



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**“DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA PARÁLISIS  
AGUDA ISRAELÍ Y SU INTERACCIÓN CON  
*Varroa destructor* Y *Nosema* spp. EN APIARIOS  
DE MÉXICO”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A**

**ELIZABETH BACILIO LÓPEZ**

**ASESORA:**

Dra. Marisela Leal Hernández

**COASESOR:**

Dr. Víctor Rubén Tenorio Gutiérrez

**Cuautitlán Izcalli, Estado de México 2015**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## *Anoche cuando dormía*

*Anoche cuando dormía soñé, ¡bendita ilusión!,  
que una fontana fluía dentro de mi corazón.*

*Di, ¿por qué acequia escondida, agua, vienes hasta mí,  
manantial de nueva vida de donde nunca bebí?*

*Anoche cuando dormía soñé, ¡bendita ilusión!,  
que una colmena tenía dentro de mi corazón;*

*y las doradas abejas iban fabricando en él,  
con las amarguras viejas, blanca cera y dulce miel.*

*Anoche cuando dormía soñé, ¡bendita ilusión!,  
que un ardiente sol lucía dentro de mi corazón.*

*Era ardiente porque daba calores de rojo hogar,  
y era sol porque alumbraba y porque hacía llorar.*

*Anoche cuando dormía soñé, ¡bendita ilusión!,  
que era Dios lo que tenía dentro de mi corazón.*

*Antonio Machado*

## **AGRADECIMIENTOS**

### **AL INIFAP**

Por abrir sus puertas y permitirme realizar parte de mi trabajo de tesis en sus instalaciones. En especial al piso de Bacteriología. Este trabajo fue financiado con recursos fiscales del INIFAP por el proyecto: “Detección de los virus presentes en abejas (*Apis mellifera*) en las principales zonas apícolas de México”, con número SIGI 15534431993.

### **A MIS ASESORES**

- ✿ Dra. Marisela Leal Hernández
- ✿ Dr. Víctor Rubén Tenorio Gutiérrez

### **A MIS SINODALES**

### **A LAS ABEJAS**

Por su colaboración en el aporte del conocimiento de las enfermedades que las aquejan

### **A LOS APICULTORES**

- ✿ Federico Palma Balderrama
- ✿ MVZ. Ángel López Ramírez
- ✿ Norberto Nicolás Ruíz Retana
- ✿ Rogelio Ruiz Garcés
- ✿ Convento de las Carmelitas descalzas “San José” y la monja Erika Parada Nava
- ✿ Pedro Honorato Rosales
- ✿ Israel Sánchez Chávez
- ✿ A todos los apicultores de los diferentes estados de México, que permitieron la toma de muestras para la realización de este trabajo

### **A MIS COMPAÑEROS DE LABORATORIO**

Camilo, Cindy, Mayrel y Minerva

## DEDICATORIAS

- A mi pá Frank, Patxi MMV el hombre que amo con toda mi alma, corazón y vida, por toda la felicidad que me das, por ser mi profesor, mi maestro de vida, mi mejor amigo, mi amante, mi esposo, mi cómplice, mi todo. Por tu apoyo moral, económico y emocional, ante todo incondicionalmente. Por tomar mi mano y caminar a mi lado en la misma dirección.
- A mis hermosos y amados hijos: Elí Samuel y Patzy Elina, por ser los dos hermosos luceros que yo amo y que iluminan mi cielo.
- A Tita Tilar, mi mamita hermosa por haberme dado la vida y apoyarme por sobre todas las cosas y por todos los sacrificios que has pasado por nosotros.
- A el Viejo, mi padre por enseñarme a tener carácter.
- A mi hermanita Brenda por enseñarme a defender lo que uno es, le pese a quien le pese.
- A Paquito: por esos días que compartimos, por las siestas vespertinas, por las charlas, por las risas, por las lágrimas, por aprender a quererme, por la beca Munguía y todos los aprendizajes...nada es lo mismo sin ti. Sé que desde donde te encuentres te alegras por mí, hoy es el inicio del final de un ciclo. “Hacete duro, muchacho”.
- A toda mi familia Bacilio López y Munguía Villavicencio, a todos los que están y para los que ya se fueron.
- A todos los que contribuyeron en mi formación académica y profesional, profesores inolvidables en mi vida, a mis compañeros de los que aprendí mucho, a las personas que creyeron en mí y me apoyaron con una bata, un overol, unos engargolados, suturas, etc., a mis amigos Martha, Luis y Vicky y todos los amigos que no terminaría de mencionar pero que saben que son importantes en mi vida.
- A la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán mi segundo hogar, mi casa de estudios a la cual le debo el orgullo de tener el Título de MVZ...“Por mi raza hablará el espíritu”.

## CONTENIDO

Índice de figuras .....	3
Índice de tablas .....	4
Abreviaturas .....	5
Resumen .....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
1. MARCO TEÓRICO .....	10
1.1. Abejas.....	10
1.1.1. Situación de la apicultura en México.....	12
1.2. Enfermedades de las abejas.....	15
1.2.1. Enfermedades virales.....	17
1.2.1.1. Virus de la Parálisis Aguda Israelí (VPAI) de las abejas.....	19
1.2.2. Varroosis .....	24
1.2.3. Nosemosis .....	26
JUSTIFICACIÓN .....	29
HIPÓTESIS .....	29
OBJETIVOS.....	30
Objetivo general .....	30
Objetivos particulares.....	30
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
2.1. Muestreo.....	31
2.2. Detección de varroosis .....	32
2.3. Detección de nosemosis .....	33
2.4. Detección del Virus de la Parálisis Aguda Israelí de las abejas .....	35
2.4.1. Obtención de ARN .....	35
2.4.2. Preparación y síntesis del ADNc.....	36
2.4.3. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) .....	37
2.4.4. Electroforesis de los productos de la PCR .....	38
3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	39
3.1. Infestación por <i>Varroa destructor</i> .....	39
3.2. Infección por <i>Nosema</i> spp. ....	42
3.3. RT-PCR para la identificación del VPAI.....	44

3.4. Análisis mediante Ji cuadrada ( $\chi^2$ ) .....	45
4. CONCLUSIONES.....	51
5. REFERENCIAS .....	52
6. GLOSARIO .....	63
ANEXOS .....	66

## Índice de figuras

Figura 1. Representaciones antiguas de la interacción de las abejas con el hombre.....	10
Figura 2. Fases de desarrollo de las castas de las abejas.....	11
Figura 3. Regiones apícolas en México.....	13
Figura 4. Representación esquemática de las vías de transmisión de los virus en las abejas.....	19
Figura 5. Microscopia electrónica de partículas virales del VPAI mostrando partículas virales limpias y uniformes (partículas llenas y vacías) de alrededor de 27 nm. ....	20
Figura 6. Ilustración esquemática del genoma de VPAI.....	20
Figura 7. Patogenicidad del virus inoculado en el laboratorio durante el desarrollo pupal a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas. ....	22
Figura 10. Patrón salteado y perforación de celdas.....	25
Figura 11. Infección de las células del ventrículo (intestino) con <i>Nosema ceranea</i> de una abeja <i>Apis mellifera</i> teñidas con azul de metileno .....	28
Figura 12. a) Colección de abejas en un frasco con alcohol al 70%, b) Trozo de panal con cría .....	31
Figura 13. Extracción de crías operculadas.....	32
Figura 14. Varroas retenidas sobre la tela blanca.....	33
Figura 15. Adecuación del método de Neubauer para el conteo de esporas de <i>Nosema</i> spp. ....	35
Figura 16. Hallazgos encontrados en las muestras de crías operculadas .....	40
Figura 17. Porcentaje de los diferentes niveles de infestación de <i>Varroa destructor</i> en abejas adultas .....	41
Figura 18. Integridad de ARN en gel de agarosa al 1.8% teñido con bromuro de etidio al 1%. Muestras de abejas adultas (a) y crías (b). ....	44
Figura 19. Negativo de un gel de agarosa al 1.8% teñido con bromuro de etidio al 1%.....	45
Figura 20. Dispersión de datos y regresión lineal de las variables de millones de esporas de <i>Nosema</i> spp. y porcentaje de infestación de <i>Varroa destructor</i> .....	50
Figura 21. División del cuerpo de una abeja.....	66
Figura 22. Corte longitudinal de las estructuras internas de una abeja .....	67

## Índice de tablas

Tabla 1. Tabla comparativa de las enfermedades inscritas en el Código Sanitario de la OIE y el Acuerdo donde se enlistan las enfermedades de notificación en México .....	16
Tabla 2. Virus descritos que afectan a las abejas .....	17
Tabla 3. Características de los virus causantes de parálisis .....	18
Tabla 4. Grado y porcentaje de infestación de <i>Varroa destructor</i> .....	33
Tabla 5. Intensidad de la infección y número de esporas de <i>Nosema</i> spp. en abejas adultas de acuerdo a Jaycox .....	34
Tabla 6. Primera y Segunda mezcla de reacción para la obtención del ADNc .....	37
Tabla 7. Iniciadores para VPAI.....	37
Tabla 8. Condiciones de amplificación usadas en la PCR para la detección del VPAI .....	37
Tabla 9. Relación de las muestras obtenidas y procesadas .....	39
Tabla 10. Promedios del porcentaje de infestación de <i>V. destructor</i> por estado muestreado .....	40
Tabla 11. Promedio de los Millones de Esporas de <i>Nosema</i> spp. por estado muestreado .....	42
Tabla 12. Porcentajes del nivel de infección de <i>Nosema</i> spp. en los diferentes estados muestreados .....	43
Tabla 13. Tabla de contingencia para la prueba de $\chi^2$ entre <i>Varroa destructor</i> y el virus VPAI .....	46
Tabla 14. Tabla de contingencia para la prueba de $\chi^2$ entre <i>Nosema</i> spp. y el virus VPAI.....	47
Tabla 15. Tabla de contingencia para la prueba de $\chi^2$ entre <i>Varroa destructor</i> y <i>Nosema</i> spp.....	48

## **Abreviaturas**

aa: aminoácidos

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADNc: ADN complementario

ARN: Ácido ribonucleico

cbp: cuanto baste para

CBPV: Virus de la Parálisis Crónica

CCD: Colapso de las colmenas, Colapso de las colonias de abejas o Síndrome del Colapso de las Colonias

fe: frecuencia esperada

fo: frecuencia observada

gl: grados de libertad

H<sub>0</sub>: Hipótesis nula

H<sub>A</sub>: Hipótesis alternativa

ME: Millones de Esporas

*min*: minutos

*ml*: mililitros

*mm*: milímetros

mM: mili-Molar

*nm*: nanómetro

*nt*: nucleótidos

pb: pares de bases

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

pH: potencial de Hidrogeniones

*rpm*: revoluciones por minuto

RT-PCR: Retro-Transcripción Reacción en Cadena de la Polimerasa

spp.: plural de especie

TAE: Tris-Acetato-EDTA

VAD: Virus de las Alas Deformes (DWV)

VC: Virus de Cachemira (KBV)

VCE: Virus de la cría ensacada (SBV)

VCRN: Virus de la Celda Real Negra (BQCV)

VPA: Virus de la Parálisis Aguda (ABPV)

VPAI: Virus de la Parálisis Aguda Israelí (IAPV)

VPL: Virus de la parálisis lenta (SBPV)

μl: microlitros

χ<sup>2</sup>: Ji cuadrada

%: porcentaje

°C: Grados centígrados

## Resumen

El Virus de la Parálisis Aguda Israelí (VPAI) es un virus recientemente descubierto, que afecta a las abejas causándoles parálisis y la muerte. El objetivo del presente trabajo fue detectar al VPAI en abejas (*Apis mellifera*) de apiarios de México y establecer su interacción con *Varroa destructor* y *Nosema* spp. Se tomaron muestras en los estados de Yucatán, Campeche, Querétaro, Morelos, Hidalgo, Estado de México y Distrito Federal, de los que se obtuvieron un total de 499 muestras de abejas adultas y crías de 86 apiarios cooperantes y se les determinó el porcentaje de infestación de *Varroa destructor* con la técnica de *David de Jong* y el número de millones de esporas de *Nosema* spp. por microscopia, así mismo se detectó la presencia del VPAI por medio de la técnica de RT-PCR, encontrándose 35 muestras positivas al VPAI 8.3% en las abejas adultas y ninguna en las crías. El promedio del porcentaje de infestación de *Varroa destructor* para las crías fue del 9.94% y para las abejas adultas del 5.04%. El promedio de los millones de esporas de *Nosema* spp. fue de 0.161. Se evaluó la relación que pudiera existir entre la presencia de *Varroa destructor* y *Nosema* spp. con el VPAI mediante el análisis estadístico con  $\chi^2$ , encontrándose que la presencia del VPAI es independiente al porcentaje de infestación de *Varroa destructor* y a el número de esporas de *Nosema* spp., así mismo el porcentaje de infestación de *Varroa destructor* y el número de esporas de *Nosema* spp. son independientes entre ellas.

## INTRODUCCIÓN

Además de la producción de miel, la polinización es uno de los beneficios que las abejas (*Apis mellifera*) le proporcionan al medio ambiente, tres cuartas partes de los cultivos necesitan que se lleve a cabo este proceso. La producción mundial de miel es de más de dos millones de toneladas cada año aproximadamente y un mal manejo de las abejas puede perjudicar considerablemente esta producción. En todas las regiones del mundo, la apicultura forma parte integral de la agricultura ya sea como actividad principal o complementaria. A menudo se practica a pequeña escala y constituye un modo de producción tradicional en numerosos países. El tamaño de las empresas apícolas depende del contexto socioeconómico: en ciertos países, bastan veinte colonias de abejas para la subsistencia de una familia completa, mientras que, en otros, una sola empresa puede contar hasta con 2,000 colmenas<sup>25, 30</sup>.

Las buenas condiciones de la producción, así como un clima adecuado, disponibilidad de recursos alimenticios para las abejas y la presencia o ausencia de enfermedades en algunas regiones apícolas, conllevan al éxito o fracaso de la producción y con ello permiten a los pequeños y grandes productores obtener los beneficios de la apicultura<sup>30</sup>.

En México existen pocos estudios que demuestran la presencia de virus en abejas (*Apis mellifera*)<sup>5, 86, 92</sup>, sin embargo; el ácaro *Varroa destructor* y el microsporidio *Nosema* spp. están considerados como enfermedades enzoóticas transmisibles y de reporte obligatorio en el territorio nacional, mismas que han demostrado estar asociadas a la presencia de varios virus como: el Virus de la Cría Ensacada (VCE), el Virus de las Alas Deformes (VAD), el Virus de la Parálisis Crónica (CBPV), el Virus de la Parálisis Aguda (VPA), el Virus de Cachemira (VC) y al Virus de la Parálisis Aguda Israelí (VPAI). Este último de reciente descubrimiento ha sido fuertemente relacionado con el “Síndrome del Colapso de las Colmenas” (CCD por sus siglas en inglés) término acuñado para describir la desaparición o muerte de colonias enteras sin una explicación aparente, a pesar de que existen varios factores asociados al CCD, entre ellos virus, bacterias, parásitos y agentes químicos como los insecticidas hasta la fecha no se ha identificado una causa única<sup>5, 21, 26, 27, 38, 39, 76, 77</sup>.

Muchos de estos virus persisten bajo la forma de infecciones latentes o no aparentes dentro de las colonias. Varios estudios indican que los factores de estrés que afectan la inmunidad de las abejas pueden ser los desencadenantes de las infecciones virales latentes, dentro de las colonias convirtiéndolas en infecciones manifiestas, estos podrían ser insecticidas, tensiones ambientales o co-infección e infestación con otros patógenos <sup>11, 12, 13, 14, 15, 16</sup>.

La mayoría de las enfermedades de las abejas se han propagado a todas las zonas de cría por una incorrecta comercialización y movilización de abejas, equipos y suministros <sup>38</sup>.

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Abejas

Existen pocos seres tan bien organizados en su vida comunitaria y útiles para el hombre como las abejas, estas evolucionaron hasta el estado en que actualmente las conocemos mucho antes de que apareciesen los mamíferos. Sigue siendo creencia popular entre muchos biólogos y apicultores que las abejas son insectos domesticados, por el contrario, las abejas son insectos salvajes al igual que cualquiera de los millones de otras especies de insectos que viven en bosques, campos y jardines y que de forma natural sobreviven independientes del hombre <sup>12, 13, 50</sup>.

Se calcula que las abejas habitan la Tierra desde hace unos 75 millones de años, su relación documentada con la humanidad es muy antigua, por ejemplo en la Cueva de la Araña de Bicorp, en Valencia (España), en una pintura prehistórica se distingue la figura de una mujer subiendo a lo alto de un árbol donde se observa una colmena y abejas volando a su alrededor. Hace unos 4,000 años artistas cretenses y egipcios, y más tarde los griegos, dibujaron enjambres de abejas silvestres, además de existir evidencias de que desde entonces se guardaban colonias de estos insectos en recipientes de arcilla, mimbre y caña (Figura 1) <sup>50</sup>.

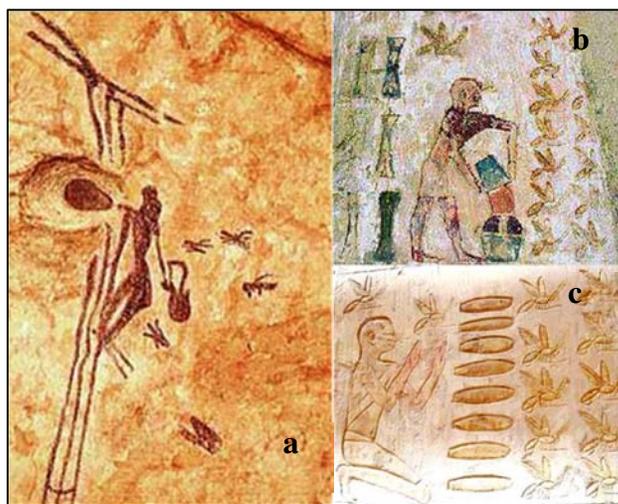


Figura 1. Representaciones antiguas de la interacción de las abejas con el hombre

**a)** Pintura rupestre en la Cueva de la Araña, disponible en: <http://www.naranjasconsabor.com/blog/wp-content/uploads/2013/09/cuevaBicorp.jpg>. **b)** Pintura egipcia disponible en: <http://apiculturaenvalero.files.Wordpress.com/2009/11/evolu-api.jpg>. **c)** Pintura egipcia disponible en: <http://www.canaldenavarres.com/fotos-sitios-lugares/cueva-de-la-arana-bicorp.jpg>.

Hay miles de especies diferentes de abejas en el mundo pero las dos más importantes para la apicultura son la abeja melífera occidental, *Apis mellifera*, y la abeja melífera oriental, *Apis cerana*. Las abejas son insectos sociales que viven en colmenas compuestas por una reina, varias obreras todas ellas hembras y unos pocos zánganos, los machos que tienen por única función aparearse con la reina. La reina es la única hembra fértil y es la encargada de poner huevos en las celdas de cera del panal <sup>1</sup>.

Cuando los huevos eclosionan salen las larvas, que durante los primeros 3 días son alimentadas con jalea real y posteriormente con miel. Cuando pasan al estadio de pupa las celdas están operculadas (cerradas) y los adultos emergen 15 a 25 días después <sup>1</sup>.

El término “cría” se emplea para designar las fases de embrión o huevo, larva, prepupa y pupa (Figura 2) <sup>1</sup>.

	REINA	OBRERA	ZANGANO	DIAS
HUEVO				1
				2
				3
LARVA				4
				5
				6
				7
				8
PRE PUPA				9
				10
PUPA				11
				12
				13
				14
ADULTA				15
				16
				17
				18
				19
				20
				21
				22
				23
				24
				25

Figura 2. Fases de desarrollo de las castas de las abejas  
 Imagen disponible en: <http://www.si-forma.net/cursos/wp-content/uploads/2011/08>.

### **1.1.1. Situación de la apicultura en México**

La apicultura es una actividad que ha representado y representa un papel fundamental dentro de la ganadería del país, tanto por la generación de un importante número de empleos, como por constituirse en la tercera fuente captadora de divisas del subsector ganadero <sup>23</sup>.

Hasta hace pocos años la producción apícola nacional se encontraba directamente influida por el comportamiento del mercado internacional de la miel, ya que cerca del 90% de la producción mexicana se destinaba a la exportación, sin embargo, las acciones desarrolladas por productores y autoridades han conllevado a que aproximadamente el 43% de la producción de miel en México sea consumida en el propio país <sup>23</sup>.

El crecimiento de las manchas urbanas ha generado pérdidas de espacios para las actividades agropecuarias y han desplazado de forma alarmante las zonas de producción de miel. Actualmente la apicultura es una actividad discreta que no llama la atención, aunque se sepa que existe, es fácil visitar los poblados y no encontrar actividades de apicultura, a menos que éstas se busquen. La apicultura ayuda a la gente a fortalecer su sistema de vida, desarrollo y a asegurar la continuidad del hábitat y de la diversidad biológica <sup>25, 34, 37</sup>.

En nuestro país la apicultura tiene un alto valor social y económico. De esta actividad dependen aproximadamente 40 mil productores quienes en conjunto cuentan con 2 millones de colmenas y permiten que México se ubique como el quinto país productor y tercer exportador de miel en el mundo <sup>35</sup>.

La producción de miel en México supera las 60,600 toneladas en promedio; las exportaciones llegan a ser en promedio de 26,606 toneladas (entre el 40 y 50% de lo producido), las cuales tienen como destino principal países como Alemania, Inglaterra y Estados Unidos, lo que genera ingresos anuales en promedio de 2,283,906,000 millones de pesos aproximadamente, lo que confirma que la apicultura es una importante fuente de divisas para el país <sup>35, 95, 96, 97</sup>.

En México se distinguen cinco regiones apícolas bien definidas (Figura 3), debido a la gran diversidad de climas, suelos, orografía y altitudes que permite disponer de una importante

variedad de floras, que influye sobre la composición de recursos de néctar, polen y la existencia de explotaciones en donde la producción varía de acuerdo a la disponibilidad de recursos <sup>24, 35, 40</sup>.



Figura 3. Regiones apícolas en México

Imagen disponible en: <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/199/ca199-3.pdf>.

### *Región del Norte*

Caracterizada por la excelente miel que se produce, principalmente de mezquite, miel extra clara ámbar cuya producción en su mayoría se destina a un mercado fuertemente demandante como es EE.UU. El precio de esta miel es uno de los mejores a nivel nacional. Los estados que integran esta región son Baja California, Baja California Sur, Sonora, Chihuahua, Durango, Zacatecas, Coahuila, Nuevo León y parte del norte de Tamaulipas y altiplano de San Luis Potosí <sup>24</sup>.

### *Región de la Costa del Pacífico*

Se caracteriza por producir mieles de origen multifloral y de mangle, siendo principalmente oscuras, aunque también se obtienen las de color ámbar y ámbar clara. Forman parte de esta región los estados de Sinaloa, Nayarit, poniente de Jalisco, Michoacán, Colima, parte de Guerrero, Oaxaca y Chiapas <sup>24</sup>.

### *Región del Golfo*

Destaca por poseer una gran producción de miel de cítricos, miel ámbar clara producida principalmente a partir de la flor del naranjo, siendo esta una miel muy apreciada en el mercado internacional, en especial el japonés. También se obtienen mieles oscuras y claras. Esta región se compone por el estado de Veracruz y parte de los estados de Tabasco, Tamaulipas y la región Huasteca de San Luis Potosí, Hidalgo y Querétaro <sup>24</sup>.

### *Región del Altiplano*

Se distingue por tener mieles ámbar y ámbar clara, (consistencia tipo mantequilla), que por su presentación tiene mucha demanda del mercado europeo. Su origen floral es el acahual y la acetilla. Esta región se compone de Tlaxcala, Puebla, México, Morelos, Distrito Federal, Guanajuato, Aguascalientes, la parte oriente de los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas y parte poniente de Hidalgo y Querétaro, así como la región media de San Luis Potosí <sup>24</sup>.

### *Región Sureste o Península de Yucatán*

La más importante por su volumen de producción de miel y por ubicar a la mayor parte de los apicultores del país. Está formada por los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo y parte de los estados de Chiapas (Noreste) y Tabasco (Oriente). La miel de esta zona goza de gran prestigio nacional y sobre todo internacional, ya que se caracteriza por tener su origen en floraciones únicas, como son la de Dzidzilche y de Tajonal, las dos por su excelente calidad destinadas en su mayoría a la venta en el Mercado Europeo <sup>24</sup>.

## 1.2. Enfermedades de las abejas

Aristóteles (384-322 a.C.) describió algunas alteraciones, Virgilio y Plinio hacen referencia a algunas en los inicios del primer milenio. Ninguna de sus descripciones es suficiente para identificar las alteraciones con certeza. No obstante, ponen claramente de manifiesto que las abejas de entonces eran en gran medida parecidas a las de hoy día y las enfermedades que hoy reciben “nombre” existían en la antigüedad <sup>12, 13</sup>.

Las abejas son susceptibles a sufrir enfermedades causadas por bacterias (como Loque americana y Loque europea), virus (como el Virus de la Parálisis Aguda Israelí), hongos (como *Nosema* spp.), parásitos (como el ácaro de *Varroa* spp.) y enemigos naturales como la polilla de cera (*Galleria mellonella*). Su resistencia a los factores adversos es mayor si se encuentran en óptimo estado sanitario y de nutrición <sup>1, 19, 33, 56</sup>.

Algunas de estas enfermedades están inscritas en el “Código Sanitario para los animales terrestres de la OIE” y en el “ACUERDO mediante el cual se enlistan las enfermedades y plagas de los animales exóticas y endémicas de notificación obligatoria en los Estados Unidos Mexicanos” <sup>2, 3, 30</sup>. En la Tabla 1 se presenta un comparativo de las enfermedades de las abejas que en ellos se mencionan.

En lo que corresponde a sanidad apícola, se han hecho estudios en algunos estados de la República Mexicana para detectar agentes patógenos como *Varroa destructor* y *Nosema* spp. y Virus de la Celda Real Negra (VCRN), Virus de las Alas Deformes (VAD), Virus de Cachemira (VC), Virus de la Cría Ensacada (VCE), Virus de la Parálisis Crónica (VPC), Virus de la Parálisis Aguda (VPA) y Virus de la Parálisis Aguda Israelí (VPAI) de las abejas, aunque cabe mencionar que no se ha puesto mucha atención en las enfermedades virales y la relación que estas tienen con la presencia de ácaros como *V. destructor* y del microsporidio *Nosema* spp. <sup>5, 24, 78, 82, 85, 86, 87, 88, 89, 92</sup>.

Las poblaciones de abejas se ven repetidamente afectadas por enfermedades y parásitos que con frecuencia se difunden y actúan con carácter epidémico <sup>1, 32, 43, 44, 45</sup>.

Tabla 1. Tabla comparativa de las enfermedades inscritas en el Código sanitario de la OIE y el Acuerdo donde se enlistan las enfermedades de notificación en México

Código sanitario para los animales terrestres (OIE)	ACUERDO mediante el cual se enlistan las enfermedades y plagas de los animales, exóticas y endémicas de notificación obligatoria en los Estados Unidos Mexicanos		
	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Infestación de las abejas melíferas por <i>Acarapis woodi</i>	ACARIOSIS ( <i>Tropilaelaps clareae</i> <i>T. koenigerum</i> ).	ACARAPISOSIS O ACARIOSIS ( <i>Acarapis woodi</i> <Rennie>)	ASCOSFEROSIS ( <i>Ascospaera apis</i> ),
Infección de las abejas melíferas por <i>Paenibacillus larvae</i> (Loque americana)		NOSEMOSIS ( <i>Nosema apis</i> )	ASPERGILOSIS ( <i>Aspergillus flavus</i> )
Infección de las abejas melíferas por <i>Melissococcus plutonius</i> (Loque europea)		LOQUE AMERICANA ( <i>Paenibacillus larvae</i> <White>)	
Infestación por <i>Aethina tumida</i> (Escarabajo de las colmenas)		LOQUE EUROPEA ( <i>Melissococcus pluton</i> )	
Infestación de las abejas melíferas por <i>Tropilaelaps</i> spp.		VARROOSIS ( <i>Varroa destructor</i> )	
Infestación de las abejas melíferas por <i>Varroa</i> spp. (Varroosis)			

**Grupo I:** enfermedades y plagas exóticas de notificación inmediata obligatoria

**Grupo II:** enfermedades enzoóticas transmisibles de notificación inmediata obligatoria

**Grupo III:** enfermedades enzoóticas de notificación mensual obligatoria

Modificado del Código Sanitario para los animales terrestres (2014) y ACUERDO mediante el cual se enlistan las enfermedades y plagas de los animales, exóticas y endémicas de notificación obligatoria en los Estados Unidos Mexicanos (2007).

### 1.2.1. Enfermedades virales

Los virus son microorganismos estructuralmente sencillos, algunos poseen una estructura proteica que contiene una o más moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN) o de ácido ribonucleico (ARN). Se replican en las células animales y vegetales. Cuando un virus infecta a una célula emplea los materiales de la célula para hacer copias de sí mismo. Esto puede continuar sin muchos cambios aparentes para la célula, mientras permanezca vivo el organismo al que pertenece; aunque generalmente las células infectadas padecen lesiones, mueren y se desintegran, liberando muchísimas partículas víricas infectivas. Todas las formas de vida son atacadas por los virus incluidas las abejas, las cuales son infectadas por una amplia variedad (Tabla 2) <sup>12, 13, 28, 45</sup>.

Tabla 2. Virus descritos que afectan a las abejas

Lista de algunos virus que afectan a las abejas	
Huésped	Virus
<i>Apis mellifera</i>	Parálisis Crónica Asociado a la Parálisis Crónica Alas Nubladas Filamentoso X Y Cachemira (estirpes australianas) Egipto Cría Sacciforme Arkansas Parálisis Lenta Celda Real Negra Parálisis Aguda <b>Paralisis Aguda Israelí</b> Virus de <i>Varroa destructor</i>
<i>Apis cerana</i>	Cría Sacciforme (estirpe Thai y China) Cachemira (estirpe india) Iridiscente (AIV) Kakugo

Modificada de Bailey, 1984, Bailey y Ball, 1991 y Bromenshenk *et al.*, 2010.

La disminución alarmante de las colonias de abejas *Apis mellifera* en la última década ha conducido la atención y la investigación de diferentes patógenos que las afectan, incluyendo los virus. Numerosos estudios sugieren que los patógenos nuevos o emergentes desempeñan un papel muy importante en la disminución de su salud, en México existen pocos estudios que ayuden a conocer el estatus sanitario de las abejas, ya que los métodos de detección de los virus suelen ser costosos y no se tienen protocolos establecidos, además de que las enfermedades virales no son consideradas de reporte obligatorio en México <sup>29, 39, 42</sup>.

Hasta la mitad del siglo pasado el único virus conocido que afectaba a las abejas era el virus de la Cría Sacciforme. Actualmente, el número de virus identificados en el género *Apis* se eleva a más de 18, entre los que se encuentra el Virus de la Parálisis Aguda Israelí <sup>10, 45</sup>.

#### *Enfermedades virales paralizantes de las abejas*

Se trata de un conjunto de enfermedades víricas o síndromes que presentan signos semejantes y pueden tener dos manifestaciones diferentes, uno se caracteriza por provocar la muerte de las abejas en poco tiempo, a este se le denomina parálisis aguda, causada por el VPA y el VPAI; el otro produce un temblor paralítico por algunos días después de haber presentado los primeros signos, este se denomina parálisis crónica, causada por el VPC, el Virus asociado a la Parálisis Crónica y el SBPV (Tabla 3) <sup>8, 9, 12,13, 15, 16, 20, 32, 49</sup>.

Tabla 3. Características de los virus causantes de parálisis

Virus	Diámetro (nm)	Pesos moleculares (X <sup>10<sup>-6</sup></sup> )
		Ácido nucleico
Parálisis crónica	20 x 30 a 60	ARN 1.35, 0.9, 0.35
Virus asociado a la parálisis crónica	17	ARN 0.35
Parálisis aguda	30	ARN ND
Parálisis lenta	30	ARN ND
Parálisis Aguda Israelí	27-30	ARN ND

ND: no determinado. Modificada de Bailey, 1984 y Bailey y Ball, 1991. Boncristiani *et al*, 2013.

## Mecanismos de transmisión de los virus

La transmisión de los virus en las abejas parece implicar las vías horizontales y verticales como se muestra en la Figura 4. Los virus pueden infectar diferentes estadios de las abejas de la misma generación por transmisión horizontal a través de los siguientes medios: por alimentos, fecal-oral, venérea (sexual), y/o por vectores. Algunos virus también se transmiten verticalmente desde la reina infectada a su descendencia. Ambas vías de transmisión se cree que son las estrategias de supervivencia importantes para la persistencia y el establecimiento de los virus en la población de las abejas<sup>16, 60, 65</sup>.

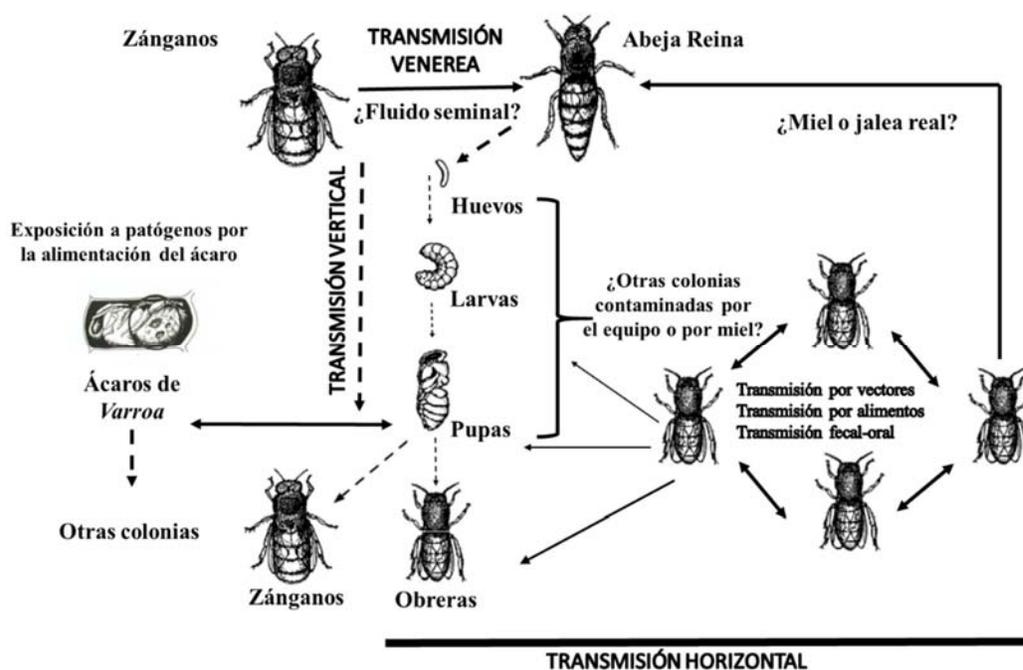


Figura 4. Representación esquemática de las vías de transmisión de los virus en las abejas. Imagen modificada de Shimanuki y Knox, 2000, Shen *et al.*, 2005 y Chen y Sied, 2007.

### 1.2.1.1. Virus de la Parálisis Aguda Israelí (VPAI) de las abejas

El Virus de la Parálisis Aguda Israelí o VPAI (IAPV por sus siglas en inglés Israeli Acute Paralysis Virus) es un virus recientemente identificado y estudiado en abejas europeas *Apis mellifera*<sup>48</sup>, también se ha detectado en abejas africanizadas<sup>58</sup> y en abejorros<sup>59</sup>. Ha sido fuertemente relacionado con el CCD en otros países<sup>41,47</sup>, especialmente cuando las colonias están infestadas con el ácaro *Varroa destructor* e infectadas con *Nosema cerana o apis*<sup>31,39</sup>.

La relación o dependencia que existe con *V. destructor* quizá esté vinculado a través de la saliva de este ácaro <sup>81</sup>.

### *Etiología*

El VPAI es un virus ARN de cadena positiva, de la familia *Dicistroviridae*, estrechamente relacionado con el VPA y el VC, debido a la similitud en su genética y morfología, a los tres virus se les ha asociado con el CCD. Sus partículas virales tienen forma icosaédrica con un tamaño de 30 nm aproximadamente (Figura 5). El VPAI se purificó por primera vez en el año 2002 por Alon Hagalil, después de inocularlo en abejas sanas; las partículas virales inoculadas fueron obtenidas de una abeja de una colonia de abejas muertas que se encontraron delante de la piquera en el país de Israel (de ahí su nombre) <sup>31, 48, 81</sup>.

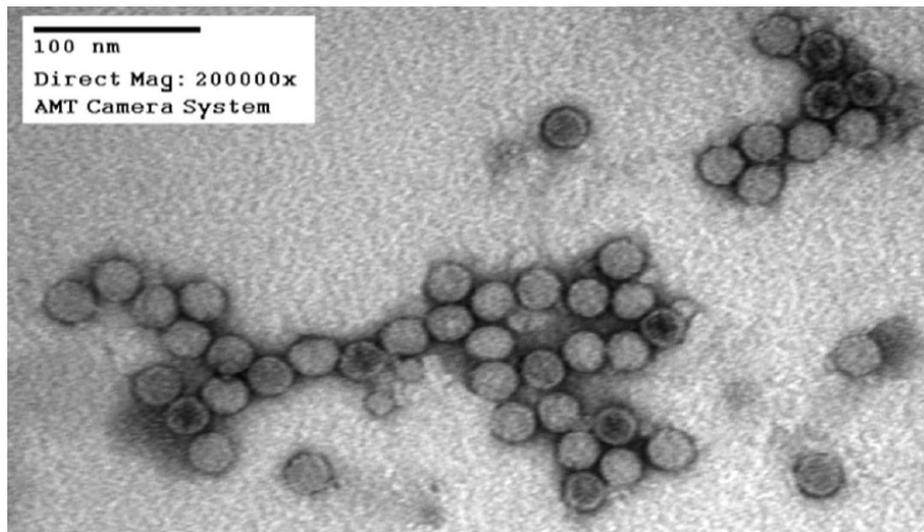


Figura 5. Microscopía electrónica de partículas virales del VPAI mostrando partículas virales limpias y uniformes (partículas llenas y vacías) de alrededor de 27 nm.  
Imagen obtenida de: Boncristiani *et al.*, 2013.

El genoma del virus es de 9487 nt (nucleótidos) de longitud (excluyendo la cola de poli-A) en orientación positiva, con dos marcos de lectura abiertos (Figura 6) <sup>48</sup>.

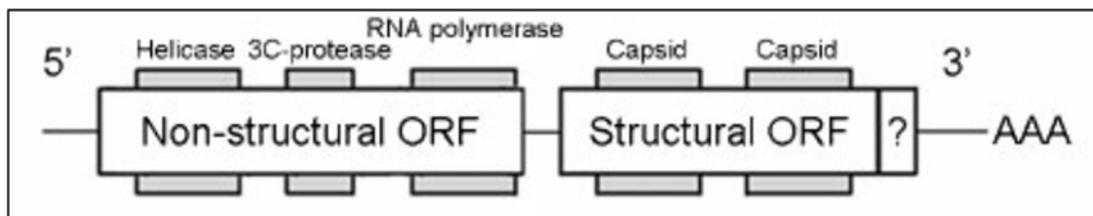


Figura 6. Ilustración esquemática del genoma de VPAI  
Imagen obtenida de: Maori *et al.*, 2007.

### *Signología, lesiones y patogenia*

El virus puede ingresar por vía oral y dependiendo de la cantidad de partículas que sean ingeridas por la abeja los signos pueden ir desde un temblor de alas hasta una parálisis aguda, incapacidad para volar, desorientación y muerte de 2 a 7 días después de la infección, lo que puede causar la disminución de la población. También puede presentarse de forma subclínica sin causar daños aparentes pero, cuando la concentración de partículas virales es alta se desarrollan los signos. El VPAI ha sido detectado en huevos, larvas, pupas, obreras, zánganos y reinas, así como en ácaros de *V. destructor*. También se ha detectado en la jalea real, miel, polen, heces de reina y semen de zánganos, cerebro, grasa corporal, glándula salival, glándula hipofaríngea, intestinos, nervio traqueal y músculos de abejas infectadas por el virus, con mayor abundancia en el intestino, nervios y glándula hipofaríngea. Se sabe que una vez que el virus ingresa en la hemolinfa inicia su efecto patógeno; aunque se desconocen los mecanismos moleculares que el virus usa para la infectividad y virulencia<sup>31, 39, 84</sup>.

El VPAI es capaz de inducir una mortalidad rápida y aguda en las crías y abejas adultas, esta mortalidad puede aumentarse por una respuesta a factores no específicos como el ambiente, estrés o por transmisión activa causada por el ácaro *Varroa destructor*<sup>42, 59</sup>.

Las abejas también pueden ser infectadas experimentalmente con VPAI por medio de la inoculación de un homogenizado de *Varroa destructor*, las abejas presentan desorientación, temblor de alas y parálisis, desencadenando la muerte entre 48 a 96 horas después de la infección, dentro o fuera de la colmena<sup>39, 42, 48, 86</sup>.

En un estudio realizado por Boncristiani *et al.*, (2013), las pupas infectadas en el laboratorio presentaron signos diferentes desde un cese completo de desarrollo sin evidencia visual de enfermedad, un rápido oscurecimiento de las partes del cuerpo, y cese simultáneo del desarrollo, hasta el desarrollo normal con eventual muerte de manera súbita como se muestra en la Figura 7<sup>42</sup>.

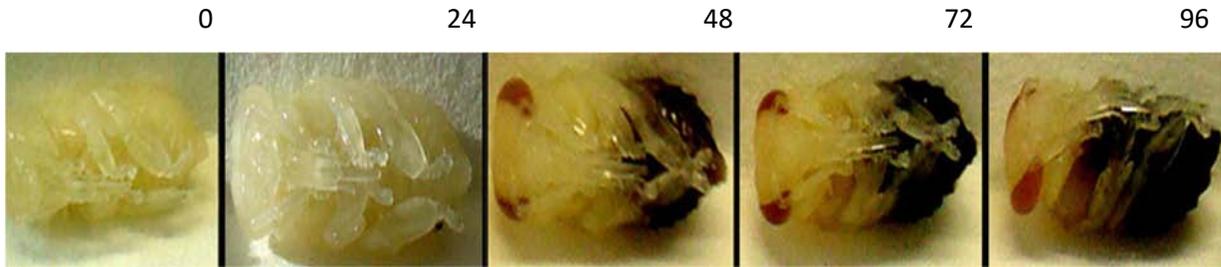


Figura 7. Patogenicidad del virus inoculado en el laboratorio durante el desarrollo pupal a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas. Imagen modificada de Boncristiani *et al.*, 2013.

En el mismo estudio observaron síntomas progresivos de la enfermedad en comparación con un desarrollo normal (Figura 8), como se explica a continuación en la Figura 9: [B] Primer plano de los síntomas variables de la replicación del VPAI en pupas de ojo blanco, el cese completo de desarrollo sin evidencia visual de la enfermedad (1), el desarrollo aparentemente normal (2), oscurecimiento rápido de diferentes partes del cuerpo (3,4), oscurecimiento y cese simultaneo del desarrollo (5).



Figura 8. Cría con un aparente desarrollo normal

Imagen disponible en: [http://animalworld.com.ua/images/2011/March/Raznoe/Ins/Isek\\_5.jpg](http://animalworld.com.ua/images/2011/March/Raznoe/Ins/Isek_5.jpg).



Figura 9. Desarrollo de una abeja inoculada con VPAI  
Imagen modificada de Boncristiani *et al.*, 2013.

### *Epizootiología*

El VPAI está difundido en las colmenas de varios países en el mundo, ha sido identificado en Israel, Francia, Australia, Estados Unidos, Canadá, Brasil, Argentina y México<sup>51, 57, 58</sup>.

### *Diagnóstico*

Diversos métodos se han utilizado para la detección de los virus de las abejas como inmunodifusión, inmunotransferencia, PCR, RT-PCR y RT-qPCR. La RT-PCR puede ser rápidamente implementada en cualquier laboratorio teniendo los protocolos correctos, puede ser usada para detectar gran variedad de virus ARN. La técnica es confiable, específica y sensible, proporciona una oportunidad de identificar los virus de las abejas, incluso cuando estos virus se encuentran en niveles bajos <sup>59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 69</sup>.

### *Tratamiento, control y prevención*

Hasta el momento no existe algún método o tratamiento para controlar la enfermedad provocada por el VPAI. Dado que en el caso de los virus no existen productos que permitan realizar quimioterapias para eliminarlos o controlarlos, los apicultores deben tomar medidas sanitarias indirectas y preventivas. Lo mejor es realizar un programa de manejo integral de las enfermedades en el que deben incluirse al menos los siguientes componentes <sup>66</sup>:

- Diagnóstico preciso de las enfermedades (se realiza sólo con el apoyo de pruebas de laboratorio)
- Desarrollo rápido de la inmunidad innata de las abejas dado por las reinas y el mantenimiento de estas defensas naturales
- Selección y reproducción de razas de abejas resistentes
- Control de otros patógenos que pueden actuar en sinergia con los virus y la prevención de la invasión del virus en otras zonas del apiario no infectadas, o su difusión entre las colonias de la explotación apícola debido a un mal manejo de la colonia o los materiales usados <sup>66</sup>.

Las buenas prácticas de manejo de la colmena son fundamentales para aumentar la inmunidad “natural de las abejas”, siendo esto también una herramienta útil en la lucha contra las enfermedades virales. La mejor prevención es tratar de manera adecuada, eficaz y a tiempo las infecciones por enfermedades de acompañamiento como *Nosema* spp. o vectores como el ácaro *Varroa destructor*; ya que este provoca heridas externas al alimentarse de la hemolinfa de la abeja, favoreciendo la entrada de diferentes patógenos. Cuando las abejas están

infectadas con *Nosema apis* aumenta la susceptibilidad a padecer enfermedades virales, aunque no se conoce bien el mecanismo de activación y transmisión se sabe que existe una asociación positiva con el virus VCRN, CBPV, VAD y VCE en diferentes estudios se ha observado que en las abejas adultas infectadas con *Nosema apis* el virus se multiplica rápidamente <sup>16, 21, 63, 66, 67, 68, 71, 72, 73, 74</sup>.

### 1.2.2. Varroosis

Es causada por un ácaro, un parásito externo de las abejas adultas y de sus crías. Existen cuatro especies de ácaros de *Varroa*, *destructor* y *jacobsoni* son los más importantes. Se encuentra en todo el mundo salvo en Australia y la isla sur de Nueva Zelanda. Son conocidos por transmitir un *virus* que causa deformación del ala, pero en los últimos años se ha identificado como vector en la transmisión de virus de importancia como: VPC, VPA, VCRN y VC en las abejas. Los primeros signos de infección normalmente pasan desapercibidos, y sólo cuando la infestación es masiva se hacen aparentes y se pueden observar ácaros adultos en las abejas. La infestación se propaga por contacto directo de abejas adultas y por el movimiento de las abejas y crías infestadas <sup>1, 21, 76</sup>.

Al final del verano y en otoño se observan abejas y zánganos malformados en el suelo delante de la colmena. Muestran el abdomen acortado y/o las alas deformes. En ocasiones, las abejas expulsan del panal pupas con malformaciones similares por lo que se pueden observar perforaciones salteadas en las celdas. Sobre las abejas adultas y crías se aprecian en ocasiones pequeños parásitos de tonalidad castaña rojiza, blancos y translucidos. Las abejas se observan más inquietas de lo ordinario y entran y salen desorientadas de los panales. La superficie de cría ofrece con frecuencia lagunas y las coberturas de las celdas aparecen hundidas y/o perforadas (Figura 10). En las celdillas de cría abiertas las larvas yacen muertas en posición torcida y con mal formaciones. A diferencia de otras enfermedades, rara vez se encuentran abejas muertas. La forma aplastada del cuerpo, el abundante revestimiento piloso y los pies dotados de ventosas de los ácaros, favorecen su sólida implantación en las abejas. En ocasiones las abejas se liberan de ellos sacudiéndose, mordiéndose o rascándose solas o entre ellas <sup>21</sup>.

El ácaro se sitúa en la abeja adulta a la altura de la desembocadura de las glándulas de la cera, entre los anillos posteriores del abdomen, donde resulta prácticamente inalcanzable para la abeja. Con su aparato bucal hace una herida en la fina cutícula existente entre los anillos posteriores del abdomen (cutícula inter-segmentaria) y absorbe la hemolinfa. Su cuerpo no puede aumentar de volumen, como sucede en las garrapatas y la herida se cierra al cabo de algún tiempo. El ácaro absorbe con la hemolinfa sustancias que parecen necesarias para su posterior desarrollo como la puesta de huevos. <sup>21</sup>.

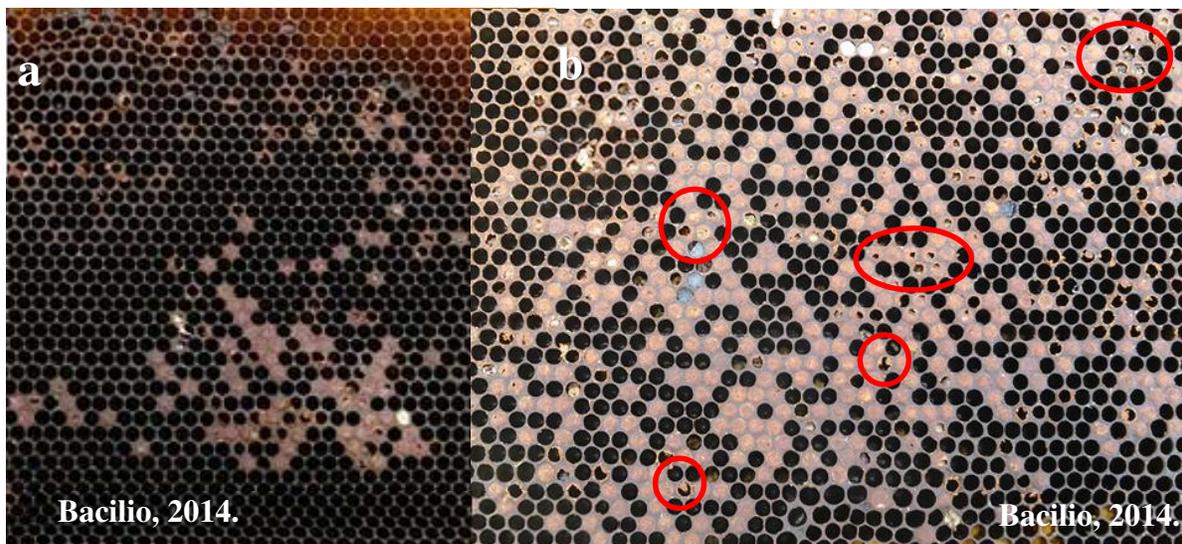


Figura 10. Patrón salteado y perforación de celdas

a) Patrones salteado de celdas, b) Perforaciones en las celdas realizadas por las obreras para sacar crías enfermas o parasitadas por *Varroa*. Fotos tomadas por Bacilio LE, 2014.

El ácaro penetra en la celda de la cría al terminar la etapa forética poco antes de opercularse ésta, deslizándose hasta el fondo de la celda entre la pared de la misma y la larva. Allí permanece inmóvil. Unas formaciones espiroideas especiales llamadas peritrenos les permiten respirar en estas condiciones. En cuanto se opercula la celda y la larva consume el alimento el ácaro puede moverse libremente; enseguida comienza a tomar hemolinfa de la larva y al cabo de 60 horas pone el primer huevo, al que siguen otros a intervalos de unas 30 horas. Del huevo sale una larva que pasara por dos fases de ninfa (protoninfa y deutoninfa) antes de convertirse en ácaro adulto. Del primer huevo suele nacer un macho, y de todos los demás hembras. El desarrollo de los machos dura de 5-6 días y el de las hembras entre 6-8 días <sup>21</sup>.

### 1.2.3. Nosemosis

La Nosemosis también es conocida como: peste del *Nosema*, nosematosis, enfermedad consuntiva de primavera, es una infección del tracto digestivo exclusivo de las células epiteliales del ventrículo de las abejas adultas causada por dos especies de hongos. Es una enfermedad altamente contagiosa y puede ocasionar daños graves a la colonia si los niveles de infección son elevados, la enfermedad se presenta en todo el mundo. El hongo es denominado *Nosema apis* Zander debido a que en 1909 fue Zander quien habló por primera vez de la existencia de este hongo y hasta 2004 se creía que era solo una especie del parásito la que causaba la enfermedad en las abejas melíferas (*Nosema apis* Zander) pero diversos investigadores encontraron que también podía estar presente una especie de *Nosema* que se creía solo afectaba a las abejas ceranas (*Nosema ceranae* Fries), para poder diferenciar estas dos especies es necesario el empleo de técnicas de diagnóstico molecular, debido a la similitud que existe en su morfología. *Nosema apis* es un patógeno de la abeja europea *Apis mellifera* y *Nosema ceranae* lo es de la abeja asiática *Apis cerana* y de la abeja europea. Esta última se ha detectado recientemente en varias poblaciones de abejas europeas geográficamente separadas en Europa, Sudamérica, Norteamérica y Asia. Ambas pertenecen al grupo Neosporideos, orden *Microsporidios* y familia *Nosematidae* <sup>20, 22, 46, 53,54, 55</sup>.

La infección se produce por la ingestión de esporas con el alimento, por la trofalaxis o quizás después de la limpieza de los pelos del cuerpo. Las abejas se observan con el abdomen hinchado, dificultad motora, diarrea acuosa, excrementos en el interior de la colmena y hay renovación espontánea de las reinas en primavera. Con frecuencia el estómago de las abejas muy afectadas es blancuzco y flácido, desgarrándose con facilidad y segregando en tales circunstancias un líquido lechoso algo espeso. Si se detectan estos signos, hay que realizar un análisis microscópico para comprobar la presencia de esporas de *Nosema* spp. y tener un diagnóstico seguro <sup>11, 19, 53, 54</sup>.

La enfermedad se presenta en primavera cuando se produce un aumento de la progenie, otoño e invierno cuando las abejas están confinadas y cuando disminuye la cantidad de crías. Tiende a “desaparecer” durante la estación templada, para reaparecer después con mayor virulencia durante los años sucesivos <sup>11, 53, 54</sup>.

Las esporas miden 5-7  $\mu\text{m}$  de largo y 3-4  $\mu\text{m}$  de ancho aproximadamente (*Nosema ceranae* es ligeramente más pequeña que *Nosema apis*). Son completamente ovaladas y poseen un contorno oscuro. Su estructura incluye el núcleo, esporoplasma y tubo polar<sup>53, 54</sup>.

Este parasito intestinal, se adhiere por medio del tubo polar de la espora el cual es evertido y penetra en la matriz peritrófica del mesointestino de la abeja, en particular en la región posterior del ventrículo, el esporoplasma atraviesa el tubo y entra en el citoplasma de las células epiteliales, donde se reproduce, multiplica, opercula y se propaga por medio de esporas (que oscilan entre los 3 micrones de ancho por siete de largo) y son expulsados a través de las heces que son recogidas por otras abejas, permiten que la infección se extienda a toda la colmena y en poco tiempo, a toda la colonia debido al desarrollo en grandes cantidades de las esporas. Pueden producirse autoinfecciones al mismo tiempo que nuevas infecciones. Ataca principalmente las colonias debilitadas<sup>20, 22, 53, 54</sup>.

La destrucción progresiva de las células epiteliales altera el proceso normal de secreción de enzimas necesarias para la digestión de los alimentos (Figura 11), de donde la abeja obtiene los nutrientes indispensables para su desarrollo normal, por lo que se ve afectada la digestión y, por ende la absorción de nutrientes. Existe un envejecimiento prematuro de la abeja debido al consumo de sus reservas corporales<sup>20, 22, 53, 54</sup>.

La nosemosis causa serios daños en las colonias y está relacionada con la presencia de otras enfermedades y su combinación con la presencia de otros agentes patógenos llega a causar mayor mortalidad que cuando las enfermedades se presentan de manera separada. Abejas con disentería evidente tienen una asociación normal con patologías causadas por *Nosema* y puede ser dispersado el CBPV por medio de las heces<sup>52</sup>.

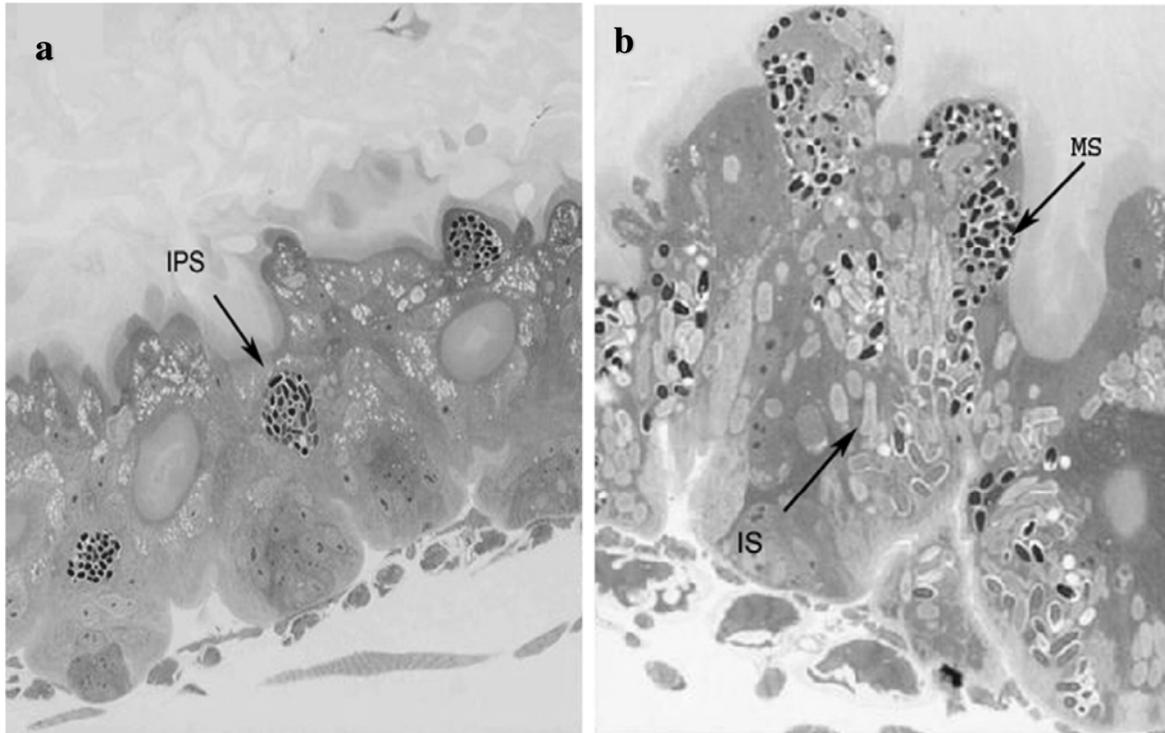


Figura 11. Infección de las células del ventrículo (intestino) con *Nosema ceranea* de una abeja *Apis mellifera* teñidas con azul de metileno

a) Día 3 post-infección. Algunas células de las puntas del epitelio con diferentes estadios del parásito intracelular intestinal (IPS). b) Día 6 post-infección. Tejido altamente infectado con parásitos. Basófilos maduros (MS) en la región apical de las células del epitelio. Estructuras parasitarias más grandes manchadas heterogéneamente ubicadas en la parte inferior de los pliegues, lo que sugiere diferentes etapas del ciclo de vida 400 x (es decir, los estados inmaduros). Imagen obtenida de Higes *et al.*, 2007.

En los excrementos, las esporas pueden permanecer viables por más de 1 año. También pueden seguir viables por más de 4 meses después de la inmersión en miel y durante más de 4-5 años en los cadáveres de las abejas infectadas. Es probable que la contaminación fecal de la cera, en especial en los panales utilizados para la cría o de otras superficies interiores de la colmena, proporcione suficiente inóculo para que *Nosema* spp. se transmita con éxito a la nueva generación de abejas. La importancia relativa de las heces, la miel y los cadáveres como reservorio de las esporas infectivas no se comprende en su totalidad y parece que la temperatura puede tener un efecto marcado en las tasas a las que las esporas pierden viabilidad, independientemente del medio en que se encuentren<sup>53,54</sup>.

## **JUSTIFICACIÓN**

El virus VPAI causa una enfermedad paralizante en las abejas recientemente asociada al CCD, bajo ciertas condiciones, especialmente las co-infecciones con otros agentes patógenos, este virus puede reactivarse y/o replicarse. Diversas investigaciones han demostrado que este virus tienen fuertes efectos sinérgicos con la presencia de enfermedades parasitarias como *Varroa destructor* y *Nosema spp.* En México existe poca información e investigación sobre las enfermedades virales de las abejas y se desconoce su distribución, por lo que este trabajo propone contribuir al conocimiento de la presencia del virus en la República Mexicana y establece la relación con la presencia del ácaro *Varroa destructor* y el microsporidio *Nosema spp.*

## **HIPÓTESIS**

El Virus de la Parálisis Aguda Israelí podrá ser detectado mediante la técnica de RT-PCR en las abejas *Apis mellifera* y al conocer los porcentajes de infestación de *Varroa destructor* y los niveles de infección *Nosema spp.* en los apiarios muestreados se podrá establecer la relación ellos.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Realizar la detección del virus de la Parálisis Aguda Israelí en abejas (*Apis mellifera*) mediante la técnica de RT-PCR y analizar la posible relación que existe con la presencia de *Varroa destructor* y *Nosema* spp.

### **Objetivos particulares**

1. Determinar el porcentaje de infestación de *Varroa destructor*.
2. Determinar el nivel de infección de *Nosema* spp.
3. Detectar la presencia del VPAI mediante la técnica de RT-PCR.
4. Establecer la relación entre la presencia de *Varroa destructor* y *Nosema* spp. con la del VPAI.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Muestreo

El muestreo se realizó en los estados de Yucatán, Querétaro, Morelos, Hidalgo, Estado de México, Distrito Federal y Campeche. Se tomaron medidas de seguridad pertinentes, como son el uso del overol, velo, guantes y botas, indumentaria adecuada para el trabajo de campo con abejas, además del uso del ahumador y la ayuda y supervisión del apicultor dueño o encargado del apiario. Se registraron los datos de los apiarios y colmenas muestreadas para tener un control y conocer la procedencia de las muestras obtenidas. Se obtuvieron tres tipos de muestras, la primera para la detección de virus tomando aproximadamente 50 abejas adultas en una caja de cartón, la segunda para determinar el grado de infestación de *Varroa destructor* y el nivel de infección de *Nosema* spp. (Figura 12 a) colectando 300 abejas aproximadamente en un envase tipo pet y se conservaron en alcohol al 70% y la tercera muestra para la detección del virus y diagnóstico del porcentaje de infestación de *V. destructor* en las crías cortando un trozo de panal de 5 x 5cm con 60 crías aproximadamente, estas últimas se transportaron en refrigeración y fueron procesadas inmediatamente a su llegada al laboratorio para evitar su descomposición (Figura 12 b). Las muestras para detección del virus fueron colocadas y transportadas en refrigeración y posteriormente se congelaron a  $-80^{\circ}$  hasta su procesamiento en el laboratorio <sup>14</sup>.



Figura 12. a) Colección de abejas en un frasco con alcohol al 70%, b) Trozo de panal con cría  
Fotos tomadas por Bacilio LE, 2014.

## 2.2. Detección de varroosis

### Cría

En el laboratorio se procesaron los trozos de panal para lo cual se desoperculó el panal y extrajeron las crías con pinzas entomológicas (Figura 13) en busca ácaros de *Varroa destructor* para obtener el porcentaje de infestación de estas, las larvas se colocaron en tubos de 5 ml los cuales se congelaron para el posterior diagnóstico del VPAI.



Figura 13. Extracción de crías operculadas  
Foto tomada por Bacilio LE, 2014.

El porcentaje de celdas infestadas se obtuvo con la siguiente fórmula <sup>55, 75</sup>:

$$\% \text{ de infestación en el panal de cría} = \frac{\text{número de celdas infestadas}}{\text{número de celdas examinadas}} \times 100$$

### Abejas adultas

El diagnóstico de la infestación de *Varroa destructor* en abejas adultas se determinó con la prueba de **David de Jong** siguiendo las respectivas recomendaciones de la NOM-056-ZOO-1995 y el manual de Varroosis <sup>8, 55</sup>.

Las varroas fueron recolectadas en tubos eppendorf identificados, registrados y congelados para su posterior procesamiento. Se contó el número de abejas y los ácaros colectados sobre la tela blanca como lo muestra la Figura 14 y se aplicó la siguiente fórmula <sup>55, 75</sup>:

$$\% \text{ de infestación} = \frac{\text{número de ácaros (Varroas)}}{\text{número de abejas adultas}} \times 100$$

El resultado de la fórmula reveló el grado del porcentaje de infestación de la colmena muestreada como se indica en la Tabla 4.



Figura 14. *Varroas* retenidas sobre la tela blanca  
Foto tomada por Bacilio LE, 2014.

Tabla 4. Grado y porcentaje de infestación de *Varroa destructor*

<b>Grado y porcentaje de infestación del ácaro <i>Varroa destructor</i> en abejas adultas</b>	
<b>Nivel de infestación</b>	<b>% Porcentaje de Infestación</b>
<b>Baja</b>	1 al 5%
<b>Media</b>	5 al 10%
<b>Alta</b>	Más del 10%

Modificada del Manual de Patología apícola SAGARPA, 2012 y el MANUAL DE PRÁCTICAS DE LA ASIGNATURA PRÁCTICA DE MEDICINA Y ZOOTECNIA APÍCOLA II, UNAN. FMVZ, agosto, 2013.

### **2.3. Detección de nosemosis**

Se tomaron 25 abejas conservadas en alcohol al 70% y se enjuagaron en agua destilada con el fin de retirar el exceso de alcohol, se separaron los abdómenes del resto del cuerpo de las abejas con la ayuda de pinzas o bisturí los cuales se colocaron en un mortero y se agregó 25 ml de agua destilada poco a poco para realizar un macerado uniforme. Se retiró el sobrenadante con una pipeta Pasteur de plástico evitando llevar restos de abeja y por último

el sobrenadante se colocó en un tubo limpio. A partir del sobrenadante se realizó el examen microscópico en busca de esporas de *Nosema* spp. depositando 10 µl del sobrenadante en una cámara Neubauer. La observación se inició con el objetivo 10x buscando la presencia de esporas, estas fueron distinguibles fácilmente por ser corpúsculos brillantes, muy refringentes bien definidos en su contorno y de forma ovalada. Se contó el número de esporas que existían dentro del cuadrante marcado en la cámara, como se observa en la Figura 15. En el conteo se incluyeron las esporas que quedaron sobre las líneas del lado izquierdo y superiores. El nivel de infección de la colmena se obtuvo aplicando la siguiente ecuación de acuerdo a Jaycox<sup>53, 54, 55</sup>.

$$\text{Número de esporas por abeja} = \frac{\text{número total de esporas contadas}}{80} \times 4\,000\,000$$

De acuerdo con la cantidad de esporas apreciadas en el campo visual del microscopio (200-400 aumentos) se calificó el grado de infección como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Intensidad de la infección y número de esporas de *Nosema* spp. en abejas adultas de acuerdo a Jaycox

Intensidad de la Infección	Nº de esporas (millones) por abeja
Nula	Menos de 0.01
Muy ligera	0.01 - 1.0
Ligera	1.0 - 5.0
Regular	5.0 - 10.00
Semisevera	10.00 - 20.00
Severa	Más de 20.00

Modificada de la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-056-ZOO-1995, ESPECIFICACIONES TÉCNICAS PARA LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS QUE REALICEN LOS LABORATORIOS DE PRUEBAS APROBADOS EN MATERIA ZOOSANITARIA.

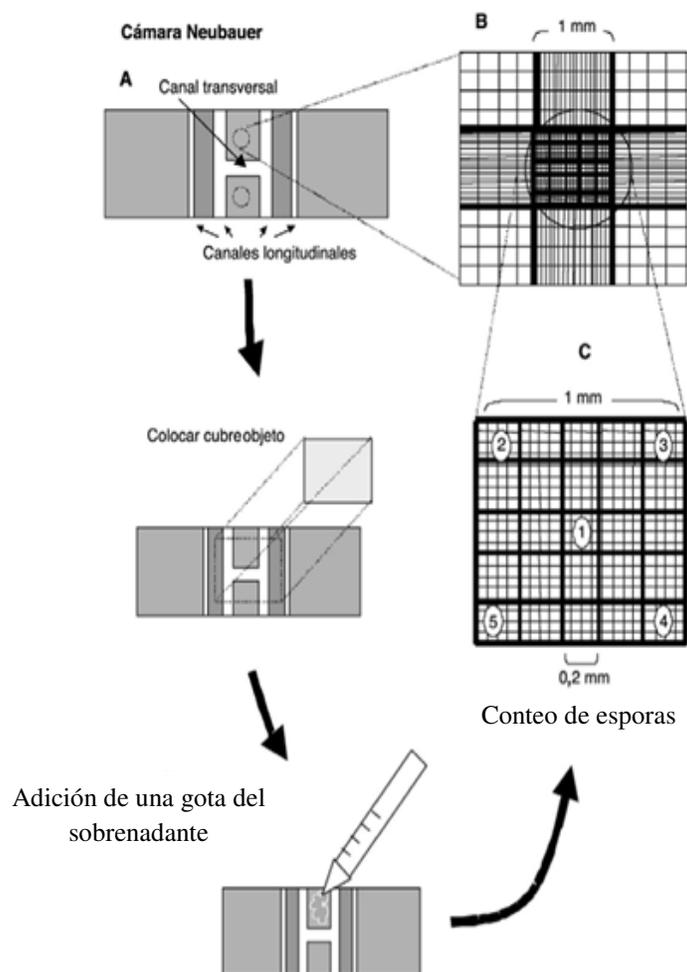


Figura 15. Adecuación del método de Neubauer para el conteo de esporas de *Nosema* spp. Imagen modificada de <http://2.bp.blogspot.com/-MLN4JYyRobk/ULRQEd1XnJI/AAAAAAAAAAk/J3rjKLJuGI/s640/camara.png>.

## 2.4. Detección del Virus de la Parálisis Aguda Israelí de las abejas

### 2.4.1. Obtención de ARN

La obtención de ARN total se realizó como lo describe Tentcheva *et al.*, (2004), para lo cual se maceraron 25 abejas en un mortero con nitrógeno líquido y se homogenizó en 5 ml de Buffer TN (10 mM Tris; 400 mM NaCl; pH 7.5) <sup>74</sup>.

En el caso de las crías, se pesaron 5 gramos de crías (larvas y pupas), se maceraron con nitrógeno líquido hasta obtener una pasta homogénea y finalmente se les agregó *cbp* 5 ml de amortiguador TN para homogenizar <sup>18</sup>.

Se probaron diferentes variantes de la técnica para la obtención del ARN utilizando el Kit QIAamp Viral ARN Minikit (QIAgen™) con y sin centrifugación siguiendo las recomendaciones del fabricante y la técnica de extracción de ARN con Trizol (TRIZol® Reagent y TRIZol® LS Reagent) con y sin centrifugación. Siendo la técnica de *Trizol* (**TRIZol® Reagent**) con centrifugación la que mejor resultados proporcionó.

La técnica de extracción de ARN con Trizol (**TRIZol® Reagent**) tuvo el siguiente procedimiento: a 250  $\mu$ l del sobrenadante de las abejas adultas maceradas y homogenizadas en Buffer TN se le añadieron 750  $\mu$ l de TRIZol® en tubos eppendorf de 2 ml, se incubaron a temperatura ambiente por 5 minutos, posteriormente se añadieron 200  $\mu$ l de cloroformo y los tubos se agitaron enérgicamente con la mano por 15 segundos, estos fueron incubados por 3 min a temperatura ambiente, se centrifugaron a 12000 rpm por 15 min a 4° C, se removió la fase acuosa de la muestra en un tubo nuevo. Se le añadieron 500  $\mu$ l de isopropanol al 100%, se incubó a temperatura ambiente por 10 min y se centrifugó a 12000 rpm por 10 minutos a 4°C, se eliminó el sobrenadante del tubo, dejando sólo el botón que contenía el RNA el cual se lavó con 1 ml de etanol al 75%, agitando la muestra suavemente, se centrifugó a 7500 rpm por 5 min a 4 °C y se desechó el etanol por decantación. Se dejó secar el ARN a temperatura ambiente durante 10 min aproximadamente. Por último se resuspendió el ARN en agua DEPC, se incubó en un baño María a 60 °C por 10 minutos y se conservó a -70°C hasta su uso.

#### **2.4.2. Preparación y síntesis del ADNc**

Las muestras de ARN de abejas adultas y de crías usadas para la detección del VPAI se procesaron para obtener el ADNc empleando el sistema Revert Aid First Strannd ADNc Synthesis Kit (Thermo Scientific™). Siguiendo las instrucciones del fabricante y se preparó una primera mezcla de reacción (Tabla 6) y se incubó 5 min a 65°C. Después de la incubación se le agregó una segunda mezcla de reacción (Tabla 6) y se centrifugó brevemente, se incubó 60 min a 42°C. Por ultimo para detener la reacción se incubó 5 min a 70°C.

Tabla 6. Primera y Segunda mezcla de reacción para obtención del ADNc

Primera mezcla de reacción		Segunda mezcla de reacción	
Oligo DT	1 µl	5x. Buffer	4 µl
H <sub>2</sub> O	10 µl	Ribo lock ARNsa	1 µl
Muestra ARN	1 µl	DNT's	2 µl
Total	12 µl	Revertaid M- Mulv	1 µ
		Total	8 µl

### 2.4.3. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

El establecimiento de la PCR se hizo empleando iniciadores específicos y se muestran en la siguiente tabla (Tabla 7) <sup>14, 17, 18</sup>.

Tabla 7. Iniciadores para VPAI

Iniciadores	Secuencia	Ubicación	Tamaño del producto en pb	Referencia
VPAI F <b>VPAI F6627</b>	<b>5'CCATGCCTGGCGATTAC3'</b>	<b>CAPSIDE</b>	<b>203</b>	<b>de Miranda</b>
VPAI R <b>KIVPA 6707</b>	<b>5'CTGAATAATACTGTGCGTATC3'</b>	<b>VP2</b>		

En la Tabla 8 se muestran las condiciones de amplificación usadas en la PCR implementada para el diagnóstico del VPAI.

Tabla 8. Condiciones de amplificación usadas en la PCR para la detección del VPAI

Paso	Temperatura °C	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	94	5 min	1
Desnaturalización	94	30 seg	
Alineación	58	30 seg	35
Extensión	72	30 seg	
Extensión final	72	10 min	1
Refrigeración	4	∞	

#### 2.4.4. Electroforesis de los productos de la PCR

##### *Preparación del gel de agarosa y visualización de los fragmentos obtenidos de la RT-PCR*

Para preparar el gel de agarosa al 1.8% se pesó y midió la cantidad necesaria para obtener la concentración deseada: gramos de agarosa/ mililitros de TAE, ambos se depositaron en un matraz Erlen-Meyer y fueron calentados en un mechero bunsen hasta que la agarosa se disolvió por completo, se dejó enfriar la solución, se añadió bromuro de etidio al 1% y se colocó en el molde para gel previamente sellado y con el peine en la posición deseada y se dejó solidificar. La electroforesis se realizó por 1 hora a 70 volts en una cámara para electroforesis Horizon® 11-14 y se visualizó en un digitalizador de imágenes (Kodak Digital Science 1D). Para confirmar la especificidad de los productos de PCR se purificaron con el sistema QIAquick Gel extraction Kit (QIAgen).

##### *Análisis estadístico de la interacción entre la presencia del VPAI, Varroa destructor y Nosema spp.*

Para determinar la posible interacción que pudiera existir entre los agentes etiológicos objetos de estudio se utilizó la prueba  $\chi^2$  como modelo de inferencia estadística para determinar la independencia utilizando como variables la presencia o ausencia del VPAI y el porcentaje de infestación de *Varroa destructor* o de infección de *Nosema spp.* Así mismo se establecieron las hipótesis respectivas y se utilizó la siguiente ecuación:

Donde: 
$$\chi^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

$O_i$  es la frecuencia observada

$E_i$  es la frecuencia esperada

Así mismo se realizó un análisis de Regresión Lineal y Correlación para determinar la relación entre *V. destructor* y *Nosema spp.* utilizándose la siguiente ecuación

$$y = a + bx$$

Donde:

$y$  representa los valores de la coordenada a lo largo del eje vertical en el gráfico (ordenada);

$x$  indica la magnitud de la coordenada sobre el eje horizontal (abscisa).

$a$  es el origen o intercepto

$b$  es la pendiente o coeficiente de regresión.

### 3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 499 muestras de 86 apiarios cooperantes de 7 estados de la República Mexicana, de los cuáles 77 muestras fueron de crías y 422 de abejas adultas (Tabla 9).

Tabla 9. Relación de las muestras obtenidas y procesadas

Entidad	Número de Apiarios	Muestras de	
		Crías	Adultas
Yucatán	15	14	71
Querétaro	13	0	65
Morelos	13	0	63
Hidalgo	1	5	7
Estado de México	20	6	106
Distrito Federal	9	35	35
Campeche	15	17	75
TOTAL	86	77	422

#### 3.1. Infestación por *Varroa destructor*

##### *Crías*

El **57%** de las muestras resultaron con un nivel bajo, el **3%** medio y el **40%** alto. Con un porcentaje promedio de **9.94**.

La diferencia de los porcentajes del nivel de infestación de *Varroa destructor* obtenidos en las muestras de las crías puede deberse a varios factores como la diferencia de condiciones climáticas entre un apiario y otro, el manejo de la colmena dado por cada apicultor y los tratamientos que se usan para el control de *V. destructor*; entre otros <sup>78</sup>.

De Jong *et al.* (1982) y Schneider y Drescher (1987), observaron que las abejas infestadas emergieron de sus celdas con menor peso que las abejas no infestadas o con diferentes lesiones como las que se muestran en la Figura 16 <sup>78</sup>, si una abeja nace débil puede ser más propensa a adquirir otras enfermedades.

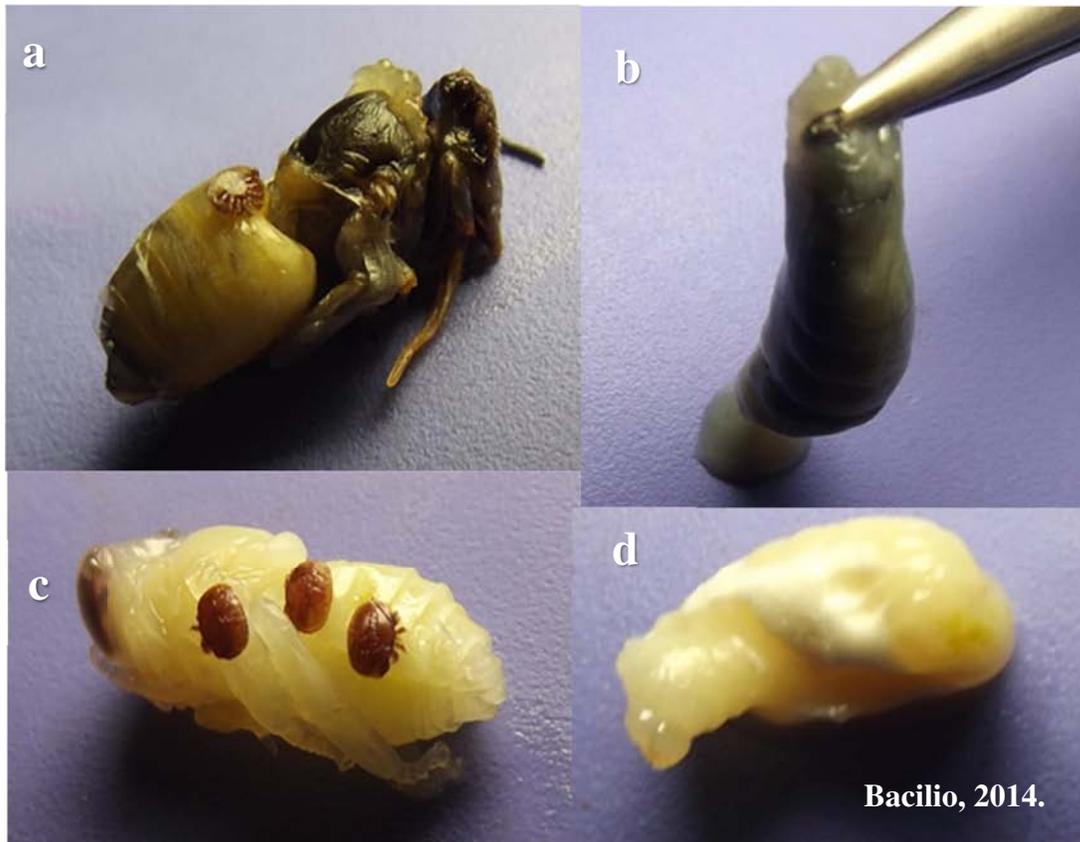


Figura 16. Hallazgos encontrados en las muestras de crías operculadas  
 a) Cría con coloración negruzca y malformaciones, b) Cría con aparente licuefacción y coloración negruzca, c) Cría con tres *Varroas* sobre abdomen y tórax y d) Cría endurecida con aparente momificación. Todas son manifestaciones de enfermedad en las abejas. Fotos tomadas por Bacilio LE, 2014.

### Adultas

En la determinación del porcentaje de infestación mediante la técnica de *David de Jong* en las muestras de abejas adultas se observó que el porcentaje de infestación promedio fue el siguiente para el muestreo por estado (Tabla 10):

Tabla 10. Promedios del porcentaje de infestación de *V. destructor* por estado muestreado

Estado	Promedio del porcentaje de infestación de <i>Varroa destructor</i>
Yucatán	3.38%
Hidalgo	9.63%
Estado de México	5.03%
D.F	4.22%
Campeche	2.96%

Como se observa en la Figura 17 en todos los estados el nivel de infestación bajo es el que predomina en la mayoría de los muestreos, siguiéndole el nivel medio; mientras que en **Hidalgo** el nivel de infestación alto fue el que se presentó en mayor porcentaje (**57%**) aunque, debido a el número de muestras obtenidas, los resultados no son representativos para el estado.

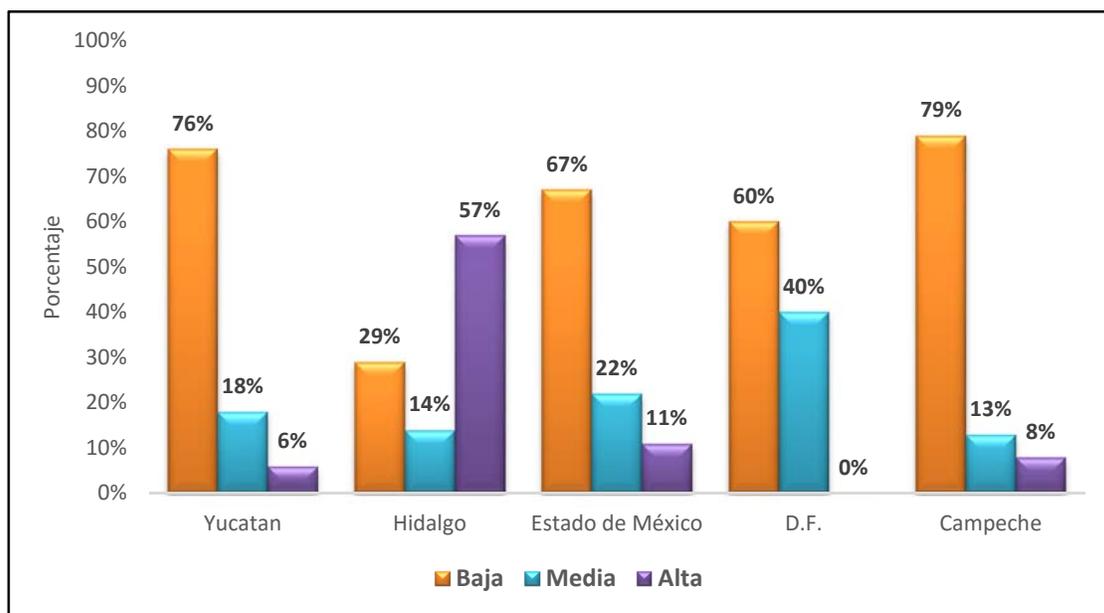


Figura 17. Porcentaje de los diferentes niveles de infestación de *Varroa destructor* en abejas adultas

Las abejas adultas infestadas suelen ser débiles y tiene vidas productivas muy cortas. El impacto de *Varroa destructor* depende del grado de infestación de las colmenas afectadas. Una infestación baja causa daños ligeros, mientras que una infestación alta puede acabar por completo con las colmenas<sup>78, 85</sup>.

En los resultados presentados se observaron variaciones entre las fechas de muestreos y entre regiones, lo que permite deducir, como ha sido reportado por Medina en 1998, que la varroosis presenta variaciones a lo largo del año y que estas variaciones pueden ser atribuibles a la fortaleza de la colonia, a la cantidad de larvas de abeja en los panales, a factores de la propia *Varroa destructor* y a las características de resistencia natural de las abejas al ácaro (autolimpieza o acicalamiento)<sup>88, 90</sup>.

Las condiciones climáticas entre un estado y otro, incluso entre un apiario y otro y el manejo que cada apicultor realiza no son los mismos, además se desconoce la raza de cada colmena, la procedencia de las reinas, si realizan trasnhumancia para polinización o para buscar alimento, si las abejas son silvestres o no, si están cerca de una región que presente altos porcentajes de infestación de *Varroa destructor*, la aplicación de tratamientos que se usan para el control de *V. destructor* y otros patógenos entre otros muchos factores que pueden ser determinantes para estos porcentajes. Por lo que la variación de los resultados obtenidos puede ser atribuible a todos estos factores.

En Jalisco Becerra *et al.*, (2009) encontraron variabilidad en el porcentaje de infestación de *V. destructor*, debido a la ubicación de las colonias muestreadas. Jiménez *et al.*, (1992) en Tamaulipas demostraron que las colmenas con mayor porcentaje de infestación de *V. destructor* eran las de origen europeo, las que estaban cerca de la frontera con Estados Unidos y Veracruz, el muestreo se realizó en primavera y verano cuando hay enjambrazón, es decir que las abejas se desplazan a otras regiones para formar nuevas colonias y algunas colmenas muestreadas habían sido recién capturadas, además de contar con una población baja y ser de origen desconocido. La relevancia de que las colmenas sean silvestres y capturadas para este y todos los estudios radica en que se desconoce el origen y la raza de las abejas.

### 3.2. Infección por *Nosema* spp.

Tras el conteo del número de esporas se pudo determinar el promedio de los millones de esporas (ME) en cada uno de los estados (Tabla 11).

Tabla 11. Promedio de los Millones de Esporas de *Nosema* spp. por estado muestreado

<b>Estado</b>	<b>ME (millones de esporas) de <i>Nosema</i> spp.</b>
Yucatán	<b>0.360</b>
Querétaro	<b>0.137</b>
Morelos	<b>0.087</b>
Hidalgo	<b>0.040</b>
Estado de México	<b>0.208</b>
D.F	<b>0.105</b>
Campeche	<b>0.190</b>

Los niveles bajos de esporas de *Nosema* spp. en las colonias muestreadas en los diferentes estados, sugiere que tal enfermedad puede presentarse en diferentes niveles para cada entidad. En un muestreo realizado en 2004 por Guzmán *et al.*, en Morelos, Hidalgo, Estado de México y Distrito Federal, se encontró que 68.7 % de las colonias analizadas fueron positivas a la presencia de esporas de *Nosema* spp., de las cuales 6 % fueron positivas a *N. apis*, y 94 % resultaron positivas a *N. ceranae*, lo cual revela que esta especie es la dominante en el centro de la República Mexicana<sup>79, 82</sup>.

La presencia de *Nosema* spp. ha causado preocupación en los últimos años, en especial con los recientes descensos en las poblaciones de abejas a causa del CCD, aunque las causas específicas aún son indeterminadas. La co-infección por virus y *Nosema* spp. en abejas podría estar asociada con el CCD. A pesar de esto la enfermedad causada por *Nosema* spp. ha pasado por alto en muchos apiarios, provocando su expansión a todas las áreas de cría<sup>63, 83</sup>.

Posteriormente se obtuvieron los niveles de infección de acuerdo a Jaycox para cada estado, todos se encontraron dentro del nivel de infección nula o muy ligera, a diferencia de Yucatán y Campeche que también presentaron un nivel de infección ligera. El Estado de México es el único en presentar un nivel de infestación semisevera como se muestra en la Tabla 12.

Tabla 12. Porcentajes del nivel de infección de *Nosema* spp. en los diferentes estados muestreados

Nivel de infección	Millones de Esporas	Estado de la República Mexicana						
		Yucatán	Querétaro	Morelos	Hidalgo	Estado de México	D.F.	Campeche
<b>Nula</b>	< 0.01	<b>17%</b>	<b>5%</b>	<b>0%</b>	<b>14%</b>	<b>20%</b>	<b>31%</b>	<b>8%</b>
<b>Muy ligera</b>	0.01 - 1.0	<b>68%</b>	<b>95%</b>	<b>100%</b>	<b>86%</b>	<b>79%</b>	<b>69%</b>	<b>90%</b>
<b>Ligera</b>	1.0 - 5.0	<b>13%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>2%</b>
<b>Regular</b>	5.0 - 10.00	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>
<b>Semisevera</b>	10.00 - 20.00	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>1%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>
<b>Severa</b>	> 20.00	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>

Así como en el caso de *Varroa destructor*, las variaciones observadas en los niveles de infección de *Nosema* spp. pueden ser atribuidos a todos los factores antes mencionados, uno de ellos en particular la precipitación pluvial ha sido estudiada y referida como un factor de predisposición, ya que diferentes estudios lo han demostrado; Bailey y Ball (1991) reportaron que existe correlación entre la precipitación pluvial y la incidencia y grado de infección de *N. apis*. En el estado de Zacatecas el mayor número de casos de nosemosis se observó en la zona con mayor precipitación pluvial (semiseca-semicálida). La variación de la precipitación entre un estado y otro posiblemente explique la baja prevalencia de la enfermedad, debido a que el periodo de encierro de las abejas es diferente, probablemente conlleve a una menor o mayor frecuencia, reproducción y diseminación de *Nosema* spp.<sup>82</sup>.

La prevalencia de la nosemosis puede aumentar con el paso del tiempo, esto lo confirma un estudio realizado en el estado de Yucatán por García & Quezada- Euan en 1993, se reportó prevalencia de 14.4 % en colonias comerciales y para el año 2006 Martínez *et al.*, (2011) reportaron una prevalencia del 74 %<sup>82</sup>.

### 3.3. RT-PCR para la identificación del VPAI

Con el método de obtención antes descrito se obtuvo un ARN íntegro. Lo anterior se observó mediante una electroforesis en un gel al 1.8% de agarosa teñido con bromuro de etidio al 1% (Figura 18).

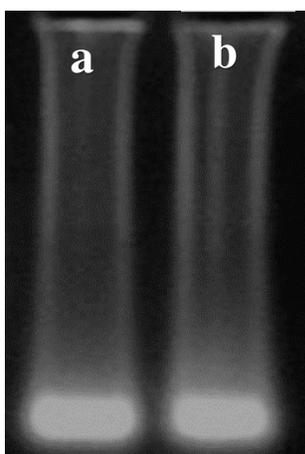


Figura 18. Integridad de ARN en gel de agarosa al 1.8% teñido con bromuro de etidio al 1%.  
Muestras de abejas adultas (a) y crías (b).

Una vez establecida la RT-PCR se realizó la detección del Virus de la Parálisis Aguda Israelí, los productos de PCR positivos fueron visualizados después en la electroforesis en gel de agarosa al 1.8% teñido con bromuro de etidio al 1% (Figura 19).

Se analizaron 422 muestras de abejas adultas detectándose casos positivos en Yucatán con el **4.23%** (3/71), en Querétaro el **38.46%** (25/65), en Morelos el **4.76%** (3/63), en el Distrito Federal el **8.57%** (3/35) y Campeche el **4%** (3/75) y en las de Hidalgo y Estado de México fueron todas negativas.

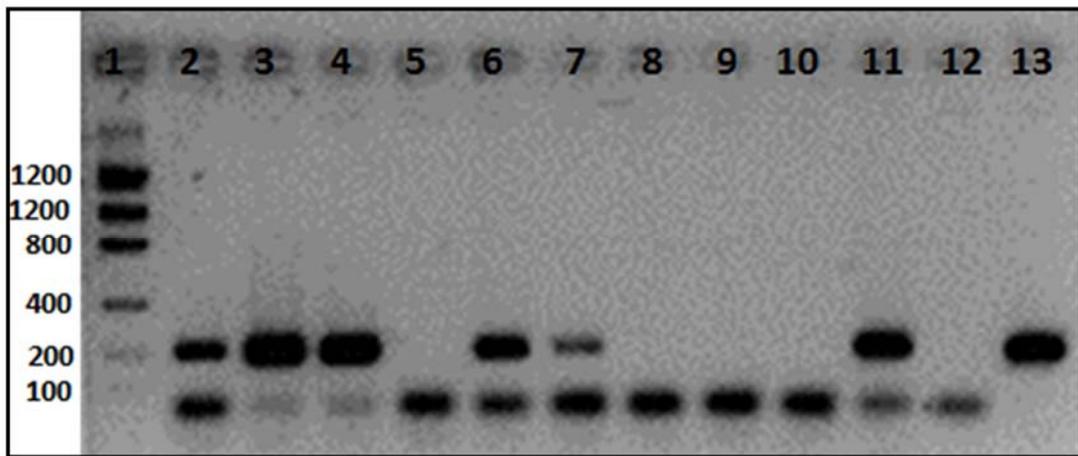


Figura 19. Negativo de un gel de agarosa al 1.8% teñido con bromuro de etidio al 1% Carril 1. Marcador de pb (Low ADN Mass Ladder). Carril 2, 3, 4, 6, 7 y 11. Muestras de abejas positivas a VPAI correspondientes a 203pb. Carril 5, 8, 9 y 10. Muestras de abejas negativas a VPAI. Carril 12. Control negativo. Carril 13. Control positivo de VPAI.

Lo anterior evidencia que en los estados muestreados para este estudio existe la presencia del virus VPAI, observándose que el estado donde hubo un mayor porcentaje de muestras positivas al VPAI fue el de Querétaro. La presencia del VPAI y otros virus como VAD, VPA, VC, VCE y VCRN ya había sido reportada el Distrito Federal, en colonias de la delegación Tlalpan y Xochimilco, Guzmán *et al.*, en 2012 y 2013, Hamiduzzaman *et al.*, en 2014, lo cual permitió evidenciar la presencia de enfermedades virales de las abejas en México.

### 3.4. Análisis mediante Ji cuadrada ( $\chi^2$ )

La posible relación entre la presencia del virus VPAI y la presencia de *Varroa destructor* y *Nosema* spp. se evaluó a través del análisis de  $\chi^2$  con el objetivo de determinar si la presencia

del virus era independiente a los niveles de infestación de *V. destructor* y de infección de *Nosema* spp.

Primero se realizó la prueba para el caso del porcentaje de infestación de *Varroa destructor* obteniéndose la siguiente tabla de contingencia (Tabla 13).

$\chi^2$  para *Varroa destructor* y el virus VPAI

Tabla 13. Tabla de contingencia para la prueba de  $\chi^2$  entre *Varroa destructor* y el virus VPAI

	Porcentaje de infestación de <i>Varroa destructor</i>			Total
	0 al 5%	5 al 10%	>10%	
Positivos al virus	fo 6 <b>fe 4</b>	fo 2 <b>fe 2.4</b>	fo 0 <b>fe 1.6</b>	8
Negativos al virus	fo 4 <b>fe 6</b>	fo 4 <b>fe 0</b>	fo 4 <b>fe 0</b>	12
Total	10	6	4	20

fo: Frecuencia observada, fe: Frecuencia esperada.

Donde la hipótesis nula:

$H_0$ = Las variables positivo-negativo a VPAI y el % de infestación son independientes

Y la hipótesis alternativa:

$H_A$ : Las variables positivo-negativo a VPAI y el % de infestación no son independientes

Obteniendo el valor de  $\chi^2 = 3.333$ , comparándolo con el valor de las tablas de  $\chi^2$  para los 2 gl [gl = (r-1) (c-1) = 2] que resultó en **5.991**, al obtener un valor de  $\chi^2 < 5.991$  **no hay evidencia estadística para rechazar la  $H_0$**  por lo que se puede decir que la variable de la presencia del VPAI es independiente al porcentaje de infestación de *Varroa destructor*.

Debido a la similitud que existe en la morfología y genética del virus VPAI con el virus VPA se esperaría que en las muestras que presentaron infestación de *Varroa destructor* existiera una dependencia con la presencia del VPAI, ya que en el caso del VPA basta con una infestación relativamente baja de ácaros de *V. destructor* para que las abejas estén seriamente amenazadas por el virus<sup>21, 77, 91</sup>.

Diferentes estudios han demostrado que la presencia del ácaro *Varroa destructor* ayuda para que las colonias de abejas se vean amenazadas y sufran la infección de diferentes virus como: VAD, VPAI, VPA, VCE<sup>5</sup>, VPL<sup>80</sup>.

Un estudio realizado por Di Prisco *et al.*, (2011), ofreció la primera evidencia de que *Varroa destructor* es un vector para el virus VPAI en las abejas. En el presente estudio se observó que estadísticamente la presencia del virus VPAI en las abejas es independiente al porcentaje de infestación por *V. destructor*; es decir que la presencia del virus no depende del porcentaje de infestación del ácaro. Pero esto no significa que *V. destructor* no sea un vector para el virus VPAI, ya que Guzmán *et al.*, (2012) encontraron abejas adultas, crías y ácaros positivos a VPAI y VAD. Es decir, que si los niveles de infestación no dependen estadísticamente de la presencia del virus VPAI, la sola presencia del ácaro podría contribuir a la infección no solo del VPAI sino de otros virus; esto aunado a la situación sanitaria de la colmena, genética y de otros muchos factores.

#### $\chi^2$ para *Nosema* spp. y el virus VPAI

Así mismo se realizó la misma prueba para el caso de la cantidad de esporas de *Nosema* spp. obteniéndose la siguiente tabla de contingencia (Tabla 14).

Tabla 14. Tabla de contingencia para la prueba de  $\chi^2$  entre *Nosema* spp. y el virus VPAI  
Número de esporas de *Nosema* spp.

	< 10E3	10E3 a 10E4	>10E5	Total
Positivos a virus	fo 1 <b>fe 2.54</b>	fo 15 <b>fe 14.76</b>	fo 12 <b>fe 10.69</b>	28
Negativos a virus	fo 4 <b>fe 2.45</b>	fo 14 <b>fe 14.23</b>	fo 9 <b>fe 10.30</b>	27
Total	5	29	21	55

fo: Frecuencia observada, fe: Frecuencia esperada.

Donde la hipótesis nula:

$H_0$ = Las variables positivo-negativo a VPAI y el número de esporas de *Nosema* spp. son independientes.

Y la hipótesis alternativa:

$H_A$ : Las variables positivo-negativo a VPAI y el número de esporas de *Nosema* spp. no son independientes.

Obteniendo el valor de  $\chi^2= 2.244$ , comparándolo con el valor de las tablas de  $\chi^2$  para los 2 gl [gl = (r-1) (c-1)= 2] que resultó en **5.991**, al obtener un valor de  $\chi^2 < 5.991$  **no hay evidencia estadística para rechazar la  $H_0$**  por lo que se puede decir que la variable de la presencia del VPAI es independiente al número de esporas de *Nosema* spp.

En un estudio realizado por Blanchard *et al.*, (2008) todos los apiarios positivos al VPAI también fueron positivos para varroosis, tres fueron positivos para nosemosis (*Nosema ceranae*) y tres para el virus de la Parálisis Aguda (VPA). Además, el virus de Cachemira (VC) también se detectó en las muestras donde se encontró VPAI. Durante el mismo estudio, el 85% de las explotaciones apícolas fueron diagnosticadas con uno o varios patógenos, tales como *Varroa destructor* (50%), VPA (40%) y *Nosema* spp. (30%), basados en este estudio podemos observar el papel fundamental de las enfermedades de acompañamiento y las co-infecciones que pueden presentarse entre las enfermedades virales.

Aunque se desconoce hasta el momento cual es la relación entre el VPAI y la nosemosis si se ha demostrado que las abejas que padecen ambas enfermedades tendrán una vida más corta, en un estudio realizado por Bromenshenk *et al.*, (2010), las abejas infectadas con el virus y *Nosema* spp. murieron 14 días después de la inoculación.

$\chi^2$  de *Varroa destructor* y *Nosema* spp.

Independiente a la presencia del VPAI se realizó la prueba entre las variables de *Varroa destructor* y *Nosema* spp. usando la siguiente tabla de contingencia (Tabla 15).

Tabla 15. Tabla de contingencia para la prueba de  $\chi^2$  entre *Varroa destructor* y *Nosema* spp.

	Número de esporas de <i>Nosema</i> spp.			Total
	Nula	Muy Ligera	Ligera	
0 al 5%	fo 31 <i>fe 27.32</i>	fo 79 <i>fe 83.37</i>	fo 7 <i>fe 6.30</i>	117
5 al 10%	fo 4 <i>fe 8.17</i>	fo 29 <i>fe 24.94</i>	fo 2 <i>fe 1.88</i>	35
>10%	fo 4 <i>fe 3.5</i>	fo 11 <i>fe 10.68</i>	fo 0 <i>fe 0.80</i>	15
Total	39	119	9	167

fo: Frecuencia observada, fe: Frecuencia esperada.

Donde la hipótesis nula:

$H_0$ = Las variables número de esporas de *Nosema* spp. y el % de infestación de *V. destructor* son independientes

Y la hipótesis alternativa:

$H_A$ : Las variables número de esporas de *Nosema* spp. y el % de infestación de *V. destructor* no son independientes

Obteniendo el valor de  $\chi^2 = 4.48$ , comparándolo con el valor de las tablas de  $\chi^2$  para los 4 gl [gl = (r-1) (c-1)= 4] que resultó en **9.4880**, al obtener un valor de  $\chi^2 < 5.991$  **no hay evidencia estadística para rechazar la  $H_0$**  por lo que se puede concluir que la variable del % de infestación de *Varroa destructor* es independiente al número de esporas de *Nosema* spp.

Orantes y García en 1997 observaron que el número de esporas de *N. apis* se incrementaba al aumentar los niveles de infestación de *V. destructor*, debido a que éste, provoca una reducción en la hemolinfa de la abeja infestada favoreciendo la multiplicación de esporas de *N. apis*. Así mismo Hinojosa y González en 2004 observaron que infestaciones mixtas de *V. destructor* y *N. apis* provocan un aumento en la mortalidad de las colonias infestadas a pesar de que el número de esporas de *N. apis* fue menor en comparación con la infección única de *N. apis* <sup>87, 93, 94</sup>.

Un estudio realizado por Martínez *et al.*, (2011) en Yucatán con abejas silvestres y colonias manejadas, encontraron que el nivel de infección en las colonias manejadas fue similar a la registrada en los enjambres silvestres. También se observó una elevada frecuencia de *N. apis* en las colonias manejadas (74.0 %), en comparación a los enjambres silvestres (53.0 %), esto se debe a diversos factores que generalmente son causados por el propio apicultor, como la manipulación constante de las colmenas lo cual agrava los niveles de estrés, el aplastamiento de las abejas al momento de cerrar las colmenas, el empleo de equipo contaminado y el intercambio de panales de una colonia enferma a una colonia sana. Así mismo, se ha comprobado que las esporas de *N. apis* pueden ser transmitidas a través de la cera, el polen, la jalea real y bebederos contaminados. El intercambio de panales realizado por el apicultor es un vehículo importante en la transmisión de esporas de *N. apis*, lo cual no ocurre en los enjambres silvestres <sup>87</sup>.

Por otra parte Medina *et al.*, (2014), mencionan que el diagnóstico y cuantificación del nivel de infestación por *V. destructor*, así como el diagnóstico de *Nosema* spp. en cada colonia, lo hicieron a través de la colecta de una muestra de abejas adultas de los panales (bastidores) contiguos al área de cría. Ya que los panales laterales de las colmenas tienen abejas de edad intermedia y viejas (Winston, 1991), por lo que tienen mayor probabilidad de estar infestadas con *V. destructor* e infectadas con *Nosema* spp., que las abejas jóvenes del centro del nido de cría. En el presente estudio la toma de muestras se realizó de los bastidores centrales de la cámara de cría, por lo que las abejas usadas para la determinación del porcentaje de infestación de *V. destructor* y el nivel de infección de *Nosema* spp. eran jóvenes y pudieran no estar tan enfermas como las abejas de mayor edad, lo que dificulta establecer una relación entre el porcentaje de infestación de *V. destructor* y nivel de infección de *Nosema* spp. con la presencia del VPAI, debido a la variabilidad entre la edad de las abejas y el grado de parasitosis que estas pudieran presentar <sup>87</sup>.

#### *Correlación y regresión lineal para Nosema spp. y Varroa destructor*

Para darle más sustentabilidad a estos datos se realizó un análisis de correlación y regresión lineal (Figura 20) donde se pudo establecer la correlación entre los resultados de  $r^2 = 0.002$  y la ecuación como  $y = -4E-07x + 4.1037$  por lo que el incremento en el porcentaje de infestación de *V. destructor* tiene una correlación casi nula con el número de esporas de *Nosema* spp. y viceversa, es decir que no existe una correlación significativa. A pesar de esto la sola presencia de ambas enfermedades puede causar de gran mortalidad de las colonias de *A. mellifera* debido a la reciente asociación al CCD.

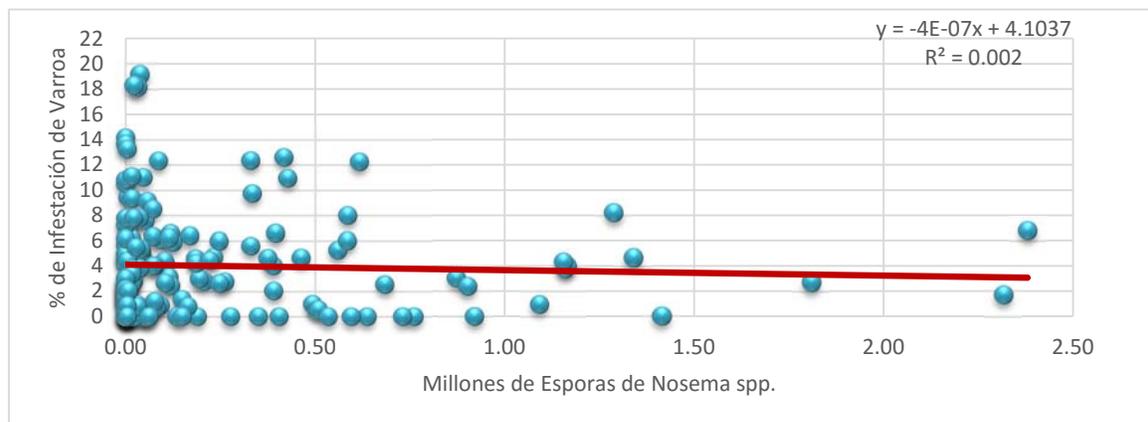


Figura 20. Dispersión de datos y regresión lineal de las variables de millones de esporas de *Nosema* spp. y porcentaje de infestación de *Varroa destructor*.

#### **4. CONCLUSIONES**

Se determinó la presencia de varroosis y nosemosis en todos los estados muestreados.

Se encontró la presencia del Virus de la Parálisis Aguda Israelí en los estados de Yucatán, Querétaro, Morelos, Distrito Federal y Campeche.

Se encontró independencia entre la presencia del VPAI, el porcentaje de infestación de *Varroa destructor* así como del número de millones de esporas de *Nosema* spp.

## 5. REFERENCIAS

1. Organización Mundial de Sanidad Animal. Fichas de información general sobre enfermedades animales. Enfermedades de las abejas. OIE, 2008. Disponible en pág: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media\\_Center/docs/pdf/Disease\\_cards/BEEES-ES.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/BEEES-ES.pdf). Consultado: 4 de diciembre de 2013.
2. Organización Mundial de Sanidad Animal. Código Sanitario para los Animales Terrestres OIE, 2010. Disponible en pág: [http://web.oie.int/esp/normes/mcode/es\\_sommaire.htm](http://web.oie.int/esp/normes/mcode/es_sommaire.htm). Consultado: 4 diciembre 2013.
3. Diario Oficial de la Federación. ACUERDO mediante el cual se enlistan las enfermedades y plagas de los animales, exóticas y endémicas de notificación obligatoria en los Estados Unidos Mexicanos. DOF, 2007. Disponible en pág.: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5001157&fecha=20/09/2007](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5001157&fecha=20/09/2007). Consultado: 7 diciembre 2013.
4. Organización Mundial de Sanidad Animal. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres (mamíferos, aves y abejas). (Versión electrónica PDF) Volumen I. 5ª ed. Francia (París): OIE, 2004. Disponible en pág.: <http://www.oie.int/doc/ged/D6508.PDF>. Consultado: 7 diciembre 2013.
5. Guzmán NE, Hamiduzzaman MM, Espinosa ML, Correa BA, Anguiano BR, y Ponce VR. First detection of four viruses in honey bee (*Apis mellifera*) workers with and without deformed wings and *Varroa destructor* in Mexico. *Journal of Apicultural Research* 2012; 51 (4): 342-346.
6. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Manual de Patología Apícola. Formato electrónico PDF. México (D.F): SAGARPA, 2012. Disponible en pág.: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Manual%20apicolos/Attachments/5/manpato.pdf> SAGARPA. Consultado: 28 octubre 2013.
7. Reynaldi FJ, Sguazz GH, Tizzano MA, Fuentealba N, Galosi CM, Pecoraro MR. First report of Israeli acute paralysis virus in asymptomatic hives of Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 2011; 43: 84-86.

8. Martínez PJF, Alcalá EKI, Leal HM, Vivas RJA y Martínez AE, Manual Varroosis. Prevención de Varroosis y Suplementación. México (DF): INIFAP-SAGARPA. Mayo, 2011.
9. Jean-Prost P y Médori P. Apicultura. Conocimiento de la abeja. Manejo de la colmena. 4ª ed. España: Editorial Mundi- Prensa, 2007.
10. Corbella E. Algo sobre despoblación de colmenas. Serie Actividades de Difusión N°398 INIA, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Uruguay, 2005. Disponible en pág: [http://www.iibce.edu.uy/DIVULGACION/ad\\_398.pdf](http://www.iibce.edu.uy/DIVULGACION/ad_398.pdf). Consultado: 16 noviembre 2013.
11. Ravazzi G. Las abejas. Cría Rentable. España (Barcelona): Editorial De Vencchi, 2005.
12. Bailey L. Patología de las abejas. 1ª ed. España: Acribia, 1984.
13. Bailey L y Ball B. V. Honey Bee Pathology. 2ª ed. San Diego CA: Academic Press, 1991.
14. Dainat B, Evans JD, Chen JP y Neumann P. Sampling and ARN quality for diagnosis of honeybee viruses using quantitative PCR. *Journal of Virological Methods* 2011; 174: 150–152.
15. Chen YP, Evans J, Feldlaufer M. Horizontal and vertical transmission of viruses in the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology* 2006; 92: 152-159.
16. Chen YP y Siede R. Honey Bee Viruses, *Advances in Virus Research* 2007; 70: 33-80.
17. Blanchard P, Schurr F, Olivier V, Celle O, Antúnez K, Bakonyi T, *et al.* Phylogenetic analysis of the ARN-dependent ARN polymerase (RdRp) and a predicted structural protein (pSP) of the Chronic bee paralysis virus (CBPV) isolated from various geographic regions. *Virus Research* 2009; 144: (1-2): 334.
18. Gauthier L, Tentcheva D, Touarnire M, Dainat B, Cousserans F, Edouard MC, *et al.* Viral load estimation in asymptomatic honey bee colonies using the quantitative RT-PCR technique. *Apidologie*: 2007; 38 (5): 426–435.
19. Del Pozo E y Schopflocher R. Cría de abejas. 1ª reimpresión. Argentina: Albatros, 2004.
20. Cornejo LG. y Rossi CO. Enfermedades de las abejas. Su profilaxis y Prevención. 2ª ed. Argentina: Hemisferio, 1975.

21. Ritter W. Enfermedades de las abejas. 1ª ed. España (Zaragoza), 2001.
22. Herbert M. Manual completo de Apicultura. México (D.F): Continental, 1992.
23. Lastra MIJ, Peralta AMA. “Situación actual y perspectiva de la Apicultura en México 2000”. SAGARPA. 2000 Formato PDF disponible en pág: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Estudios%20de%20situacin%20actual%20y%20perspectiva/Attachments/26/sppa00.pdf>. Consultado: 10 de diciembre 2013.
24. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Claridades Agropecuarias: Situación actual y perspectiva de la apicultura en México, SAGARPA. (Marzo 2010), Disponible en: [www.aseca.gob.mx/sicsa/claridades/marcos.Asp?numero=199](http://www.aseca.gob.mx/sicsa/claridades/marcos.Asp?numero=199). Consultado: 29 de enero 2013.
25. Bradbear N. Folleto de la FAO sobre diversificación 1. ”La apicultura y los medios de vida sostenibles”. Roma: FAO, 2005. Disponible en pág: <http://www.fao.org/docrep/008/y5110s/y5110s00.htm>. Consultado: 29 de enero 2013.
26. Dussaubat C, Brunet J-L, Higes M, Colbourne JK, Lopez J, Choi HJ, *et al.*, Gut Pathology and Responses to the Microsporidium *Nosema ceranae* in the Honey Bee *Apis mellifera*. PLoS ONE 2012; 7 (5): e37017.
27. Ribière M, Olivier V, Blanchard P. Chronic bee paralysis: a disease and a virus like no other?. Journal of Invertebrate Pathology 2010; 103 (1): 120-31.
28. Izquierdo-Rojo. Ingeniería genética y transferencia genética. España (Madrid): Pirámide, 2000.
29. Organización Mundial de Sanidad Animal. Comunicado de Prensa. Los problemas de salud de las abejas dependen de múltiples factores. París: OIE, 2010. Disponible en: <http://www.oie.int/es/para-los-periodistas/comunicados-de-prensa/detalle/article/health-problems-of-bees-are-due-to-multiple-factors/>. Consultado: 30 de enero 2013.
30. Organización Mundial de Sanidad Animal. Texto general de introducción con información de fondo para los capítulos del código sanitario para los animales terrestres sobre las enfermedades de las abejas. OIE, 2013. Formato PDF. Disponible en: <http://www.oie.int/es/nuestra-experiencia-cientifica/informaciones-especificas-yrecomendaciones/enfermedades-de-los-abejas/> Fecha de consulta: 22 de diciembre de 2013.

31. De Miranda JR, Cordoni G, Budge G. The Acute bee paralysis virus-Kashmir bee virus-Israeli acute paralysis virus complex. *Journal of Invertebrate Pathology* 2010; 103: 30-47.
32. Mc Gregor SE. *Apicultura*. 8ª reimpresión. México: Limusa-Noriega Editores, 1992.
33. Harrison AG, Hebden A y Richard FA. *Cría de Abejas, su miel y sus enfermedades*. España: Acribia, 1995.
34. García GLE y Meza RE. Oportunidades y obstáculos para el desarrollo de la apicultura en Nayarit. Versión electrónica disponible en EUMED <http://www.eumed.net>. Tepic (Nayarit): ISBN; 2012. Consultado: 16 febrero 2014.
35. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. *Manual de Buenas Practicas de Producción de Miel*. Versión electrónica PDF. México: SAGARPA, 2008. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Manuales%20de%20Buenas%20Prcticas/Attachments/1/mbpp.pdf>. Consultado: 16 de febrero 2013.
36. Bruneau E, Barbançon JM, Bonnaffé P, Clément H, Domerego R, Fert G, *et al.* *Tratado de Apicultura. El conocimiento y el cuidado de la abeja, las técnicas apícolas y los productos de la colmena*. España (Barcelona): Omega, 2012. Consultado: 20 de febrero 2013.
37. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. *Plan Rector del Sistema Producto Apícola*. Versión electrónica PDF. México: SAGARPA, 2003. Disponible en: <http://www.amsda.com.mx/PREstatales/Estatales/DF/PREapicola>.
38. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. *DELEGACIÓN EN EL DISTRITO FEDERAL COMUNICACIÓN SOCIAL. Boletín 013/21-febrero-2012/*. Versión electrónica PDF. México: SAGARPA, 2012. Disponible en: [http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Documents/B0132012.pdf?Mobile=1&Source=%2FDelegaciones%2Fdistritofederal%2Fboletines%2F\\_layouts%2Fmobile%2Fview.aspx%3FList%3D9da310f3296a4946b9f4d87c907ac9e6%26View%3D8c1f8d48-5898-4512-88b2-9688f8bb9234%26CurrentPage%3D1](http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Documents/B0132012.pdf?Mobile=1&Source=%2FDelegaciones%2Fdistritofederal%2Fboletines%2F_layouts%2Fmobile%2Fview.aspx%3FList%3D9da310f3296a4946b9f4d87c907ac9e6%26View%3D8c1f8d48-5898-4512-88b2-9688f8bb9234%26CurrentPage%3D1). Consultado: 20 de febrero 2013.

39. Hou C y Chejanovsky N. Acute paralysis viruses of the honey bee. Israel: Virologica Sinica 2014; 29 (5):324-326.
40. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Presentación del Plan Rector Apícola Nacional. Versión electrónica PDF. México: ONA-SAGARPA; 2006. Disponible en: [http://www.sagarpa.gob.mx/ganadería/Publicaciones/Lists/Sistemas%20Productos%20Pecuarios/Attachments/24/plan\\_final.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/ganadería/Publicaciones/Lists/Sistemas%20Productos%20Pecuarios/Attachments/24/plan_final.pdf). Consultado: 25 de febrero 2013.
41. Hou C, Rivkin H, Slabezki Y. y Chejanovsky N. Dynamics of the Presence of Israeli Acute Paralysis Virus in Honey Bee Colonies with Colony Collapse Disorder. Viruses 2014; 6: 2012-2027.
42. Boncristiani HF, Evans JD, Chen Y, Pettis J, Murphy C, *et al.* *In Vitro* Infection of Pupae with Israeli Acute Paralysis Virus Suggests Disturbance of Transcriptional Homeostasis in Honey Bees (*Apis mellifera*). PLoS ONE 2013; 8 (9): e73429.
43. Hooper T. Las abejas y la miel. Guía del apicultor. 3ª ed. Buenos Aires: El Ateneo, 1987.
44. Lampeitl. Apicultura Rentable. 1ª ed. España: Acribia, 1991.
45. Piere JP y Medori P. Apicultura. Conocimiento de la abeja. Manejo de la colmena. 4ª ed. España: Mundi-Prensa, 2007.
46. Anguiano BR, Ochoa TE, Vásquez VI, Robles RC, Laura EMG, Correa BA. Manual de prácticas de la asignatura práctica de Medicina y Zootecnia Apícola II. México (DF): UNAM-FMVZ, 2013. Disponible en pág: [http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/manuales\\_2013/Manual%20de%20Practicas%20de%20Medicina%20y%20Zootecnia%20Apicola%20II.pdf](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/manuales_2013/Manual%20de%20Practicas%20de%20Medicina%20y%20Zootecnia%20Apicola%20II.pdf). Consultado: 5 de diciembre 2013.
47. Di Prisco G, Pennacchio F, Caprio E, Boncristiani HFJr, Evans JD y Chen Y. *Varroa destructor* is an effective vector of Israeli acute paralysis virus in the honeybee, *Apis mellifera*. Journal of General Virology 2011; 92: 151–155.
48. Maori E, Lavi S, Mozes-Koch R, Gantman Y, Peretz Y, Edelbaum O, *et al.* Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for diversity due to intra- and inter-species recombination. Journal of General Virology 2007; 88: 3428–3438.

49. Dainat B y Gauthier L. Virus de la Parálisis Aguda (VPA). En: Leal HM y Arachevaleta VME Editores. Principales Enfermedades de las Abejas en México. México: SAGARPA-INIFAP, 2013.
50. La Ganadería en México 2010. “Abejas (apicultura)”. ONA-SAGARPA 2010: 151-153.
51. Blanchard P, Schurr F, Celle O, Cougoule N, Drajnudel P, Thiéry R, Faucon JP. y Ribière M. First detection of Israeli acute paralysis virus in France, a dicistrovirus affecting honeybees (*Apis mellifera*). Journal of Invertebrate Pathology 2008; 99: 348–350.
52. Toplak I, Jamnikar CU, Aronstein K y Gregorc A. Chronic Bee Paralysis Virus and *Nosema ceranae* Experimental Co-Infection of Winter Honey Bee Workers (*Apis mellifera* L.). Viruses 2013; 5: 2282-2297. Consultado: 5 de diciembre 2013.
53. Organización Mundial de Sanidad Animal. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.2.4.-Nosemosis de las abejas melíferas. OIE 2008. Páginas 1-6. Versión PDF disponible en pág: [http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf\\_es\\_2008/2.02.04.%20Nosemosis%20de%20las%20abejas.pdf](http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.02.04.%20Nosemosis%20de%20las%20abejas.pdf). Consultado: 5 de diciembre 2013.
54. Organización Mundial de Sanidad Animal. Manual de la OIE sobre animales terrestres Capítulo 2.9.4.-Nosemosis de las abejas. OIE 2004. Páginas: 1055–1059. Versión PDF disponible en pág: [http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf\\_es/2.9.04\\_Nosemosis\\_de\\_las\\_abejas.pdf](http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.9.04_Nosemosis_de_las_abejas.pdf). Consultado: 5 de diciembre 2013.
55. NORMA OFICIAL MEXICANA. NOM-056-ZOO-1995. “Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria”.
56. Caballero D. Manual de Enfermedades Apícolas. Formato electrónico PDF. IICA-PONAGRO-SAG 2009. Disponible en:<http://www.iica.int/Esp/regiones/central/honduras/Publicaciones%20de%20la%20Oficina/Manual%20de%20Enfermedades%20Apicolas.pdf>. Consultado: 5 de diciembre 2013.
57. Palacios G, Hui J, Quan PL, Kalkstein A, Honkavuori KS, Bussetti AV, *et al.* Genetic Analysis of Israel Acute Paralysis Virus: Distinct Clusters Are Circulating in the United States. Journal of Virology 2008; 82: (13): 6209–6217.

58. Teixeira EW, Chen YP, Message D, Boncristiani HF, Pettis JS, Evans JD. Israeli acute paralysis virus in Africanized honey bees in southeastern Brazilian apiaries. *Journal of Apicultural Research* 2012; 51: 282 – 284.
59. Niu J, Cappelle K, de Miranda JR, Smagghe G, Meeus I. Analysis of reference gene stability after Israeli acute paralysis virus infection in bumblebees *Bombus terrestris*. *Journal of Invertebrate Pathology* 2014; 115: 76–79.
60. Benjeddou M, Leat N, Allsopp M y Davison S. Detection of Acute Bee Paralysis Virus and Black Queen Cell Virus from Honeybees by Reverse Transcriptase PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 2001; 67 (5): 2384–2387.
61. Benjeddou M, Leat N, Allsopp M y Davison S. Development of infectious transcripts and genome manipulation of Black queen-cell virus of honey bees. *Journal of General Virology* 2002; 83: 3139–3146.
62. Nielsen SL, Nicolaisen M, Kryger P. Incidence of acute bee paralysis virus, black queen cell virus, chronic bee paralysis virus, deformed wing virus, Kashmir bee virus and sacbrood virus in honey bees (*A.mellifera*) in Denmark. *Apidologie* 2008; 39: 310-314.
63. Hong IP, Woo SO, Choi YO, Han SM, Kim NS, Kim HK *et al.* Prevalence of *Nosema* and Virus in Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Colonies on Flowering Period of Acacia in Korea. *Microbiology* 2011; 39: (4): 317-320.
64. Jay DE. Genetic Evidence for Coinfection of Honey Bees by Acute Bee Paralysis and Kashmir Bee Viruses. *Journal of Invertebrate Pathology* 2001; 78: 189–193.
65. Shen M, Cui L, Ostiguy N y Cox-Foster D. Intricate transmission routes and interactions between picoARN-like viruses (Kashmir bee virus and sacbrood virus) with the honeybee host and the parasitic *varroa* mite. *Journal of General Virology* 2005; 86: 2281–2289.
66. Aubert M, Ball B Fries I, Moritz R, Milani N y Bearndinelli I. *Virology and the honey bee*. Luxembourg: European Commission, 2008.
67. Mendoza Y, Antúnez K, Branchiccela K, Anido M, Santos E y Invernizzi C. *Nosema ceranae* and ARN viruses in European and Africanized honeybee colonies (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Apidologie* 2014; 45: 224–234.

68. Toplak I, Jamnikar CU, Aronstein K y Gregorc A. Chronic Bee Paralysis Virus and *Nosema ceranae* Experimental Co-Infection of Winter Honey Bee Workers (*Apis mellifera* L.). *Viruses* 2013; 5: 2282-2297.
69. Shimanuki H y Knox DA. Diagnosis of Honey Bee Diseases. USA: USDA, 2000.
70. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. Guía Técnica de Sanidad Apícola. FAO, 2013. Versión electrónica disponible en <http://teca.fao.org/sites/default/files/resources/sanidadapicola.pdf>. Consultado: abril 2014.
71. Shutler D, Head K, Burgher-MacLellan KL, Colwell MJ, Levitt AL *et al.* Honey Bee *Apis mellifera* Parasites in the Absence of *Nosema ceranae* Fungi and *Varroa destructor* Mites. *PLoS ONE* 2014; 9 (6): e9859.
72. Higes M, García-Palencia P, Martín-Hernández R, Meana A. Experimental infection of *Apis mellifera* honey bees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Journal of Invertebrate Pathology* 2007; 94: 211–217.
73. Berényi O, Bakonyi T, Derakhshifar I, Koglbeger H. y Nowotny N. Occurrence of Six Honeybee Viruses in Diseased Austrian Apiaries. *Applied and Environmental Microbiology* 2006; 72: (4) 2414–2420.
74. Tentcheva D, Gauthier L, Zappulla N, Dainat B, Cousserans F, Colin ME, y Bergoin M. Prevalence and Seasonal Variations of Six Bee Viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* Mite Populations in France. *Applied and Environmental Microbiology* 2004; 70 (12): 7185–7191.
75. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM- 001-ZOO-1994. “Campaña Nacional contra la Varroosis de las Abejas”.
76. Salamanca GG, Osorio TMP, Rodríguez AN. Presencia e incidencia forética de *Varroa destructor* A. (Mesostigma: Varroidae) en colonias de abejas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), en Colombia. *Zootecnia Tropical* 2012; 30 (2): 183-195.
77. Bakonyi T, Grabensteiner E, Kolodziejek J, Rusvai M, Topolska G, Ritter Wand, *et al.* Phylogenetic Analysis of Acute Bee Paralysis Virus Strains. *Applied and Environmental Microbiology* 2002; 68 (12): 6446–6450.

78. Ramírez EH y Ruiz FA. Incidencia de varroosis en muestras de abejas (*Apis mellifera*) en el laboratorio de identificación y diagnóstico apícola de 2002 A 2006. SAGARPA-Universidad Autónoma Chapingo, 2006.
79. Martin SJ, Hardy J, Villalobos E, Martín-Hernández R, Nikaido S y Higes M. Do the honeybee pathogens *Nosema ceranae* and deformed wing virus act synergistically?. *Environmental Microbiology Reports* 2013; 5 (4): 506–510.
80. Santillán-Galicia MT, Ball BV, Clark SJ y Alderson PG. Slow bee paralysis virus and its transmission in honey bee pupae by *Varroa destructor*. *Journal of Apicultural Research* 2014; 53 (1): 146-154.
81. Genersch E y Aubert M. Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Veterinary Research* 2010; 41: 54.
82. Medina FCA; Guzmán NE, Espinosa MLG, Uribe RJL, Gutiérrez LR y Gutiérrez PFJ. Frecuencia de varroosis y nosemosis en colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en el estado de Zacatecas, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 2014; 159-167.
83. Bromenshenk JJ, Henderson CB, Wick CH, Stanford MF, Zulich AW, Jabbour RE, *et al.* Iridovirus and Microsporidian Linked to Honey Bee Colony Decline. *PLoS ONE* 2010; 5 (10): e13181.
84. Chen YP, Pettis JS, Corona M, Li CJ, Spivak M, *et al.* Israeli Acute Paralysis Virus: Epidemiology, Pathogenesis and Implications for Honey Bee Health. *PLoS Pathogens* 2014; 10 (7): e1004261.
85. Medina FCA, Guzmán NE, Aréchiga FCF, Aguilera SJI y Gutiérrez PFJ. Efecto del nivel de infestación de *Varroa destructor* sobre la producción de miel de colonias de *Apis mellifera* en el altiplano semiárido de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2011; 2 (3):313-317.
86. Hamiduzzaman MM, Guzmán NE, Goodwin PH, Reyes QM, Koleoglu G, Adriana Correa BA, *et al.* Differential responses of Africanized and European honey bees (*Apis mellifera*) to viral replication following mechanical transmission or *Varroa destructor* parasitism. *Journal of Invertebrate Pathology* 2015; 126: 12–20.

87. Martínez PJF, Medina MLA, Catzín VGA. Frecuencia de *Varroa destructor*, *Nosema apis* y *Acarapis woodi* en colonias manejadas y enjambres silvestres de abejas (*Apis mellifera*) en Mérida, Yucatán, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2011; 2 (1):25-38.
88. Becerra GFdeJ, Aguilar AA, Torres RG. Dinamica poblacional de la varroosis (*Varroa destructor*) en colmenas de abejas (*Apis mellifera*) manejadas en el estado de Jalisco. *Zootecnia Tropical* 2012; 30: 183-195.
89. Jiménez AJA, Quintero MMT, Mateos PA. Frecuencia de varroosis en apiarios de veintiocho municipios del estado de Tamaulipas en 1992. *Veterinaria México* 199; 26 (2): 141-144.
90. James DE y Zettel NCM. *Varroa* Mite, *Varroa destructor* Anderson and Trueman (Arachnida: Acari:Varroidae). *IFAS* 2013; 473: 1-7.
91. Siede R, König M, Buchler R, Failing K, Thiel H-J. A real-time PCR based survey on acute bee paralysis virus in German bee colonies. *Alemania: Apidologie*: 2008; 39: 650–661.
92. Guzmán NE, Hamiduzzaman MM, Correa BA, Espinosa MLG Uribe RJL. A scientific note on the first detection of black queen cell virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Mexico. *Apidologie* 2013; 44: 382-384.
93. Hinojosa A y González D. Prevalencia de parásitos en *Apis mellifera* L en colmenares del secano costero e interior de la VI Región, Chile. *Parasitología Latinoamericana* 2004; 59: 137-141.
94. Orantes BFJ y García FP. *Nosema* disease in the honey bee (*Apis mellifera* L) infested with *varroa* mites in southern Spain. *Apidologie* 1997; 28: 105-122.
95. de Miranda JR, Cordoni G, Budge G. The Acute bee paralysis virus-Kashmir bee virus-Israeli acute paralysis virus complex. *Journal of Invertebrate Pathology* 2010; 103: 30-47.
96. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SAGARPA-SIAP. Resumen nacional producción, precio, valor, animales sacrificados y peso 2014. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/resumen-nacional-pecuario/>. Consultado: 11 de septiembre 2015.

97. Organización Nacional de Apicultores. ONA. México- Sigue creciendo la exportación de miel del país. [http://www.apinews.com/es/directorioapicola/organizaciones/organizacion-nacional-de-apicultores-ona-\\_1225](http://www.apinews.com/es/directorioapicola/organizaciones/organizacion-nacional-de-apicultores-ona-_1225)

## 6. GLOSARIO

**ADN complementario (ADNc o ADNc):** Molécula de ADN, copiada de un ARN mensajero por medio de la transcriptasa inversa, debido a esto carece de los intrones presentes en el ADN genómico. La secuencia del ADN complementario permite que el orden de aminoácidos de una proteína sea deducida; la expresión del ADNc en una célula recombinante puede ser usada para producir grandes cantidades de esta proteína *in vitro*.

**ADN polimerasa:** Enzima que copia la cadena molde de ADN para hacer la cadena complementaria. De acuerdo a las reglas de Watson y Crick, los desoxiribonucleótidos se añaden uno a la vez usando como sustrato desoxiribonucleótidos trifosfatados y liberando pirofosfato.

**ADN:** Polímero compuesto de normalmente por 4 tipos de desoxirribonucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster, el cual codifica la información genética. En estado nativo, el ADN es una doble hélice formada por dos cadenas antiparalelas.

**Apiario:** Es el conjunto de colmenas instaladas en un lugar determinado.

**Apiario Cooperante:** Lugar con colmenas instaladas donde se realizó la toma de muestras con consentimiento del dueño.

**ARN polimerasa:** Enzima que copia una cadena de ADN, para formar una cadena de ARN complementaria, usando las reglas de apareamiento de Watson y Crick los ribonucleótidos son añadidos uno a la vez usando como sustrato ribonucleótidos trifosfatos y liberando pirofosfato.

**ARN:** polímero de ribonucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster, se forman por la transcripción del ADN o en algunos virus por la copia de una ARN molde. Existen tres tipos de ARN celulares ARN ribosomal, ARN mensajero y ARN de transferencia cumplen diferentes funciones en la síntesis de proteínas.

**Colmena:** Alojamiento de una colonia o familia de abejas.

**Colonia:** Comunidad social o familia constituida de varios miles de abejas obreras que generalmente tienen una reina con o sin zánganos, con panales, capaz de mantenerse y reproducirse.

**Desnaturalización:** En proteínas es el rompimiento de enlaces no covalentes que resultan en el desplegamiento de la cadena polipeptídica, en ácidos nucleicos, se refiere al rompimiento de enlace de hidrogeno entre bases, lo que provoca que las dobles cadenas se separen en

moléculas de cadena sencilla. El calentamiento o la exposición a ciertos químicos produce la desnaturalización, normalmente esto lleva a la pérdida de la función biológica.

**Electroforesis:** Separación de un grupo de moléculas por medio de su migración a través de una matriz polimérica, por medio de la aplicación de un campo eléctrico.

**Enzootico:** Enfermedad que afecta a una o más especies animales en un determinado territorio, por causa o influencia local.

**Exótico:** Enfermedad importante transmisible de una o varias especies que no se encuentra en un país o territorio, la cual tiene un impacto económico o sanitario potencialmente significativo.

**Incidencia:** Número de nuevos casos de una patología que aparecen en una población animal determinada, durante un periodo específico y en un área geográfica definida.

**Infección:** Invadir un ser vivo y multiplicarse en él.

**Infestación:** Invasión por ectoparásitos.

**Iniciadores, oligonucleótidos o primers:** Una secuencia de ácido nucleico corto que contiene un grupo hidroxilo 3' libre que forma pares de bases con una cadena molde complementaria y funciona como el punto de partida de adición de nucleótidos para copiar la cadena molde.

**Microsporidio:** Parásito intracelular obligado.

**Nucleótido:** Molécula compuesta por una purina o pirimidina unidas a una pentosa y a uno o más grupos fosfatos unidos por un enlace éster al residuo de azúcar. El ADN y ARN son polímeros de nucleótidos.

**ORF (Open Read Frame):** Secuencia de codones o tripletes que van de un codon de iniciación específico hasta un codón de terminación y que da origen a un ARNm específico. Algunos ARNm pueden ser traducidos como diferentes polipéptidos al ser leídos de acuerdo a diferentes ORF.

**PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa):** Técnica para la amplificación específica de un segmento de ADN dentro de una mezcla compleja por medio de varios ciclos de síntesis de ADN por la ADN polimerasa de *Thermophilus* a partir de pequeños cebadores de ADN. Seguidos por calentamiento para separar las cadenas complementarias y llevar a cabo un nuevo ciclo de síntesis.

**PoliA:** Cadena de adeninas unida al extremo 3' del ARNm, se utiliza para dar más resistencia contra las proteasas y como sistema de regulación, al ser más larga la cadena de PoliA más veces se puede traducir un ARNm.

**TAE:** Buffer usado para la separación de fragmentos de ADN por electroforesis y análisis de productos de PCR.

**Trofalaxis:** Mecanismo mediante el cual las abejas, hormigas u otros insectos sociales se alimentan unos a otros de boca a boca o transfieren feromonas. Es una alimentación de boca en boca, en la cual los aparatos bucales de los insectos entran en contacto y traspasan entre ellas nutrientes o sustancias de reconocimiento como las feromonas. Puede tener lugar entre dos adultos o entre adulto y larva.

## ANEXOS

### *Anatomía de las abejas*

El cuerpo de la abeja melífera se divide en cabeza, tórax y abdomen, partes que, estando unidas se mueven entre sí. La envoltura externa del cuerpo está compuesta por quitina llamada cutícula está rodeada de pelos y hace la función de esqueleto externo para la estabilidad. En la cabeza están los más importantes órganos de los sentidos; en el tórax los apéndices para el movimiento (patas); y en el abdomen los órganos encargados de la digestión, reproducción y defensa <sup>21,36</sup>.

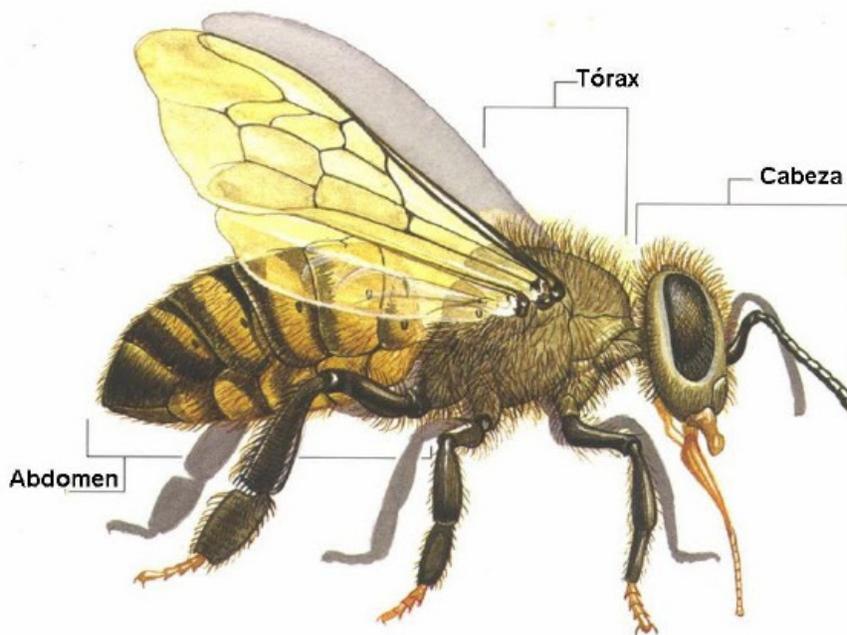


Figura 21. División del cuerpo de una abeja

Imagen disponible en: <http://2.bp.blogspot.com/vEqblND7ORA/T9U1NnMDNII/AAAAAAAAAhA/BZSC96Huhs0/s1600/anatomia%2BexteARN1.bmp>.

La abeja tiene circulación abierta. La hemolinfa es bombeada por el tubo cardíaco existente en el dorso del abdomen a través de la arteria hasta la cabeza. Desde ahí fluye libremente por el tórax hasta el abdomen. El sistema nervioso recorre a la abeja por la cara abdominal desde la cabeza (encéfalo) hasta el abdomen. Los diversos núcleos nerviosos (ganglios) están unidos por cordones nerviosos. El canal digestivo de la abeja empieza con el intestino anterior que en forma de esófago corre desde la cavidad bucal hasta la vesícula de la miel atravesando cabeza y tórax. El embudo valvular, incluido en la vesícula de la miel o buche, regula el paso

del alimento al intestino medio. En el paso del intestino medio al delgado desembocan los finos canalículos renales o vasos de *Malpighi*. El intestino posterior consta de intestino delgado y recto, en cuyos laterales desembocan las glándulas rectales <sup>21</sup>.

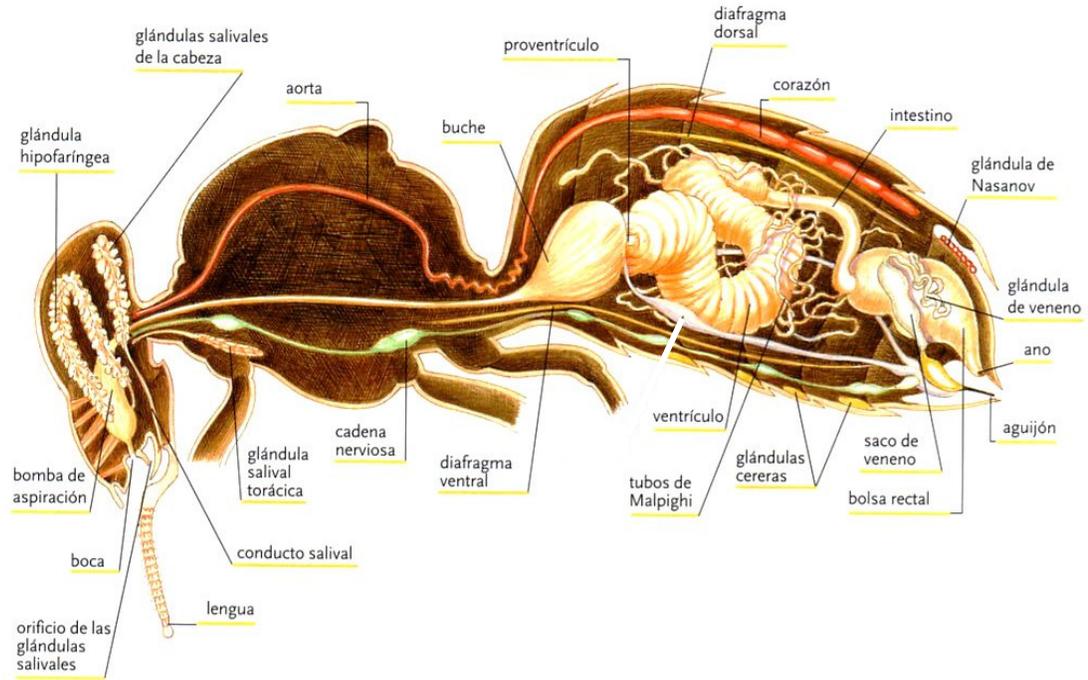


Figura 22. Corte longitudinal de las estructuras internas de una abeja

Fuente: [http://1.bp.blogspot.com/-3KDQipFMs6I/UjWo\\_1DbhmI/AAAAAAAAAC4w/L-md2TCvajQ/s1600/img087.jp](http://1.bp.blogspot.com/-3KDQipFMs6I/UjWo_1DbhmI/AAAAAAAAAC4w/L-md2TCvajQ/s1600/img087.jp)

## RECOMENDACIONES

Cuando una enfermedad se diagnostica por primera vez en un territorio no afectado o “libre” deben aplicarse medidas de cuarentena a las colmenas comprometidas en el área focal, (tres a cinco kilómetros). Posteriormente se procede a definir e investigar las colonias que se ubican en el área perifocal y amenazada, cuya extensión comprende entre cinco y siete kilómetros de radio a partir del foco, si no existen barreras naturales <sup>70</sup>.

Para dar un manejo integral de manera adecuada se recomienda tomar las siguientes medidas:

- Es necesario mejorar la alimentación y aplicar sustancias estimulantes para la colonia, con vitaminas y oligoelementos como refuerzo nutricional.
- Las colmenas que dentro de un mismo apiario han perdido mucha población de abejas adultas, se fusionan; para lo cual se eliminan los panales viejos o deteriorados.
- Los cadáveres se agrupan e incineran enterrando las cenizas. Se protege el frente de las piqueras, de modo que el apicultor pueda detectar nuevas muertes y proceder de igual forma.

Complementa las medidas, desinfectar con formol al 4 %, todo el material contaminado que procede del foco, el que se raspa previamente y se incineran los restos de cera y propóleos desprendidos. La miel y la cera que se obtengan durante los trabajos de saneamiento se identifican como procedentes de colmenas enfermas, de tal manera que no se utilicen para alimentar a otras familias o para fabricar láminas de cera estampada. Todas las demás medidas que comprende el programa de manejo integrado deben ser revisadas y realizarse los ajustes pertinentes <sup>70</sup>.

Se recomienda que cada apicultor realice un muestreo al azar del 15% de las colonias del apiario por lo menos cada seis meses teniendo la precaución de tomar muestras del centro y extremos del apiario, para conocer el estatus de infestación. Cuando los niveles de infestación se encuentran arriba del 5% (5-10% infestación media) el apicultor debe dar un tratamiento o utilizar algún método para el control de la varroosis que recomiende un técnico especializado y en las fechas que este le indique (varía de un estado a otro), utilizando como

referencia el calendario de aplicación de tratamientos que se encuentra en la modificación a la NOM-001-ZOO-1994 Campaña Nacional contra la Varroosis de las Abejas <sup>8, 75</sup>.

Otros estudios ayudaran a conocer el estatus sanitario de las colmenas y la relación que existe con la presencia de enfermedades de diferente origen en el país, asimismo podría implementarse un tamiz de diagnóstico para enfermedades virales en abejas y con ello implementar medidas de control y prevención. Se necesita de más trabajos que ayuden a conocer la prevalencia de VPAI y la relación que existe con el porcentaje de infestación de *Varroa destructor* y el nivel de infección de *Nosema* spp. en todos los estados de la República Mexicana y con ello conocer el estado epidemiológico en que se encuentra el país con respecto a estas enfermedades.

Es importante que esta información llegue a los apicultores ya que muchos desconocen sobre el tema y no toman las medidas adecuadas para evitar la diseminación de las enfermedades.