

CARACTERIZACIÓN DE LA ABEJA MELÍFERA EN LA PROVINCIA DE HUESCA

Jesús YÁÑIZ¹
Ernesto ÁNGEL²
Pablo MARTÍN-RAMOS³
Ester SALES³
Pilar SANTOLARIA¹

RESUMEN.— El objetivo principal de este artículo fue realizar una caracterización de las abejas melíferas en Huesca como paso necesario para fomentar la conservación de las variedades autóctonas. Para ello se recogieron muestras de abejas obreras de 35 apiarios de diferentes comarcas oscenses y se analizó la morfometría geométrica de las venas alares. Los resultados mostraron que existe una diferenciación morfométrica muy clara entre la abeja negra ibérica y el resto de razas que se están introduciendo en nuestra región. Entre las explotaciones con abejas ibéricas analizadas, se encontraron diferencias morfométricas en algunos colmenares, en unos casos por una probable hibridación con abejas alóctonas y en otros probablemente

Recepción del original: 10-1-2017

¹ Grupo de Investigación Tecnogam. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto de Ciencias Ambientales (IUCA). Escuela Politécnica Superior de Huesca. Universidad de Zaragoza. Carretera de Cuarte, s/n. E-22071 HUESCA. jyaniz@unizar.es, psantola@unizar.es

² eangelb@gmail.com

³ Grupo de Investigación Tecnogam. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto de Ciencias Ambientales (IUCA). Escuela Politécnica Superior de Huesca. Universidad de Zaragoza. Carretera de Cuarte, s/n. E-22071 HUESCA. pmr@unizar.es, esales@unizar.es

asociadas a la presencia de diferentes líneas genéticas dentro de la abeja negra autóctona. Estos resultados se ampliarán en futuros estudios, aumentando el número de colmenares e introduciendo métodos de genética molecular.

ABSTRACT.— The main objective of this work was to perform a characterization of honey bees in Huesca as a necessary step to promote the conservation of native varieties. To this end, samples of worker bees were collected from 35 apiaries from different regions of Huesca and the geometric morphometry of the wing veins was analysed. The results showed that there is a very clear morphometric differentiation between the Iberian black bee and the other breeds that are being introduced into our region. Among the Iberian bees analysed, morphometric differences were found in some apiaries, in some cases by a probable hybridization with non-native bees and in others probably associated with the presence of different genetic lines within the native black bee. These results will be expanded in future studies by increasing the number of apiaries and introducing methods of molecular genetics.

KEY WORDS.— *Apis mellifera iberiensis*, genetic diversity, wing geometric morphometry, subspecies discrimination.

INTRODUCCIÓN

España es el principal país productor de miel en la Unión Europea (UE) y se encuentra entre los doce primeros del mundo. También destaca por superar al resto de países europeos en el número de colmenas (unos 2,3 millones) y de apicultores profesionales (MONTESINOS, 2014). Pero la importancia de la apicultura va mucho más allá de la producción de miel, ya que son los insectos polinizadores más eficaces debido a su número, a los largos vuelos que realizan y a la diversidad de flores que visitan. Las abejas domésticas, que son las únicas que pasan el invierno en comunidad, liban multitud de plantas. Durante la recolección de néctar y polen, polinizan las flores. Esta colaboración entre el reino animal y el vegetal es muy valiosa, puesto que permite la abundancia en frutas y hortalizas y asegura también la biodiversidad floral que nos rodea. Alrededor del 87,5% de las plantas con flores se polinizan gracias a animales (OLLERTON y cols., 2011). Esto incluye tanto especies cultivadas como silvestres y subraya la importancia crucial de las abejas (como uno de los principales polinizadores globales) en el mantenimiento de la producción alimentaria y los ecosistemas de flora silvestre. La polinización animal supone el incremento en frutas o semillas en un 75% de los principales cultivos alimentarios en el mundo (KLEIN y cols., 2007).

La mayor parte de la polinización animal, quizás el 80%, es la realizada por las abejas melíferas (MONTESINOS, 2014). El cálculo más reciente del beneficio económico global de la polinización asciende a un total de 265 billones de euros en productividad debida a la polinización. Como en cualquier valoración de un servicio ecológico, el valor de la polinización es incalculable al resultar irremplazable.

A pesar de su importancia, el número de abejas y otros polinizadores, tanto silvestres como domésticos, parece estar disminuyendo en todo el mundo, en especial, en Norteamérica y Europa. Un fenómeno de reciente aparición es la desaparición inexplicable de grandes poblaciones de abejas en las colmenas, conocida como *Colony Collapse Disorder* (CCD) o *síndrome de despoblamiento de colmenas* (SDC). La mayor parte de esta despoblación abrupta sucede durante el invierno (DAINAT y cols., 2012). En los últimos inviernos, la mortalidad media de las colonias en Europa se sitúa en torno al 20% anual, llegando a superar el 50% en algunos países en años concretos.

Aunque existe cierta unanimidad en que el SDC tiene un origen multifactorial, hay indicios de que la falta de diversidad genética de los linajes más frecuentemente utilizados en apicultura puede jugar un papel relevante (ELLIS y cols., 2010). La falta de diversidad genética hace a las abejas más susceptibles a los pesticidas y enfermedades (agentes nosógenos), que siempre aparecen como elementos determinantes en el SDC. Sin embargo, en la mayor parte de los países desarrollados la industrialización de la apicultura ha provocado una considerable disminución de la variabilidad genética de la especie, ya que los apicultores de todo el mundo prefieren el mismo tipo de abeja: mansa, trabajadora y buena para vivir en colmenas hechas por el hombre. Dos especies europeas, *Apis mellifera ligustica*, de Italia, y *Apis mellifera carnica*, de los Balcanes, son las predominantes en la apicultura en todo el mundo. La consiguiente disminución de la diversidad genética reduce el potencial de la abeja para evolucionar en respuesta al cambio del ambiente (COROIAN y cols., 2014) y, como se ha comentado, las hace más sensibles a los agentes nosógenos.

La evolución de la abeja negra en Europa (*Apis mellifera mellifera*) es muy ilustrativa de la tendencia de la apicultura profesional hacia una menor variabilidad genética. Esta subespecie ocupaba una vasta extensión desde

los Pirineos hasta los Urales, la más amplia de las subespecies europeas (SOLAND-RECKEWEG y cols., 2009). Esta amplia distribución sugiere un gran potencial de adaptación a ambientes variados y cambiantes y la aparición de diferentes ecotipos. Por lo tanto, su protección tiene un gran interés conservacionista (SOLAND-RECKEWEG y cols., 2009). Sin embargo, en los últimos cincuenta años se ha producido la introducción de otras subespecies de abeja en la zona original de *Apis mellifera mellifera*, principalmente por subespecies del sureste europeo (*Apis mellifera carnica* y *Apis mellifera ligustica*). En Alemania, la *Apis mellifera mellifera* fue casi completamente reemplazada por *Apis mellifera carnica*, y en Dinamarca por *Apis mellifera ligustica* (SOLAND-RECKEWEG y cols., 2009). En Francia y otros países se han introducido ambas subespecies, produciéndose hibridaciones con la abeja negra local. En consecuencia, la diversidad natural de las abejas de la miel se está deteriorando rápidamente en Europa (MEIXNER y cols., 2013), lo que conlleva tanto una pérdida de diversidad genética como de adaptaciones específicas a las condiciones locales. Hay bastante consenso sobre la necesidad de identificar estas valiosas variedades regionales para preservar a las abejas adaptadas a nivel local (MEIXNER y cols., 2013).

La península ibérica puede considerarse como una excepción a la tendencia global antes descrita, ya que en ella se ha conservado, con relativamente escasa contaminación genética externa, una subespecie o raza propia, la abeja negra ibérica (*Apis mellifera iberiensis*). Sin embargo, y a pesar de las considerables ventajas de mantener nuestra raza autóctona, en los últimos años se observa una tendencia creciente a la introducción de abejas mejoradas de las subespecies *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera carnica* o derivadas de ellas, lo que supone un riesgo para la conservación de la *Apis mellifera iberiensis*. La hibridación con subespecies foráneas puede amenazar las subespecies nativas cuando los apicultores locales importan y propagan abejas importadas (HOPKINS y cols., 2012). Como ejemplo de esta contaminación externa tenemos el caso de las islas Canarias, en las que se ha descrito una importante hibridación entre las poblaciones de abeja endémica y abejas importadas. En este sentido, la trashumancia en apicultura y la utilización de solo unas pocas subespecies de abeja para su manejo comercial ha sido muy negativo para la conservación de las especies nativas en muchas partes del mundo debido a la fragmentación, hibridación y cría selectiva (SOLAND-RECKEWEG y cols., 2009).

La provincia de Huesca presenta un elevado riesgo de introducción de abejas foráneas. Es una región típicamente receptora de apicultores trashumantes de otras regiones, incluidos apicultores franceses en los últimos tiempos. Esta recepción de abejas de diversas zonas sin ningún control genético implica un riesgo para la abeja local. Recientemente, se ha observado también que algunos apicultores profesionales han optado por la utilización de abejas mejoradas de otras subespecies, con el riesgo consiguiente de hibridación en esas regiones.

El objetivo principal de esta línea de investigación es contribuir al mantenimiento de la abeja autóctona en la provincia de Huesca para afrontar en mejores condiciones los importantes riesgos a los que se enfrenta la apicultura en la actualidad. Para ello es necesario, en primer lugar, realizar una adecuada caracterización de las abejas existentes, lo que constituye el objetivo central de este artículo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo

Para la caracterización se realizó un muestreo de abejas obreras en colmenares de diversas zonas de la provincia. Se realizó una caracterización morfológica y morfométrica y se aisló ADN nuclear y mitocondrial para futuros estudios moleculares.

Se recogieron muestras de abejas obreras de 35 apiarios, la mayoría registrados en el ADS n.º 1 de la provincia de Huesca, principalmente de las comarcas de la Hoya de Huesca, el Somontano de Barbastro y Los Monegros. En cada explotación se muestrearon un mínimo de cinco colonias, 30-40 obreras / colonia recogidas preferiblemente en el interior de la colmena sobre cuadros de puesta. Las obreras se conservaron en 100% etanol en recipientes debidamente identificados hasta su análisis (caracterización morfométrica y aislamiento de ADN). En el momento del muestreo se registró la ubicación exacta del apiario mediante coordenadas GPS y se realizó una encuesta detallada al apicultor para tratar de explicar los resultados obtenidos. También se registraron los detalles morfológicos que se consideraron de interés, tales como el color de las abejas.

Para tener una referencia de las razas importadas más frecuentemente y poder discriminar el grado de hibridación de la abeja local, se muestrearon colmenas de apicultores que crían las razas Buckfast, Italiana y Cárnica, aunque no estuvieran localizados en la zona de estudio del proyecto. La raza Buckfast es una raza sintética, y nuestras observaciones indican que es una de las más frecuentemente introducidas en nuestro país. De esta raza en pureza y de híbridos F1 con la abeja local se tomaron muestras en cuatro colmenares de cuatro apicultores diferentes. De la raza Italiana se tomaron muestras de dos colmenares y de la raza Cárnica de un colmenar.

Caracterización mediante morfometría geométrica

De cada colonia se aislaron ocho obreras, de las que se diseccionó el ala derecha delantera, que se rehidrató en concentraciones decrecientes de etanol (95%, 70%, 50%, 20%) y, finalmente, en agua destilada. El exceso de agua se absorbió cuidadosamente y las alas se colocaron entre un portaobjetos y un cubreobjetos (fig. 1). Las imágenes de las alas se obtuvieron utilizando una cámara fotográfica digital montada sobre un microscopio Leica con un objetivo 1,25X. Las coordenadas de 19 puntos de referencia



Fig. 1. Alas de abeja obrera preparadas para su fotografiado y caracterización morfométrica.

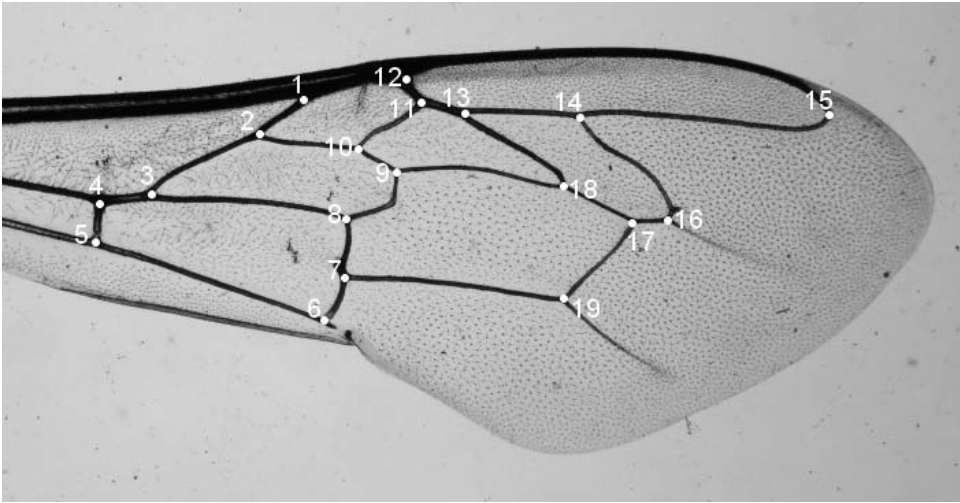


Fig. 2. Localización de los 19 puntos de interés en el ala delantera de la obrera considerados en el análisis de morfometría geométrica.

(*landmarks*) situados en las intersecciones venosas de las alas (fig. 2) se registraron y midieron por duplicado utilizando un *software* específico basado en MATLAB y desarrollado por Ernesto Ángel. En el proceso de medición, las coordenadas de los *landmarks* se superpusieron utilizando la superimposición de Procrustes GLS (*Generalized Least Squares*). Las diferencias de forma se analizaron mediante análisis canónico de varianza (CVA) utilizando el programa libre MorphoJ (disponible en http://www.fly-wings.org.uk/morphoj_page.htm) (MIGUEL y cols., 2011; MEIXNER y cols., 2013; CHARISTOS y cols., 2014).

Diseño experimental

Estudio 1

El primer estudio se diseñó para evaluar la fiabilidad del nuevo *software* desarrollado. Para ello se fotografiaron cien alas con los equipos anteriormente indicados y se evaluó la precisión en el reconocimiento de las intersecciones venosas. Además, se estudió el error de medición (es decir, la variabilidad de la determinación de coordenadas para un ala dada) del *software* en comparación con tpsDig (disponible en <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>)

(ROHLF, 2001). Para ello se realizaron análisis repetidos de la misma imagen de ala (tres alas, 30 repeticiones/ala). La variabilidad de cada coordenada se calculó utilizando coeficientes de variación (CV). Los CV intraala se expresaron como la media de los valores individuales.

Estudio 2

Este estudio se realizó para comparar la morfometría geométrica de diferentes subespecies de abejas y entre colmenares dentro de la *Apis mellifera iberiensis*. Para ello se recogieron las muestras indicadas anteriormente que, además de las abejas negras, incluyeron algunos colmenares conocidos de *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera carnica* y el híbrido Buckfast. Las muestras de las alas se analizaron con el nuevo *software* específico desarrollado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio 1

El nuevo *software* permitió el análisis del 100% de las alas. La precisión de la detección automática de las intersecciones venosas fue del 100% en el 87% de los casos, mientras que la detección falló en un solo punto en el 9%, en dos puntos en el 3%, y en más de dos puntos en el 1% de las muestras analizadas.

La determinación de las intersecciones venosas con el nuevo *software* fue altamente repetible, con coeficientes de variación aún más bajos que los de tpsDig: los CV dentro del ala variaron de 0,06 a 0,12% para el nuevo *software* y de 0,23 a 0,28% para el tpsDig. El tpsDig es el programa más utilizado para el estudio de la morfometría geométrica de las alas (ROHLF, 2001), aunque requiere el trazado manual de todas las intersecciones venosas con un clic del ratón. La principal ventaja de este *software* es su flexibilidad, pero requiere mucha interacción humana que es propensa a errores y problemas de reproducibilidad. El nuevo *software* desarrollado, basado en MATLAB, supone un avance, ya que permite una determinación más rápida y precisa de las intersecciones venosas, que es el mayor factor limitante de los estudios morfométricos a gran escala.

*Estudio 2**Discriminación entre subespecies*

Cuando se estudiaron las diferencias entre subespecies, considerando todas las abejas de manera independiente, los resultados del análisis canónico indicaron que los ejes primero, segundo y tercero explican el

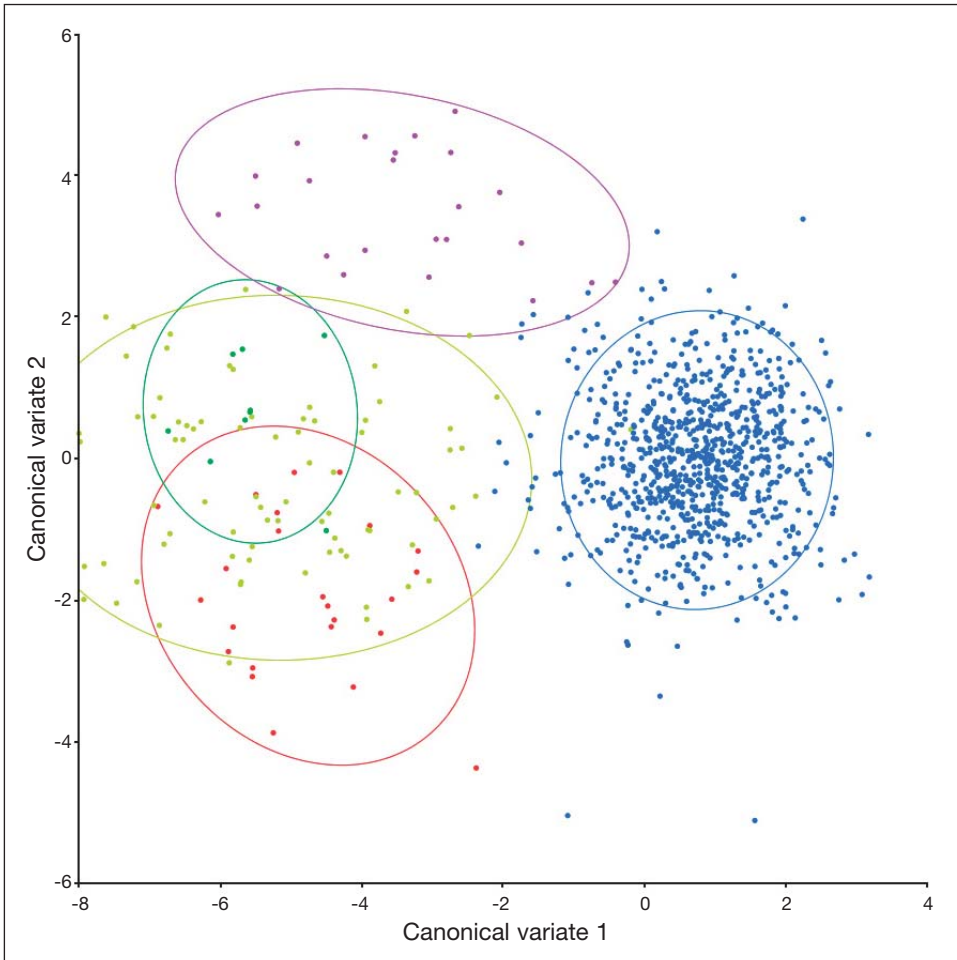


Fig. 3. Diagrama de dispersión de cuatro subespecies de abejas obtenido a partir del análisis canónico de varianza de las coordenadas cartesianas de los puntos de referencia en el ala delantera derecha considerando todos los individuos. Azul: *Apis mellifera iberiensis*; verde oscuro: *Apis mellifera carnica*; violeta: *Apis mellifera ligustica*; verde claro: Buckfast; rojo: F1 Buckfast \times *Apis mellifera iberiensis*.

85,01%, 8,87% y 3,78% de la variación total, respectivamente. El gráfico de dispersión mostró una superposición parcial entre razas Cárnica y Buckfast, aunque la raza Ibérica parece diferenciarse con bastante claridad (fig. 3).

Una vez obtenidas las medias para cada colmena de las coordenadas de las intersecciones venosas de las alas, los resultados del análisis canónico indican que los ejes primero, segundo y tercero explican el 84,74%, 9,87% y 2,89% de la variación total, respectivamente. El gráfico de dispersión demuestra una excelente discriminación de la raza Ibérica con el resto de razas analizadas (fig. 4).

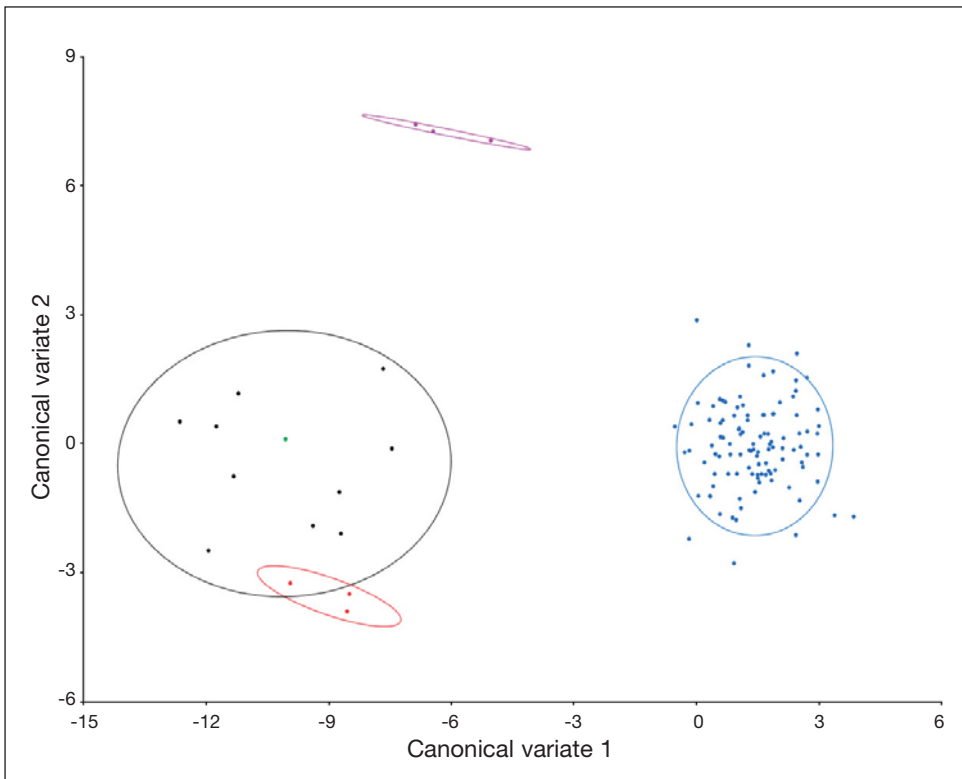


Fig. 4. Diagrama de dispersión de cuatro subespecies de abejas obtenido a partir del análisis canónico de varianza de las coordenadas cartesianas de los puntos de referencia en el ala delantera derecha considerando las medias por colmena. Azul: *Apis mellifera iberiensis*; verde: *Apis mellifera carnica*; violeta: *Apis mellifera ligustica*; negro: Buckfast; rojo: F1 Buckfast \times *Apis mellifera iberiensis*.

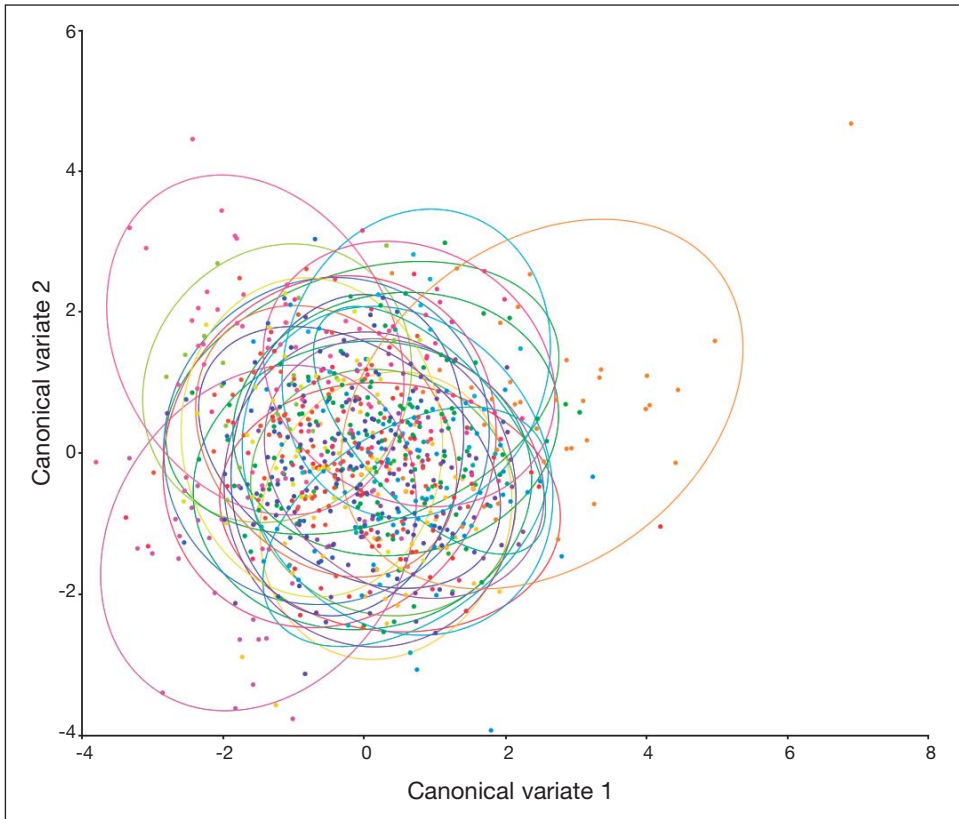


Fig. 5. Diagrama de dispersión de los colmenares de *Apis mellifera iberiensis* obtenido a partir del análisis canónico de varianza de las coordenadas cartesianas de los puntos de referencia en el ala delantera derecha considerando todos los individuos.

Discriminación entre variedades de Apis mellifera iberiensis

Cuando se analizaron los datos de la *Apis mellifera iberiensis* de manera independiente, la discriminación entre colmenares fue poco clara, especialmente cuando se consideraron todos los individuos por separado (fig. 5).

Tras el cálculo de las medias por colmena y posterior análisis, los resultados mostraron la existencia de un colmenar claramente diferenciado del resto a nivel morfométrico, y de diferencias entre colmenares cuando se comparan por parejas (fig. 6). En una de las explotaciones situadas en la periferia de la gráfica se observó la presencia de abejas de color amarillo, lo que viene a indicar una hibridación probable con otra raza, aspecto

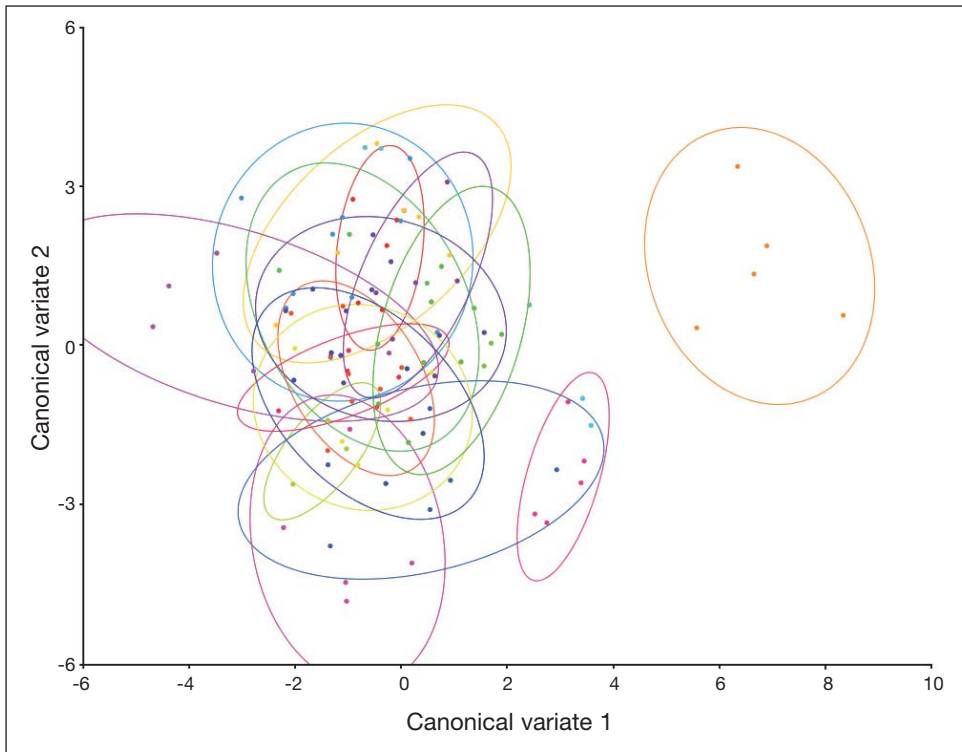


Fig. 6. Diagrama de dispersión de los colmenares de *Apis mellifera iberiensis* obtenido a partir del análisis canónico de varianza de las coordenadas cartesianas de los puntos de referencia en el ala delantera derecha considerando las medias por colmena.

corroborado por el apicultor en la encuesta realizada. La explotación más claramente diferenciada corresponde a un colmenar estante que apenas ha tenido entrada de material genético externo, en la que no se observó la presencia de abejas con alteraciones del color, ni el apicultor indicó la posibilidad de una posible hibridación. En este caso, y en el resto en los que se observaron diferencias entre colmenares, podría tratarse de variantes de la abeja negra ibérica, aunque este aspecto se verificará mediante el estudio del ADN en futuros proyectos.

La abeja melífera de la península ibérica se considera actualmente como una raza o subespecie de *Apis mellifera* (*Apis mellifera iberiensis*) originada a partir de la hibridación natural entre los linajes M del oeste y norte de Europa (*Apis mellifera mellifera*) y del linaje A de África (CÁNOVAS y cols.,

2008). Hay indicios de que abejas del linaje M sobrevivieron en diferentes refugios de la península ibérica y que, en la era posglacial, comenzaron a expandirse hacia el norte. Al mismo tiempo se debieron producir una o varias oleadas colonizadoras de abejas procedentes de África (linaje A), con una hibridación natural entre ambos linajes en nuestro territorio (CÁNOVAS y cols., 2008).

En la actualidad, la abeja negra ibérica presenta un gradiente de variabilidad de sur a norte: las abejas del sur presentan una mayor afinidad con razas del norte de África (linaje A), mientras que las abejas del norte de España se encuentran más próximas a la abeja negra europea *Apis mellifera mellifera* (linaje M) (FLORES y cols., 1998; CÁNOVAS y cols., 2008). Estudios moleculares han demostrado que la península ibérica es la región europea con la mayor diversidad en haplotipos (12 haplotipos detectados del linaje M y 10 del linaje A), probablemente como resultado de la adaptación a las condiciones climáticas regionales (CÁNOVAS y cols., 2008). Esta diversidad constituye un tesoro natural que debemos preservar, no solo por el interés ecológico, sino también porque muestran una mayor capacidad de adaptación a las modificaciones ambientales, por ejemplo, las derivadas del cambio climático, y más posibilidades de afrontar los nuevos desafíos sanitarios a los que se enfrentan las abejas en la actualidad.

Aragón es una de las regiones españolas en las que mejor se ha conservado, sin hibridar, el linaje M de *Apis mellifera iberiensis*. En un estudio realizado a nivel nacional, se observó que Huesca y Zaragoza fueron las únicas provincias en las que solo se detectó la presencia del haplotipo M (CÁNOVAS y cols., 2008). Sin embargo, el número de apiarios y colonias analizado fue muy reducido (6 apiarios y 43 colonias en Huesca), y la situación ha podido modificarse en los últimos años. Las diferencias morfométricas observadas en nuestro estudio podrían indicar la presencia de diferentes linajes dentro de la provincia, aspecto que se analizará con más profundidad en futuros estudios moleculares.

CONCLUSIONES

La metodología desarrollada de morfometría geométrica de las alas, incluyendo *software* específico, permite estudiar la variedad genética de las

abejas. Esta metodología puede resultar muy útil en futuros proyectos de investigación y en trabajos prácticos de selección que se prevén realizar.

Existe una diferenciación morfométrica muy clara entre la abeja negra ibérica y el resto de razas que se están introduciendo en nuestra región, lo que permite una identificación rápida y fiable de la introducción de abejas alóctonas.

Entre las explotaciones con abejas ibéricas analizadas, se encontraron diferencias morfométricas en algunos colmenares, en algún caso como resultado de la hibridación con abejas introducidas. También se han detectado diferentes subpoblaciones de abejas ibéricas, que podrían representar diferentes líneas genéticas.

Este proyecto constituye un primer paso muy importante para la caracterización y conservación de la abeja melífera en la provincia de Huesca, y los resultados obtenidos nos han permitido afrontar nuevos proyectos de I+D+i más amplios utilizando esta raza autóctona.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los apicultores participantes en el estudio su ayuda al proporcionar muestras de abejas y al ADS n.º 1 de Huesca, por su colaboración. Este trabajo fue financiado por una Ayuda a la Investigación del Instituto de Estudios Altoaragoneses en su convocatoria del año 2015.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CÁNOVAS, F., P. DE LA RÚA, J. SERRANO y J. GALIÁN (2008). Geographical patterns of mitochondrial DNA variation in *Apis mellifera iberiensis* (Hymenoptera: Apidae). *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, 46: 24-30.
- CHARISTOS, L., F. HATJINA, M. BOUGA, M. MLADENOVIC y A. D. MAISTROS (2014). Morphological Discrimination of Greek Honey Bee Populations Based on Geometric Morphometrics Analysis of Wing Shape. *J. Apic. Sci.*, 58: 75-84.
- COROIAN, C. O., I. MUÑOZ, E. A. SCHLUNS, O. R. PANITI-TELEKY, S. ERLER, E. M. FURDUI, L. A. MARGHITAS, D. S. DEZMIREAN, H. SCHLUNS, P. DE LA RÚA y R. F. A. MORITZ (2014). Climate rather than geography separates two European honeybee subspecies. *Mol. Ecol.*, 23 (9): 2353-2361.
- DAINAT, B., J. D. EVANS, Y. P. CHEN, L. GAUTHIER y P. NEUMANN (2012). Predictive markers of honey bee colony collapse. *PloS. One*, 7, e32151.

- ELLIS, J. D., J. D. EVANS y J. PETTIS (2010). Colony losses, managed colony population decline, and Colony Collapse Disorder in the United States. *J. Apicult. Res.*, 49: 134-136.
- FLORES, J. M., J. Á. RUIZ, J. M. RUIZ, F. PUERTA, F. CAMPANO, F. PADILLA y M. BUSTOS (1998). Queen rearing of *Apis mellifera iberica*. *Arch. Zootec.*, 47: 347-350.
- HOPKINS, B. K., C. HERR y W. S. SHEPPARD (2012). Sequential generations of honey bee (*Apis mellifera*) queens produced using cryopreserved semen. *Reproduction, fertility, and development*, 24: 1079-1083.
- KLEIN, A. M., B. E. VAISSIERE, J. H. CANE, I. STEFFAN-DEWENTER, S. A. CUNNINGHAM, C. KREMEN y T. TSCHARNTKE (2007). Importance of Pollinators in Changing Landscapes for World Crops. *Proceedings of the Royal Society B*, 274 (1608): 303-313.
- MEIXNER, M. D., M. A. PINTO, M. BOUGA, P. KRYGER, E. IVANOVA y S. FUCHS (2013). Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *J. Apicult. Res.*, 52.
- MIGUEL, I., M. BAYLAC, M. IRIONDO, C. MANZANO, L. GARNERY y A. ESTONBA (2011). Both geometric morphometric and microsatellite data consistently support the differentiation of the *Apis mellifera M* evolutionary branch. *Apidologie*, 42: 150-161.
- MONTESINOS, P. (2014). Situación de la apicultura en España. *Albétar. Portal Veterinario*.
- OLLERTON, E., R. WINFREE y S. TARRANT (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120: 321-326.
- ROHLF, F. J. (2001). *TpsDig: digitize landmarks from image files, scanner, or video*. Department of Evolutionary Biology. University of New York. Stony Brook. NY. USA.
- SOLAND-RECKEWEG, G., G. HECKEL, P. NEUMANN, P. FLURI y L. EXCOFFIER (2009). Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, *Apis mellifera*. *J. Insect. Conserv.*, 13: 317-328.