada en organismos de varios tamaños (Nunes et al., 2012).

La morfometría geométrica utiliza las coordenadas de puntos de referencia que luego se superponen con traslación, escalado y rotación para eliminar el efecto del tamaño (da Silva, Grassi, Sella, Francoy & Reali , 2015). Después de la superposición, las configuraciones de hito solo difieren en la forma y pueden analizarse mediante métodos estadísticos multivariados (Zelditch, Swiderski, Sheets & Fink, 2004).

La variación en la forma del ala de las abejas a diferentes niveles taxonómicos con la utilización de MG sirve para discriminar: subespecies (Charistos et al., 2014; De Souza et al., 2015; Oleksa & Tofilski, 2015; Abizanda, 2018) y la variación geográfica de las especies (Hall, MacLeod & Wardhana, 2014; Carvajal et al., 2015). Además, debido a que las características morfométricas de las abejas son altamente heredables, esta técnica puede ser adecuada para distinguirlas.

La MG fue altamente efectivo para discriminar 24 subespecies conocidas de abejas melíferas en Europa (Kandemir et al., 2011); por su parte Oleksa & Tofilski (2015) indicaron que la MG proporciona similar discriminación que los microsatélites. La alta precisión en la clasificación indica que las alas anteriores llevan suficiente información para distinguir los grupos de abejas que se examinan (Charistos et al., 2014). Las técnicas morfométricas además de identificar procesos de hibridación tienen una relación con los análisis de microsatélites nucleares, que tienen lectura sobre el cambio en el

tamaño y la forma del cuerpo de las abejas, debido a que estos son controlados por genes nucleares (herencia paterna) en consonancia con los argumentos de (Mortensen & Ellis, 2015).

También permite la optimización del tiempo de los análisis mediante la reducción del número de individuos, se recomiendan 10 a 15 abejas para el análisis morfométrico (Kandemir et al., 2011; Meixner et al., 2013; Sousa et al., 2016). La cantidad de individuos puede reducirse a cinco, para rasgos más estables como la venación de las alas (Francoyet al., 2008), con alto grado de consistencia entre el ala y la información molecular.

Técnicas moleculares

Los diferentes análisis moleculares para estudiar la diversidad genética de *A. mellifera* proporcionan una herramienta precisa en comparación con los morfométricos clásicos (Szalanski & Tripodi, 2014). Los híbridos entre abejas melíferas son morfológicamente similares y difíciles de distinguir unos de otros, por lo que es necesario en algunos casos la transición a análisis moleculares (Achou et al., 2015). En los últimos 35 años, se informó la identificación y distribución de los distintos linajes de *A. mellifera*, sobre la base de marcadores nucleares y mitocondriales (Wallberg et al., 2014) (Tabla 1)

Tabla 1. Investigaciones recientes en biología molecular usadas para identificar el origen materno de abejas melíferas

Análisis	Genes	Subespecie	Autor
Análisis de restricción de polimorfismos	ARNtle u-COII, Cyt b, rRNA – COI, COI	<i>Apis mellifera</i>	Wu, Lu & Lu (2017)
Análisis de restricción de polimorfismos y secuenciación	ARNtle u-COII	<i>Apis mellifera</i>	Branchiccela et al. (2014)
Secuenciación	ADNmt	<i>A. m. scutellata</i> <i>A. m. capensis</i>	Eimanifar, Kimball, Braun & Ellis (2018)
Secuenciación	COI - COII	<i>Apis mellifera</i>	Magnus & Szalanski (2010)
Secuenciación	COI - COII; ND2	<i>A. m. unicolor</i>	Techer et al. (2017)
Análisis de restricción de	COI - COII	<i>Apis mellifera</i>	Kelomey et al. (2017)

polimorfismos			
Análisis de restricción de polimorfismos	COI - COII	<i>A. m. intermissa</i> <i>A. m. sahariensis</i>	Achou et al. (2015)
PCR - RFLP	Cyt b	<i>A. m. scutellata</i>	Mortensen & Ellis (2015)
Secuenciación	ARNtleu- COII	<i>Apis mellifera</i>	Szalanski & Magnus (2010)
Secuenciación	COI - COII	<i>Apis mellifera</i>	Techer et al. (2015)
Secuenciación	ARNtleu- COII	<i>A. m. iberiensis</i>	Chávez-Galarza et al. (2017)
Secuenciación	ADNmt - Cyt-b	<i>Apis mellifera</i>	Szalanski & Tripodi (2014)

ADN Mitocondrial

Los primeros estudios moleculares se basaron en el estudio de la evolución de la región intergénica altamente variable COI-COII mitocondrial (Péntek-Zakar et al., 2015), comenzaron a principios de la década de 1990 (Garnery, Solignac, Celebrano & Cornuet, 1993). Es una herramienta de uso frecuente para discriminar linajes evolutivos en las poblaciones de abejas melíferas (Rortais, Arnold, Alburaki, Legout & Garnery, 2011).

El ADN mitocondrial (ADNmt) es una pequeña molécula circular con 16 000 pares de bases que es transmitida intacta por la reina a su descendencia: obreras y zánganos (Meixner et al., 2013). La herencia materna de ADNmt en las abejas es un marcador molecular que permite rastrear el origen y la estructura genética de las abejas melíferas. Con el estudio de un solo individuo se obtiene información a nivel de colmena de forma directa (Rúa et al., 2013) debido a que esta molécula circular no varía por recombinación y se trasmite sin alteración a la descendencia, salvo que haya mutaciones puntuales.

El genoma mitocondrial se caracteriza por su contenido conservado de genes, alto nivel de sustituciones de nucleótidos y por proporcionar un marcador uniparental (Péntek-Zakar et al., 2015). El cromosoma mitocondrial de *A. mellifera* contiene 13 genes codificantes de proteínas, dos genes ribosomales, 22 ARN transferentes y una región rica en A + T, es conservativo en cuanto a la posición de los mismos (Crozier & Crozier, 1993).

La región intergénica COI-COII se compone de dos secuencias de nucleótidos distintas, denominadas P y Q, donde P puede aparecer en varias variaciones (P0,

P1, P2). Las variaciones en las secuencias de esta región se pueden usar para diferenciar entre los cinco linajes de abejas melíferas y discriminar entre las subespecies de *A. mellifera* (Alattal et al., 2014). De acuerdo con Garnery et al. (1993), cada linaje evolutivo incluye una variante de la secuencia P, combinadas con una de las cuatro copias de la secuencia Q se pueden hallar en dicha región, excepto en las subespecies del linaje evolutivo C que no poseen copia de la secuencia P y solo presentan una copia de la secuencia Q (Rúa et al., 2013).

El inserto no codificante de la región intergénica ayuda a distinguir los linajes africano y europeo, debido a que las abejas melíferas del linaje europeo oriental (C) tienen la secuencia intergénica más corta, debido a la ausencia del elemento P y con una sola copia del elemento Q (Meixner et al., 2013).

Las abejas melíferas pertenecientes a los linajes M; A; Z y Y, exhiben regiones intergénicas más largas porque contienen desde uno hasta cinco elementos Q (Rortais et al., 2011), además de una variante del elemento P.

El cromosoma mitocondrial de *A. mellifera* (Fig. 2) contiene 13 genes codificantes de proteínas, dos genes ribosomales, 22 ARN transferentes y una región rica en A + T, y es conservativo en cuanto a la posición de los mismos. Ambas características son estables en términos evolutivos (Crozier & Crozier, 1993).

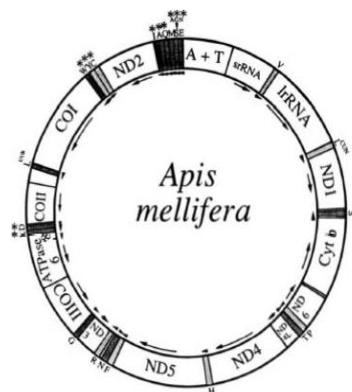


Fig. 2. Esquema del ADN mitocondrial de *Apis mellifera* (Crozier & Crozier, 1993)

Existe una variedad de métodos moleculares empleados para detectar las variaciones en el ADNmt, pueden ser los RFLP (polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción), PCR-RFLP y la secuenciación directa. Varias clasificaciones genéticas de *A. mellifera* se basaron en análisis de RFLP de PCR, donde la región no codificante localizada entre los genes ARNtleu y COII se amplificó por PCR, seguida de la digestión con la endonucleasa *Dra* I, con patrones de bandas

identificables por sus diferencias de tamaño (Garnery et al., 1993).

Mediante PCR-RFLP se reconocen más de 100 haplotipos asignados correctamente a sus linajes evolutivos (Rúa, Jaffé, Dall'Olio, Muñoz & Serrano, 2009). Sin embargo, a pesar del mayor poder de resolución de la prueba *Dra I* en comparación con otros ensayos, no es capaz de distinguir entre el linaje C y el O lo que resulta en una clasificación errónea, ya que no identifica abejas melíferas a nivel de subespecie porque no permite la identificación de haplotipos de diagnóstico (Meixner et al., 2013).

El genotipado mediante secuenciación de fragmentos amplificados de las región intergénica COI y COII, muestra un mayor grado de variación genética entre los diferentes linajes, por lo tanto, constituyen un marcador molecular de precisión superior para detectar mitotipos que representan variaciones genéticas intraespecíficas (Tibatá et al., 2018). Generan haplotipos que son idénticos por descendencia en lugar de idénticos por estado, necesarios para el análisis filogenético.

La secuenciación y caracterización del genoma del ADNmt es útil para analizar la filogenia y la estructura genética poblacional del género *Apis*. Actualmente los análisis de ADNmt de la región intergénica COI – COII son empleados para caracterizar subespecies de *A. mellifera* en América (Branchiccela et al., 2014; Szalanski & Tripodi, 2014; Tibatá et al., 2018), en África (Eimanifar, Kimball, Braun & Ellis, 2016; Haddad et al., 2017), Europa (Ostroverkhova et al., 2015; Chávez-Galarza et al., 2017) y Asia (Zhao et al., 2014; Takahashi et al., 2016; Wu et al., 2017). La región intergénica COI-COII es ampliamente utilizada como herramienta para detectar y rastrear la importación progresiva de reinas de abejas melíferas (Muñoz, Lodesani, Rúa & Dall'Olio, 2014), para análisis filogeográficos en áreas nativas y la identificación y comprensión de áreas de contacto secundarias (Chávez-Galarza et al., 2015).

En la actualidad las técnicas que emplean la secuenciación de ADN de nueva generación incluyen los marcadores polimórficos de un solo nucleótido (SNP) (Henriques et al., 2018), esta técnica tuvo gran realce en los últimos años (Pinto et al., 2014); y son muy efectivas para separar líneas de abejas (Harpur et al., 2014). Así tenemos que Muñoz et al. (2016) al realizar una comparación entre los análisis de microsatélites y SNP basados en la secuenciación de alto rendimiento, demostró que el análisis SNP es más preciso para la identificación de subespecies europeas. Además, la mayor ventaja que se logra con este análisis, es conocer la frecuencia y dispersión de la africanización.

Sin embargo, hace algunos años no existían pruebas moleculares de costo bajo para detectar la africanización. Whitfield et al. (2006) distinguieron claramente entre abejas africanizadas y europeas usando 1136 SNPs, y Chapman et al. (2015) con un panel informativo ancestral de 95 SNPs diferenciaron africanización en poblaciones de abejas comerciales de Estados Unidos y Australia, con un alto grado de confianza a través de la asignación de ascendencia; por lo que en la actualidad se sugiere la posibilidad de desarrollar con un costo bajo pruebas de SNP.

Sin embargo, dado que el ADNmt se hereda por vía materna, los marcadores de ADNmt no pueden determinar si una reina europea apareada por drones africanizados, y esas colonias permanecerán sin ser detectadas por técnicas basadas en ADNmt (Szalanski & Tripodi, 2014). Por lo que, en estudios de identificación de subespecies es recomendable el análisis de ADNmt para rastrear el origen materno de las colonias, y para la contribución genética paternalos rasgos morfométricos son buenos indicadores de la introgresión nuclear (Kono & Kohn, 2015).

Conclusiones

La africanización puede considerarse el proceso más importante en la transformación de las características conductuales y morfológicas de la abeja melífera, las que permitieron su rápida dispersión a través del continente americano. Los métodos de identificación tanto vía materna como paterna son esenciales para conocer posibles procesos de erosión genética y para plantear estrategias de conservación y mejoramiento de las abejas a nivel de cada región.

Contribución de los autores

Diego Masaquiza: planeación de la investigación, toma de datos, análisis e interpretación de los resultados, redacción del artículo, revisión final.

Lino Miguel Curbelo Rodríguez: planeación de la investigación, toma de datos, análisis e interpretación de los resultados, redacción y revisión final.

Amilcar Arenal: planeación de la investigación, toma de datos, análisis e interpretación de los resultados, redacción y revisión final.

Conflictos de interés

No se declaran conflictos de interés.

Referencias

Abizanda, C. (2018). *Caracterización morfométrica y molecular de las abejas melíferas en la provincia de Huesca*. (Trabajo Fin de Máster), Universidad de Zaragoza, Escuela Politécnica Superior, España. Recuperado el

- 12 de marzo de 2019, de: http://zaguan.unizar.es/record/69789/files/T_AZ-TFM-2018-063.pdf?version=1
- Achou, M., Loucif-Ayad, W., Legout, H., Hmidan, H., Alburaki, M., & Garnery, L. (2015). An insightful molecular analysis reveals foreign honey bees among Algerian honey bee populations (*Apis mellifera* L.). *Data Mining Genomics Proteomics*, 6(1), 166, doi: <https://doi.org/10.4172/2153-0602.1000166>
- Adams, D.C., Rohlf, F. J., & Slice, D. E. (2004). Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, 71(1), 5-16, doi: <https://doi.org/10.1080/11250000409356545>
- Alattal, Y., Alsharhi, M., Alghamdi, A., Alfaify, S., Migdadi, H., & Ansari, M. (2014). Characterization of the native honey bee subspecies in Saudi Arabia using the mtDNA COI-COII intergenic region and morphometric characteristics. *Bulletin of Insectology*, 67(31-37). Recuperado el 5 de abril de 2019, de: <https://pdfs.semanticscholar.org/0222/f2c52f135ab19ce51de8247129de23b6b58b.pdf>
- Alpatov, W. (1929). Biometrical studies on variation and races of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *The Quarterly Review of Biology*, 4(1), 1-58, doi: <https://doi.org/10.1086/394322>
- Amakpe, F., De Smet, L., Brunain, M., Frans, J., Sinsin, B., & de Graaf, D. (2018). Characterization of native honey bee subspecies in Republic of Benin using morphometric and genetic tools. *J. Apic. Sci.*, 62(1), 47-59, doi: <https://doi.org/10.2478/jas-2018-0006>
- Branchiccela, B., Aguirre, C., Parra, G., Estay, P., Zunino, P., & Antúnez, K. (2014). Genetic changes in *Apis mellifera* after 40 years of Africanization. *Apidologie*, 45(6), 752-756, doi: <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0293-2>
- Büchler, R., Costa, C., Hatjina, F., Andonov, S., Meixner, M. D., Le Conte, Y., . . . Wilde, J. (2014). The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 205-214, doi: <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.03>
- Byatt, M. A., Chapman, N. C., Latty, T., & Oldroyd, B. P. (2016). The genetic consequences of the anthropogenic movement of social bees. *Insectes Sociaux*, 63(1), 15-24, doi: <https://doi.org/10.1007/s00040-015-0441-3>
- Bykova, T. O., Triseleva, T. A., Ivashov, A. V., & Safonkin, A. F. (2016). Morphogenetic Diversity of the Honeybee *Apis mellifera* L. from the Mountain-Forest Zone of Crimea. *Biology Bulletin*, 43(6), 541-546, doi: <https://doi.org/10.1134/S1062359016060054>
- Canal, N. A., Hernández-Ortiz, V., Salas, J. O., & Selivon, D. (2015). Morphometric study of third-instar larvae from five morphotypes of the *Anastrepha fraterculus* cryptic species complex (Diptera, Tephritidae). *ZooKeys*, (540), 41-59, doi: <https://doi.org/10.3897/zookeys.540.6012>
- Carpana, E. (2004). IL Genere *Apis*: Evoluzione e Biogeografia. Parte 1. En *L'aperegina: allevamento e selezione*. (pp. 23-89). Italia: Istituto Nazionale di Apicoltura Bologna
- Carvajal, T. M., Hernandez, L. F., Ho, H. T., Cuenca, M. G., Orantia, B. M., Estrada, C. R., . . . Watanabe, K. (2015). Spatial analysis of wing geometry in dengue vector mosquito, *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), populations in Metropolitan Manila, Philippines. *J. Vector Borne Dis*, 53, 127-135. https://pdfs.semanticscholar.org/4c92/372fb188c7441b3f6f327bd3f4b004aacdc2.pdf?_ga=2.10842674.787354217.1581067777-1193939830.1581067777
- Chapman, N. C., Harpur, B. A., Lim, J., Rinderer, T. E., Allsopp, M. H., Zayed, A., & Oldroyd, B. P. (2015). A SNP test to identify Africanized honeybees via proportion of 'African' ancestry. *Molecular Ecology Resources*, 15(6), 1346-1355, doi: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12411>
- Charistos, L., Hatjina, F., Bouga, M., Mladenovic, M., & Maistros, A. D. (2014). Morphological discrimination of Greek honey bee populations based on geometric Morphometrics analysis of wing shape. *Journal of Apicultural Science*, 58(1), 75-84, doi: <https://doi.org/10.2478/jas-2014-0007>
- Chávez-Galarza, J., Garnery, L., Henriques, D., Neves, C. J., Loucif-Ayad, W., Johnston, J. S., & Pinto, A. (2017). Mitochondrial DNA variation of *Apis mellifera iberiensis*: further insights from a large-scale study using sequence data of the tRNA^{Leu}-cox2 intergenic region. *Apidologie*, 48(4), 533-544, doi: <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0498-2>
- Chávez-Galarza, J., Henriques, D., Johnston, J. S., Carneiro, M., Rufino, J., Patton, J. C., & Pinto, M. A. (2015, Jun). Revisiting the Iberian honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) contact zone: maternal and genome-wide nuclear variations provide support for secondary contact from historical refugia. *Mol Ecol.*, 24(12), 2973-92, doi: <https://doi.org/10.1111/mec.13223>
- Combey, R., Quandahor, P., & Mensah, B. A. (2018). Geometric Morphometrics Captures Possible Segregation Occurring within Subspecies *Apis Mellifera Adansonii* in

- Three Agro Ecological Zones. *Annals of Biological Research*, 9(3), 31-43. Recuperado el 23 de marzo de 2019, de: <https://www.scholarsresearchlibrary.com/articles/geometric-morphometrics-captures-possible-segregation-occurring-within-subspecies-apis-mellifera-adansonii-in-three-agro-ecologica-15155.html>
- Coroian, C. O., Muñoz, I., Schlüns, E. A., Paniti-Teleky, O. R., Erler, S., Furdui, E. M.,..., Moritz, R. F. A. (2014). Climate rather than geography separates two European honeybee subspecies. *Molecular Ecology*, 23(9), 2353-2361. doi: <https://doi.org/10.1111/mec.12731>
- Crozier, R., & Crozier, Y. (1993). The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization. *Genetics*, 133, 97-117. Recuperado el 15 de marzo de 2019, de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1205303/pdf/ge133197.pdf>
- Da Silva, F., Grassi, M., Sella, M., Francoy, T. M., & Reali, A. H. (2015). Evaluating classification and feature selection techniques for honeybee subspecies identification using wing images. *Computers and Electronics in Agriculture*, 114, 68-77, doi: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2015.03.012>
- Daly, H., Hoelmer, K., Norman, P., & Allen, T. (1982). Computer-Assisted Measurement and Identification of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 75(6), 591-594, doi: <https://doi.org/10.1093/aesa/75.6.591>
- Darger, K. (2013). *Determining low levels of Africanization in unmanaged honey bee colonies using three diagnostic techniques*. (Master of Science in Entomology), University of Delaware, Estados Unidos. http://udspace.udel.edu/bitstream/handle/19716/12667/Katherine_Darger_thesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- De Souza, D. A., Wang, Y., Kaftanoglu, O., De Jong, D., Amdam, G. V., Gonçalves, L. S., & Francoy, T. M. (2015). Morphometric identification of queens, workers and intermediates in in vitro reared honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE*, 10(4), e0123663, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123663>
- Dupraw, E. (1965). Non-Linnean taxonomy and the systematics of honeybees. *Systematic Zoology*, 14(1), 1-24, doi: <https://doi.org/10.2307/2411899>
- Eimanifar, A., Kimball, R., Braun, E. L., & Ellis, J. D. (2018). Mitochondrial genome diversity and population structure of two western honey bee subspecies in the Republic of South Africa. *Scientific reports*, 8(1), 1333, doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19759-3>
- Eimanifar, A., T. Kimball, R., L. Braun, E., & Ellis, J. D. (2016). The complete mitochondrial genome of the hybrid honey bee, *Apis mellifera capensis* × *Apis mellifera scutellata*, from South Africa. *Mitochondrial DNA Part B*, 1(1), 856-857, doi: <https://doi.org/10.1080/23802359.2016.1250132>
- Francoy, T. M., Wittmann, D., Drauschke, M., Müller, S., Steinhage, V., Bezerra-Laure, M. A. F.,..., Gonçalves, L. (2008). Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39(5), 488-494, doi: <https://doi.org/10.1051/apido:2008028>
- Francoy, T., de Faria Franco, F., & Roubik, D. (2012). Integrated landmark and outline-based morphometric methods efficiently distinguish species of Euglossa (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). *Apidologie*, 43(6), 609-617, doi: <https://doi.org/10.1007/s13592-012-0132-2>
- García, R., Oliveira, N. T. de, Camargo, S. C., Pires, B., Oliveira, C. de, Teixeira, R., & Pickler, M. (2013). Honey and propolis production, hygiene and defense behaviors of two generations of Africanized honey bees. *Scientia Agricola*, 70(2), 74-81, <https://doi.org/10.1590/S0103-90162013000200003>
- Garnery, L., Solignac, M., Celebrano, G., & Cornuet, J. (1993). A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. *Experientia*, 49(11), 1016-1021. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02125651>
- Genchi, M. L., Reynaldi, F. J., & Bravi, C. M. (2018). An update of Africanization in honey bee (*Apis mellifera*) populations in Buenos Aires, Argentina. *Journal of Apicultural Research*, 57(5), 611-614. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494887>
- Goetze, G. (1940). *Die beste Biene: Züchtungs- und Rassen-Kunde der Honigbiene nach dem heutigen Stand von Wissenschaft und Praxis*. Germany: Leipzig: Liedloff: Loth und Michaelis.
- Graciano, L. A. (2018). *Niveles de infestación de Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae) en abejas africanizadas (Apis mellifera cutellata)*. (Tesis Magister en Ciencias: Entomología), Universidad

- Nacional de Colombia-Medellín, Colombia. Recuperado el 12 de marzo de 2019, de: <http://bdigital.unal.edu.co/64945/1/1128406607.2018.pdf>
- Haddad, N., Adjlane, N., Loucif-Ayad, W., Dash, A., Naganeeswaran, S., Rajashekar, B.,... Sicheritz-Pontén, T. (2017). Mitochondrial genome of the North African Sahara Honeybee, *Apis mellifera sahariensis* (Hymenoptera: Apidae). *Mitochondrial DNA Part B*, 2(2), 548-549, doi: <https://doi.org/10.1080/23802359.2017.1365647>
- Hall, M. J. R., MacLeod, N., & Wardhana, A. H. (2014). Use of wing morphometrics to identify populations of the Old World screwworm fly, *Chrysomya bezziana* (Diptera: Calliphoridae): A preliminary study of the utility of museum specimens. *Acta Tropica*, 138, S49-S55. doi: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.03.023>
- Hamiduzzaman, M., Guzmán-Novoa, E., Goodwin, P. H., Reyes-Quintana, M., Koleoglu, G., Correa-Benítez, A., & Petukhova, T. (2015). Differential responses of Africanized and European honey bees (*Apis mellifera*) to viral replication following mechanical transmission or *Varroa destructor* parasitism. *Journal of invertebrate pathology*, 126, 12-20. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.12.004>
- Harpur, B. A., Kent, C.F., Molodtsova, D., Lebon, J. M. D., Alqarni, A.S., Owayss, A. A., & Zayed, A. (2014). Population genomics of the honey bee reveals strong signatures of positive selection on worker traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 111, 2614-2619, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1315506111>
- Henriques, D., Parejo, M., Vignal, A., Wragg, D., Wallberg, A., Webster, M. T., & Pinto, M. A. (2018). Developing reduced SNP assays from whole-genome sequence data to estimate introgression in an organism with complex genetic patterns, the Iberian honeybee (*Apis mellifera iberiensis*). *Evolutionary applications*, 11(8), 1270-1282, doi: <https://doi.org/10.1111/eva.12623>
- Hidalgo, M., & Mena, S. (2003). *Proyecto de viabilidad de implementación de una granja apícola en la parroquia de Nanegalito*. (Tesis de Ingeniería en Ciencias Administrativas Tesis de Ingeniería, inédita), Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
- Howell V., Daly, & Balling, S. (1978). Identification of Africanized Honeybees in the Western Hemisphere by Discriminant Analysis. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 51(4): 857-869.
- Ivanova, E., Bouga, M., Staykova, T., Mladenovic, M., Rasic, S., Charistos, L., . . . Petrov, P. (2012). The genetic variability of honey bees from the Southern Balkan Peninsula, based on alloenzymic data. *Journal of Apicultural Research*, 51(4), 329-335, doi: <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.51.4.06>
- Jarnevich, C. S., Esaias, W. E., Ma, P. L. A., Morisette, J. T., Nickeson, J. E., Stohlgren, T. J., . . . Tan, B. (2014). Regional distribution models with lack of proximate predictors: Africanized honeybees expanding north. *Diversity and Distributions*, 20(2), 193-201, doi: <https://doi.org/10.1111/ddi.12143>
- Kandemir, İ., Özkan, A., & Fuchs, S. (2011). Reevaluation of honeybee (*Apis mellifera*) microtaxonomy: a geometric morphometric approach. *Apidologie*, 42(5), 618, doi: <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0063-3>
- Kelomey, A., Paraíso, A. A., Sina, H., Legout, H., Adjanohoun, A., Garnery, L., & Baba-Moussa, L. (2017). Genetic Variability of the Mitochondrial DNA in Honeybees (*Apis mellifera* L.) from Benin. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 7, 557-566, doi: <https://doi.org/10.17265/2161-6256/2017.08.006>
- Kerr, W. E. (1967). The history of the introduction of African bees in Brazil. *South African Bee J.*, 39: 33-35.
- Kono, Y., & Kohn, J. (2015). Range and frequency of africanized honey bees in California (USA). *PLoS ONE*, 10(9), e0137407, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137407>
- Magnus, R., & Szalanski, A. L. (2010). Genetic evidence for honey bees (*Apis mellifera* L.) of Middle Eastern lineage in the United States. *Sociobiology*, 55(1B), 285-296. Recuperado el 15 de marzo de 2019, de: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.630.4651&rep=rep1&type=pdf>
- Medina-Flores, C. A., Guzmán-Novoa, E., Hamiduzzaman, M. M., Aguilera Soto, J., Carlos, L., & Marco, A. (2015). Africanización de colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en tres regiones climáticas del norte de México. *Veterinaria México OA*, 2(4), 1-9. Recuperado el 2 de marzo de 2019, de: <https://www.redalyc.org/pdf/4935/493548765001.pdf>
- Meixner, M. D., Pinto, M. A., Bouga, M., Kryger, P., Ivanova, E., & Fuchs, S. (2013). Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-28, doi: <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.05>

- Mendoza, Y., Antúnez, K., Branchiccela, B., Anido, M., Santos, E., & Invernizzi, C. (2014). Nosemaceranae and RNA viruses in European and Africanized honeybee colonies (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Apidologie*, 45(2), 224-234, doi: <https://doi.org/10.1007/s13592-013-0241-6>
- Miguel, I., Garnery, L., Iriando, M., Baylac, M., Manzano, C., Steve, W., & Estonba, A. (2016). Origin, evolution and conservation of the honey bees from La Palma Island (Canary Islands): molecular and morphological data. *Journal of Apicultural Research*, 54(5), 427-440, doi: <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1180017>
- Moore, P., Wilson, M., & Skinner, J. (2015). *Africanized Bees: Better Understanding, Better Prepared*. USA: University of Tennessee, Department of Entomology and Plant Pathology, the, Knoxville TN. Recuperado el 16 de febrero de 2019, de: <https://bee-health.extension.org/africanized-bees-better-understanding-better-prepared/>
- Mortensen, A., & Ellis, J. (2015). The frequency of African (*Apis mellifera* scutellata Lepeletier) matrilineal usurpation of managed European-derived honey bee (*A. mellifera* L.) colonies in the southeastern United States. *Insectes Sociaux*, 62(2), 151-155. doi: <https://doi.org/10.1007/s00040-014-0383-1>
- Muñoz, I., Enríques, D., Jara, L., Johnston, J.S., Chávez-Galarza, J., Rua, P. de la, & Pinto, M. (2016). SNPs selected by information content outperform randomly selected microsatellite loci for delineating genetic identification and introgression in the endangered dark European honeybee (*Apis mellifera mellifera*). *Mol. Ecol. Res*, 17(4), 783-795, doi: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12637>
- Muñoz, I., Henriques, D., Johnston, S., Chávez-Galarza, J., Kryger, P., & Pinto, M. A. (2015). Reduced SNP Panels for Genetic Identification and Introgression Analysis in the Dark Honey Bee (*Apis mellifera mellifera*). *PLoS ONE*, 10(4), e0124365, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124365>
- Muñoz, I., Lodesani, M., Rúa, P. de la, & Dall'Olio, R. (2014). Estimating introgression in *Apis mellifera siciliana* populations: are the conservation islands really effective? *Insect Conserv Divers*, 7(6), 563-571, doi: <https://doi.org/10.1111/icad.12092>
- Nogueira-Neto, P. (1972). Notas sobre a história da apicultura brasileira. En J. M. F. De Camargo (ed.), *Manual de Apicultura*. (pp. 17-32). Sao Paulo, Brasil: Editora Agronomia Ceres.
- Nunamaker, R. A., & Wilson, W. T. (1982). Isozyme changes in the honeybee, *Apis mellifera* L., during larval morphogenesis. *Insect Biochemistry*, 12(1), 99-104, doi: [https://doi.org/10.1016/0020-1790\(82\)90076-2](https://doi.org/10.1016/0020-1790(82)90076-2)
- Nunes, L. A., Araújo, E. D. de, Marchini, L. C., & Moreti, A. C. de C. C. (2012). Variation morphogeometrics of Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 102(3), 321-326, doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0073-47212012005000002>
- Oleksa, A., & Tofilski, A. (2015). Wing geometric morphometrics and microsatellite analysis provide similar discrimination of honey bee subspecies. *Apidologie*, 46(1), 49-60, doi: <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0300-7>
- Ostroverkhova, N. V., Konusova, O. L., Kucher, A. N., Kireeva, T. N., Vorotov, A. A., & Belikh, E. A. (2015). Genetic diversity of the locus COI-COII of mitochondrial DNA in honeybee populations (*Apis mellifera* L.) from the Tomsk region. *Russian Journal of Genetics*, 51(1), 80-90, doi: <https://doi.org/10.1134/S102279541501010X>
- Oyerinde, A., Salako, E., & Rabi, M. (2017). Morphometric taxonomy of honeybee races of *Apis mellifera* L. in Kaduna state. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(5), 825-829. Recuperado el 23 de marzo de 2019, de: <http://www.entomologyjournal.com/archives/2017/vol5issue5/PartK/4-3-187-692.pdf>
- Pétek-Zakar, E., Oleksa, A., Borowik, T., & Kusza, S. (2015). Population structure of honey bees in the Carpathian Basin (Hungary) confirms introgression from surrounding subspecies *Ecology and Evolution*, 5(23), 5456-5467, doi: <https://doi.org/10.1002/ece3.1781>
- Pinto, M. A., Henriques, D., Chavez-Galarza, J., Kryger, P., Garnery, L., van der Zee, R.,... Johnston, J. S. (2014). Genetic integrity of the Dark European honey bee (*Apis mellifera mellifera*) from protected populations: a genome-wide assessment using SNPs and mtDNA sequence data. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 269-278, doi: <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.08>
- Portman, Z. M., Tepedino, V. J., Tripodi, A. D., Szalanski, A. L., & Durham, S. L. (2018). Local extinction of a rare plant pollinator in Southern Utah (USA) associated with invasion by Africanized honey bees.

- Biological invasions*, 20(3), 593-606, doi: <https://doi.org/10.1007/s10530-017-1559-1>
- Qubaiová, J., Růžička, J., & Šípková, H. (2015). Taxonomic revision of genus *Ablattaria* Reitter (Coleoptera, Silphidae) using geometric morphometrics. *ZooKeys*, (477), 79-142, doi: <https://doi.org/10.3897/zookeys.477.8446>
- Rangel, J., Giresi, M., Pinto, M. A., Baum, K. A., Rubink, W. L., Coulson, R. N., & Johnston, J. S. (2016). Africanization of a feral honey bee (*Apis mellifera*) population in South Texas: does a decade make a difference? *Ecology and Evolution*, 6(7), 2158-2169, doi: <https://doi.org/10.1002/ece3.1974>
- Rohlf, F. J., & Marcus, L. F. (1993). A revolution morphometrics. *Trends in Ecology & Evolution*, 8(4), 129-132. doi: [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(93\)90024-J](https://doi.org/10.1016/0169-5347(93)90024-J)
- Rortais, A., Arnold, G., Alburaki, M., Legout, H., & Garnery, L. (2011). Review of the DraI COI-COII test for the conservation of the black honeybee (*Apis mellifera mellifera*). *Conserv Genet Resour*, 3(2), 383-391, doi: <https://doi.org/10.1007/s12686-010-9351-x>
- Rúa, P. de la, Jaffé, R., Dall'Olio, R., Muñoz, I., & Serrano, J. (2009). Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie*, 40(3), 263-284, doi: <https://doi.org/10.1051/apido/2009027>
- Rúa, P. de la, Martínez, J., Domingo, O., & Gabaldón, I. (2013). Caracterización molecular de la biodiversidad de la cabaña apícola de la provincia de Albacete. *Revista de Estudios Albacetenses*, (9), 175-196. Recuperado el 6 de abril de 2019, de: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4252286.pdf>
- Ruttner, F. (1988). *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer, Berlin, doi: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-72649-1>
- Ruttner, F. (1992). Natural history of honey bees. Munich, Germany: Ehrenwirth Verlag.
- Ruttner, F., Tassencourt, L., & Louveaux, J. (1978). Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. Material and methods. *Apidologie*, 9(4), 363-381, doi: <https://doi.org/10.1051/apido:19780408>
- Sanford, M. (2006). Africanized honey bee: A biological revolution with human cultural implications. *American Bee Journal*. Recuperado el 5 de febrero de 2019, de: <http://apisenterprises.com/papers.htm/Misc/AHB%20in%20the%20Americas.htm>
- Santana, F. S., Costa, A. H., Truzzi, F. S., Silva, F. L., Santos, S. L., Francoy, T. M., & Saraiva, A. M. (2014). A reference process for automating bee species identification based on wing images and digital image processing. *Ecological Informatics*, 24, 248-260, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2013.12.001>
- Sousa, A. R. S., Araújo, E. D., Gramacho, K. P., & Nunes, L. A. (2016). Bee's morphometrics and behavior in response to seasonal effects from ecoregions. *Genetics and Molecular Research*, 15(2), 1-14, doi: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.150275>
- Strauss, U., Dietemann, V., Human, H., Crewe, R. M., & Pirk, C. W. (2015). Resistance rather than tolerance explains survival of savannah honeybees (*Apis mellifera scutellata*) to infestation by the parasitic mite *Varroa destructor*. *Parasitology*, 143(3), 374-387, doi: <https://doi.org/10.1017/S0031182015001754>
- Su, X., Cai, X., & Huang, D. (2018). Taxonomic Ecology of Geometric Morphometry on Classification and Identification of Sphingid Moths (Lepidoptera: Sphingidae). *Ekoloji*, 27(106), 827-835. Recuperado el 15 de marzo de 2019, de: <http://www.ekolojidergisi.com/download/taxonomic-ecology-of-geometric-morphometry-on-classification-and-identification-of-sphingid-moths-5466.pdf>
- Sylvester, H. A., & Rinderer, T. E. (1987). Fast Africanized Bee Identification System (FABIS). *American Bee Journal*, 127(7), 511-516.
- Szalanski, A. L., & Magnus, R. M. (2010). Mitochondrial DNA characterization of Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) populations from the USA. *Journal of Apicultural Research*, 49(2), 177-185, doi: <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.2.06>
- Szalanski, A., & Tripodi, A. (2014). Assessing the Utility of a PCR Diagnostics Marker for the Identification of Africanized Honey Bee, *Apis mellifera* L., (Hymenoptera: Apidae) in the United States. *Sociobiology*, 61(2), 234-236, doi: <http://dx.doi.org/10.13102/sociobiology.v61i2.234-236>
- Takahashi, J.-i., Wakamiya, T., Kiyoshi, T., Uchiyama, H., Yajima, S., Kimura, K., & Nomura, T. (2016). The complete mitochondrial genome of the Japanese honeybee, *Apis cerana japonica* (Insecta: Hymenoptera: Apidae). *Mitochondrial DNA Part B*, 1(1), 156-157, doi: <https://doi.org/10.1080/23802359.2016.1144108>
- Techer, M. A., Clémencet, J., Turpin, P., Volbert, N., Reynaud, B., & Delatte, H. (2015). Genetic characterization of the honeybee (*Apis mellifera*) population of Rodrigues Island, based on microsatellite and mitochondrial

- DNA. *Apidologie*, 46(4), 445-454, doi: <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0335-9>
- Techer, M., Clémencet, J., Simiand, C., Preaduth, S., Azali, H. A., Reynaud, B., & Hélène, D. (2017). Large-scale mitochondrial DNA analysis of native honey bee *Apis mellifera* populations reveals a new African subgroup private to the South West Indian Ocean islands. *BMC genetics*, 18(1), 53, doi: <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0520-8>
- Tibatá, V. M., Arias, E., Corona, M., Ariza Botero, F., Figueroa-Ramírez, J., & Junca, H. (2018). Determination of the Africanized mitotypes in populations of honey bees (*Apis mellifera* L.) of Colombia. *Journal of Apicultural Research*, 57(2), 219-227, doi: <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1409065>
- Torcida, S., & Perez, I. S. (2012). Análisis de Procrustes y el estudio de la variación morfológica. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 14(1), 131-141. Recuperado el 15 de marzo e 2019, de: <https://revistas.unlp.edu.ar/raab/article/view/537>
- Valido, A., Rodríguez-Rodríguez, M. C., & Jordano, P. (2014). Impacto de la introducción de la abeja doméstica (*Apis mellifera*, Apidae) en el Parque Nacional del Teide (Tenerife, Islas Canarias). *Revista Ecosistemas*, 23(3), 58-66, doi: <https://doi.org/10.7818/ECOS.2014.23-3.08>
- Verde, M. M. (2014). Apicultura y seguridad alimentaria. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48(1), 25-31. Recuperado el 23 de marzo de 2019, de: <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193030122008.pdf>
- Wallberg, A., Han, F., Wellhagen, G., Dahle, B., Kawata, M., Haddad, N.,... Rúa, P. de la (2014). A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature Genetics*, 46(10), 1081-1088, doi: <https://doi.org/10.1038/ng.3077>
- Whitfield, C., Behura, S., Berlocher, S., Clark, A., Johnston, S., Sheppard, W.,... Tsutsui, N. (2006). Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science*, 314(5799), 642-645, doi: <https://doi.org/10.1126/science.1132772>
- Winston, M. (1992). Killer bees. The Africanized honey bee in the Americas. Cambridge, Massachusetts, USA: Harvard University Press.
- Wu, M.-C., Lu, T.-H., & Lu, K.-H. (2017). PCR-RFLP of mitochondrial DNA reveals two origins of *Apis mellifera* in Taiwan. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 1069-1074, doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.008>
- Zelditch, M., Swiderski, D., Sheets, D., & Fink, W. L. (2004). Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer: Academic Press.
- Zhao, W., Tan, K., Zhou, D., Wang, M., Cheng, C., Yu, Z.,... He, S. (2014). Phylogeographic analysis of *Apis cerana* populations on Hainan Island and southern mainland China, based on mitochondrial DNA sequences. *Apidologie*, 45(1), 21-33, doi: <https://doi.org/10.1007/s13592-013-0223-8>