



Comparación biométrica de abejas (*Apis mellifera*) con diferencias fenotípicas en la coloración del abdomen

Lugo Garrido, S.¹

¹Escuela de Apicultura Cabildo de Gran Canaria - Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. E-mail: apiscrea@gmail.com

RESUMEN

La abeja (*Apis Mellifera*) abarca aproximadamente 30 subespecies reconocidas, sus características definen las razas puras y la hibridación de una reina con zánganos de distintas razas da lugar a abejas obreras con alteraciones. Un tipo de alteración se asocia a la coloración del abdomen. Muchos apicultores definen una colmena hibridada cuando existe un porcentaje alto de abejas obreras con el abdomen amarillo dentro de una misma colonia. Esta alteración se presenta diferente a la normalidad de la colonia y coincide con el desagrado de los apicultores, ya que sus intenciones es preservar una raza pura local. Se analizaron alas de abejas obreras intentando correlacionar esta alteración con la coincidencia racial y el índice cubital. Los resultados nos hacen inducir que el carácter fenotípico del abdomen amarillo no se correlaciona con los análisis biométricos e índices cubitales en las abejas estudiadas.

INTRODUCCIÓN

La abeja (*Apis mellifera*) también conocida como abeja europea o abeja doméstica es una especie con aproximadamente 30 subespecies reconocidas (Ruttner, 1988) y distribuidas en casi todo el planeta. Dentro de las subespecies, también hay ecotipos y líneas de reproducción o líneas puras que preservan los rasgos genéticos manifestados en las abejas. La identificación de las subespecies y el origen de la misma es relativamente complicada porque las diferencias entre ellas son pequeñas y el alto grado de hibridación o mestizaje en una misma colonia complica la definición de una raza pura en concreto. Se han utilizado muchos rasgos morfológicos que ayudan a definir las subespecies diferentes, incluyendo la venación del ala y la pigmentación del abdomen (Ruttner et al., 1978; Ruttner 1988). Estas diferencias entre otras distribuyen las abejas en diferentes linajes. Por ejemplo, una abeja amarilla podría ser *Apis m. lingüística* perteneciente al linaje C y una abeja negra podría ser *Apis m. melífera* o *Apis m. ibérica* del



linaje M o *Apis m. intermisa* del linaje A según sus estándares entre las demás razas.

Actualmente en las Islas Canarias existen estudios con el fin de definir una raza predominante o un ecotipo local, buscando unas características propias y concretas en la Abeja Negra Canaria, descartando así la coloración amarilla, el gran porte y el grado alto de agresividad de otras razas u híbridos de abejas. Muchas investigaciones han revelado que el primer par de alas de las abejas obreras puede ser una herramienta confiable para determinar el origen racial (Du Praw, 1964; Ruttner, 1978, 1988; Kauhausen-Keller Y Keller, 1994). Se recomienda la medición de 10 alas de obreras y de cinco colonias por apiario (Radloff et al., 2003). El estudio de las alas se usa por la gran información que abarca, porque es un método que puede dar medidas automáticas y porque es un análisis bidimensional.

Los métodos más usados se basan en el análisis de los ángulos y las longitudes de las venaciones en el ala (Padilla Álvarez *et al.*, 2001; Szymula *et al.*, 2010). Estas mediciones biométricas pueden ser analizadas mediante software informáticos (Batra, 1988; Bookstein, 1991; Rohlf, 2005; Tofilski, 2004; ApiClass, 2008) o de forma manual, en el que se incluyen el índice cubital (Samborski, 2002).

El objetivo de este estudio pretende correlacionar la alteración fenotípica amarilla presente en el abdomen de las abejas con un análisis biométrico e índice cubital de las alas de abejas obreras.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Muestras

En este estudio se analizaron 144 muestras de 6 colonias de abejas. Estas colonias estaban situadas en tres municipios de la isla de Gran Canaria. Las muestras consistían en abejas obreras y se recogieron manualmente, diferenciando los individuos aparentemente no alterados y los alterados fenotípicamente por la coloración del abdomen. En total 24 individuos por colonia; 12 aparentemente de coloración negra y 12 de coloración negra alterada por rasgos amarillos. Se conservaron en alcohol al 96% hasta su futura preparación y análisis.

2. Morfometría del ala

Se diseccionó el ala anterior derecha de cada individuo. Las muestras se colocaron en portaobjetos y fijadas por cinta transparente (Yu et al., 1992; Kokko et al., 1996) siendo un método rápido y fácil, además el remontaje es posible si el ala necesita limpiarse de polvo o suciedad. Las alas fueron escaneadas con un escáner modelo *reflecta x7-Scan* equipado con un sensor de diapositiva CMOS. La resolución de las imágenes fue de 3200 dpi

con 14 mio. píxeles para su análisis. La fotografía resultante se analizó por dos métodos analíticos; ApiClass e índice cubital.

2.1 ApisClass

Este método analítico consiste en el análisis informático del software Apiclass (ApiClass tpsDig, 2008) dónde analiza automáticamente para cada imagen de ala las 19 coordenadas de las uniones de venas de las alas, lo que permite realizar mediciones completamente automáticas. El análisis de imagen se realiza en dos pasos principales: el primer paso es la detección del contorno de ala y el segundo paso es la detección de la venación del ala. Para ello hay que señalar manualmente tres puntos estratégicos del ala (*Fig. 1*). Las distancias obtenidas son comparadas en la base de datos del software, mostrando así el porcentaje de coincidencia en la forma del ala con las tres razas más relevantes, además indica la coincidencia del linaje al que pertenece. El tiempo aproximado de análisis para cada ala es de 40 segundos.

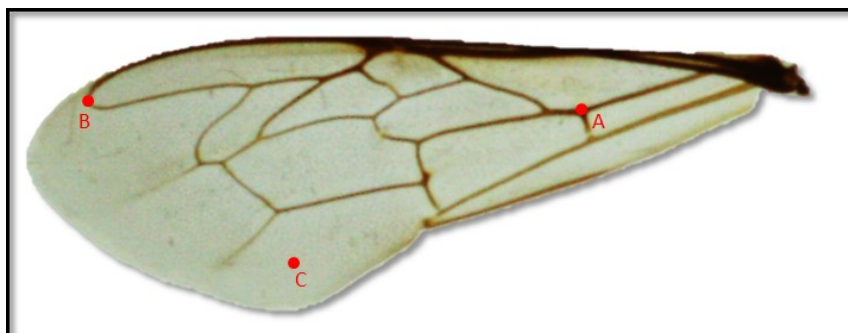


Figura 1. Posiciones en las alas del estudio para el análisis por el método informático ApisClass

2.2 Índice cubital

El índice cubital es el primer análisis discriminante entre abeja negra y abeja amarilla, es un método sencillo y rápido. Este método relaciona (A/B) las longitudes de dos segmentos del ala de la abeja (*Fig. 2*) y es capaz de diferenciar que cuando el valor resultante sea de 1.40 a 2.10 pertenece a abeja negra y cuando sea de 2.00 a 2.70 pertenece a abeja italiana (amarilla). Las mediciones manuales fueron realizadas por una única persona sin experiencia y la precisión se midió como las dos distancias medidas entre los puntos que llegan al cruce (*Fig. 2*). Los resultados se presentan en porcentajes y medias con sus desviaciones estándar. El tiempo aproximado de análisis para cada ala es de 24 segundos.

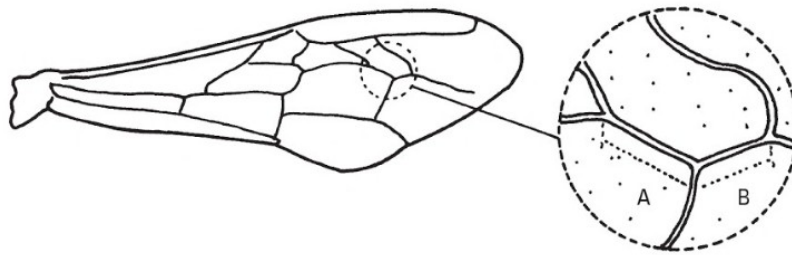


Figura 2. Medidas de referencia (A/B) para el cálculo del índice cubital de cada ala

3. Análisis estadístico

Para determinar las diferencias entre las colmenas se realizó una comparación de medias (ANOVA de un factor) y un modelo lineal general univariante (para porcentajes raciales de ApisClass y medias de índice cubital) con un factor fijo; individuos de abeja negra o abeja negra con alteraciones de pigmentación amarilla en el abdomen. Se utilizó el test de *Duncan* para las comparaciones múltiples de medias. Todos los análisis fueron realizados con el programa estadístico SPSS (Versión 22, Inc, IL, USA) contrastando las hipótesis a un 5% de nivel de significación ($P\text{-valor} < 0.05$). Los porcentajes y gráficos se realizaron con Microsoft Excel.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los análisis por el método ApisClass incluyen mayoritariamente, a tres razas de abejas; *Apis m. intermissa*, *Apis m. mellifera* y *Apis m. iberiensis* mientras que el grupo minoritario incluye a las razas *Apis m. anatoliaca*, *Apis m. caucásica* y *Apis m. ligústica* entre otras.

Las **figuras 3 y 4** muestran la relación de porcentajes obtenidos del análisis de las diferentes colonias estudiadas por el método ApisClass. Los datos de la figura 3 corresponden a alas de abejas obreras fenotípicamente de abdomen negro mientras que los de la figura 4 a las alas de las abejas obreras fenotípicamente alteradas con rasgos amarillos en la coloración del abdomen.

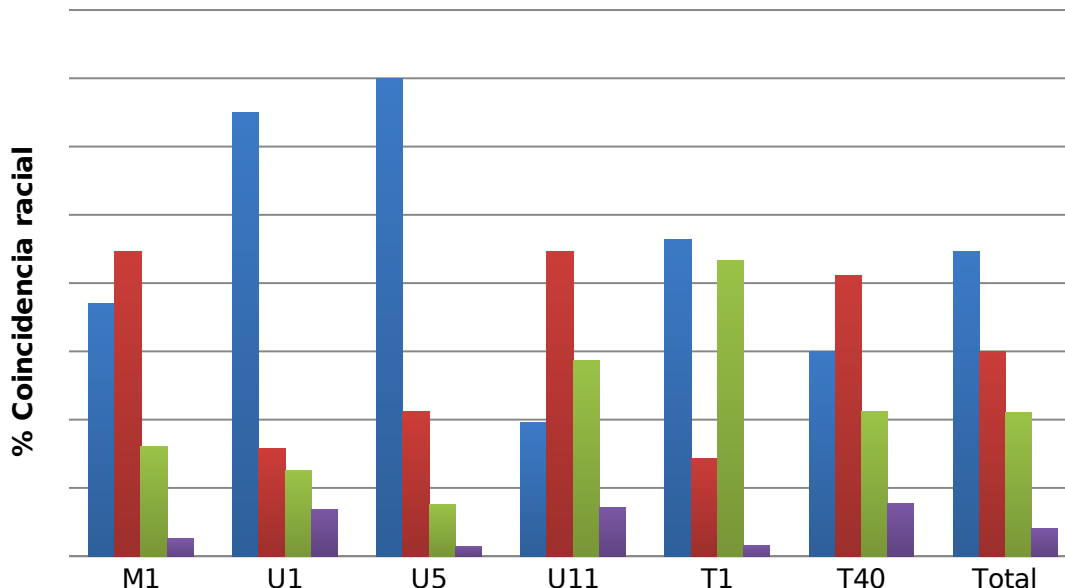


Figura 3. Porcentajes de coincidencia racial de las abejas negras analizadas en ApisClass

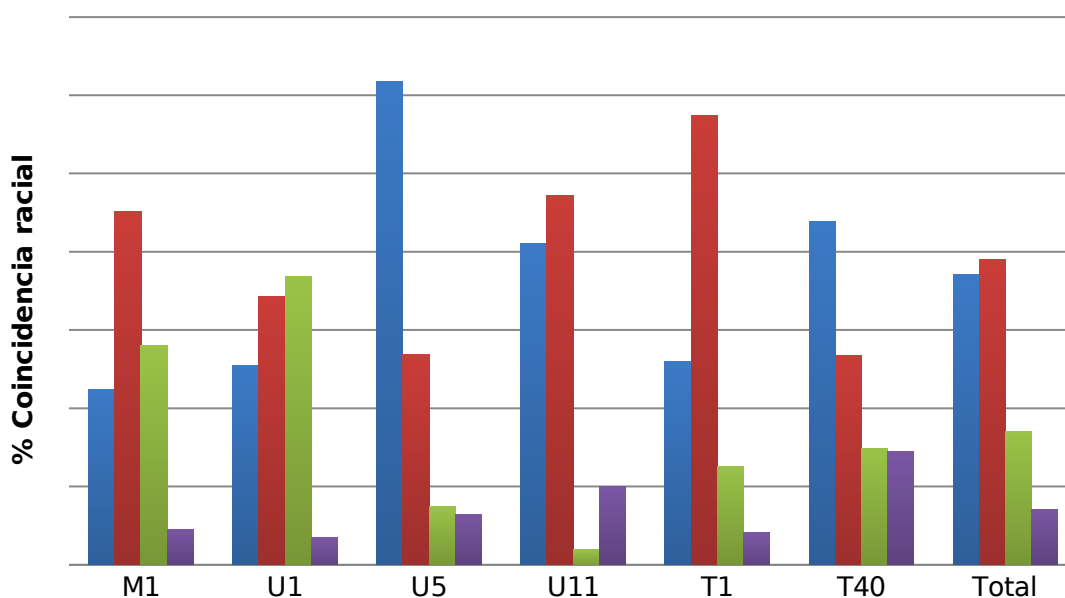


Figura 4. Porcentajes de coincidencia racial de las abejas con alteracion amarilla analizadas en ApisClass

Las **tablas 1 y 2** muestran las diferencias significativas entre los resultados obtenidos. Se observa que ni para las abejas negras ni para las abejas con alteración amarilla en el abdomen existe correlación con las subespecies obtenidas del análisis de ApisClass. El valor de cada subespecie no depende de la colonia, además no indica que el carácter fenotípico dependa de una subespecie concreta. Es decir, estadísticamente todas las abejas analizadas muestran las mismas coincidencias raciales con las tres subespecies mayoritarias



Tabla 1 - Comparación entre los resultados raciales de las abejas fenotípicamente negras.

Colmena	ABEJA NEGRA			
	<i>Apis m. intermissa</i>	<i>Apis m. mellifera</i>	<i>Apis m. iberiensis</i>	Otras <i>Apis m.</i>
M1	37 ^{abc}	45 ^{ab}	16 ^{ab}	3 ^a
U1	65 ^{cd}	16 ^a	13 ^{ab}	7 ^{ab}
U5	70 ^d	21 ^a	8 ^a	1 ^a
U11	20 ^a	45 ^{ab}	29 ^{ab}	7 ^{ab}
T1	46 ^{abcd}	14 ^a	43 ^b	2 ^a
T40	30 ^{ab}	41 ^{ab}	21 ^{ab}	8 ^{ab}

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Tabla 2 - Comparación entre los resultados raciales de las abejas fenotípicamente alteradas con coloración amarilla en el abdomen.

Colmena	ABEJA ALTERACIÓN AMARILLA			
	<i>Apis m. intermissa</i>	<i>Apis m. mellifera</i>	<i>Apis m. iberiensis</i>	Otras <i>Apis m.</i>
M1	22 ^a	45 ^{ab}	28 ^{ab}	5 ^a
U1	26 ^a	34 ^{ab}	37 ^b	3 ^a
U5	62 ^{bcd}	27 ^{ab}	7 ^a	6 ^{ab}
U11	41 ^{abcd}	47 ^{ab}	2 ^a	10 ^{ab}
T1	26 ^a	57 ^b	13 ^{ab}	4 ^a
T40	44 ^{abcd}	27 ^{ab}	15 ^{ab}	15 ^b

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Los resultados obtenidos de los índices cubitales se distribuyeron en tres grupos. El primer grupo corresponde a valores inferiores a dos. Este grupo es el mayoritario y la hipótesis es que pertenezca a abejas negras. El segundo grupo incluye aquellos valores donde el índice cubital está entre 2 y 2,1. La hipótesis es que centre a abejas negras aunque pueda albergar alguna fenotípicamente amarilla debido a las medidas tan ajustadas, que podrían recabar en un error de análisis manual por las posiciones de medida. El último grupo es para los índices cubitales mayores de 2,1 en el cual la hipótesis es que abarque a las abejas amarillas o para este estudio las abejas alteradas fenotípicamente con rasgos amarillos en el abdomen. La **tabla 3** muestra estos resultados y se observa que prevalece las medidas de índice cubital menor a 2. Además hay una clara diferencia en índices cubitales mayores a 2,1 entre abejas negras y abejas alteradas fenotípicamente con coloración amarilla. En general las abejas negras presentan los índices cubitales más altos.



Tabla 3 - Relación de porcentajes de los diferentes índices cubitales de las abejas estudiadas.

Colmena	ABEJA NEGRA			ABEJA ALTERACIÓN AMARILLA		
	% IC <2.0	% IC 2-2.1	% IC >2.1	% IC <2.0	% IC 2-2.1	% IC >2.1
M1	100	-	-	100	-	-
U1	41,7	33,3	33,3	83,3	16,7	-
U5	33,3	16,7	50	66,7	16,7	16,7
U11	75	16,7	8,3	100	-	-
T1	66,7	25	8,3	91,7	8,3	-
T40	66,7	8,3	25	100	-	-
Total	63,9	16,7	20,8	90,3	6,9	2,8

*Los datos se muestran en tanto por cien

La **tabla 4** muestra el análisis estadístico de los índices cubitales obtenidos en este estudio. Se observan las medias de cada colonia con sus desviaciones estándar. Además se observa que no existen grandes diferencias significativas entre los dos grupos de abejas de una misma colonia, salvo la colmena U1 y U5. Estas diferencias corresponden al número elevado de abejas con índices cubitales altos que mayoritariamente se presentan en las abejas negras.

Tabla 4 - Comparación entre los resultados de las medias del índice cubital de las abejas estudiadas.

Colmena	ABEJA NEGRA	ABEJA ALTERACIÓN AMARILLA
	Media IC	Media IC
M1	1,711±0.201 ^{bc}	1,748±0.181 ^{bcd}
U1	2,034±0.242 ^e	1,795±0.183 ^{bcd}
U5	2,071±0.188 ^e	1,904±0.213 ^{cde}
U11	1,753±0.273 ^{bcd}	1,524±0.154 ^a
T1	1,914±0.215 ^{de}	1,838±0.139 ^{cd}
T40	1,780±0.322 ^{bcd}	1,626±0.616 ^{ab}

*Letras diferentes en la misma línea o columna indican diferencias significativas

($P < 0,05$)

DISCUSION

Las alas parecen ser la mejor estructura morfológica para la identificación automática de insectos. Los resultados que se obtienen difieren mucho más entre las especies que entre las subespecies, incluso dentro de las especies la variación es lo suficientemente grande como para distinguir las diferentes subespecies (Daly y Balling, 1978) utilizando los caracteres morfológicos.



Una subespecie pura puede clasificarse erróneamente con híbridos pero nunca con la otra subespecie pura. Además estos caracteres morfológicos también son más adecuados para distinguir ecotipos dentro de subespecies (Strange et al., 2008).

Las medidas de morfometría en las alas son relativamente baratas y accesibles, por lo tanto, pueden ser una alternativa a los métodos moleculares en proyectos dirigidos a la protección de la abeja local. Este método rápido y a la vez preciso está disponible no solo para los científicos sino también para los apicultores (Tofilski, 2004, 2007; Baylac et al., 2008; Francoy et al., 2008). La morfología de un individuo no es solo por su composición genética sino también por influencias ambientales (Daly et al., 1995; McMullan y Brown, 2006). Por lo que, los marcadores morfológicos son más variables que un estudio de marcadores moleculares o mitocondriales.

Aunque en este estudio no existan diferencias significativas, en los resultados generales destaca una mayor presencia de *Apis m. intermissa* en las abejas negras, esta correlación puede estar influenciada por el aumento de un 3% de otras *Apis m.* que existe en los análisis de abejas fenotípicamente con abdomen amarillo, la cual dependería de un porcentaje mayor de abejas foráneas de origen italiano. Sería interesante demostrar este punto en estudios posteriores, para ello se necesitará un mayor número de muestras y ampliar el perímetro y número de colonias a analizar.

Los valores obtenidos con la variable del índice cubital a/b podrían explicar el origen de las abejas pero debido al comercio de las abejas y a la apicultura migratoria, los rangos naturales de las subespecies son cada vez más perturbados (De la Rúa et al., 2009.) Por lo que la variación de coeficiente en las muestras de este estudio dificulta definir un prototipo y generalizar un estándar concreto dentro de las abejas analizadas. Estudios de Padilla Álvarez et al. (1997) indican índices cubitales de rangos entre 1,44 y 1,6 en abejas negras de la isla de La Palma apoyando su hipótesis inicial de un origen diferente a las abejas españolas (*Apis m. iberiensis*) comparado con los estudios de Padilla et al. (1992) y Cornuet y Fresnaye (1989) donde los rangos fueron mayores; valores comprendidos entre 1,5 y 1,7. Rutner (1975 y 1988) describe para la raza *A. m. intermissa* unos valores del índice cubital de 2,32 y 2,33 mientras que Grissa et al. (1990) estiman en 2,26. Lo cual hace indicar que corresponde a abeja amarilla cuando realmente *Apis m. intermissa* corresponde a una raza de abeja negra, por lo que el estudio del índice cubital está pensado para la discriminación de las abejas en el continente Europeo donde subespecies de abejas amarillas y origen italiano; *Apis m. ligústica* y *Apis m. carnica* muestran índices cubitales de 2 a 2,7 y de 2,4 a 3 respectivamente mientras que el resto de subespecies de abejas negras poseen unos índices cubitales inferiores a 2 (Ruttner, 1988).



Por ello la explicación a los resultados y caracteres variados en este estudio nos hace indicar que en lugares como las Islas Canarias, los procesos intrínsecos y la influencia del entorno, durante el desarrollo de la abeja a lo largo de la evolución establecen patrones de metilación y otras modificaciones epigenéticas heredables, dando lugar al epigenotipo que determina los patrones de expresión génica y en consecuencia el fenotipo, independientemente de que se presente en el abdomen la coloración negra o la alteración amarilla. Sería interesante definir un estándar de la abeja en las islas, ya que estos factores ambientales y nutricionales de la flora autóctona existente también pueden intervenir en la preservación de estos patrones y por tanto influyendo en los fenotipos, no así incluyendo la coloración del abdomen.

CONCLUSIONES

1. El carácter fenotípico de la coloración del abdomen en casos de hibridación no depende de una subespecie concreta o de los valores de índice cubital.
2. El fenotipo de una abeja obrera dependerá fundamentalmente de los procesos intrínsecos y la influencia del entorno durante generaciones.
3. Los resultados de este estudio inducen a pensar que las abejas obreras estudiadas forman parte de un ecotipo local y no de una raza ya descrita.

AUTOR

Saúl Lugo Garrido es un joven apicultor con seis años de experiencia en el sector, destaca por su titulación de Experto Universitario en Apicultura (Cabildo de Gran Canaria y Universidad de Las Palmas de Gran Canaria), la primera titulación de este tipo en España. Desarrolló su trabajo final en estudios morfológicos de la abeja local. Su idea principal surgió para intentar dar respuesta de por qué en colonias de abejas locales aparecían abejas con alteración fenotípica amarilla en el abdomen, nada deseable para esos apicultores que desean conservar una raza predominante o ecotipo local, buscando unas características propias y concretas en la Abeja Negra Canaria.

Saúl además es cofundador de la empresa apícola ApisCrea S.L. dónde además de subproductos apícolas invierte parte de su tiempo en la cría de reinas y la divulgación y formación en centros escolares o público en general, apoyando el desarrollo y la abeja local. Sus explotaciones apícolas se concentran principalmente en el norte de la isla de Gran Canaria aprovechando floraciones desde la costa hasta los 1.300 metros de altitud.



BIBLIOGRAFÍA

- ApiClass. (2008) Plate-forme de Morphométrie du Muséum national d'Histoire Naturelle. tpsDig (<http://apiclass.mnhn.fr/>).
- Batra, S.W.T. (1988) Automatic image analysis for rapid identification of Africanized honey bees. In *Africanized Honey Bees and Bee Mites* (ed G.R. Needham), Ellis Horwood, Chichester, UK, pp. 260-263.
- Baylac, M., Garnery L., Tharavy D., Pedraza-Acosta J., Rortais A., et al. (2008) ApiClass, an automatic wing morphometric expert system for honeybee identification.
- Comuet. J.M. y Fresnaye, J. 1989. Etude biométrique de colonies d'abeilles d'Espagne et du Portugal. *Apidology*, 20:93-101.
- Daly, H.V., Danka, R.G., Hoelmer, K., Rinderer, T.E., Buco, S.M. (1995) Honey bee morphometrics: linearity of variables with respect to body size and classification tested with European worker bees reared by varying ratios of nurse bees. *J. Apic. Res.* 34, 129-145.
- Daly, H.V. and Balling, S.S. (1978) Identification of Africanized honeybees in the Western Hemisphere by discriminant analysis. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 51: 857-869.
- De la Rúa, P., Jaffé, R., Dall'Olio, R., Muñoz, I., Serrano, J. (2009) Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie* 40, 263-284.
- Du Praw, E. J. (1964) Non Linnean taxonomy. *Natura*, 202 (935): 849-852.
- Francoy, T.M., Prado, P.R.R., Goncalves, L.S., Costa, L.F., DeJong, D. (2006) Morphometric differences in a single wing cell can discriminate *Apis mellifera* racial types. *Apidologie* 37, 91-97.
- Grissa, K., Comuet, J.M., Msadda, K. et Fresnaye, J. 1990. Étude biometrique de populations d'abeilles tunisiennes. *Apidologie*, 21:303-310.
- Kauhausen-keller D. y Keller, R., 1994. Morphometrical control of pure breeding in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 25: 133-143.
- McMullan, J.B., Brown, M.J.F. (2006) The influence of small-cell brood combs on the morphometry of honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie* 37, 665-672.
- Padilla F., Puerta, F., Flores, J. M. y Bustos, M. 1992. Morphometric study of andalusian bees *Archivos de Zootecnia*, 41: 363-370.
- Padilla Álvarez F., Puerta Puerta, F., Flores Serrano, J. M., Bustos Ruiz, M. y Hernández Fernández, R 1997. Estudio biométrico de las abejas domésticas de La Palma. (I. proboscis, pata posterior, índice cubital a/



- b, 3º y 4º terguito y 3º y 4º esternito). *Archivos de Zootecnia*, 46: 21-30.
- Padilla Álvarez F., Hernández Fernández, R., Reyes López, J., Puerta Puerta, F., Flores Serrano, J. M. y Bustos Ruiz, M., 1998. Estudio morfológico de las abejas melíferas del Archipiélago Canario (Gran Canaria, Tenerife, La Palma, Gomera). *Archivos de Zootecnia*, 47: 451-459.
- Padilla Álvarez F., Valerio Da Silva, M.J., Campano Cabanes, E., Jiménez Vaquero, F., Puerta Puerta, F., Flores Serrano, J. M. y Bustos Ruiz, M., (2001). Estudio biométrico de poblaciones de abejas (*Apis mellífera* L.) del centro de Portugal y de Madeira. *Archivos de Zootecnia*, 50: 67-77.
- Rensch B (1939) Klimatische Auslese von Gröbenvarianten. *Arch Naturgesch NF 8*, 98-120.
- Rohlf, F.J. (2004) tpsDig, (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>).
- Ruttner, F. (1988) Biogeography and taxonomy of honey bees. Springer, Berlin.
- Ruttner, F., Tassencourt, L., Louveaux, J. (1978) Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. *Apidologie* 9, 363-381.
- Samborski J, Prabucki J., Chuda-Mickiewicz B., Peruzynski G. (2002) Operation rate and sensivity of devices used for determining cubital index value. *J. Apic. Sci.*, 46(2): 35-47.
- Strange, J., Garnery, L., Sheppard, W. (2008) Morphological and molecular characterization of the Landes honey bee (*Apis mellifera* L.) ecotype for genetic conservation. *J. Insect Conserv* 12, 527-537.
- Szymula J., Skowronek, W. and Bienkowska, M. (2010) Use of various morphological traits measured by microscope or by computer methods in the honeybee taxonomy. *Journal of Apicultural Science*. 54(2):91-96.
- Radloff, T.D., y Evans, N., (2003) The Social Construction of Prejudice among Black and White College Students, *NASPA Journal*, 40:2, 1-16.
- Tofilski, A. (2004) DrawWing, a program for numerical description of insect wings. *J. Insect Sci.* 4, 17.
- Tofilski, A. (2007) Automatic measurements of honeybee wings. In: MacLeod, N. (ed.) Automated object identification in systematics: theory, approaches, and applications, pp. 289-298. CRC Press, Boca Raton, Florida.



Yu, D.S., Kokko, E.G., Barron, J.R., Schaalje, G.B. and Gowen, B.E. (1992)
Identification of ichneumonid wasps using image analysis of wings.
Systematic Entomology, 17: 389-395.