



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL

**“Efecto de la africanización sobre la prevalencia y niveles de varroosis,
nosemosis y virosis que afectan a las abejas melíferas (*Apis mellifera*) en el
Estado de Jalisco, México”**

**Tesis que para optar por el grado de Maestra en Ciencias de la Producción y
de la Salud Animal**

Presenta:

Ana Karen Ramos Cuellar

Tutor Principal:

Ernesto Guzmán Novoa / Universidad de Guelph

Miembros del Comité Tutor:

Francisca Contreras Escareño / Universidad de Guadalajara

Evangelina Romero Callejas / Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

UNAM

Ciudad de México, Marzo de 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Agradecimientos

A mis padres, Rosa María Cuellar Salas y Salvador Ramos Martínez † por su amor y apoyo incondicional durante mi educación y en lo personal.

A Alan Eduardo Reyes Carreón por animarme a hacer un posgrado y por siempre motivarme durante el transcurso de este.

A mi tutor, el Dr. Ernesto Guzmán Novoa por ser un gran guía durante el proceso del trabajo de investigación y de escritura de esta tesis.

A la Dra. Adriana Correa Benítez por su apoyo y motivación, además de ser el vínculo para haber llegado a este proyecto.

A la Dra. Nuria Morfin Ramírez por su valiosa enseñanza de las técnicas moleculares.

Al M. en C. Alvaro de la Mora Peña por su gran ayuda al gestionar el muestreo y su asesoramiento.

A la Bio. Esperanza Ochoa Torres por compartir conmigo su conocimiento.

A la Dra. Francisca Contreras Escareño, el Dr. José María Tapia González y el Dr. José Octavio Macias Macias del Centro de Investigación en Abejas de la Universidad de Guadalajara por el apoyo para llevar a cabo este trabajo.

A mi comité tutor, la Dra. Evangelina Romero Callejas y la Dra. Francisca Contreras Escareño por sus consejos durante la maestría y en la escritura de esta tesis.

A Sara Dino, Miriam Rangel, Shaira Alvarado y Ulises Nuño por su divertida compañía durante la toma de muestras y su procesamiento.

Por último, gracias a Sara Dino, Amanda Leclair, Hanan A. Gashout y Berna Emsen por su gran ayuda en el Laboratorio de investigación en abejas melíferas de la Universidad de Guelph; a Paul Kelly y Nancy Bradbury por su apoyo durante mi estancia en Guelph.

Resumen

La apicultura en México es una actividad de alto impacto ecológico, social y económico. Las abejas melíferas brindan un importante servicio ambiental con la polinización de flora nativa y cultivos agrícolas. Además, México es un importante productor y exportador de miel. Dos de los problemas que afectan la productividad de la apicultura mexicana son la africanización y las parasitosis de las abejas, pero hay poca información sobre estos factores en muchos estados. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia e intensidad de las principales parasitosis de las abejas (varroosis, nosemosis, virosis) en el estado de Jalisco, así como el grado de africanización de las colonias y la relación entre africanización y frecuencia e intensidad de las parasitosis. El diagnóstico y cuantificación de varroosis en abejas adultas se realizó por lavado con etanol, mientras que en la cría se realizó por observación microscópica. La nosemosis se detectó y cuantificó por microscopía, mientras que la especie de *Nosema* se determinó por PCR. El diagnóstico viral se realizó mediante RT-PCR y la cuantificación por qRT-PCR. La africanización se determinó al analizar el ADN mitocondrial de las abejas por RFLPs, así como medición de la longitud de sus alas. La varroosis fue la parasitosis más frecuente (90%) y la nosemosis la menos frecuente (15%). El 66 y 38% de las colonias fueron positivas al virus de las celdas reales negras (VCRN) y al virus de las alas deformes (VAD), respectivamente. Más del 50% de las colonias resultaron ser africanizadas y el nivel de africanización fue mayor en zonas bajas que en zonas altas. Además, la africanización se relacionó negativamente con la intensidad de parasitismo por *V. destructor*, VAD y VCRN, por lo que se concluye que la africanización influye en la resistencia de las abejas melíferas a estas parasitosis.

Palabras clave: *Apis mellifera*, *Varroa*, *Nosema*, Virosis, Africanización, Jalisco

Abstract

Beekeeping in Mexico is an activity with a high ecological, social and economic impact. Honey bees provide an important environmental service by pollinating native flora and agricultural crops. In addition, Mexico is an important producer and exporter of honey. Two of the issues that affect the productivity of Mexican beekeeping are parasites and the africanization of honey bees, but there is little information on these factors in many states. Therefore, the objective of this study was to determine the prevalence and intensity of the main parasitic diseases of bees (varroosis, nosema disease and viral diseases) in the state of Jalisco, as well as the degree of africanization of colonies and the relationship between africanization and frequency and intensity of parasitic diseases. The diagnosis and quantification of varroosis in adult bees was carried out by ethanol washes, while in the brood, it was carried out by microscopic observation. Nosema disease was diagnosed and quantified by microscopy, while the *Nosema* spp. was determined by PCR. Viral diagnosis was made by RT-PCR and quantification by qRT-PCR. The africanization of colonies was determined by analyzing the mitochondrial DNA of the bees by RFLPs, as well as by measuring their wing length. Varroosis was the most frequent parasitism (90%) and nosema disease the least frequent (15%). 66% and 38% of the colonies were positive for black queen cell virus (BQCV) and deformed wing virus (DWV), respectively. More than 50% of the colonies turned out to be Africanized, and the level of africanization was higher in lowlands than in highlands. In addition, honey bee africanization was negatively related with the intensity of parasitism by *V. destructor*, DWV and BQCV. Therefore, it is concluded that the process of africanization influences the resistance of honey bees to these parasites.

Key words: *Apis mellifera*, *Varroa*, *Nosema*, virosis, africanization, Jalisco

Contenido

Lista de Cuadros.....	VII
Lista de Figuras	IX
1. Introducción	1
1.1. Importancia de la apicultura en México	1
1.2. Problemática	1
1.3. Antecedentes	2
1.3.1. Africanización de las abejas en México	2
1.3.2. Enfermedades que afectan a la abeja melífera en México	3
1.3.2.1. Varroosis	4
1.3.2.2. Nosemosis	6
1.3.2.3. Virosis	8
1.3.3. Tolerancia de las abejas africanizadas a enfermedades	10
1.3.4. Efecto del clima sobre la africanización de las abejas en México	11
1.3.5. Efecto del clima y localidad en la resistencia de las abejas a <i>Varroa</i>	12
1.3.6. Situación de la apicultura en el estado de Jalisco	13
1.3.7. Situación sanitaria de las colonias de abejas del estado de Jalisco	16
2. Justificación.....	17
3. Objetivo general.....	18
3.1. Objetivos específicos	18
4. Hipótesis	19
5. Materiales y métodos	19
5.1. Muestreo	19
5.2. Procesamiento de las muestras	22

5.3. Diagnóstico y cuantificación de varroosis en abejas adultas	23
5.4. Diagnóstico y cuantificación de varroosis en cría	24
5.5. Diagnóstico y cuantificación de nosemosis	24
5.6. Diagnóstico viral	26
5.7. Cuantificación viral	27
5.8. Determinación del mitotipo de las abejas	29
5.9. Determinación del morfotipo de las abejas	30
5.10. Análisis estadísticos	31
6. Resultados	32
6.1. Parasitosis de las abejas melíferas en el estado de Jalisco	32
6.2. Africanización de las abejas melíferas en el estado de Jalisco.....	42
6.3. Efecto de la africanización en parasitosis de abejas melíferas en el estado de Jalisco	46
7. Discusión	52
7.1 Detección, prevalencia e intensidad de <i>Varroa destructor</i>	53
7.2 Detección, prevalencia e intensidad de <i>Nosema spp.</i>	55
7.3 Detección, prevalencia e intensidad de virosis	59
7.4 Africanización de las abejas melíferas en el estado de Jalisco.....	63
7.5 Efecto de la africanización sobre parasitosis de abejas melíferas en el estado de Jalisco	68
8. Conclusiones	78
Referencias	80

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Regiones, municipios y número de muestras colectadas.	20
Cuadro 2. Intensidad media de parasitismo (infestación o infección) \pm E. E. de varios patógenos que afectan a colonias de abejas melíferas en el estado de Jalisco, México.	34
Cuadro 3. Prevalencia (%) de varroosis (<i>Varroa destructor</i>) en la cría de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 365).	35
Cuadro 4. Prevalencia (%) de varroosis (<i>Varroa destructor</i>) en obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 365).	36
Cuadro 5. Prevalencia (%) de nosemosis (<i>Nosema ceranae</i>) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 365).	38
Cuadro 6. Prevalencia (%) del virus de las alas deformes (VAD) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 79).	39
Cuadro 7. Prevalencia (%) del virus de las celdas reales negras (VCRN) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 79).	41
Cuadro 8. Altitud media snm \pm E. E. de ubicación de colonias de abejas melíferas con mitotipo africano o europeo y de colonias con morfotipo africano o europeo en el estado de Jalisco, México.	44
Cuadro 9. Prevalencia de las cuatro parasitosis detectadas en colonias de abejas melíferas del estado de Jalisco, México, por mitotipo africano (% Mit A) o europeo (% Mit E) y por morfotipo africano (% Morf A) o europeo (% Morf E). En el cuadro se muestra el porcentaje de colonias parasitadas por <i>Varroa destructor</i> tanto en cría (V. Cría) como en abejas adultas (V. Adultos), así como por <i>Nosema ceranae</i> (N.	

ceranae) y por los virus de las alas deformes (VAD) y de las celdas reales negras (VCRN).....47

Cuadro 10. Correlaciones de la longitud del ala anterior de abejas obreras (L. A.) y de la altitud sobre el nivel del mar (asnm) con la intensidad de parasitismo por *Varroa destructor* (V. d.), virus de las alas deformes (VAD) y virus de las celdas reales negras (VCRN). Solo se muestran correlaciones significativas.....52

Lista de Figuras

Figura 1. Mapa de las regiones del estado de Jalisco que se incluyeron en el muestreo.	22
Figura 2. a) Fotografía del aparato adaptado para la técnica de lavado de abejas con etanol. b) Malla de alambre dentro del envase de plástico.	23
Figura 3. Fotografía de un gel de agarosa que muestra bandas de 698 pares de bases del virus de las celdas reales negras (VCRN) en las columnas 1, 2, 5, 6, 7 y 8. En la reacción de RT-PCR se usa un gen de la abeja como control (RpS5).	32
Figura 4. Fotografía de un gel de agarosa que muestra bandas de 642 pares de bases del virus de las alas deformes (VAD) en las columnas 2,4 y 6. En la reacción de RT-PCR se usa un gen de la abeja como control (RpS5).	33
Figura 5. Prevalencia (%) de colonias positivas a varroosis (<i>Varroa destructor</i>), nosemosis (<i>Nosema ceranae</i>) y virosis, causadas por el virus de las alas deformes (VAD) y por el virus de las celdas reales negras (VCRN), en el estado de Jalisco, México (N = 365).	33
Figura 6. Fotografía de un gel de agarosa que muestra bandas de 218 pares de bases de un fragmento del gen ARN ribosomal de <i>Nosema ceranae</i> en las columnas 1 a 5 y 7 a 10. En la reacción de RT-PCR se usa un control positivo (CP).	34
Figura 7. Intensidad media de parasitismo por <i>Varroa destructor</i> \pm E. E. en la cría (% celdas infestadas) de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 365). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en un análisis de Kruskal- Wallis y comparaciones por pares con la prueba de Dunn.	36
Figura 8. Intensidad media de parasitismo por <i>Varroa destructor</i> \pm E. E. en obreras adultas (% individuos infestados) de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 365). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en un análisis de Kruskal- Wallis y comparaciones por pares con la prueba de Dunn.	37

Figura 9. Intensidad media de infección por <i>Nosema ceranae</i> (miles de esporas por abeja \pm E. E.) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 55). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en un análisis de Kruskal-Wallis y comparaciones por pares con la prueba de Dunn.....	38
Figura 10. Intensidad media del virus de las alas deformes (VAD) (logaritmo natural para el no. de copias virales por μg de RNA $\times 10^6 \pm$ E. E) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 79). No se encontraron diferencias significativas entre regiones en base a un análisis de varianza ($p > 0.05$).	40
Figura 11. Intensidad media del virus de las celdas reales negras (VCRN) (logaritmo natural para el no. de copias virales por μg de RNA $\times 10^6 \pm$ E. E.) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 79). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en un análisis de varianza y pruebas por pares de t de Student entre tratamientos, con corrección de Benjamini-Hochberg ($p < 0.05$).	41
Figura 12. Fotografía de un gel de agarosa que muestra a) bandas de 485 pares de bases (pb) de un fragmento del gen Citocromo oxidasa I (COI) en las columnas 1 y 2 y b) bandas de 291 y 194 pb en las columnas 3 a 9, producto de la digestión del fragmento del gen COI por la enzima de restricción BgIII. El mitotipo africano corresponde a la presencia de una sola banda de 485 pb, mientras que el mitotipo europeo corresponde a la presencia de las bandas de 291 y 194 pb.	42
Figura 13. Prevalencia (%) de colonias de abejas melíferas con mitotipo africano o europeo (N = 334) y de colonias con morfotipo africano o europeo (N = 339) en el estado de Jalisco, México. Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en pruebas de comparación de proporciones mediante la corrección de probabilidad de Benjamini y Hochberg.....	43
Figura 14. Fotografía de la medición de imágenes de alas anteriores de abejas obreras proyectadas a una pared para determinar su morfotipo de acuerdo con Sylvester y Rinderer (1987).	43

Figura 15. Frecuencia (%) de colonias de abejas melíferas con mitotipo africano o europeo y de colonias con morfotipo africano o europeo ubicadas a > 1,500 msnm y a < 1,500 msnm en el estado de Jalisco, México (N = 337). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en pruebas de comparación de proporciones ($p < 0.001$).....	45
Figura 16. Longitud media del ala anterior (mm) \pm E. E. de abejas melíferas de colonias ubicadas a < 1,500 msnm y a > 1,500 msnm en el estado de Jalisco, México (N = 339). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en una prueba t de Student realizada con datos sometidos a transformación inversa al poder de 6 ($p < 0.001$).	46
Figura 17. Porcentaje (\pm E. E.) de celdas de cría de abejas con mitotipo o morfotipo africano y europeo infestadas con <i>Varroa destructor</i> en 339 colonias del estado de Jalisco, México. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre medias, basadas en pruebas de Wilcoxon.....	48
Figura 18. Porcentaje (\pm E. E.) de abejas obreras con mitotipo o morfotipo africano y europeo infestadas con <i>Varroa destructor</i> en 339 colonias del estado de Jalisco, México. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre medias, basadas en pruebas de Wilcoxon.....	48
Figura 19. Intensidad media de infección en miles de esporas de <i>Nosema ceranae</i> por abeja (\pm E. E.) de obreras con mitotipo o morfotipo africano y europeo de colonias de abejas melíferas del estado de Jalisco, México (N = 55).....	49
Figura 20. Intensidad media de infección para el número de copias del virus de las alas deformes (VAD) por μg de RNA $\times 10^6 \pm$ E. E., transformado a logaritmo natural, en obreras adultas con mitotipo o morfotipo africano y europeo de 76 colonias de abejas melíferas del estado de Jalisco, México. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre medias de mitotipo o morfotipo, basadas en pruebas de t de Student realizadas en datos transformados a logaritmo natural. .	50
Figura 21. Intensidad media de infección para el número de copias del virus de las celdas reales negras (VCRN) por μg de RNA $\times 10^6 \pm$ E. E., transformado a logaritmo natural, en obreras adultas con mitotipo o morfotipo africano y europeo de 76	

colonias de abejas melíferas del estado de Jalisco, México. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre medias de mitotipo o morfotipo, basadas en pruebas de t de Student realizadas en datos transformados a logaritmo natural.51

1. Introducción

1.1. Importancia de la apicultura en México

La apicultura en México es una actividad de alto impacto ecológico, social y económico. Las abejas melíferas occidentales (*Apis mellifera*) brindan un importante servicio ambiental con la polinización de la flora nativa, ayudan a mantener los ecosistemas, además de polinizar cultivos de interés económico como diversos frutos, nueces y hortalizas (Paudel et al., 2015). Se sabe que el 75% de los principales cultivos agrícolas dependen de la polinización entomófila (Prado et al., 2018). Además, la apicultura representa una importante fuente de empleos e ingresos al medio rural y de divisas para el país (Magaña et al., 2016).

En México, hay más de 43 mil apicultores que dependen directamente de la apicultura, con un inventario que supera los 2 millones de colmenas que se encuentran distribuidas en las cinco regiones apícolas del país: Norte, Centro o Altiplano, Pacífico, Golfo y Sureste. Gracias a esto México se ha consolidado entre los principales productores y exportadores de miel a nivel mundial. En 2019 México ocupó el 9° lugar como productor de miel a nivel mundial, con una producción de 62 mil toneladas (SIAP, 2020). El consumo nacional de miel es cercano a las 30 mil toneladas anuales y cada mexicano consume en promedio menos de 0.3 kg de miel al año, mientras que la exportación se estima en alrededor de 33 mil toneladas cada año (SADER, 2020). En 2018 México ocupó el cuarto lugar como exportador de miel y generó 120.4 millones de dólares (FAOSTAT, 2020). Aunque la miel es el principal producto comercializado de la colmena, otros productos como la cera, el polen, el propóleo, la jalea real o las propias abejas tienen un gran potencial de aprovechamiento para el apicultor.

1.2. Problemática

En un lapso de 40 años la apicultura en México se ha visto afectada por diversos factores que con el paso del tiempo han ocasionado que los apicultores se vean

obligados a adoptar cambios en las prácticas de manejo que implican elevar los costos de producción, además de una marcada disminución en la producción de miel. De 1990 a 1999 el comportamiento de la producción y exportación de miel fue a la baja en un 16.8 y 48.6%, respectivamente (Magaña et al., 2017). Se ha sugerido al cambio climático como uno de los factores responsables de la baja en la producción de miel, sin embargo, aún no hay evidencia científica que lo confirme. Otros factores como la africanización y las enfermedades que afectan a la abeja melífera si han demostrado tener un impacto negativo sobre la producción.

1.3. Antecedentes

1.3.1. Africanización de las abejas en México

La africanización es el proceso mediante el cual genes de abejas melíferas de razas africanas fluyen e inmigran a poblaciones de abejas melíferas con ancestría de razas europeas. Esto ocurre principalmente mediante apareamientos de abejas reinas europeas con zánganos africanizados (Schneider et al., 2004). En México, el proceso de africanización de las poblaciones de abejas melíferas empezó aproximadamente en 1986 y fue el resultado de la hibridación de subespecies europeas (principalmente *A. mellifera mellifera* y *A. mellifera ligustica*) que existían en el país, con el híbrido de una subespecie de abeja melífera del sur del continente africano (*A. mellifera scutellata*) que migró desde Sudamérica, a donde fueron introducidas en 1956 (Kerr, 1967). Este cruzamiento dio lugar a lo que actualmente conocemos como abejas africanizadas (Guzmán-Novoa et al., 2011).

La africanización cambió por completo la apicultura como se conocía hasta ese momento, ya que trabajar con abejas africanizadas implicó que los apicultores tuvieran que adaptarse a una serie de cambios en el manejo de las colonias como consecuencia del alto grado de comportamiento defensivo, migratorio y menor productividad de las abejas africanizadas (Guzmán-Novoa et al., 2020). Entre estos cambios están la reubicación de apiarios, uso de más equipo de protección y

manejo, cambio anual de abejas reinas, aumento de la alimentación artificial e incluso la manera de cosechar la miel. Estos cambios implican una mayor inversión y por lo tanto, elevan los costos de producción.

La apicultura mexicana se ha adaptado a la africanización de las abejas, lo que puede observarse en la recuperación parcial de la producción de miel. La producción del dulce bajó 44% a los diez años de haber llegado la abeja africanizada al país, mientras que veinte años después, esta aumentó al 75% de lo que solía producirse antes de la africanización de las colonias (Guzmán-Novoa et al., 2011). A pesar de lo anterior, la producción de miel aún no se ha recuperado a los niveles previos a la africanización. Sin embargo, si se continua con las prácticas de manejo y mejoramiento genético implementadas para adaptarse a la africanización de las abejas, la producción de miel podría mantenerse o quizá incrementarse a futuro.

1.3.2. Enfermedades que afectan a la abeja melífera en México

En el mundo se han descrito más de veinte enfermedades que afectan a la abeja melífera. Sin embargo, son muy pocas las que se consideran de importancia en nuestro país debido a las pérdidas materiales, biológicas y económicas que ocasionan, las cuales son: varroosis, loque americana, virus de las alas deformes, loque europea, nosemosis y cría de cal. También debe tenerse cuidado con algunas plagas como la polilla de la cera y el pequeño escarabajo de la colmena (*Aethina tumida*) (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2015). Aunque en México no existe información de las pérdidas económicas a causa de enfermedades en la apicultura, puede tomarse como referencia la información de los Estados Unidos de América, en donde por cada colmena se estima una pérdida de aproximadamente cinco dólares por concepto de enfermedades cada año. Al extrapolar dicha cifra al número de colmenas estimado en México, la pérdida aproximada es de diez millones de dólares por año (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2015), por lo que las

enfermedades de las abejas melíferas están dentro de los principales problemas que se deben controlar.

Algunas de las enfermedades de las abejas presentes en México han sido relacionadas con el Síndrome del Colapso de la Colonia (CCD, por sus siglas en inglés), un problema de etiología multifactorial (Le Conte et al., 2010; Hou et al., 2014; Paxton, 2010) que en los últimos años ha generado gran interés y preocupación a nivel mundial, porque ha ocasionado la pérdida de millones de colonias de abejas. Aunque este síndrome no se ha presentado en México con la misma gravedad con la que se ha observado en Norteamérica y Europa (Medina-Flores et al., 2018), varias de las enfermedades asociadas al síndrome están presentes en nuestro país, por lo que es importante monitorearlas. Las parasitosis que más afectan a la apicultura se describen a continuación.

1.3.2.1. Varroosis

La varroosis es una parasitosis externa y transmisible que afecta a la cría y a las abejas adultas de la abeja melífera asiática, *Apis cerana*, y de la abeja melífera occidental, *Apis mellifera*. Es ocasionada por ácaros del Filo Arthropoda, Clase Arachnida, Subclase Acari, Orden Parasitiformes y Género *Varroa*. Hay dos especies del ácaro, *Varroa destructor*, que infesta a *A. mellifera* y *V. Jacobsoni*, que infesta a *A. cerana* (Anderson y Trueman, 2000).

Varroa y *A. cerana* han tenido una larga asociación al coevolucionar hasta alcanzar un equilibrio huésped-parásito, por lo que el ácaro causa un daño mínimo en estas abejas, las cuales han desarrollado mecanismos de resistencia al parásito. Uno de estos mecanismos es que *Varroa* sólo puede reproducirse cuando hay cría de zánganos. Otros incluyen el comportamiento higiénico y el de acicalamiento (Dietemann et al., 2012). Las primeras descripciones de este parasitismo en abejas de *A. cerana* colectadas en la isla de Java fueron publicadas en 1904, mientras que en el caso de *A. mellifera*, *V. destructor* es un parásito relativamente nuevo. La

referencia más antigua de *Varroa* en *A. mellifera* data de principios de los años 60s en Japón, China y el este de Rusia (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2015), por lo que aún no se logra equilibrar la relación huésped-parásito (Rosenkranz et al., 2010).

De los 60s a los 70s el ácaro se dispersó de Asia a Europa, al Norte de África y al continente americano. En México, la primera detección de *Varroa* se dio en el estado de Veracruz en 1992. Hoy en día la varroosis puede encontrarse en casi todas las regiones donde se manejen abejas y se considera el problema sanitario más grave de la apicultura a nivel mundial, ya que ha causado grandes pérdidas económicas a la industria apícola (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2015).

Esta parasitosis se caracteriza por debilitar a las colonias y ser vector de agentes infecciosos, principalmente virus (Boecking y Genersch, 2008). El ácaro se alimenta del tejido graso y hemolinfa de la cría y de las abejas adultas (Ramsey et al., 2019). El tejido graso en las abejas es esencial para producir péptidos antimicrobianos, que son sustancias del sistema inmune que neutralizan virus, hongos y bacterias que infectan a las abejas (Larsen et al., 2019). Al consumir tejido graso y hemolinfa, el ácaro causa desnutrición y favorece el desarrollo de otros patógenos, debilita el sistema inmune de los insectos y reduce su tamaño y tiempo de vida (Reyes-Quintana et al., 2019).

El ciclo biológico de *V. destructor* se divide en dos fases, la forética y la reproductiva. En la fase forética (de dispersión), las hembras adultas de varroa parasitan a las abejas adultas, se alimentan de ellas y las utilizan como medio de transporte y diseminación (Traynor et al., 2020). La fase reproductiva ocurre dentro de las celdas de cría en el momento en que la hembra adulta de *Varroa* entra a la celda poco antes de ser operculada y espera hasta después de la operculación para iniciar su postura sobre la prepupa. Mientras la cría finaliza su desarrollo, los ácaros se alimentan de ella, alcanzan el estadio adulto, maduran sexualmente y se aparean. Para el momento en el que la nueva abeja adulta emerge, lleva consigo hembras

de *Varroa* fecundadas sobre su cuerpo, listas para repetir el ciclo. Por eso generalmente sólo se observa a la hembra adulta de *Varroa* sobre las abejas adultas o dentro de las celdas con cría (Calderón et al., 2010; Mondet et al., 2018). Una hembra de *V. destructor* produce de 0.7 a 1.45 hembras maduras en una celda de obrera, mientras que en una celda de zángano produce de 1.6 a 2.5 hembras maduras. Además, las hembras de *Varroa* que emergen de la cría de zángano, tienen mayor potencial reproductivo; por ello las hembras fértiles del ácaro tienen una marcada preferencia hacia la cría de zángano (Rosenkranz et al., 2010; Traynor et al., 2020).

1.3.2.2. Nosemosis

La nosemosis es una parasitosis infecciosa del tracto digestivo de las abejas adultas causada por dos especies de hongos de la Clase Microsporidia: *Nosema apis* Zander y *Nosema ceranae*. Ambos son organismos unicelulares cuya forma vegetativa no puede vivir ni reproducirse fuera de las células epiteliales del ventrículo de las abejas, por lo que son parásitos intracelulares obligados. Ambos microsporidios se caracterizan por la formación de esporas, las cuales son sus estadios de resistencia (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2015).

La nosemosis es considerada la enfermedad de las abejas más diseminada, ya que se le encuentra en todo el mundo; en México se conoce desde los años 60s (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2015). Aunque la infección por *N. apis* ha sido ampliamente descrita, la infección por *N. ceranae* se considera nueva en las abejas melíferas, ya que se describió por primera vez en la abeja asiática (*Apis cerana*) en 1996 y a partir del primer reporte se identificó rápidamente en abejas melíferas de Europa y Asia (Martín-Hernández et al., 2018). Posteriormente se reportó en diferentes países, por lo que ahora es un patógeno de distribución mundial relacionado con la pérdida de colonias en países del mediterráneo (Goblirsch, 2018).

La nosemosis ocasionada por *N. apis* se caracteriza por la presencia de manchas de heces dentro y fuera de la colmena, abejas débiles que no pueden volar, menor rendimiento de miel y aumento en la mortalidad en invierno, mientras que la infección por *N. ceranae* se asocia con bajas en la producción de miel, debilidad y aumento en la mortalidad de colonias (Martín-Hernández et al., 2018; Emsen et al., 2020). *N. ceranae* es más prevalente y produce cargas de esporas más altas que *N. apis* (Emsen et al., 2016; Goblirsch, 2018), con estacionalidad durante la primavera y el verano (McGowan et al., 2016; Emsen et al., 2020).

La infección inicia luego de que abejas obreras ingieren esporas del hongo, bastan menos de 50 esporas para iniciar una infección (MacGowan et al., 2016). Las esporas se pueden encontrar en agua o alimento contaminados, en panales contaminados con excretas, o en el exterior de la colmena (Martín-Hernández et al., 2018). Las abejas jóvenes son las más susceptibles a desarrollar la enfermedad (Urbietta-Magro et al., 2019), ya que al limpiar panales contaminados para que la reina ponga, o al alimentar larvas con alimento contaminado, ingieren las esporas del hongo (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2015).

Una vez que las esporas ingresan al ventrículo de la abeja, germinan y extienden su filamento polar, que es un tubo con luz a través del cual el esporoplasma del parásito es inyectado al interior de células epiteliales donde el microsporidio se multiplica y desarrolla, hasta que el citoplasma de la célula huésped explota y libera las esporas que pueden excretarse o infectar más células epiteliales (Martín-Hernández et al., 2018).

Si la infección continúa, las funciones digestivas de las abejas se ven afectadas en dos o tres semanas, causa debilitamiento y muerte prematura del insecto. Además, se reporta que *N. ceranae* provoca supresión del sistema inmunológico, afecta el comportamiento de pecoreo, la producción de hormonas y feromonas y la síntesis de lípidos (Burnham, 2019).

Los microsporidios también pueden invadir células de los túbulos de Malpighi, tejido adiposo, músculos torácicos, glándulas hipofaringeas y ovarios, y la infección de estos órganos se manifiesta como baja en la producción de jalea real en abejas nodrizas, reducción de la postura de la reina y huevos poco viables (Goblirsch, 2018); en conjunto estos problemas pueden llevar al debilitamiento o a la pérdida de la colonia.

La nosemosis se encuentra latente durante todo el año en materiales contaminados con esporas y llega a presentarse después de que las abejas pasan por un largo periodo de confinamiento dentro de su colmena, como en las temporadas de lluvia o invierno. Mientras más largo sea el periodo de encierro más grave se manifiesta la enfermedad, ya que los niveles de infección se elevan por el contacto estrecho entre las abejas y porque defecan dentro de la colmena al no poder salir, así se contaminan los panales con esporas (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2015).

En esta enfermedad también se ha observado interacción entre la infección por *Nosema spp.* y algunos de los virus que afectan a las abejas (Goblirsch, 2018). El resultado de la coinfección depende del momento, la ruta de la infección y la dosis del patógeno; lo que es un hecho es que cada uno de estos patógenos debilita el sistema inmunológico de las abejas y facilita la replicación del otro patógeno. Lo mismo sucede en el momento en el que la infección por *Nosema* interactúa con la exposición a plaguicidas (Martín-Hernández et al., 2018). La asociación de todos estos factores se ha relacionado con la presentación de CCD en las colonias de abejas (Evans et al., 2009).

1.3.2.3. Virosis

Entre los patógenos que afectan a las abejas melíferas, los virus representan una de las principales amenazas. Aunque se han identificado al menos 18 virus que afectan a las abejas, son pocos los de mayor interés para la apicultura debido al daño que pueden ocasionar a la colonia. Estos virus son: virus de las alas deformes

(VAD), virus de las celdas reales negras (VCRN), virus de la cría ensacada (VCE), virus de la abeja de cachemira (VAC), virus de la parálisis aguda (VPA), virus de la parálisis aguda israelí (VPAI) y virus de la parálisis crónica de las abejas (VPCA) (Chen y Siede, 2007).

Algunos virus como el VCE parecen ocasionar poco daño a las colonias, mientras que otros virus como el VAD, VPA, VPCA y VAC suelen causar mortalidad en abejas; recientemente el VPAI ha sido asociado con el CCD (Cox-Foster et al., 2007; Evans et al., 2009).

En México se ha reportado la presencia del VAD, VPAI, VPA y VCE (Guzmán-Novoa et al., 2012) y VCRN (Guzmán-Novoa et al., 2013) por técnicas moleculares. Además se encontró la presencia del VAD y VPAI en ácaros *Varroa*, el VAD fue el más prevalente tanto en muestras de abejas como de ácaros (Guzmán-Novoa et al., 2012).

A excepción del virus filamentosos (VF), todos los virus que afectan a las abejas melíferas tienen forma esférica u ovalada, de simetría icosaédrica, miden de 20 a 30 nm de diámetro, son ARN monocatenarios de sentido positivo y pertenecen al orden Picornavirales. Además, debido a la similitud de su morfología, son difíciles de distinguir bajo el microscopio electrónico (Chen et al., 2006).

La transmisión de los virus puede ser horizontal por el alimento. Algunos comportamientos de las abejas como el cuidado de la cría y de la reina, la trofolaxia y el procesamiento del néctar y el polen, favorecen este tipo de transmisión. La transmisión horizontal también ocurre por el ácaro *V. destructor* que puede ser vector de los virus de las abejas (Kevan et al., 2006). También pueden transmitirse verticalmente a través de los huevos puestos por las abejas reinas, ya que se ha encontrado al VAD en huevos y en estadios larvarios de las abejas que no están asociados a la infestación de *Varroa* (Chen et al., 2006) y al VAD y VPA en semen de zánganos (Yue et al., 2006), aunque se desconoce el impacto de la transmisión

vertical de estas enfermedades a través del semen (Yue et al., 2007; De Miranda y Fries, 2008).

Los virus afectan todas las etapas del desarrollo de las abejas, aunque generalmente permanecen como infecciones latentes que no causan signos evidentes de enfermedad. También puede haber infecciones simultáneas de más de un virus en una colonia de abejas, por lo que es difícil identificar las infecciones ocasionadas por virus y diferenciar cada virus solo por observación de signos clínicos (Chen et al., 2006). Estas infecciones latentes pueden permanecer en poblaciones de abejas durante muchas generaciones sin causar daños, pero en ciertas circunstancias un virus puede ser influenciado por factores de estrés para replicarse rápidamente o para infectar etapas u órganos sensibles, e iniciar infecciones agudas que pueden ser fatales. Estos factores de estrés suelen ser la presencia de otros patógenos (Ribière et al., 2008).

Varios estudios coinciden en que la infestación por *V. destructor* en combinación con la infección de algunos virus representa una seria amenaza para la colonia (Gisder et al., 2009). Se ha descrito la presencia del VAD, VPAI, VCE, VPA y VC en los ácaros (Tentcheva et al., 2004). En el caso del VAD incluso es necesaria la replicación viral previa en el ácaro para lograr el título viral necesario para manifestar la enfermedad con signos clínicos, que en este caso son las alas deformes en las abejas (Gisder et al., 2009). *Varroa* también es capaz de transmitir el VPAI y se ha observado una correlación positiva entre la tasa de transmisión del virus y la densidad de ácaros; además los ácaros también participan en la replicación viral (Di Prisco et al., 2011).

1.3.3. Tolerancia de las abejas africanizadas a enfermedades

Desde su origen a finales de los 50's en Brasil, se han realizado diversos estudios en los que se ha puesto a prueba la tolerancia de las abejas africanizadas a diferentes enfermedades y parásitos, principalmente al ácaro *V. destructor*,

encontrándose una mayor tolerancia de estas abejas en comparación a abejas de ancestría europea (Guzmán-Novoa et al., 2020). Aunque esta resistencia se debe a varios factores, los principales son una mayor expresión tanto del comportamiento higiénico como del de acicalamiento (Arechavaleta-Velasco y Guzmán-Novoa, 2001; Mondragón et al., 2005).

Dichos comportamientos también proveen resistencia a las abejas africanizadas frente a otras enfermedades (Guzmán-Novoa et al., 2011). Por ejemplo, se ha documentado que al comparar los niveles de infección por *Nosema* spp., VAD y VCRN de colonias africanizadas con los de europeas sujetas a las mismas condiciones medio ambientales, en las colonias africanizadas se observan niveles de infección más bajos que en las europeas para las tres parasitosis (Mendoza et al., 2014). En el caso de las enfermedades virales, también se ha probado de manera experimental que aparentemente las abejas africanizadas presentan mayor resistencia a la multiplicación del VAD y del VCRN que abejas europeas (Hamiduzzaman et al., 2015).

1.3.4. Efecto del clima sobre la africanización de las abejas en México

Se ha demostrado que el grado de africanización de las abejas varía por efectos del medio ambiente. Numerosos estudios han evidenciado diferencias en el grado de africanización de las colonias de abejas en distintas zonas ecológicas y altitudes. Por ejemplo, se presenta mayor grado de africanización en colonias ubicadas en zonas semicálidas y cálidas que en regiones templadas. También la africanización es mayor en regiones de baja altitud sobre el nivel del mar (snm) que en zonas donde la altitud excede los 1,000 m snm (Medina-Flores et al., 2015; Guzmán-Novoa et al., 2020).

Por otra parte, se realizó un trabajo en el que se compararon marcadores morfométricos y de ADN mitocondrial para evaluar la distribución de genes africanos y europeos en las regiones apícolas de México y el posible efecto del clima en su

distribución. Al asociar los resultados de los análisis del mitotipo y morfotipo se encontró que el genotipo europeo se encuentra con mayor frecuencia en las regiones del Norte y Centro, mientras que en las regiones tropicales del Pacífico, Golfo y Península de Yucatán, se reporta con mayor frecuencia el genotipo africano (Domínguez-Ayala et al., 2016). En general, se ha observado que el resultado de la hibridación entre abejas africanizadas y europeas en México, si se asocia con el clima. Los marcadores de abejas africanizadas son más frecuentes en regiones tropicales mientras que los de abejas europeas son más frecuentes en regiones templadas (Domínguez-Ayala et al., 2016).

1.3.5. Efecto del clima y localidad en la resistencia de las abejas a *Varroa*

De igual modo se ha planteado que la tolerancia a *V. destructor* de las abejas africanizadas puede variar en diferentes localidades y condiciones climáticas, ya que las abejas africanizadas de Brasil aparentemente tienen mayor tolerancia al ácaro que las de México y otros lugares de Sudamérica (Guzmán-Novoa et al., 1999; Rosenkranz, 1999), o que con el paso de los años la tolerancia de las abejas africanizadas puede disminuir, como se describió en Brasil por Carneiro et al. (2007).

En México se realizó un estudio en donde se compararon los niveles de infestación del ácaro *V. destructor* de colonias de abejas melíferas de ascendencia africana y europea en tres diferentes regiones ecológicas del norte del país. Se observó que los niveles de infestación de ácaros fueron significativamente más bajos en colonias de la región seca templada que en las colonias de las regiones subtropicales y templadas subhúmedas, lo que sugiere que efectivamente hay efectos ambientales sobre la introgresión genética africana en las colonias de abejas. Se planteó que esto ocurre como resultado de las diferencias en el clima, la disponibilidad de recursos florales y los sitios de anidación. Los resultados también indicaron que independientemente de la región, las tasas de infestación del ácaro fueron más altas

en colonias de ascendencia europea que en colonias de ascendencia africana (Medina-Flores et al., 2014b).

También se ha buscado determinar el efecto del clima en la prevalencia y nivel de infección del VAD al comparar muestras de abejas adultas y cría provenientes de una región templada y una tropical en México. Los resultados indicaron una mayor prevalencia en los niveles de infección del VAD en colonias de regiones templadas que en las colonias de las regiones tropicales, en donde se menciona que coincide con otros trabajos en los que la replicación del virus se ve favorecido por ambientes fríos y secos y se plantean diferentes hipótesis que podrían explicar estos resultados tales como el efecto climático, diferencias en el genotipo del ácaro, las cepas del virus, o las diferencias en los genotipos de las abejas (Anguiano-Báez et al., 2016).

1.3.6. Situación de la apicultura en el estado de Jalisco

El estado de Jalisco se ubica geográficamente dentro de dos de las regiones apícolas de México, la región del Centro o Altiplano que corresponde a la mayor parte de su territorio y la región del Pacífico en la costa del estado. Durante el paso de los años, el estado de Jalisco se ha mantenido como uno de los principales estados productores de miel, al obtener el primer lugar de producción durante el 2017 con 5,815 toneladas, con un inventario de más de 145 mil colmenas (SIAP, 2019).

Para fines del presente estudio se fraccionó al estado de Jalisco en 6 regiones productivas las cuales se describen a continuación:

Región Altos. Predominan los climas semicálido subhúmedo, templado subhúmedo, semiseco semicálido y semiseco templado (Sánchez et al., 2013). El rango de altitud va de los 1500 a los 2400 msnm, con una precipitación anual promedio de 400 a 1000 mm y temperatura media anual de 24 a 28° C. La

vegetación que predomina es el pastizal natural-huizachal, matorral subtropical y la agricultura de temporal (INEGI, 1988).

Región Centro. Predomina el clima semicálido subhúmedo (Sánchez et al., 2013). El rango de altitud va de los 1200 a 1800 msnm, con una precipitación anual promedio de 600 a 1200 mm y temperatura media anual de 14 a 26° C. La vegetación que predomina es el pastizal natural, matorral subtropical, una porción de bosque de pino-encino y bosque de encino y agricultura de temporal (INEGI, 1988).

Región Norte. Predominan los climas semicálido subhúmedo, templado subhúmedo y semiseco muy cálido y cálido (Sánchez et al., 2013). El rango de altitud va de los 1500 a los 2400 msnm, con una precipitación anual promedio de 700 a 1000 mm y temperatura media anual de 14 a 26° C. La vegetación predominante es el matorral subtropical, bosque de encino y de pino-encino y selva baja caducifolia (INEGI, 1988).

Región Sierra Amula. Predominan los climas cálido subhúmedo y semicálido subhúmedo (Sánchez et al., 2013). El rango de altitud va de los 740 a los 2860 msnm, con una precipitación anual promedio de 1000 a 2000 mm y temperatura media anual de 14 a 26° C. La vegetación que predomina es la selva baja caducifolia, selva mediana subcaducifolia, bosque de encino y de pino-encino (INEGI, 1988).

Región Sur. Predominan los climas templado subhúmedo y semiseco muy cálido y cálido (Sánchez et al., 2013). El rango de altitud va de los 1200 a los 2400 msnm, con una precipitación anual promedio de 700 a 1500 mm y temperatura media anual de 16 a 28° C. La vegetación que predomina es el bosque de encino, selva mediana subcaducifolia y la agricultura de temporal (INEGI, 1988).

Región Sureste. Predominan los climas semicálido subhúmedo y templado subhúmedo (Sánchez et al., 2013). El rango de altitud va de los 720 a los 4260

msnm, con una precipitación anual promedio de 1000 a 1500 mm y temperatura media anual de 16 a 26° C. La vegetación predominante es selva mediana subcaducifolia, bosque de encino y de pino-encino y agricultura de temporal (INEGI, 1988).

En Jalisco existen dos temporadas importantes para la apicultura, primavera y otoño. En la primavera, se puede obtener una buena cosecha de miel y de polen que ayudan al crecimiento de la población de las colonias, útil para que el apicultor divida sus colmenas o para la venta de núcleos. En el otoño se obtiene la cosecha de miel y polen más abundante del año (De la Mora, 1988; Lorente, 1992; Novoa, 1994). Los recursos florales de mayor importancia para la apicultura del estado son la aceitilla, alfalfa, aguacate, algunas cactáceas, campanilla, ceiba, cítricos, chayote, clavellina, varias cucurbitáceas, diente de león, eucalipto, durazno, guamúchil, girasol, guázima, huizache, limoncillo, dátil, mangle prieto, mezquite, salvia, tepozán, trébol y vara dulce (De la Mora, 1988).

Como antecedente de la situación de la apicultura en el estado existe un estudio que brinda información sobre el perfil socioeconómico de los apicultores y algunos aspectos técnicos de la producción de miel en las regiones Sur y Sureste del estado de Jalisco (Contreras-Escareño et al., 2013). Esta información puede ser de utilidad, ya que nos da una idea del tipo de apicultura que se practica en dichas zonas. Sin embargo, el estado se divide en seis regiones con diferente topografía y diferente clima, por lo que no puede englobarse en sólo dos regiones.

En el 2013, en la zona sur y sureste se encontraban más de la mitad de los productores apícolas del estado, con un inventario de 23 mil colmenas que producen cerca del 50% de la miel que se obtiene en toda la entidad. El 41% de los apicultores practicaban apicultura comercial, la cual se caracteriza por tener más de 100 colmenas, la incorporación de adelantos tecnológicos, la diversificación de productos y la movilización de colmenas en busca de floración, mientras que el 42% practicaban la apicultura como una actividad complementaria o un pasatiempo. En

general, pocos son los productores que ven a la apicultura con un enfoque empresarial, invierten en la diversificación de la materia prima y en estrategias y canales de comercialización. Aunque la información puede variar en las diferentes regiones, nos brinda un panorama general de la situación del estado (Contreras-Escareño et al., 2013).

1.3.7. Situación sanitaria de las colonias de abejas del estado de Jalisco

En cuanto a la situación sanitaria de las colonias de abejas del estado de Jalisco, recientemente se reportó la prevalencia y grado de infestación de *V. destructor* y su relación con variables geográficas y climáticas (Tapia-González et al., 2019a). Este estudio encontró que factores climáticos y la altura sobre el nivel del mar no tuvieron una relación significativa con la prevalencia y niveles de parasitismo del ácaro. La prevalencia promedio fue de 88% y el nivel de infestación de 5.2%. Se sugiere que otros factores pueden influenciar la prevalencia y grado de infestación de *V. destructor*, uno de ellos puede ser el grado de africanización.

Además de lo anterior, en Jalisco, se cuenta con información sobre la presencia e intensidad de la infección de *Nosema* spp. en colonias de abejas melíferas y su relación con la temperatura, precipitación pluvial y altitud en municipios del sur y sureste del estado. El 100% de las muestras de un estudio fueron positivas a nosemosis y de estas, el 83.75% presento una infección ligera y no se encontró relación significativa con variables ambientales (Tapia-González et al., 2017).

Aunque en esta tesis no se reporta la enfermedad de la cría ocasionada por el hongo *Ascosphaera apis*, conocida como ascosferosis o cría de cal, es importante mencionar que también se cuenta con información sobre esta enfermedad en una región del estado. Se reportó la prevalencia de *A. apis* en colonias de abejas melíferas distribuidas en dos zonas climáticas y los resultados arrojaron que en la zona cálida subhúmeda se encontró el 75.6% de las colonias positivas y en la zona templada subhúmeda el 72.2%. Además, se encontró que al incrementarse la

precipitación pluvial también aumenta significativamente el número de colonias infectadas. Este estudio demostró que hay un alto porcentaje de colonias positivas por lo que sugiere considerarse para futuras investigaciones (Tapia-González et al., 2020).

En cuanto a las enfermedades virales, en el estado de Jalisco aun no existen reportes oficiales de la situación sanitaria.

2. Justificación

Para el estudio reportado en esta tesis se seleccionaron los municipios de Jalisco con mayor actividad apícola, distribuidos en las seis regiones anteriormente descritas. La información que se generó son la presencia, prevalencia y niveles de parasitismo de *V. destructor* en abejas adultas y cría, *Nosema spp.* en abejas adultas, los virus VAD, VCRN, VPAI y VPCA. Además, se determinó el grado de africanización en las colonias de abejas y si existe alguna relación entre estas variables, es decir, si el grado de africanización influye en la susceptibilidad de las abejas a estas parasitosis.

A pesar de haber investigaciones que demuestran la resistencia de las abejas africanizadas a las enfermedades con las que se trabajó en el presente estudio, la información no ha sido actualizada y con el paso del tiempo puede modificarse por factores como el desarrollo de resistencia por parte de los patógenos, el efecto de las prácticas de manejo o incluso el cambio climático. Además, no existe esta información para el estado de Jalisco. Por lo anterior, se consideró relevante generar información local y actualizada del grado de africanización, el nivel de infestación o infección de las principales parasitosis que afectan a las abejas y si existe alguna relación entre ellas en el estado de Jalisco.

Con la información obtenida se busca generar una referencia actual sobre el estado sanitario y el grado de africanización de las abejas a nivel estatal que pueda ser

tomada como base para realizar investigación específica sobre alguna de las enfermedades antes mencionadas o su relación con alguna otra variable como la producción de miel. También para diseñar programas de apoyo a apicultores, ya que al conocerse cuáles son las parasitosis, su virulencia y distribución en el estado de Jalisco, así como el grado de africanización de las colonias de abejas en las diferentes regiones, pueden implementarse programas específicos por región con el fin de mantener o aumentar la producción de miel y así lograr que el estado de Jalisco permanezca dentro de los primeros lugares de producción.

El estudio también puede servir de modelo para otros estados con alta actividad apícola como son los estados del golfo y el sureste de México, ya que el nulo o poco conocimiento del estado sanitario y grado de africanización en las abejas prácticamente es similar en todo el país. Una mayor competitividad de producción entre los estados del país podría verse reflejada en aumento de la producción y mejora en la calidad de la miel mexicana, lo cual da paso a reabrir las puertas del mercado internacional, que en los últimos años ha ido a la baja, e incluso para fomentar el mercado local.

3. Objetivo general

Determinar si el grado de africanización influye en la prevalencia y nivel de parasitismo de las principales enfermedades que afectan a la abeja melífera: varroosis, nosemosis, VAD, VCRN, VPAI y VPC, en muestras del estado de Jalisco, México.

3.1. Objetivos específicos

1. Medir la prevalencia y nivel de parasitosis de las principales enfermedades que afectan a la abeja melífera: varroosis, nosemosis, VAD, VCRN, VPAI y VPC, en muestras de abejas del estado de Jalisco, México.

2. Determinar el grado de africanización en muestras de abejas del estado de Jalisco, México.

3. Demostrar si el grado de africanización influye en la prevalencia y nivel de parasitismo de las principales enfermedades que afectan a la abeja melífera, en muestras del estado de Jalisco, México.

4. Hipótesis

Al determinar los niveles de parasitismo de *Varroa destructor* en abejas adultas y cría, *Nosema spp.* en abejas adultas, VAD, VCRN, VPAI y VPC y el grado de africanización en las colonias de abejas, se podrá determinar si existe alguna relación entre estas variables.

Ho: El grado de africanización no influye en la susceptibilidad de las abejas a estas parasitosis.

Ha: El grado de africanización influye en la susceptibilidad de las abejas a estas parasitosis.

5. Materiales y métodos

5.1. Muestreo

Se colectaron muestras de cría y abejas adultas en 30 municipios distribuidos en las 6 regiones del estado de Jalisco, México (Cuadro 1, Figura 1), durante los meses de abril y mayo. En cada municipio se visitaron entre 2 y 3 apiarios y de cada apiario se seleccionaron 5 colonias al azar; en total se muestrearon 365 colonias, de cada una de las cuales se tomaron las siguientes muestras:

1. Una muestra de aproximadamente 300 abejas adultas colectadas del nido de cría en un frasco de plástico de 250 ml con tapa de cierre hermético que contenía etanol

al 70%, para el diagnóstico y cuantificación de *V. destructor* en abejas adultas, así como para la determinación del haplotipo y del morfotipo de las abejas.

2. Una muestra de panal con cría operculada de 10 X 10 cm, envuelto en una hoja de papel periódico, sellado con cinta adhesiva y transportado en una hielera con refrigerantes para el diagnóstico y cuantificación de *V. destructor* en la cría.

3. Una muestra de aproximadamente 50 abejas adultas en un frasco de plástico de 250 ml con tapa de cierre hermético con alcohol al 70%, obtenida de la piquera de la colmena para el diagnóstico de *Nosema spp.* en abejas adultas.

4. En tres de las colmenas seleccionadas de cada apiario se obtuvieron dos muestras de 3 abejas cada una, las cuales se colectaron manualmente de la piquera, con guantes de látex. Las abejas fueron introducidas en tubos de microcentrífuga de 2.0 ml que contenían RNAlater® (Thermo Scientific; Mississauga, Ontario, Canadá) para la preservación de ARN viral. Las muestras se transportaron en hieleras con refrigerantes y se congelaron a -70° C hasta realizar el análisis para el diagnóstico de enfermedades virales.

Cuadro 1. Regiones, municipios y número de muestras colectadas.

Región	Municipio	Número de muestras
Altos	Atotonilco	11
	Lagos de Moreno	10
	Tepatitlán	15
	Zapotlanejo	15
Centro	Cocula	15
	Jamay	13
	Tlajomulco	15
	Tonalá	15

	Autlán	10
	Cuautitlán	10
Sierra Amula	La Huerta	10
	Mascota	15
	Tonaya	10
	Colotlán	5
	Encarnación de Díaz	15
Norte	Huejúcar	5
	Santa María	5
	Teocaltiche	15
	Yahualica	15
	Gómez Farías	8
	San Gabriel	10
	Sayula	15
Sur	Tapalpa	16
	Tolimán	5
	Zapotiltic	15
	Zapotlán el Grande	12
	Concepción de Buenos Aires	15
Sureste	Pihuamo	15
	Tamazula	15
	Tecalitlán	15

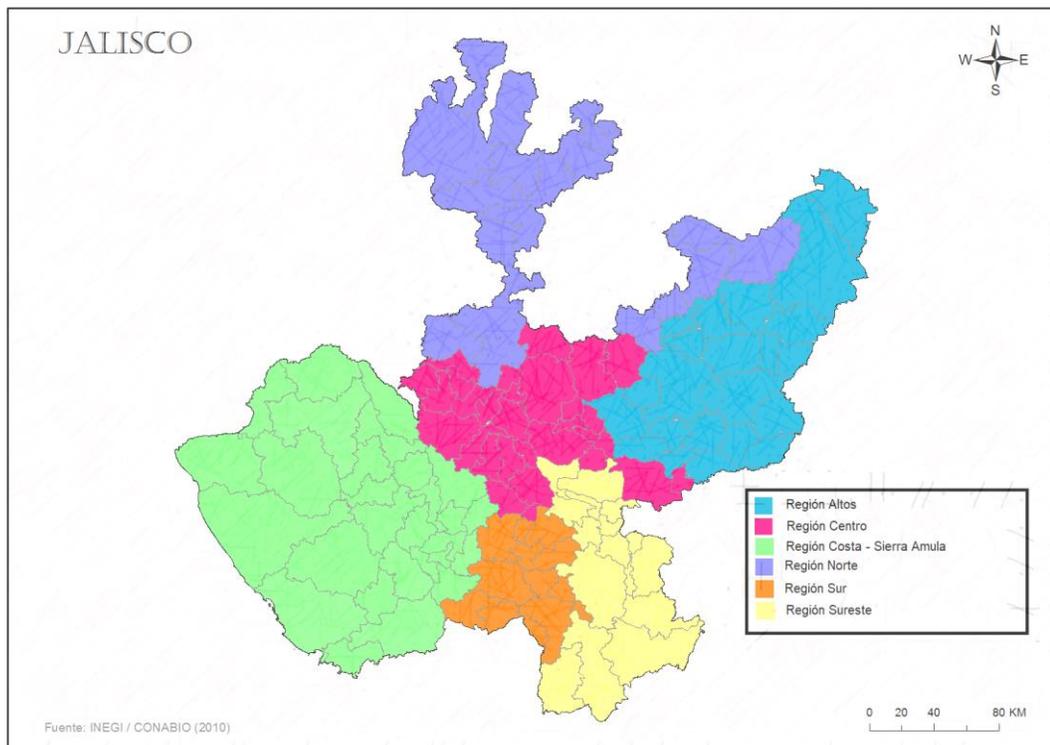


Figura 1. Mapa de las regiones del estado de Jalisco que se incluyeron en el muestreo.

5.2. Procesamiento de las muestras

Los análisis para el diagnóstico de varroosis en cría, varroosis en abejas adultas y nosemosis, se realizaron en el Centro de Investigaciones en Abejas (CIABE), ubicado en el Centro Universitario del Sur (CUSur) de la Universidad de Guadalajara en Zapotlán el Grande, Jalisco, México. La determinación del fenotipo se realizó en el Departamento de Abejas, Conejos y Organismos Acuáticos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, ubicada en la Ciudad de México. Mientras que los análisis moleculares para el diagnóstico de enfermedades virales, cuantificación viral y la determinación del haplotipo, se llevaron a cabo en el Laboratorio de investigación de abejas melíferas de la Escuela de Ciencias Ambientales de la Universidad de Guelph, en Guelph, Ontario, Canadá.

5.3. Diagnóstico y cuantificación de varroosis en abejas adultas

Se utilizó la técnica de lavado de abejas con etanol (De Jong, 1980). El frasco con las abejas de cada muestra se agitó durante 1 min y el contenido se vertió a un embudo elaborado con un envase de plástico con taparrosca de 1 L de capacidad, al que se le cortó la base y se le introdujo una malla de alambre de 8 cuadros por pulgada cerca del lado de la taparrosca. Dicho embudo se sostuvo sobre un soporte universal en dónde la muestra se agitó por 2 min más para separar a los ácaros de las abejas. Debajo del embudo se colocó un recipiente plástico cubierto con una tela de algodón blanco. Después de agitar el embudo, se abrió lentamente la taparrosca para dejar drenar el solvente y ácaros desprendidos de las abejas sobre la tela blanca. Las abejas quedaron retenidas en la malla de alambre y los ácaros en la tela blanca, mientras que el solvente se filtró en la tela y drenó al recipiente (Figura 2). Posteriormente se realizó el conteo de ácaros y de abejas en la muestra para determinar el porcentaje de infestación al dividir el número de ácaros encontrados entre el número de abejas y el resultado fue multiplicado por 100.

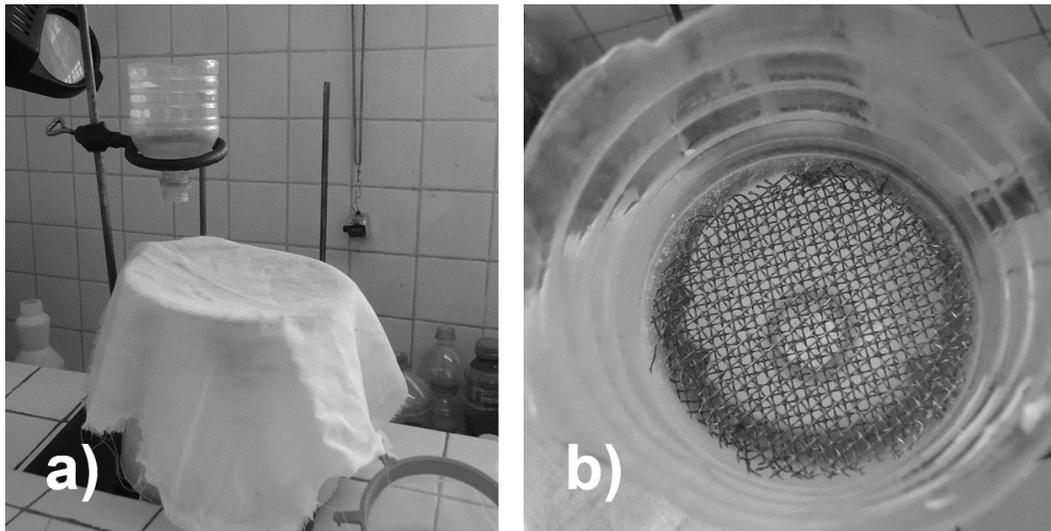


Figura 2. a) Fotografía del aparato adaptado para la técnica de lavado de abejas con etanol. b) Malla de alambre dentro del envase de plástico.

5.4. Diagnóstico y cuantificación de varroosis en cría

Este procedimiento se realizó por observación directa bajo un microscopio estereoscópico. En cada muestra de panal con cría se desopercularon 100 celdas en busca de ácaros inmaduros o adultos, para contabilizar el número de celdas con presencia de ácaros y así determinar el porcentaje de infestación de celdas analizadas.

5.5. Diagnóstico y cuantificación de nosemosis

El diagnóstico y cuantificación de nosemosis se llevaron a cabo mediante la observación y conteo de esporas de *Nosema* spp. con base en la metodología de Cantwell (1970). Brevemente, se maceraron los abdómenes de 60 abejas por muestra con 60 ml de H₂O en un mortero y una gota del macerado se colocó en un portaobjetos y luego se le puso un cubreobjetos encima. Las esporas se observaron bajo un microscopio óptico CX31 (Olympus; Ciudad de México, México) a un aumento de 400 X. En las muestras positivas se determinó la intensidad de la infección mediante el conteo de esporas con un hemocitómetro. Se contaron las esporas de 5 cuadros del hemocitómetro (los 4 de las esquinas y el central) y se aplicó la siguiente ecuación para determinar el número de esporas por abeja: No. Total de esporas contadas ÷ 80 X 4,000,000 y el resultado se clasificó en diferentes niveles de infección de acuerdo con el sistema de Jaycox (1980).

En las muestras positivas a nosemosis también se hizo diagnóstico molecular para diferenciar entre esporas de *N. apis* y de *N. ceranae*. Los macerados de las muestras positivas del diagnóstico anterior fueron congelados para su conservación. La extracción de ADN y los procedimientos para PCR se realizaron según Hamiduzzaman et al. (2010). Para la amplificación por PCR se utilizó un conjunto de tres cebadores específicos en una PCR triplex que consiste en la coamplificación del gen ARNr 16S de *N. apis* y *N. ceranae* con el gen de la proteína ribosomal S5 (RpS5) de la abeja melífera como control de la reacción.

Las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador Arktik (Thermo Scientific; Mississauga, ON, Canadá). Cada reacción contenía 1.5 µl de 10x amortiguador de pH para PCR (New England BioLabs; Pickering, Ontario Canadá), 0.5 µl de dNTPs 10 nM (Bio Basic Inc; Markham, Ontario Canadá), 1 µl de cada oligonucleótido 10 µM, 2 µl de ADN 10 ng, 0.2 µl de Taq polimerasa 5 U/µl (Applied Biological Materials Inc.) y 8.8 µl de H₂O libre de nucleasas (Invitrogen; Burlington, Ontario, Canadá).

Las secuencias de cebadores utilizadas fueron las siguientes. Para el gen ARNr 16s de *Nosema* el cebador directo fue MITOC 5'CGGCGACGATGTGATATGAAAATATTAA y el cebador reverso fue MITOC 5'CCCGGTCATTCTCAAACAAAAACCG. Para producir un producto de PCR de 218 pb específico para *N. ceranae* se utilizó el cebador directo APIS 5'GGGGGCATGTCTTTGACGTACTATGTA (Martín-Hernández et al., 2007). Para producir un producto de PCR de 321 pb específico para *N. apis* se utilizó el cebador reverso APIS 5'GGGGGGCGTTTAAATGTGAAACAACACTATG (Martín-Hernández et al., 2007). Para el gen de la RpS5 el cebador directo 5'AATTATTTGGTCGCTGGAATTG y el cebador reverso 5'TAACGTCCAGCAGAATGTGGTA con un producto de 115 pb (Thompson et al., 2007).

Las condiciones para las reacciones de PCR fueron 94° C por 2.5 min, seguidos de 10 ciclos de 94° C por 15 s, 61.8° C por 30 s y 72° C por 45 s, seguidos de 20 ciclos de 94° C por 15 s, 61.8° C por 30 s y 72 ° C por 50 s, para finalizar con 72° C por 7 min.

Los productos de la PCR se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.1% y fueron teñidos con bromuro de etidio. Las bandas amplificadas fueron capturadas con una cámara digital dentro de un Transiluminador UV (Benchtop-ItM Imaging System; Upland, California, EUA).

5.6. Diagnóstico viral

Se determinó la presencia del VAD, VCRN, VPAI y VPCA mediante PCR con transcriptasa de reversa (RT-PCR). Se realizó la extracción de ARN de tres abejas con TRIzol (Fisher Scientific; Mississauga, ON, Canadá), según las instrucciones del fabricante. La calidad y concentración del ARN extraído se midieron con un espectrofotómetro NanodropLite TM (Thermo Scientific; Mississauga, ON, Canadá) mediante la determinación de la relación de absorbancia de ácido nucleico (260/280 nm). Valores con un ratio entre 1.8 y 2.0 y con una concentración mínima de 150 ng/µl de ARN se consideraron como aceptables. El ADN complementario se obtuvo con un kit de síntesis de ADNc de RevertAidTM H Minus First Strand (Fermentas; Burlington, ON, Canadá) según las instrucciones del fabricante; se utilizaron 2,000 ng de ARN por reacción, 1 µl de oligo (dT) y 0.8 µl de transcriptasa de reversa.

Las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador Mastercycler (Eppendorf; Mississauga, ON, Canadá). Cada reacción contenía 1.5 µl de 10x amortiguador de pH para PCR (New England BioLabs; Pickering, ON, Canadá), 1 µl de oligonucleótidos directos y reversos (10 mM), 0.2 µl 5U/µl de Taq polimerasa (New England BioLabs; Pickering, ON, Canadá), 2 µl DNAC y 8.8 µl de DEPC-dH₂O.

Las secuencias de cebadores utilizadas fueron. Para VAD el cebador directo 5' ATCAGCGCTTAGTGGAGGAA y el cebador reverso 5' GCTCCGTTGACTGATATCTATG (Chen et al., 2005; Guzmán-Novoa et al., 2012). Para VCRN el cebador directo 5' GGACGAAAGGAAGCCTAAAC y el cebador reverso 5' ACTAGGAAGAGACTTGCACC (Tentcheva et al., 2004). Para VPAI el cebador directo 5' AGACACCAATCACGGACCTCAC y el cebador reverso 5' GAGATTGTTTGAGAGGGGTGG (Maori et al., 2009). Para VPCA el cebador directo 5' CTCTAACGCCATTTGCGAGC y el cebador reverso 5' TGTCAAGAACGAGACCACCG (Li et al., 2017).

Los ciclos programados fueron los siguientes. Para VPAI y VCRN: 3 min a 94°C, seguidos de 35 ciclos de 30 s a 94°C, 60 s a 55°C y 60 s a 72°C, y por último la

extensión final de 10 min a 72°C. Para VAD: 3 min a 94°C, seguidos de 35 ciclos de 30 s a 94°C, 60 s a 58°C y 60 s a 72°C, y la extensión final de 10 min a 72°C. Para VPCA: 3 min a 94°C, seguidos de 35 ciclos de 30 s a 94°C, 60 s a 60°C y 60 s a 72°C, y la extensión final de 10 min a 72°C.

Los productos de la PCR se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.1% y fueron teñidos con bromuro de etidio. Las bandas amplificadas fueron capturadas con una cámara digital dentro de un Transiluminador UV (Benchtop-ItM Imaging System; Upland, California, EUA).

5.7. Cuantificación viral

Se realizó la cuantificación del VAD y VCRN con PCR en tiempo real (qRT-PCR). Los demás virus no fueron cuantificados por no haber sido encontrados en las muestras procesadas mediante RT-PCR. El protocolo de qRT-PCR y las secuencias de cebadores para la cuantificación de VAD fueron los reportados por Di Prisco et al. (2013) y para VCRN los reportados por Chantawannakul et al. (2006).

La curva estándar de calibración tanto para el VAD como para el VCRN se realizó con un fragmento de gen sintético gBlock® (Integrated DNA technologies; Coralville, Iowa, USA) de 300 pb para cada uno, los liofilizados de los genes sintéticos (500 ng) se diluyeron con 50 µl de agua libre de nucleasas para obtener una concentración inicial de 10 ng/µl que se utilizó para hacer diluciones en serie de 10⁹ a 10² número de copias del VAD y del VCRN.

Las reacciones de qRT-PCR se realizaron en un Termociclador BioRad CFX96™ (Bio-Rad Laboratories; Mississauga, ON, Canadá), con PowerUp™ SYBRgreen™ (Supermix 2X) (Applied Biosystems; Foster City, California, EUA), en placas para PCR de 96 pocillos Hard-Shell® (BioRad Laboratories; Mississauga, Ontario, Canadá). Las reacciones se realizaron en un volumen final de 20 µl que contenían las siguientes mezclas. Para el VAD, 10 µl de Supermix 2X (Applied Biosystems;

Foster City, California, EUA), 0.4 µl de oligonucleótidos directo y reverso (200nM), 7.2 µl de agua libre de nucleasas (Invitrogen; Burlington, Ontario, Canadá), 2 µl de ADNc o las diluciones del gen sintético y un control negativo con 2 µl de H₂O. Para el VCRN, 10 µl de Supermix 2X (Applied Biosystems; Foster City, California, EUA), 0.8 µl de oligonucleótidos directo y reverso (400nM), 6.4 µl de agua libre de nucleasas (Invitrogen; Burlington, Ontario, Canadá) y 2 µl de ADNc o las diluciones del gen sintético.

Las secuencias de cebadores utilizadas fueron las siguientes. Para el VAD, el cebador directo 5' GCGCTTAGTGGAGGAAATGAA 3' y el reverso 5' GCACCTACGCGATGTAAATCTG 3' (Di Prisco et al., 2013). Para el VCRN el cebador directo 5' GGTGCGGGAGATGATATGGA 3' y el reverso 5' GCCGTCTGAGATGCATGAATAC 3' (Chantawannakul et al., 2006). Cada reacción consistió en 1 ciclo de incubación de 10 min a 95° C, seguidos de 40 ciclos de 15 s a 95° C y 60 s a 60° C y un ciclo de extensión final de 7 min a 68° C tanto para el VAD como para el VCRN.

El software del termociclador proporciono el cálculo de la eficiencia, el coeficiente de determinación (R²) y la pendiente de la curva estándar. Para determinar la cantidad de ARN viral en las diluciones seriadas se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Números copias ARN} = (\text{ng del fragmento de gen sintético}) (6.022 \times 10^{23}) / \\ (\text{longitud del fragmento de gen sintético}) (1 \times 10^9) (650 \text{ D})$$

Donde: 650 D es el peso promedio de un par de bases y 6.022×10^{23} es el número de Avogadro. Posteriormente se construyó un gráfico con los valores de Ct frente al número de copias de ARN viral inicial (log 10) y con una ecuación de regresión lineal se calculó el número de copias virales de VAD y VCRN en las muestras.

5.8. Determinación del mitotipo de las abejas

Para clasificar a las colonias de abejas muestreadas de acuerdo con su mitotipo (haplotipo), se determinó el tipo de ADN mitocondrial de cinco abejas de cada colonia, mediante la identificación de fragmentos polimórficos del gen citocromo b/BgIII (Pinto et al., 2003). La obtención de ADN se realizó conforme al protocolo de extracción de Hamiduzzaman et al. (2010) con la modificación de utilizar el tórax de la abeja. La calidad y concentración del ADN extraído se midió con un espectrofotómetro NanodropLite TM, (Thermo Scientific; Ontario, Canadá) mediante la determinación de la relación de absorbancia de ácido nucleico (260/280 nm). Valores con un ratio entre 1.8 y 2.0 y una concentración mínima de 150 ng/μl de ADN se consideraron como aceptables.

Se hizo la amplificación por PCR de una sección del gen citocromo b de 485 pb con los cebadores: 5' TATGTACTACCATGAGGACAAATATC y 5' ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT (Crozier et al., 1991). Las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador Arktik (Thermo Scientific; Mississauga, ON, Canadá). Cada 5 μl de reacción contenía 0.5 μl de 10x amortiguador de pH para PCR (New England BioLabs; Pickering, Ontario Canadá), 0.3 μl de sulfato de magnesio (MgSO₄), 20 nM (Bio Basic Inc; Markham, Ontario Canadá), 0.1 μl de dNTPs 10 nM (Bio Basic Inc; Markham, Ontario Canadá), 1 μl de oligonucleótido Cypb directo 10 μM, 1 μl de oligonucleótido Cypb reverso 10 μM, 1 μl de ADN 100 ng, 0.1 μl de Taq polimerasa 5,000 U/μl (Applied Biological Materials Inc.) y 1 μl de H₂O libre de nucleasas (Invitrogen; Burlington, Ontario, Canadá). Las condiciones de la PCR fueron 94° C por 3 min, seguidos de 30 ciclos de 94° C por 15 s, 50° C por 15 s y 68° C por 5 s, para finalizar con 72° C por 10 min.

Después las muestras fueron digeridas con enzimas de restricción BgIII (Promega, Mississauga, ON, Canadá) para producir marcadores polimórficos de ADN o RFLP por sus siglas en inglés, de acuerdo con las instrucciones del proveedor. El volumen total de la digestión se sometió a electroforesis en gel de agarosa al 2% / Tris Borato EDTA, teñido con bromuro de etidio. Las bandas amplificadas se capturaron en

fotografías con una cámara digital bajo un Transiluminador UV Benchtop (BioDoc-ItM Imaging System; Upland, California, EUA). Se confirmó que el sitio de restricción estaba presente al visualizar dos bandas (291 y 194 pb) que corresponden al haplotipo europeo, y ausente al visualizar una sola banda (485 pb) correspondiente al haplotipo africano.

5.9. Determinación del morfotipo de las abejas

Para clasificar a las colonias de abejas muestreadas de acuerdo con su morfotipo, se utilizó el Sistema Rápido de Identificación de Abejas Africanizadas (FABIS, por sus siglas en inglés) descrito por Sylvester y Rinderer (1987). Se diseccionó el ala anterior derecha de 12 abejas obreras por muestra. Las alas se colocaron entre un par de cubreobjetos que se pusieron en una montura de diapositivas para proyectar su imagen con un proyector. El proyector para diapositivas se colocó sobre una mesa a 1.40 m de altura y a una distancia de 5 m de una pared lisa de color blanco. Para poder calibrar imágenes proyectadas de las alas, antes de las diapositivas de las alas, se colocó un micrómetro ocular (instalado en una montura de diapositiva) en la primer ranura del carrusel del proyector. Al proyectar la imagen del micrómetro, el tamaño de la escala de este, se hizo coincidir la escala de una regla de 30 cm mediante el ajuste del tamaño de la imagen proyectada. Después de ajustar las escalas del micrómetro y la regla, se proyectaron las imágenes de las alas de las diapositivas previamente preparadas y se midieron sobre la pared las longitudes de 10 alas por muestra con una regla. Posteriormente se aplicó la siguiente fórmula.

$$\text{Promedio de longitud de ala por abeja} = \Sigma \text{ longitud del ala anterior} \times 4 / 100.$$

Las colonias cuyas abejas tenían un promedio de longitud de ala igual o mayor a 9.160 mm se clasificaron como europeas, las colonias con abejas de alas iguales o menores a 8.690 mm se clasificaron como africanizadas y las que tenían abejas con promedios de ala entre 8.691 mm y 9.159 mm se clasificaron como sospechosas. Estas últimas no se usaron en los análisis.

5.10. Análisis estadísticos

Se obtuvieron valores de estadística descriptiva para las variables medidas y los datos se sometieron a diferentes pruebas estadísticas. En algunos casos en que hubo datos faltantes, éstos fueron sustituidos con el método de regresión de bosques aleatorios (random forest). Para determinar si hubo diferencias en las prevalencias de parasitosis, o de mitotipos, o de morfotipos, en las colonias estudiadas, los datos se analizaron con pruebas de comparación de proporciones con la corrección de probabilidad de Benjamini y Hochberg, para evitar tasas de descubrimiento falsas. Antes de analizar y comparar variables continuas como la intensidad de parasitosis o la longitud de alas de las abejas, los datos se sometieron a las pruebas de Shapiro-Wilk y de Bartlett, para analizar los supuestos de normalidad y homocedasticidad, respectivamente. En ningún caso los datos tuvieron una distribución normal o fueron homocedásticos. Por ello, los datos de algunas variables se transformaron, mientras que otros se analizaron con pruebas de estadística no-paramétrica. Para el caso de la intensidad de parasitosis como la varroosis o la noseosis, los datos se analizaron con pruebas de Kruskal-Wallis para saber si hubo diferencias significativas entre regiones. Si las había, se hicieron comparaciones por pares de tratamientos con la prueba de Dunn y se usó la corrección de probabilidad de Benjamini y Hochberg. Los datos de intensidad de varroosis y noseosis también se analizaron con pruebas de Wilcoxon, para comparar mitotipos y morfotipos. Para el caso de la intensidad de virosis, los datos se transformaron a logaritmo natural y después se sometieron a análisis de varianza (ANDEVA) para comparar regiones. Al haber diferencias significativas, se hicieron comparaciones en pares de regiones con pruebas t de Student, mediante la corrección de probabilidad de Benjamini y Hochberg. Los datos de intensidades virales también se analizaron por haplotipo y morfotipo con pruebas t de Student, posterior a su transformación a logaritmo natural. Para los datos de longitud de ala, se usó una transformación inversa al poder de 8 y pruebas t de Student con el fin de comparar mitotipos y morfotipos. Finalmente, las relaciones de parámetros de

africanización, parasitosis y altura sobre el nivel del mar (asnm), se analizaron con la prueba de correlación de rangos de Spearman.

6. Resultados

6.1. Parasitosis de las abejas melíferas en el estado de Jalisco

De las seis parasitosis que se propuso diagnosticar en colonias comerciales de abejas melíferas en el estado de Jalisco, se detectaron cuatro. Las dos parasitosis no detectadas fueron las causadas por el VPAI y por el VPC. La parasitosis de mayor prevalencia fue la varroosis, la cual se detectó en el 90% de las colonias, seguida por dos virosis, la del VCRN (Figura 3) con 66% y la del VAD (Figura 4) con 38%. La enfermedad parasitaria de menor prevalencia fue la nosemosis, con solo el 15% de las colonias positivas (Figura 5). Además, de las dos especies de *Nosema* que infectan a las abejas melíferas, solo se detectó *N. ceranae* (Figura 6) y no se detectó *N. apis*. La intensidad de los agentes etiológicos de las parasitosis encontradas en el estado de Jalisco se muestra en el Cuadro 2. Los niveles de parasitosis encontrados demuestran que, a excepción de la infección causada por el VAD, las intensidades de los demás patógenos fueron relativamente bajas.

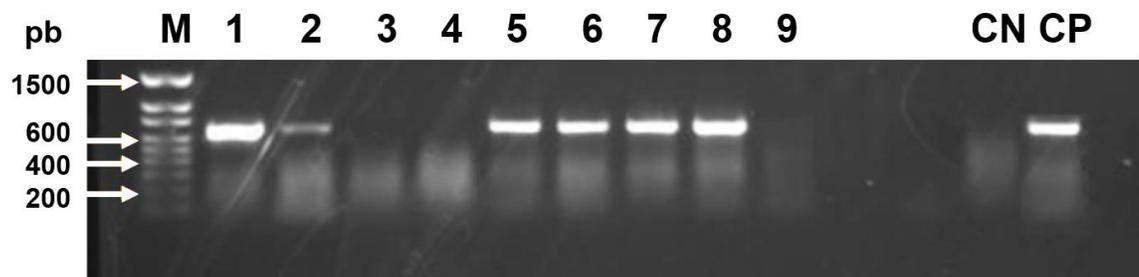


Figura 3. Fotografía de un gel de agarosa que muestra bandas de 698 pares de bases del virus de las celdas reales negras (VCRN) en las columnas 1, 2, 5, 6, 7 y 8. En la reacción de RT-PCR se usa un gen de la abeja como control (RpS5).

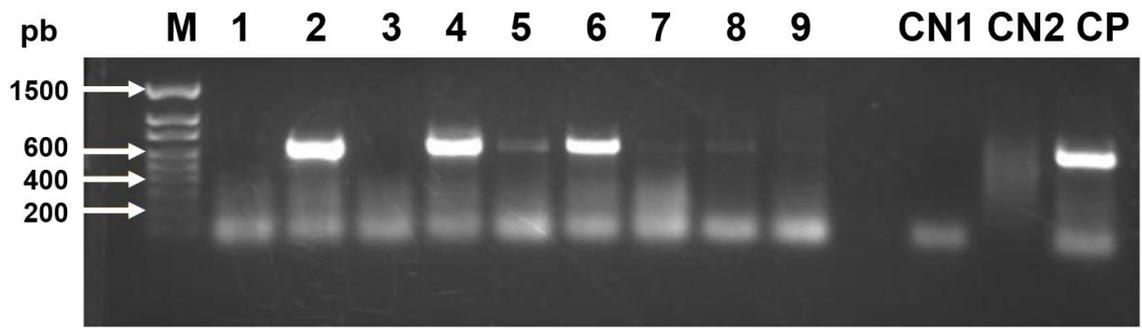


Figura 4. Fotografía de un gel de agarosa que muestra bandas de 642 pares de bases del virus de las alas deformes (VAD) en las columnas 2,4 y 6. En la reacción de RT-PCR se usa un gen de la abeja como control (RpS5).

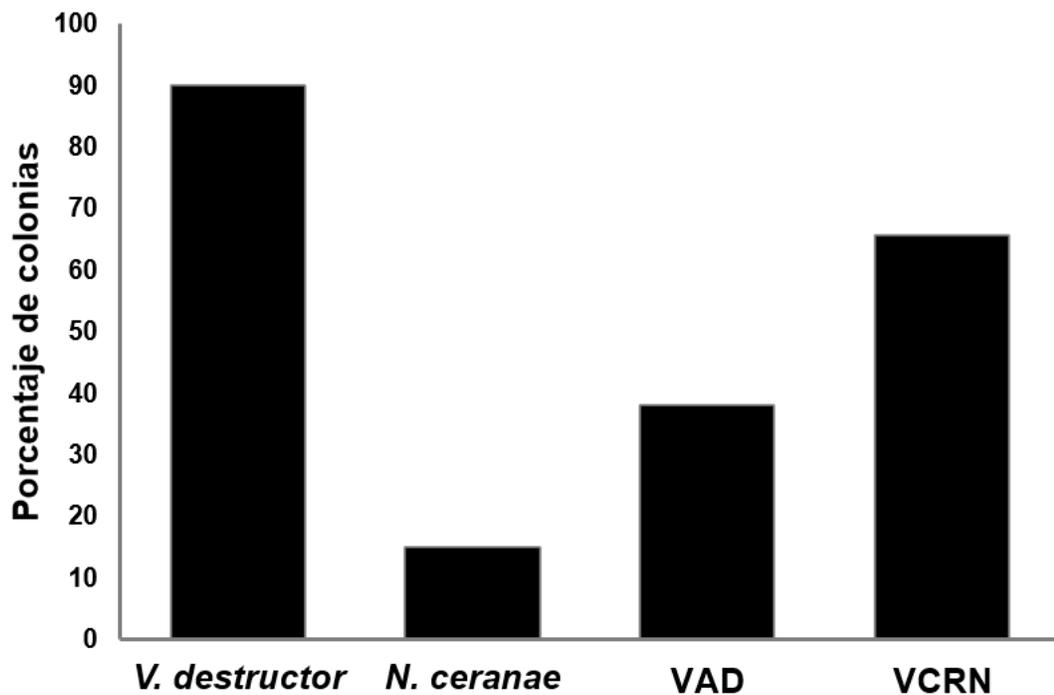


Figura 5. Prevalencia (%) de colonias positivas a varroosis (*Varroa destructor*), nosemosis (*Nosema ceranae*) y virosis, causadas por el virus de las alas deformes (VAD) y por el virus de las celdas reales negras (VCRN), en el estado de Jalisco, México (N = 365).

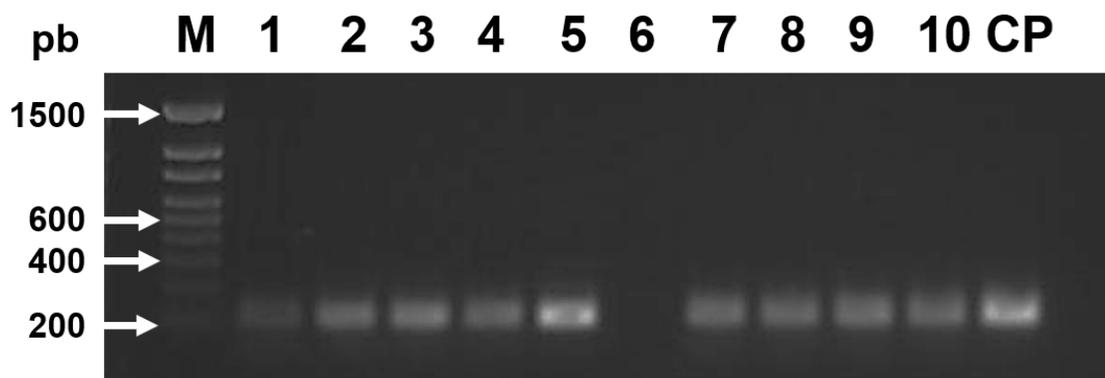


Figura 6. Fotografía de un gel de agarosa que muestra bandas de 218 pares de bases de un fragmento del gen ARN ribosomal de *Nosema ceranae* en las columnas 1 a 5 y 7 a 10. En la reacción de RT-PCR se usa un control positivo (CP).

Cuadro 2. Intensidad media de parasitismo (infestación o infección) \pm E. E. de varios patógenos que afectan a colonias de abejas melíferas en el estado de Jalisco, México.

Patógeno	N	Intensidad \pm EE
<i>Varroa destructor</i> en cría	365	4.50 \pm 0.34 ¹
<i>Varroa destructor</i> en adultos	365	4.15 \pm 0.19 ¹
<i>Nosema ceranae</i>	55	161046 \pm 38055 ²
Virus de las alas deformes	79	4083.4 \pm 2676.05 ³
Virus de las celdas reales negras	79	0.49 \pm 0.23 ³

¹ Número de ácaros en 100 celdas de cría o en 100 abejas adultas

² Número de esporas por abeja

³ Número de copias virales por microgramo de ARN x 10⁶

Por regiones, la prevalencia de la parasitosis por *V. destructor* tanto en cría como en abejas adultas fue significativamente más alta en las regiones de los Altos, Centro y Sur, que en la región Norte ($p < 0.05$), y en el caso de las regiones de los

Altos y Centro, con casi el 100% de las colonias infestadas (Cuadros 3 y 4). Además, la intensidad de las infestaciones por *V. destructor* en la cría también varió entre regiones. El parasitismo más intenso del ácaro en la cría se encontró en las colonias de las regiones Sur y Altos con $7.1 \pm 1.0\%$ y $5.6 \pm 0.8\%$, respectivamente. Estos niveles de parasitosis fueron significativamente más altos que los encontrados en las colonias de las demás regiones, excepto la región Centro ($\chi^2 = 43.0$, $df = 5$, $p < 0.01$; Figura 7). En abejas adultas también hubo diferencias entre regiones. El parasitismo más intenso por *V. destructor* se encontró nuevamente en colonias de las regiones Sur y Altos, con $4.6 \pm 0.4\%$ y $5.9 \pm 0.5\%$, respectivamente. Las intensidades de infestación del ácaro en las abejas adultas de las colonias de estas dos regiones y la región Centro, fueron significativamente más altas que las de la región Norte con solo $2.7 \pm 0.4\%$, pero no difirieron de las intensidades de infestación encontradas en colonias de las demás regiones ($\chi^2 = 34.3$, $df = 5$, $p < 0.01$; Figura 8).

Cuadro 3. Prevalencia (%) de varroosis (*Varroa destructor*) en la cría de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 365).

Región	N	Muestras +	Prevalencia (%)
Altos	51	45	88.2 ^a
Centro	58	47	81.0 ^a
Sierra Amula	55	31	56.4 ^b
Norte	60	39	65.0 ^b
Sur	81	70	86.4 ^a
Sureste	60	40	66.7 ^b

Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en pruebas de comparación de proporciones con corrección de Benjamini-Hochberg ($p < 0.05$).

Cuadro 4. Prevalencia (%) de varroosis (*Varroa destructor*) en obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 365).

Región	N	Muestras +	Prevalencia (%)
Altos	51	50	98.0 ^a
Centro	58	57	98.3 ^a
Sierra Amula	55	50	90.9 ^a
Norte	60	45	75.0 ^b
Sur	81	75	92.6 ^a
Sureste	60	52	86.7 ^{a,b}

Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en pruebas de comparación de proporciones con corrección de Benjamini-Hochberg ($p < 0.05$).

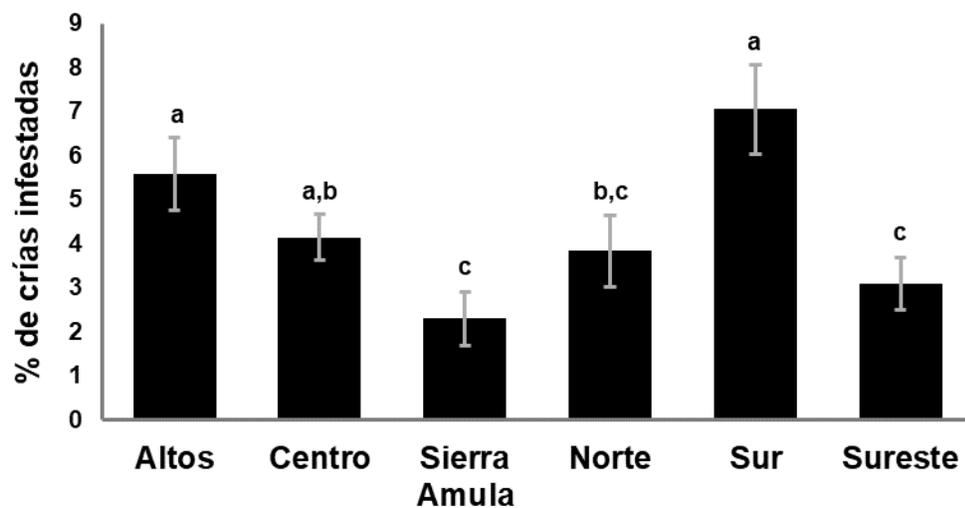


Figura 7. Intensidad media de parasitismo por *Varroa destructor* \pm E. E. en la cría (% celdas infestadas) de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 365). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en un análisis de Kruskal- Wallis y comparaciones por pares con la prueba de Dunn.

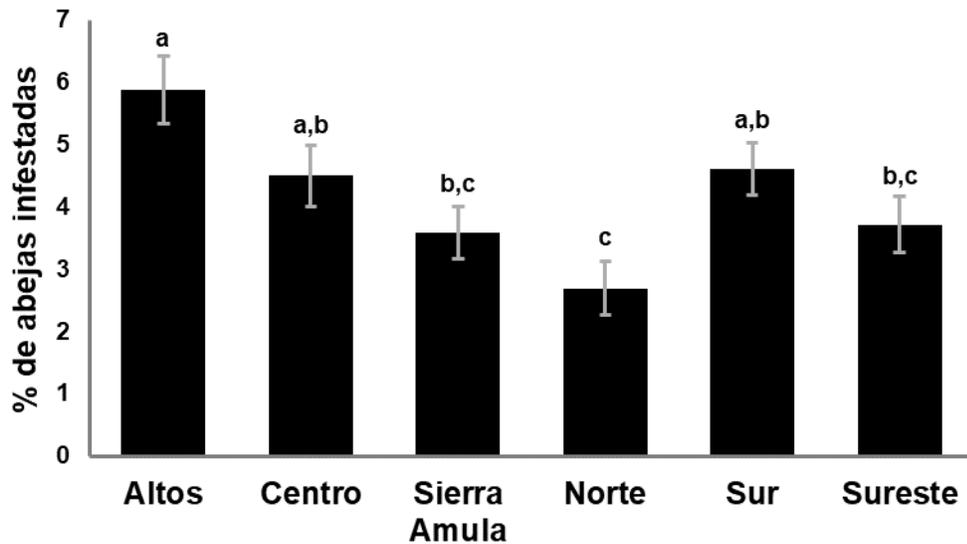


Figura 8. Intensidad media de parasitismo por *Varroa destructor* \pm E. E. en obreras adultas (% individuos infestados) de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 365). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en un análisis de Kruskal- Wallis y comparaciones por pares con la prueba de Dunn.

Para la nosemosis, la prevalencia de la parasitosis causada por *N. ceranae* fue relativamente baja, ya que se reportó entre el 7 y el 18%, sin encontrarse diferencias significativas entre regiones ($p > 0.05$, Cuadro 5). La intensidad de la infección causada por este hongo fue relativamente baja y varió entre $39,375 \pm 10,625$ y $309,091 \pm 166,967$ esporas por abeja en las colonias positivas a la parasitosis de las distintas regiones estudiadas, entre las cuales hubo diferencias significativas para el nivel de infección de nosemosis ($\chi^2 = 11.1$, $df = 5$, $p < 0.05$; Figura 9).

Cuadro 5. Prevalencia (%) de nosemosis (*Nosema ceranae*) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 365).

Región	N	Muestras +	Prevalencia (%)
Altos	51	9	18
Centro	58	7	12
Sierra Amula	55	10	18
Norte	60	4	7
Sur	81	14	17
Sureste	60	11	18

No se encontraron diferencias significativas entre regiones basadas en pruebas de comparación de proporciones con corrección de Benjamini-Hochberg ($p > 0.05$).

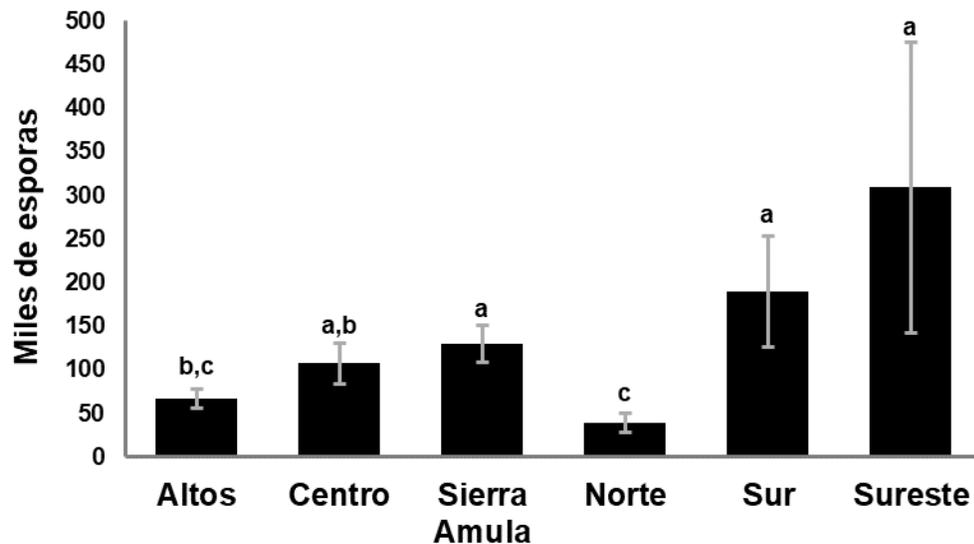


Figura 9. Intensidad media de infección por *Nosema ceranae* (miles de esporas por abeja \pm E. E.) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 55). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en un análisis de Kruskal-Wallis y comparaciones por pares con la prueba de Dunn.

Para el caso de la virosis causada por el VAD, esta no se detectó en colonias de la región Sureste y su prevalencia fue significativamente más baja, con solo 8% en colonias de la región Norte en comparación con la de colonias de las regiones Sur, Sierra Amula, y Centro ($p < 0.05$, Cuadro 6). En cuanto a la intensidad de las infecciones causadas por el VAD, no hubo diferencias significativas entre colonias de las diferentes regiones ($\chi^2 = 0.64$, $p > 0.05$; Figura 10).

Cuadro 6. Prevalencia (%) del virus de las alas deformes (VAD) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 79).

Región	N	Muestras +	Prevalencia (%)
Altos	12	4	33 ^{a,b}
Centro	12	8	67 ^a
Sierra Amula	15	9	60 ^a
Norte	12	1	8 ^b
Sur	16	8	50 ^a
Sureste	12	0	0 ^c

Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en pruebas de comparación de proporciones con corrección de Benjamini-Hochberg ($p < 0.05$).

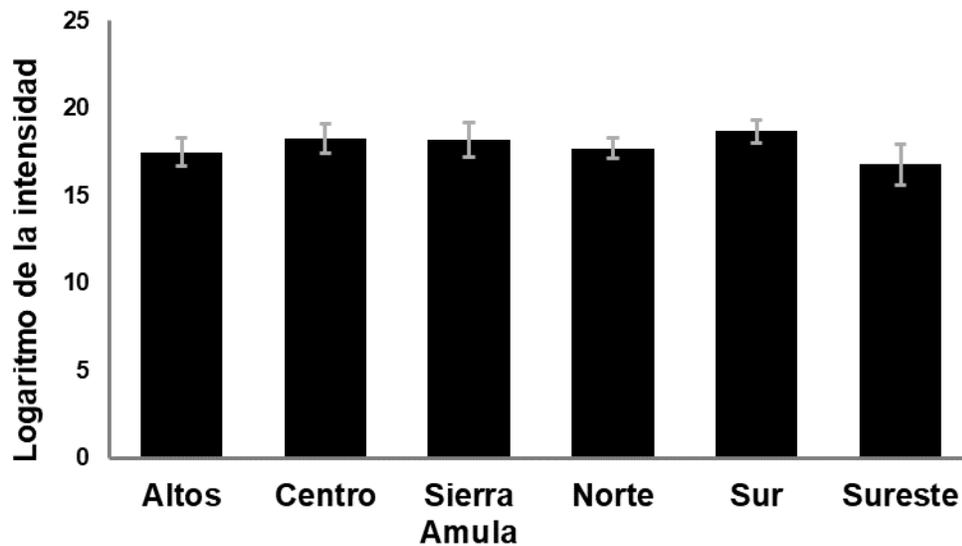


Figura 10. Intensidad media del virus de las alas deformes (VAD) (logaritmo natural para el no. de copias virales por μg de RNA $\times 10^6 \pm \text{E. E}$) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 79). No se encontraron diferencias significativas entre regiones en base a un análisis de varianza ($p > 0.05$).

Finalmente, la virosis causada por el VCRN se detectó en el 42 al 81% de las colonias de las regiones estudiadas, pero no hubo diferencias significativas en la prevalencia de esta virosis entre regiones ($p > 0.05$, Cuadro 7). Para la intensidad de las infecciones causadas por el VCRN si se encontraron diferencias significativas entre colonias de distintas regiones ($\chi^2 = 7.14$, $p < 0.01$; Figura 11). Por ejemplo, la región Sur mostró colonias con niveles de infección significativamente más altos que las de colonias de las demás regiones, excepto la región Centro, que fue la segunda región con los valores más elevados, mientras que la región Sureste fue la de menores niveles de infección.

Cuadro 7. Prevalencia (%) del virus de las celdas reales negras (VCRN) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 79).

Región	N	Muestras +	Prevalencia (%)
Altos	12	5	42
Centro	12	8	67
Sierra Amula	15	10	67
Norte	12	7	58
Sur	16	13	81
Sureste	12	9	75

No se encontraron diferencias significativas entre regiones basadas en pruebas de comparación de proporciones con corrección de Benjamini-Hochberg ($p < 0.05$).

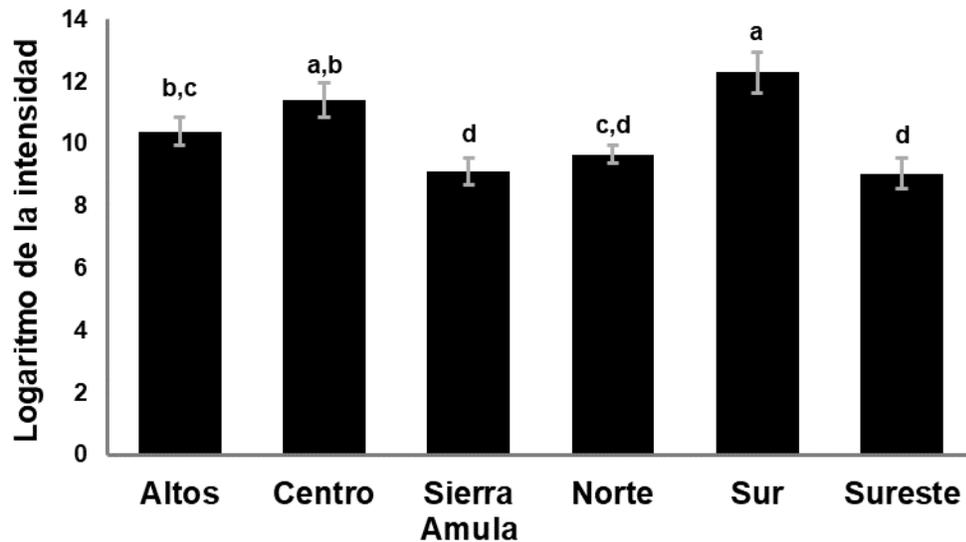


Figura 11. Intensidad media del virus de las celdas reales negras (VCRN) (logaritmo natural para el no. de copias virales por μg de RNA $\times 10^6 \pm \text{E. E.}$) en muestras de obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México (N = 79). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en un análisis de varianza y pruebas por pares de t de Student entre tratamientos, con corrección de Benjamini-Hochberg ($p < 0.05$).

6.2. Africanización de las abejas melíferas en el estado de Jalisco

Los resultados de las clasificaciones por mitotipo y morfotipo muestran que más del 50% de las colonias de abejas en el estado de Jalisco son africanizadas (52.7 y 62.5%, respectivamente). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la prevalencia entre mitotipos europeo y africano en el estado ($p > 0.05$; Figura 12), pero la prevalencia sí fue significativamente mayor para colonias con morfotipo africano que para colonias con morfotipo europeo ($p < 0.0001$; Figura 13). Además, la longitud promedio de ala anterior de abejas de colonias clasificadas como africanizadas (8.82 ± 0.01 mm) fue significativamente menor que la de abejas de colonias clasificadas como europeas (9.06 ± 0.01 mm) ($t = 19.02$, $gl = 337$, $p < 0.001$; Figura 14).

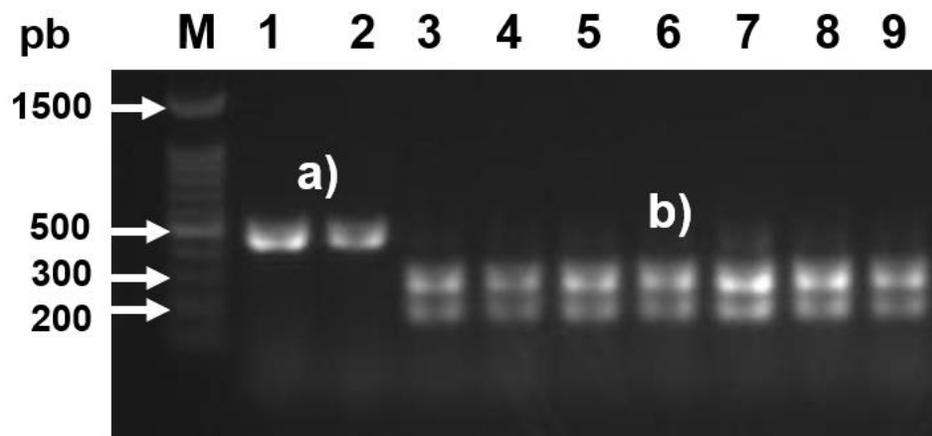


Figura 12. Fotografía de un gel de agarosa que muestra **a)** bandas de 485 pares de bases (pb) de un fragmento del gen Citocromo oxidasa I (COI) en las columnas 1 y 2 y **b)** bandas de 291 y 194 pb en las columnas 3 a 9, producto de la digestión del fragmento del gen COI por la enzima de restricción BgIII. El mitotipo africano corresponde a la presencia de una sola banda de 485 pb, mientras que el mitotipo europeo corresponde a la presencia de las bandas de 291 y 194 pb.

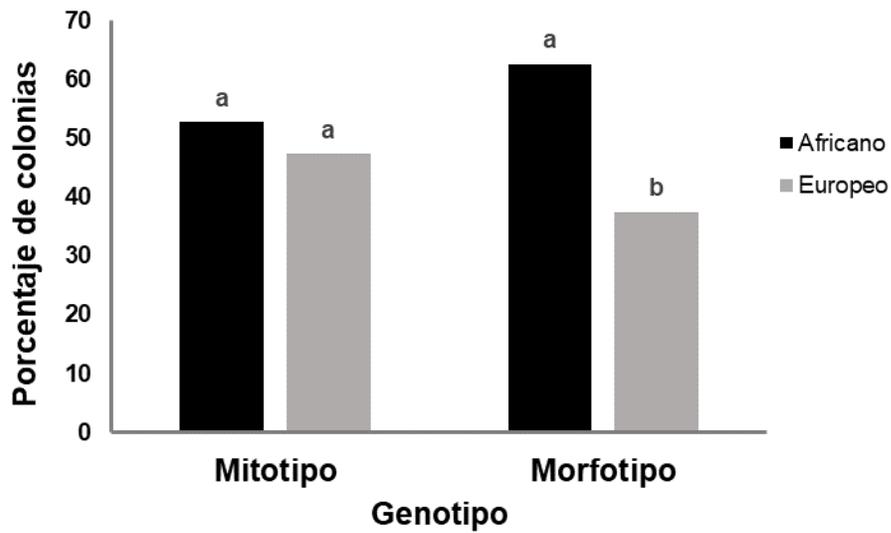


Figura 13. Prevalencia (%) de colonias de abejas melíferas con mitotipo africano o europeo (N = 334) y de colonias con morfotipo africano o europeo (N = 339) en el estado de Jalisco, México. Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en pruebas de comparación de proporciones mediante la corrección de probabilidad de Benjamini y Hochberg.



Figura 14. Fotografía de la medición de imágenes de alas anteriores de abejas obreras proyectadas a una pared para determinar su morfotipo de acuerdo con Sylvester y Rinderer (1987).

La frecuencia de colonias de abejas con genotipos (mitotipo y morfotipo) africanos fue mayor en regiones bajas que en regiones altas. El promedio de altitud en que se encontraban ubicadas las colonias con mitotipo o morfotipo africano fue significativamente más bajo que el de las colonias con mitotipo o morfotipo europeo (Cuadro 8). Basados en este resultado, se analizaron las frecuencias de colonias por mitotipo o morfotipo ubicadas en localidades a > 1,500 msnm y a < 1,500 msnm. Las frecuencias de colonias con mitotipo o morfotipo africano fueron significativamente mayores que las de colonias con mitotipo o morfotipo europeo en localidades ubicadas a menos de 1,500 msnm (59.2 y 72.8%, vs. 40.8 y 27.2%, respectivamente, $p < 0.001$), mientras que para las colonias ubicadas en localidades a más de 1,500 msnm no se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de mitotipo o morfotipo africano y europeo ($p > 0.05$; Figura 15).

Cuadro 8. Altitud media snm \pm E. E. de ubicación de colonias de abejas melíferas con mitotipo africano o europeo y de colonias con morfotipo africano o europeo en el estado de Jalisco, México.

Genotipo	N	Africano	Europeo
Mitotipo	334	1414 \pm 31.9 ^b	1558 \pm 39.1 ^a
Morfotipo	339	1390 \pm 29.0 ^b	1646 \pm 42.4 ^a

Literales diferentes entre mitotipos o entre morfotipos indican diferencias significativas basadas en pruebas de Wilcoxon ($p < 0.01$).

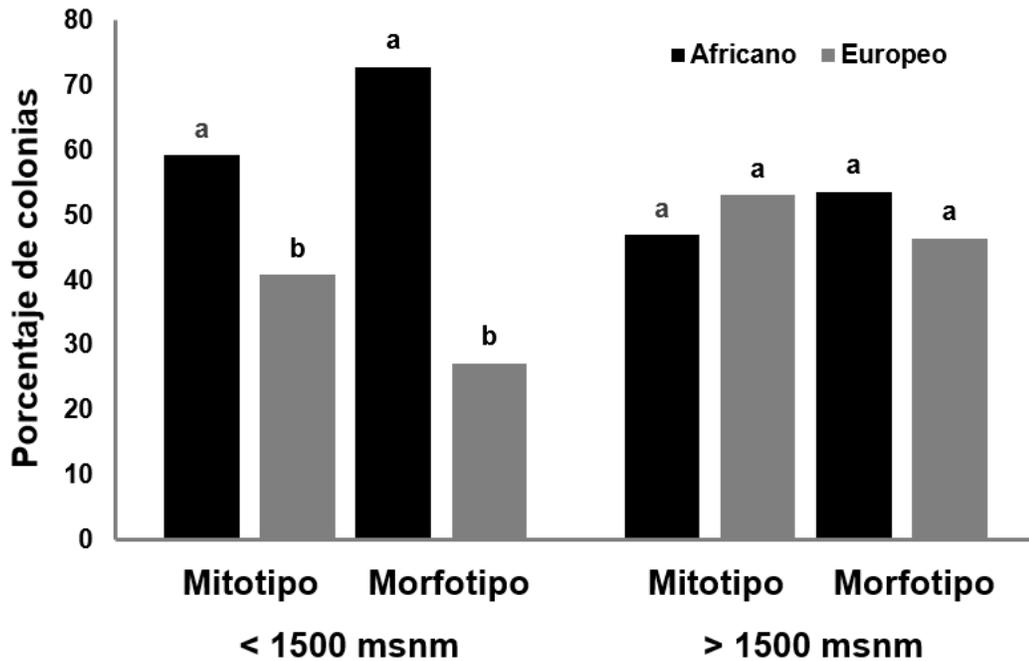


Figura 15. Frecuencia (%) de colonias de abejas melíferas con mitotipo africano o europeo y de colonias con morfotipo africano o europeo ubicadas a > 1,500 msnm y a < 1,500 msnm en el estado de Jalisco, México (N = 337). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en pruebas de comparación de proporciones ($p < 0.001$).

Respecto a la longitud media del ala anterior, las abejas de colonias ubicadas a < 1,500 msnm tuvieron alas significativamente más cortas que las abejas de colonias ubicadas a > 1,500 msnm (Figura 16). Además, hubo una correlación positiva y significativa entre la longitud de ala de las abejas y la altitud a la que se encontraban sus colonias ($r = 0.5$, $n = 338$, $p < 0.01$), lo que indica que a menor asnm, hubo mayor grado de africanización de las abejas, ya que las abejas africanizadas son de menor tamaño que las abejas de razas europeas.

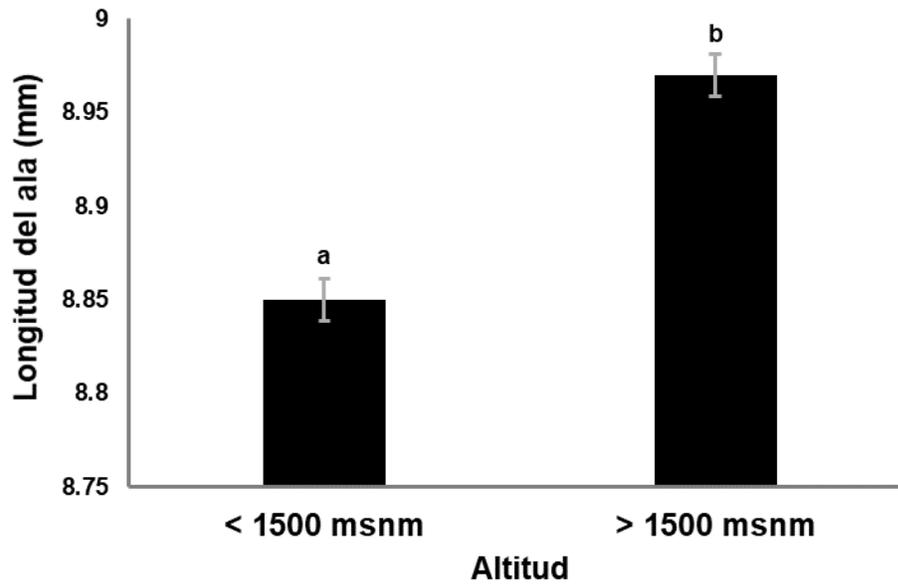


Figura 16. Longitud media del ala anterior (mm) \pm E. E. de abejas melíferas de colonias ubicadas a < 1,500 msnm y a > 1,500 msnm en el estado de Jalisco, México (N = 339). Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en una prueba t de Student realizada con datos sometidos a transformación inversa al poder de 6 ($p < 0.001$).

6.3. Efecto de la africanización en parasitosis de abejas melíferas en el estado de Jalisco

La prevalencia de las cuatro parasitosis detectadas en colonias de abejas melíferas del estado de Jalisco de acuerdo a su mitotipo y morfotipo se muestra en el Cuadro 9. No hubo diferencias significativas entre mitotipos y entre morfotipos para la prevalencia de tres parasitosis, pero sí la hubo para varroosis, donde un porcentaje mayor de colonias con morfotipo europeo estuvieron parasitadas con *V. destructor* tanto en cría como en abejas adultas, en comparación con el porcentaje de colonias con morfotipo africano ($p < 0.05$).

Cuadro 9. Prevalencia de las cuatro parasitosis detectadas en colonias de abejas melíferas del estado de Jalisco, México, por mitotipo africano (% Mit A) o europeo (% Mit E) y por morfotipo africano (% Morf A) o europeo (% Morf E). En el cuadro se muestra el porcentaje de colonias parasitadas por *Varroa destructor* tanto en cría (V. Cría) como en abejas adultas (V. Adultos), así como por *Nosema ceranae* (*N. ceranae*) y por los virus de las alas deformes (VAD) y de las celdas reales negras (VCRN).

Parasitosis	N	% Mit A	% Mit E	p	% Morf A	% Morf E	p
V. Cría	334	76.7	84.2	0.09	75	88	0.003*
V. Adultos	334	93.8	97.5	0.11	93.9	98.4	0.048*
<i>N. ceranae</i>	55	13.6	18.4	0.29	16.5	15.8	0.88
VAD	76	30.5	45.0	0.24	32.6	48.2	0.22
VCRN	76	55.5	72.5	0.15	61.2	70.4	0.46

*Valores significativos basados en pruebas de comparación de proporciones mediante la corrección de probabilidad de Benjamini y Hochberg.

Respecto a la intensidad de las parasitosis en las colonias de abejas de acuerdo a su mitotipo y morfotipo, para varroosis, las colonias con mitotipo y morfotipo europeo tuvieron niveles de parasitosis significativamente más altos que los de las colonias con mitotipo y morfotipo africano tanto en la cría ($W= 9642$ y $W= 8588.5$, $p < 0.01$, para mitotipo y morfotipo, respectivamente; Figura 17) como en las abejas adultas ($W= 10458$, $W= 9328.5$, $p < 0.01$, para mitotipo y morfotipo, respectivamente; Figura 18).

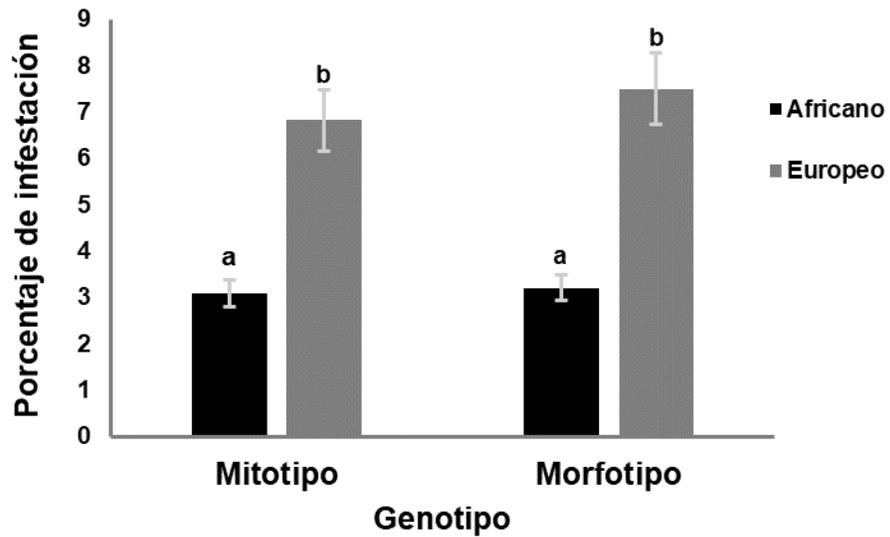


Figura 17. Porcentaje (\pm E. E.) de celdas de cría de abejas con mitotipo o morfotipo africano y europeo infestadas con *Varroa destructor* en 339 colonias del estado de Jalisco, México. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre medias, basadas en pruebas de Wilcoxon.

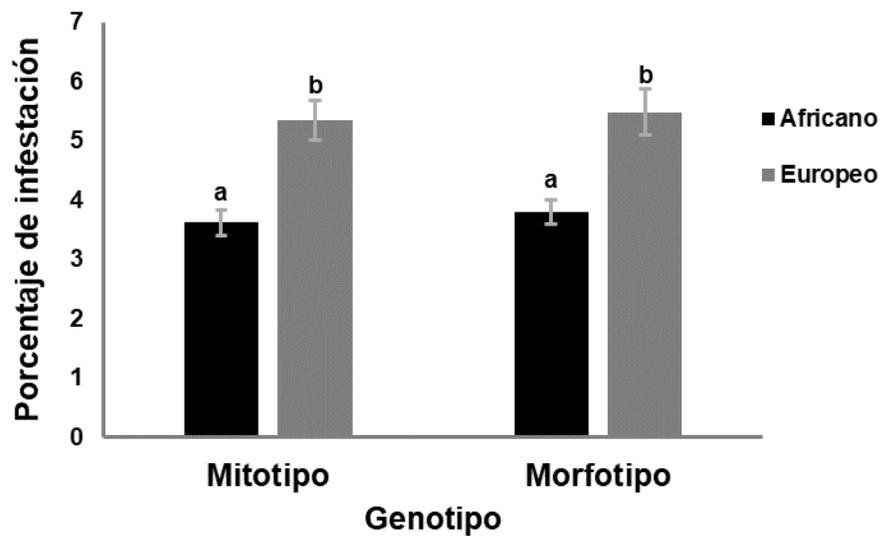


Figura 18. Porcentaje (\pm E. E.) de abejas obreras con mitotipo o morfotipo africano y europeo infestadas con *Varroa destructor* en 339 colonias del estado de Jalisco, México. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre medias, basadas en pruebas de Wilcoxon.

Para el caso de la nosemosis, no se detectaron diferencias significativas en cuanto a la intensidad de la infección por *N. ceranae* entre colonias de los dos mitotipos o entre colonias de los dos morfotipos ($W= 13240$ y $W= 13555$, $p> 0.05$, para mitotipo y morfotipo, respectivamente; Figura 19).

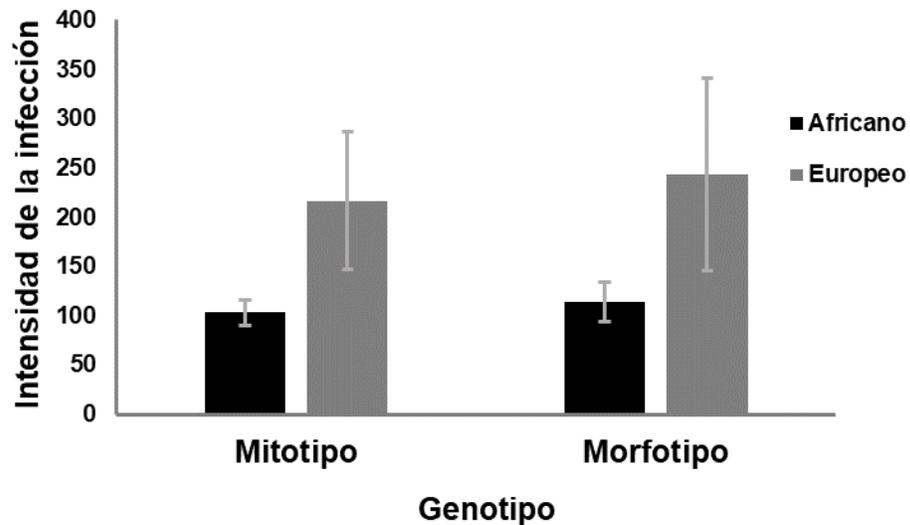


Figura 19. Intensidad media de infección en miles de esporas de *Nosema ceranae* por abeja (\pm E. E.) de obreras con mitotipo o morfotipo africano y europeo de colonias de abejas melíferas del estado de Jalisco, México (N = 55).

La intensidad de las infecciones causadas por el VAD fue significativamente más alta en colonias con mitotipo o morfotipo europeo que en colonias con mitotipo o morfotipo africano ($t= -4.20$, $gl= 74$ y $t= -6.43$, $gl= 67$, $p< 0.01$, para mitotipo y morfotipo, respectivamente; Figura 20). De manera similar, la intensidad de las infecciones causadas por el VCRN fue significativamente más alta en colonias con mitotipo o morfotipo europeo que en colonias con mitotipo o morfotipo africano ($t= -3.61$, $gl= 74$ y $t= -3.51$, $gl= 67$, $p< 0.01$, para mitotipo y morfotipo, respectivamente; Figura 21).

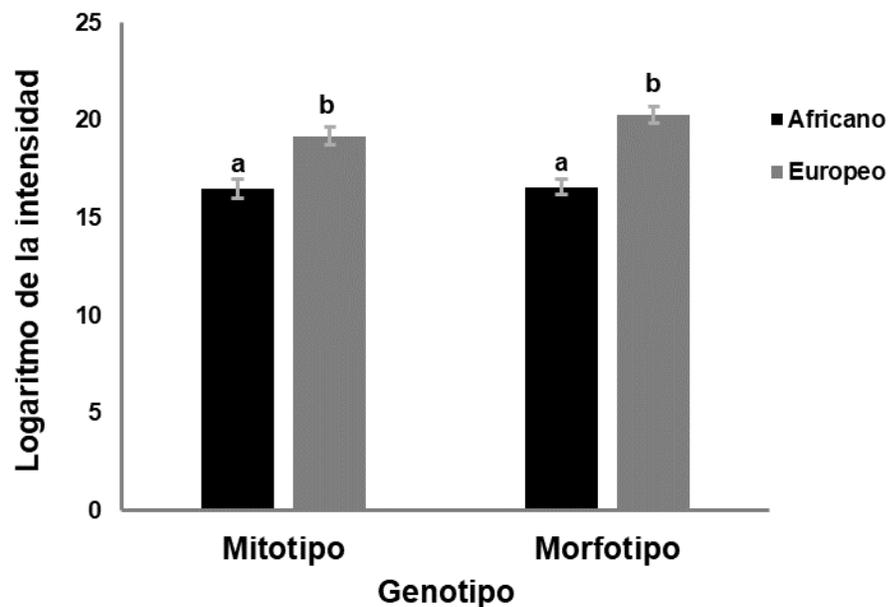


Figura 20. Intensidad media de infección para el número de copias del virus de las alas deformes (VAD) por μg de RNA $\times 10^6 \pm \text{E. E.}$, transformado a logaritmo natural, en obreras adultas con mitotipo o morfotipo africano y europeo de 76 colonias de abejas melíferas del estado de Jalisco, México. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre medias de mitotipo o morfotipo, basadas en pruebas de t de Student realizadas en datos transformados a logaritmo natural.

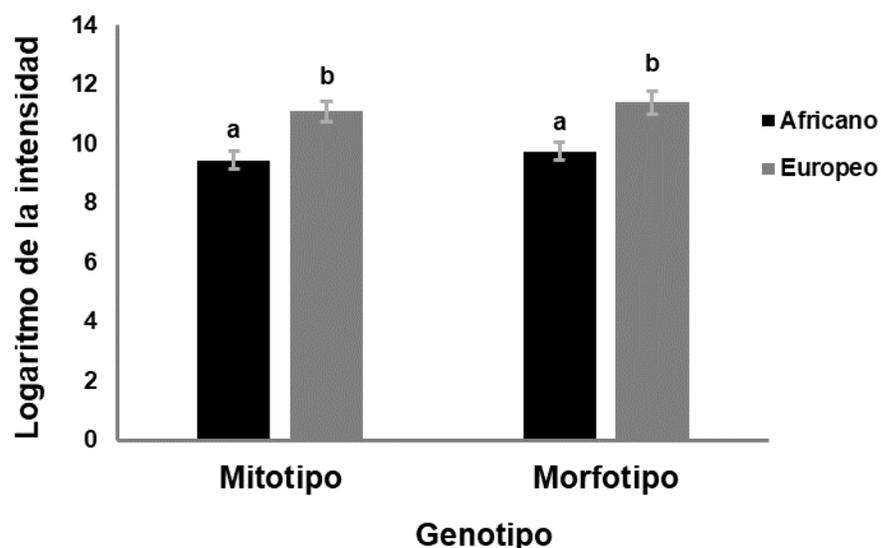


Figura 21. Intensidad media de infección para el número de copias del virus de las celdas reales negras (VCRN) por μg de RNA $\times 10^6 \pm \text{E. E.}$, transformado a logaritmo natural, en obreras adultas con mitotipo o morfotipo africano y europeo de 76 colonias de abejas melíferas del estado de Jalisco, México. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre medias de mitotipo o morfotipo, basadas en pruebas de t de Student realizadas en datos transformados a logaritmo natural.

La longitud del ala anterior de las abejas obreras estuvo positiva y significativamente correlacionada con la intensidad de parasitismo por *V. destructor* en cría y abejas adultas, así como con la del VAD, mientras que la asnm tuvo una correlación significativa y positiva con el nivel de parasitismo de *V. destructor* en la cría. Además, la intensidad de parasitismo por *V. destructor* en abejas adultas estuvo significativamente correlacionada con la intensidad de infecciones causadas por el VAD (Cuadro 10).

Cuadro 10. Correlaciones de la longitud del ala anterior de abejas obreras (L. A.) y de la altitud sobre el nivel del mar (asnm) con la intensidad de parasitismo por *Varroa destructor* (*V. d.*), virus de las alas deformes (VAD) y virus de las celdas reales negras (VCRN). Solo se muestran correlaciones significativas.

Variables correlacionadas	N	Correlación	P
L. A. – V. d. en cría	339	0.32	< 0.001
L. A. – V. d. en adultos	339	0.20	< 0.001
L. A. – VAD	76	0.39	< 0.01
asnm – V. d. en cría	339	0.14	< 0.01
V. d. en adultos – VAD	76	0.36	< 0.05

Vistos en conjunto, los resultados anteriores permiten afirmar que la hipótesis alternativa planteada en esta tesis es verdadera y por tanto se acepta. Es decir, se puede afirmar con > 0.95 de probabilidad que la africanización influye en la susceptibilidad y resistencia de las abejas melíferas al parasitismo por *V. destructor*, VAD y VCRN.

7. Discusión

Este estudio se llevó a cabo para determinar la prevalencia e intensidad de seis de las principales parasitosis de las abejas melíferas en el estado de Jalisco, México, así como el grado de africanización de las colonias de abejas y la relación entre africanización y frecuencia e intensidad de las parasitosis. La varroosis fue la parasitosis más frecuente y la nosemosis la menos frecuente, mientras que con excepción del VAD, la intensidad de las demás parasitosis fue relativamente baja. También se encontró que más del 50% de las colonias de abejas de Jalisco son africanizadas, y que su grado de africanización está relacionado con la altitud snm

e influye en la susceptibilidad y resistencia de las abejas melíferas al parasitismo por *V. destructor*, VAD y VCRN.

7.1 Detección, prevalencia e intensidad de *Varroa destructor*

La varroosis es la parasitosis más prevalente de las abejas melíferas en el estado de Jalisco, ya que se diagnosticó en el 90% de las colonias muestreadas, aunque la intensidad fue en promedio baja, con menos de 5% de parasitismo tanto en cría como en abejas adultas. Estos resultados concuerdan con los de Tapia-González et al. (2019a), quienes reportaron una prevalencia de 88% y una intensidad de parasitismo de 5% para varroosis en colonias de abejas ubicadas en regiones del Sur y Sureste del estado de Jalisco. Este estudio, sin embargo, fue más amplio, ya que se incluyeron regiones del Centro y Norte de Jalisco no estudiadas en el trabajo de Tapia-González et al. (2019a).

En otras regiones de México se han observado resultados similares a los reportados en este estudio. Por ejemplo, en el norte del país, en el estado de Zacatecas, Medina-Flores et al. (2014a) reportaron una prevalencia de varroosis del 88% y un nivel de infestación de 5.02% en otoño y de 3.51% en primavera. Aunque el nivel de infestación se reportó en diferentes temporadas, los resultados no están muy alejados de los reportados en este estudio. En la región del centro del país, en el Estado de México, Martínez-Cesáreo et al. (2016) reportaron 100% de prevalencia de varroosis en cinco municipios de la zona oriente, con el mayor grado de infestación de 7.9% y el menor de 3.5%. En la región Sureste de México, específicamente en el estado de Yucatán, Martínez-Puc et al. (2011) encontraron una prevalencia de varroosis de 62.9% en colonias de abejas que tenían un nivel de infestación de 1.7%. Ambos porcentajes son menores a lo que se ha reportado en otros estados del país y en este estudio, lo cual podría deberse a que los trabajos antes mencionados se realizaron en estados del centro y norte del país en donde el clima es templado a frío, a diferencia de Yucatán en donde predomina un clima

tropical y justamente el medio ambiente es uno de los factores que influyen en las infestaciones de *V. destructor* junto con el nivel de africanización de las colonias de abejas (Moretto et al., 1991). En Yucatán, el grado de africanización de las abejas es mayor que en otras regiones del país (Guzmán-Novoa et al., 2020). En general, las colonias de abejas ubicadas en climas templados suelen ser más susceptibles al ácaro debido a que también suelen tener abejas con ascendencia predominantemente europea, además del estrés que ejercen las condiciones climáticas de invierno que afectan la sobrevivencia de las colonias debido a que durante parte del invierno las abejas reinas dejan de poner huevos o reducen drásticamente su postura (Doeke et al., 2015). En contraposición, en regiones tropicales, las colonias de abejas se ven menos afectadas por las infestaciones del ácaro, en gran medida debido a que en estas regiones predomina la ascendencia africana que está fuertemente asociada a características que confieren a las abejas un mayor grado de resistencia al parásito en comparación con abejas predominantemente europeas (Guzmán-Novoa et al., 1999; Martin y Medina, 2004). Entre estas características destacan la mayor expresión del comportamiento higiénico y de acicalamiento, la menor tasa reproductiva de *V. destructor* en su cría y su alta tasa de enjambrazón, entre otras (De Jong et al., 1984; Guerra et al., 2000; Arechavaleta-Velasco y Guzmán-Novoa, 2001; Guzmán-Novoa et al., 2012, 2020; Medina-Flores et al., 2014b).

Aunque la prevalencia de la varroosis es alta en el estado de Jalisco y otras regiones del país, este es un resultado esperable porque el comportamiento de las abejas y su manejo actual favorecen la dispersión de *V. destructor* entre colonias. Las abejas frecuentemente se equivocan de colonia, entran a otras colonias y transportan ácaros consigo (Goodwin et al., 2006; Nolan y Delaplane, 2017). También el pillaje (robo) de miel entre colonias favorece la dispersión del ácaro (Rosenkranz et al., 2010; Seeley y Smith, 2015). Además, la corta distancia entre colmenas en los apiarios favorece la dispersión del ácaro (Dynes et al., 2019). Por eso la frecuencia

y niveles de varroosis suelen ser más altos en colonias manejadas que en colonias silvestres (Loftus et al., 2016; Seeley, 2017).

El nivel de parasitismo encontrado en este estudio fue en general bajo, menor al 5%, como lo recomienda la norma mexicana para el control de la varroosis (NOM-001-ZOO-1994, 1994). Sin embargo, en algunas regiones como la Sur y Altos, los niveles de parasitismo fueron superiores al 5%, mientras que en la región Norte fue menor al 4%. Esto en parte podría explicarse por la densidad de colmenas que hay en las diferentes regiones, ya que en la zona Sur se encuentra concentrado el mayor número de colmenas del estado en una extensión territorial relativamente pequeña si se compara con las demás regiones, mientras que en la zona Norte, hay una menor concentración de colmenas en una extensión territorial mayor (Arvizu-Padrón, 1996).

Las implicaciones de estos resultados incluyen que, en ciertas regiones como la Sur y Altos, el mayor parasitismo por *V. destructor* pudiera afectar el desarrollo de las colonias y la producción de miel como lo demostraron Medina-Flores et al. (2011) y Emsen et al. (2014), quienes encontraron que colonias con más de 5% de infestación por *V. destructor* producen significativamente menos miel que colonias con niveles menores de parasitismo. Arechavaleta-Velasco y Guzmán-Novoa (2000) también encontraron que colonias tratadas y con 2% de infestación de varroosis, produjeron 65% más miel que colonias no tratadas y con 7% de infestación por *V. destructor*. Por lo tanto, se recomienda que los apicultores de regiones donde se encontraron altos niveles de varroosis monitoreen y traten con mayor frecuencia sus colonias.

7.2 Detección, prevalencia e intensidad de *Nosema spp.*

La nosemosis fue la parasitosis de las abejas menos prevalente en el estado de Jalisco, ya que se diagnosticó en solamente el 15% de las colonias muestreadas, además de que en todas las muestras positivas solo se detectó *N. ceranae*, y en

ningún caso *N. apis*. Es posible que *N. ceranae* haya desplazado a *N. apis* como ha ocurrido en otros países (Emsen et al., 2016; Martín-Hernández et al., 2018), pero también es posible que *N. ceranae* haya sido históricamente la única especie de *Nosema* presente en Jalisco, lo cual es difícil de probar, ya que este es el primer estudio que determina la especie de *Nosema* que infecta a las abejas en Jalisco. En cuanto a la intensidad de infección por *N. ceranae*, esta fue relativamente baja, ya que todas las muestras positivas se clasificaron con niveles de infección muy ligeros (< 310,000 esporas por abeja) de acuerdo con Jaycox (1980).

En el presente trabajo no se encontraron diferencias significativas para la prevalencia de *N. ceranae* entre las regiones. Sin embargo, las regiones Sureste, Altos, Sierra Amula y Sur fueron las regiones con mayor prevalencia de la parasitosis. En cuanto a la intensidad de la infección, si hubo diferencias significativas entre regiones, las regiones del Sureste, Sur y de la Sierra Amula fueron las que presentaron niveles de infección más altos que el resto de las regiones. Estos resultados podrían explicarse, al menos parcialmente, por el tipo de clima que predomina en estas regiones, ya que es en donde se encuentran zonas con mayor humedad, la cual favorece la presencia y desarrollo del microsporidio (Fries, 2010).

La prevalencia e intensidad de las infecciones de nosemosis observadas en el presente estudio fueron menores a las detectadas en Yucatán por Martínez-Puc et al. (2011), quienes reportaron una frecuencia de nosemosis de 74%, con un nivel de infección de 1,480,000 esporas/abeja. En Nayarit, Loeza-Concha et al. (2020) también encontraron una prevalencia de nosemosis mayor que la de este estudio (55.4% en invierno y 33% en verano), pero la intensidad de la infección fue ligeramente menor, con un promedio de 145,000 esporas/abeja en invierno y de 47,000 esporas/abeja en verano. Ambos estudios se realizaron en estados en donde predominan los climas cálidos subhúmedos. Sin embargo, la baja prevalencia de nosemosis encontrada en este estudio coincide con la del trabajo de Medina-Flores et al. (2014a), realizado en Zacatecas, ya que la presencia de

Nosema spp. se detectó en solo el 4.7% de las colonias muestreadas, y debido a la baja presencia del microsporidio, el nivel de infección no fue determinado. Esto podría deberse a que el clima de las zonas de Zacatecas donde se realizaron los muestreos es similar al del altiplano del estado de Jalisco, en donde se colectaron la mayoría de las muestras.

En contraposición a los resultados de este estudio, Tapia-González et al. (2017) muestrearon las regiones Sur y Sureste del estado de Jalisco y se reportó una prevalencia de nosemosis en el 100% de las colonias muestreadas, la mayoría de las cuales (83.7%) tenían niveles de infección ligera de acuerdo con la clasificación de Jaycox (1980). Los muestreos del presente estudio y los de Tapia-González et al. (2017) se realizaron durante la primavera, pero en diferentes años. Se ha reportado que la prevalencia de la nosemosis puede variar de un año a otro, aunque no con una diferencia tan marcada como la encontrada entre ambos estudios. Gisder et al. (2017) reportaron la prevalencia de infecciones causadas por *N. apis* y *N. ceranae* en Alemania durante dos temporadas (primavera y otoño) por un periodo de 12 años. Se encontraron prevalencias de los parásitos más altas en primavera que en otoño y se observó que cada año la prevalencia de *N. ceranae* varió significativamente entre los diferentes años ($\pm 12\%$). En otro estudio realizado por Özkirim et al. (2019) en Turquía, se encontró que a lo largo de ocho años, la prevalencia de la nosemosis varió hasta en 10%. Por lo anterior, es poco probable que las grandes diferencias en las prevalencias de nosemosis encontradas en este estudio y las reportadas por Tapia-González et al. (2017) se deban en gran medida al año en el que se realizaron ambos muestreos. Estas diferencias en prevalencia de la nosemosis entre ambos estudios pudo haberse debido a las diferentes prácticas de manejo que realizan los apicultores involucrados en los muestreos. Pudiera ser que los apicultores visitados para este estudio si lleven a cabo medidas recomendadas para evitar la presencia de nosemosis en sus abejas. Además, no deben descartarse posibles errores metodológicos tanto en el muestreo como en el diagnóstico que pudieron haber afectado los resultados.

Con respecto a la intensidad de infección de la nosemosis, los niveles de infección del estudio de Tapia-González et al. (2017) fueron ligeros o inferiores a ligeros (Jaycox, 1980), similar a los resultados aquí presentados, ya que todas las muestras positivas se clasificaron en infecciones muy ligeras. Estos resultados coincidentes de ambos estudios realizados en Jalisco se podrían deber a que no existen en el estado condiciones ambientales que favorezcan la multiplicación del agente etiológico de la enfermedad, o a que los apicultores han llevado a cabo buenas prácticas en el manejo de las colonias que limitan el desarrollo de la enfermedad, como la alimentación artificial en épocas de escasez, el cambio de reina anual, el cambio de panales viejos por bastidores con cera estampada, el ubicar los apiarios en terrenos no inundables, evitar sitios con mucha sombra y otras prácticas de buen manejo (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2015).

La prevalencia e intensidad de infección de la nosemosis de las abejas suele ser estacional. En los países de climas templados y fríos y en latitudes mayores a los 30°, la intensidad de las infecciones de *N. apis* o *N. ceranae* tienen un pico elevado en primavera y principios del verano, pero disminuyen en otras estaciones, a veces se tiene un repunte menor en el otoño (Goblirsch, 2018; Emsen et al., 2020). A diferencia de lo anterior, en el altiplano mexicano, las infecciones por *N. ceranae* son más intensas en verano y otoño y menos intensas en invierno y primavera (Guerrero-Molina et al., 2016). También se sabe que las infecciones de nosemosis suelen elevarse en condiciones climáticas húmedas y frías (Fries, 2010). Para el caso de *N. ceranae* no se ha podido determinar un patrón similar para diferentes países, ya que su temporalidad varía según el clima de la región en la que se presente. Hay quienes plantean que a diferencia de *N. apis*, *N. ceranae* puede multiplicarse a temperaturas más altas y el frío tiene un efecto negativo en sus esporas, ya que son sensibles a las bajas temperaturas y la congelación (Özgör et al., 2015; Martín-Hernández et al., 2018). Por el contrario, Emsen et al. (2016) reportaron que en climas fríos como los de Canadá, *N. ceranae* fue la especie más prevalente y con niveles de infección tres veces más altos que los de *N. apis*, por lo

que aún hay discrepancia en diferentes estudios sobre la estacionalidad y habilidad de *N. ceranae* para causar infección en diferentes climas.

A pesar de que hay diferencias regionales y temporales en la prevalencia e intensidad de la nosemosis de las abejas, es claro que variables ambientales influyen en el patrón de las infecciones causadas por *Nosema spp.* en las abejas melíferas. Puede ser esta una de las razones por la cual la prevalencia e intensidad de nosemosis encontrada en este trabajo difiere de las reportadas en estudios realizados en otras entidades y países con condiciones climáticas diferentes a las de Jalisco. Otra posible explicación de las diferencias es la temporada en la que se realizó el muestreo. Por ejemplo, en la misma zona del altiplano, pero en el Estado de México, la intensidad de la infección de nosemosis fue más alta durante el verano y el otoño en muestras de abejas recolectadas mensualmente durante un año (Guerrero-Molina et al., 2016). Sin embargo, pocos son los trabajos en México que han comparado la prevalencia o niveles de infección de *Nosema spp.* por largos periodos de tiempo, por lo que no hay más evidencia que apoye este planteamiento.

Aunque los resultados de este estudio reflejan que la nosemosis no parece ser un problema de prioridad para la apicultura en Jalisco, se debe vigilar el comportamiento de *N. ceranae* en el estado, por lo que se sugiere realizar muestreos y diagnósticos frecuentes en diferentes regiones y estaciones del año y por varios años, para aportar información sobre la epidemiología del microsporidio en esta entidad de México y determinar si se comporta con cierta estacionalidad. Estos estudios permitirían confirmar si la nosemosis es un problema grave o no para la apicultura del estado y de serlo, en que épocas del año lo es.

7.3 Detección, prevalencia e intensidad de virosis

En este estudio se detectaron dos virosis en colonias de abejas del estado de Jalisco, las causadas por el VAD y por el VCRN. La virosis más prevalente fue la causada por el VCRN, que se diagnosticó en el 66% de las colonias muestreadas,

mientras que la infección del VAD se diagnosticó en el 38% de las colonias muestreadas. En México existe poca información sobre la presencia de enfermedades virales de abejas melíferas, ya que hace menos de una década se reportó por primera vez la detección molecular del VCE, VAD, VPA, VPAI (Guzmán-Novoa et al. 2012) y VCRN (Guzmán-Novoa et al. 2013) en el altiplano mexicano, pero nada se sabe sobre la prevalencia o intensidad de la infección de estas enfermedades en casi todos los estados del país. En la región norte, en el estado de Chihuahua, se reportó la presencia del VAD, VCRN, VCE, Virus de Kachemira (VK), VPAI y VF de las abejas en colonias del estado, pero no se determinó su prevalencia e intensidad (García-Anaya et al., 2016, 2018). Por lo anterior, los resultados de este estudio son un punto de referencia para futuras investigaciones en las diferentes regiones de importancia apícola en el país.

En otros países del continente americano se han reportado varios virus con prevalencias variables. Sin embargo, la mayoría tienen en común al VAD y al VCRN como los virus más prevalentes. Por ejemplo, en Uruguay, el 100% de las colonias analizadas presentaron VAD y VCRN (Antúnez et al., 2006; Mendoza et al., 2014). En Argentina se detectó al VAD, VPA, VCRN, VPCA y VCE, aunque el más prevalente fue el VAD con 35%, seguido del VPA con 21.5% y el VCRN con 8% de prevalencia (Molineri et al., 2017). En Chile, el VAD fue más prevalente durante la temporada otoño-invierno con 37% y el VCRN durante la temporada de primavera-verano con 96% de prevalencia (Vargas et al., 2017). En Cuba, el VAD fue el virus más prevalente, detectado en el 91% de las colonias analizadas, también detectándose la presencia del VPA y VCE, pero no se detectó el VCRN (Rodríguez et al., 2020). En Colombia se detectó el VCE con una prevalencia de 23.4%, seguido del VAD con 19.88%, VCRN con 17.39% y VPA con 10.56% (Tibatá et al., 2021). En cuanto a Norteamérica, en Canadá el VAD fue el virus más prevalente, detectado en 90-100% de las colonias, mientras que el VCRN tuvo una prevalencia de 70-100% (Desai et al., 2016). En los Estados Unidos de América, se comparó la prevalencia de ocho virus durante seis años, y en todos los años el VAD se mantuvo

como el virus más prevalente dentro de un rango del 65 al 92%, seguido del VCRN con un rango del 60 al 92% (Traynor et al., 2016). A excepción de algunos trabajos realizados en Estados Unidos y Canadá, ninguno de estos estudios realizados en otros países de Centroamérica o el caribe, han reportado niveles de infección virales en las abejas, a diferencia de este estudio, que hasta donde se sabe, es el primero en reportar intensidades de infecciones causadas por virus a las abejas melíferas a nivel nacional. En Sudamérica, solo un estudio recientemente llevado a cabo ha cuantificado cargas virales en las abejas melíferas (Mendoza et al., 2020).

Los niveles de infección encontrados en este estudio fueron altos para el VAD, con 4083.4×10^6 copias virales por microgramo de ARN, y relativamente bajos para el VCRN con 0.49×10^6 copias virales por microgramo de ARN. Es decir, la intensidad de las infecciones del VAD fue aproximadamente 8,000 veces más alta que la intensidad de las infecciones del VCRN. Recientemente Morfin et al. (2020a) reportaron la presencia del VAD y VCRN en *Melipona colimana*, abejas sin aguijón endémicas de Jalisco, y compararon los niveles de infección con los de *Apis mellifera*. *A. mellifera* tuvo niveles de infección más altos del VAD que *M. colimana* con 4.24 y 2.09 log₁₀ copias virales por microgramo de ARN, respectivamente, al igual que para el VCRN, con niveles de 5.17 y 2.53 log₁₀ copias virales por microgramo de ARN, respectivamente. Sin embargo, estos niveles de carga viral no son del todo comparables con los de este estudio, ya que el tamaño de muestra utilizado en dicho trabajo fue de sólo nueve abejas obtenidas de una sola región del estado (Altos), por lo que los resultados de Morfin et al. (2020a) no son representativos de la región, ni de Jalisco.

Entre las regiones hubo diferencias significativas en las prevalencias de las infecciones virales de colonias de abejas. El VAD no fue detectado en colonias de la región Sureste, mientras que en la región Norte se encontró a una prevalencia significativamente baja de 8%. En contraposición a esta nula o baja prevalencia, en las regiones del Sur, de la Sierra de Amula y Centro, la prevalencia del VAD fue

mayor al 50%. En cuanto a la intensidad de la infección causada por el VAD, no hubo diferencias significativas entre las regiones.

Para la virosis causada por el VCRN no se encontraron diferencias significativas en prevalencia entre regiones. Sin embargo, para la intensidad de la infección si hubo diferencias significativas, con las colonias de la región Sur, ya que presentan niveles de infección más altos de la virosis que las colonias de las demás regiones, excepto la región Centro, mientras que la región Sureste fue la que mostró los niveles más bajos para este virus en sus colonias.

Algunos de los factores que pudieron haber influido en las diferencias en prevalencia e intensidad viral de las colonias de abejas melíferas entre regiones de Jalisco, incluyen efectos medio ambientales, coinfecciones con otros patógenos que afectan a las abejas, el genotipo de las abejas y posiblemente cepas diferentes de los virus. En cuanto a efectos climáticos entre regiones, en México, Anguiano et al. (2016) encontraron que el VAD presentó mayor prevalencia y cargas virales en colonias ubicadas en zonas de clima templado que en colonias establecidas en clima tropical. Los autores plantearon que esto ocurre debido a que los climas más fríos favorecen la transmisión y replicación del VAD y pudieran reducir la respuesta inmune de las abejas, lo que las hace más susceptibles a la infección por el VAD. Los autores también plantearon el efecto de la interacción entre el clima y el parasitismo por *V. destructor*, ácaro que está fuertemente relacionado con la prevalencia e intensidad del VAD, ya que el parásito no solo sirve de vector del virus, sino que el virus se multiplica en sus tejidos (Gisder et al., 2009; Sabahi et al., 2020; Gisder y Genersch, 2021). Por ello, colonias con mayor parasitismo de *V. destructor* suelen tener prevalencias e intensidades de infección del VAD más altas que colonias con bajo parasitismo por el ácaro (Emsen et al., 2015). En el caso de este estudio, las regiones de Jalisco con mayor prevalencia del VAD fueron la Centro, Sierra Amula y Sur, mientras que las regiones con los niveles más altos de parasitismo por *V. destructor* fueron la de los Altos, Centro y Sur. Claramente, ambas variables coinciden en las regiones Centro y Sur. En cuanto al clima, las regiones con

temperatura media más baja del estado son la región Norte, Sierra Amula y Centro, que también coinciden con la alta prevalencia del VAD, excepto por la región Norte, en cuyo caso, la baja prevalencia de la virosis puede deberse a que los niveles de infestación por *V. destructor* fueron bajos.

El genotipo de las abejas puede variar con su grado de africanización, lo cual fue determinado en este trabajo. De manera general, los resultados indican que la intensidad de infección causada por el VAD y por el VCRN fue más alta en colonias con mitotipo o morfotipo europeo. Este planteamiento al igual que las posibles coinfecciones se discutirán más adelante. Sobre las variantes de los virus, no fueron determinadas en este trabajo, por lo que se considera un tema de investigación al que se le podría dar seguimiento.

Los elevados niveles de infección del VAD son preocupantes, ya que si los apicultores descuidan sus medidas de control del ácaro *V. destructor*, la prevalencia del VAD podría aumentar, al igual que los niveles de infección viral, que en conjunto con el parasitismo de *Varroa* pueden debilitar las colonias hasta ocasionar su colapso. Por eso es fundamental hacer hincapié en la importancia de implementar una adecuada estrategia de control de infestaciones de *V. destructor*, para mantener las infecciones del VAD lo más bajas posible en las colonias de abejas de Jalisco. En cuanto al VCRN, aunque tuvo una alta prevalencia, sus niveles de infección fueron bajos. Sin embargo, este estudio fue estacional y habría que llevar a cabo estudios a lo largo de todo un año y por varios años para confirmar o no si es un virus que pudiera representar daños potenciales a la apicultura del estado de Jalisco.

7.4 Africanización de las abejas melíferas en el estado de Jalisco

Los resultados muestran que más del 50% de las colonias de abejas en el estado de Jalisco son africanizadas. No hubo diferencias significativas en la frecuencia de colonias con abejas de mitotipos europeo y africano, pero la frecuencia de colonias

con abejas de morfotipo africano (62.5%) fue significativamente mayor a la de colonias con abejas de morfotipo europeo (37.5%). Estos resultados coinciden con los reportados para Sonora y Baja California Norte, con 48% y 50% de mitotipos africanos, respectivamente, pero son mayores a los de Baja California Sur donde se reportó solo el 21% (Zamora et al., 2008). En el estado de Zacatecas, las frecuencias del mitotipo y del morfotipo africano en colonias de abejas fueron del 22.5% y 42.4%, respectivamente (Medina-Flores et al., 2015), ambos parámetros menores a los encontrados en Jalisco, esto indica un menor grado de africanización en colonias de abejas de Zacatecas en relación con Jalisco. Domínguez-Ayala et al. (2016) reportaron la diversidad de mitotipos y morfotipos en colonias de abejas de las cinco regiones apícolas de la república Mexicana. Sus resultados para el estado de Jalisco coinciden con los obtenidos en este estudio con 65% de prevalencia de morfotipo africano, pero la prevalencia del mitotipo africano fue inferior al encontrado en este estudio con solo 17%. Puede que esta diferencia se deba a que Domínguez-Ayala et al. (2016) al realizar un estudio a nivel nacional utilizaron un número reducido de muestras para cada estado. En el estado de Jalisco se muestrearon solo 40 colonias de 8 apiarios a diferencia del presente trabajo en el que se muestrearon 365 colonias distribuidas por todo el estado de Jalisco. Por lo tanto, los resultados de este estudio son más confiables y representativos del estado y cada una de sus regiones. Otro lugar en el que se obtuvieron resultados similares a los de este estudio fue en el condado de San Diego, California (EUA), donde el 65% de las colonias de abejas tuvieron un mitotipo africano y el 61% de ellas, un morfotipo africano (Kono y Kohn, 2015).

Se encontró que las colonias de abejas con genotipo africano se ubicaban en promedio a altitudes más bajas que las de genotipo europeo, ya que la frecuencia de colonias con mitotipo y morfotipo africano fue significativamente mayor en localidades ubicadas a menos de 1,500 msnm que en sitios a más de 1,500 msnm. Además, las abejas de colonias ubicadas en localidades bajas tuvieron alas significativamente más cortas que las de colonias de localidades altas. También se

encontró una correlación positiva y significativa entre la longitud del ala anterior de las abejas y la altitud a la que se encontraban las colonias. Es decir, a mayor altitud, hubo un menor grado de africanización de las abejas y viceversa.

La altura sobre el nivel del mar es uno de los factores que influyen en el tipo de clima y vegetación de un territorio determinado. A menor altitud predominan climas más cálidos y húmedos (tropicales y subtropicales) que favorecen la reproducción y diseminación de colonias de abejas africanizadas (Medina-Flores et al., 2015; Domínguez-Ayala et al., 2016). Por lo anterior, se explica que exista una correlación negativa entre altitud y grado de africanización en las colonias de abejas. Esto se debe a que las abejas africanizadas están mejor adaptadas a climas tropicales, que predominan en zonas bajas, en comparación con climas templados, que predominan en zonas altas. Por ello, las condiciones ambientales de zonas elevadas pueden limitar la introgresión de genes africanos a las poblaciones de abejas con colonias ubicadas en zonas templadas (Domínguez-Ayala et al., 2016). Además, el tipo de vegetación en estas regiones proporciona menos recursos florales y sitios de anidación para las abejas, lo que evita que las colonias de abejas africanizadas puedan desarrollar con rapidez su población, enjambrar con mayor frecuencia y establecer poblaciones silvestres, a diferencia de como ocurre con colonias africanizadas en climas cálidos, donde los recursos florales son abundantes y las abejas tienen más opciones para reproducirse, enjambrar y anidar (Schneider et al., 2004; Medina-Flores et al., 2015). Por ello en sitios bajos se logran establecer más colonias que producen más zánganos que las colonias de abejas europeas y así se saturan de machos africanizados las zonas de congregación donde ocurren los apareamientos. Esto lleva a un flujo desequilibrado y diferencial de genes, con una mayor introgresión de genes africanos en poblaciones de abejas europeas en comparación con el flujo de genes europeos hacia poblaciones de abejas africanizadas (Schneider et al., 2004), contrariamente a lo que ocurre en zonas altas (Guzmán-Novoa et al., 2020).

Durante el año previo y primeros años posteriores a la llegada, dispersión y establecimiento de enjambres de abejas africanizadas al estado de Jalisco (1989 a 1997), Becerra (2000) colectó muestras de abejas de colonias manejadas y silvestres para analizarlas. Los resultados morfométricos mostraron que durante tres años iniciales la proporción de colonias de abejas africanizadas se mantuvo por debajo del 30%, durante el cuarto año se elevó al 61% y durante los siguientes años continuó elevándose hasta el 82%, lo cual coincide con tres etapas del proceso de africanización: arribo, reproducción y saturación. El grado de africanización de los resultados morfométricos del cuarto año del estudio de Becerra (2000) coincide con los de este estudio, pero Becerra (2000) no estudió el mitotipo de las abejas, por lo que este estudio es el primero en usar este parámetro para determinar africanización en abejas en el estado de Jalisco. Basados en las frecuencias de los mitotipos y morfotipos de colonias de abejas del estado, puede decirse que, en promedio, los genes de origen europeo y africano parecen encontrarse en proporciones similares en colonias de abejas melíferas manejadas en Jalisco, con mayor grado de africanización en las zonas bajas y menor grado de africanización en las altas.

Las predicciones iniciales de los efectos de la africanización a la apicultura mexicana eran pesimistas, en gran parte debido a que las colonias de abejas africanizadas producen menos miel que las colonias de abejas europeas (Uribe-Rubio et al., 2003). Estas diferencias están ligadas al comportamiento de cada ecotipo de abeja, ya que las abejas africanizadas tienden a recolectar más polen y a almacenar menos miel en sus panales que las abejas europeas (Schneider et al., 2004). La mayor proporción de abejas pecoreadoras africanizadas que colectan polen en comparación con abejas europeas, está relacionada con la alta tasa de crecimiento poblacional de las colonias africanizadas. Esto resulta en una mayor producción de enjambres y en el debilitamiento de las colonias originales. Por ello las colonias de abejas africanizadas tienden a producir menos miel en promedio que las de europeas. Las abejas pecoreadoras europeas se dedican a recolectar en

mayor proporción néctar y almacenan más miel para tener reservas de alimento durante los meses en los que las condiciones climáticas no son ideales para el pecoreo (Guzmán-Novoa et al., 2020). Además de la baja producción de miel también eran motivo de preocupación el aumento en los costos de alimentación y manejo de las colonias (Guzmán-Novoa et al., 2011), lo que podía implicar que la apicultura dejara de ser rentable para los apicultores. Sin embargo, aunque la producción de miel en México disminuyó durante el proceso de africanización, la disminución no fue tan severa como en otros países de Centroamérica. Además, posterior a esta disminución siguió un ligero aumento en la producción de miel, aunque aún no se ha recuperado el volumen de producción previo a la africanización de las colonias de abejas (Guzmán-Novoa et al., 2020). Por ello, aunque ha habido pérdidas, estas han sido menores a las que inicialmente se predecían.

En el caso particular del estado de Jalisco, la producción de miel no se vio muy afectada, ya que en 1995 y 1996 ocurrió una ligera disminución que coincidió con la colonización de las abejas africanizadas, pero también con la falta de lluvias, por lo que no se puede afirmar que la principal causa fue la africanización. En los años siguientes, la producción se recuperó y pasó de 5 mil toneladas a 6 mil en 1998 (Becerra, 2000). Esa producción se ha mantenido al mismo nivel en años recientes, ya que la producción de miel del estado ha oscilado entre 5,667 y 6,059 toneladas anualmente entre 2018 y 2020 (SIAP, 2021). La africanización de las abejas en el estado de Jalisco y en México parece haber alcanzado un equilibrio, incluso disminuyeron las muertes de personas por picadura de abejas en México. Esto puede deberse en parte a los cambios que se tuvieron que implementar para el manejo de las colonias tales como la reubicación de apiarios, la reducción del número de colmenas por apiario, el uso de mejor equipo de protección y manejo, el cambio anual de abejas reinas y la alimentación artificial durante la temporada de escasez (Guzmán-Novoa et al., 2011).

En resumen, aunque el proceso de africanización parece no haber ocasionado las pérdidas en la producción de miel que se esperaban, si hubo pérdidas y por ello, los

apicultores que practiquen la actividad con el fin principal de producir miel deben considerar reducir el grado de africanización de las colonias de abejas que manejan, para que su producción no se vea afectada. Hacer el cambio anual de reinas con reinas provenientes de criadores certificados y que implementen programas de mejoramiento genético es la mejor opción para mitigar la africanización de colonias de abejas melíferas.

7.5 Efecto de la africanización sobre parasitosis de abejas melíferas en el estado de Jalisco

La africanización de las colonias de abejas no mostro ningún efecto o relación con la prevalencia e intensidad de infecciones de nosemosis detectadas en apiarios del estado de Jalisco, ya que no se encontraron diferencias significativas entre los dos mitotipos y entre los dos morfotipos de abejas.

En el caso de la varroosis, la africanización de las abejas si influyó en la prevalencia e intensidad de la infestación de esta parasitosis. Un porcentaje significativamente mayor de colonias con abejas de morfotipo europeo estaban parasitadas con *V. destructor* tanto en cría como en abejas adultas (88% y 98.4%, respectivamente), en comparación con colonias con abejas de morfotipo africano (75% y 93.9%, respectivamente). Estos resultados concuerdan en parte, con lo observado en el estado vecino de Zacatecas por Medina-Flores et al. (2014b), en donde también se observó que *V. destructor* fue más prevalente en colonias de abejas de morfotipo europeo que en aquellas de morfotipo africano.

La africanización de las abejas también tuvo relación con la intensidad de la infestación por *V. destructor*. Las colonias con mitotipo y morfotipo europeo tuvieron niveles de parasitosis significativamente más altos que los de las colonias con mitotipo y morfotipo africano, tanto en cría, como en abejas adultas. Además, la longitud del ala anterior de las abejas obreras se correlacionó positiva y significativamente con la intensidad de parasitismo por *V. destructor* en cría y abejas

adultas, lo que permite inferir que, a menor grado de africanización las abejas de las colonias muestreadas estaban más infestadas con el ácaro, que las abejas de colonias con mayor grado de africanización. Lo mismo se reportó por Medina-Flores et al. (2014b) en el estado de Zacatecas, en dónde los autores encontraron que colonias con genotipo africano tenían una menor tasa de infestación por *V. destructor* en comparación con colonias de genotipo europeo. En Colombia, en donde se encontró un alto porcentaje de colonias de abejas con mitotipo africano (98.3%), Tibatá et al. (2021) reportaron bajos niveles de infestación de *Varroa* (4.5%), lo que sugiere una relación negativa entre africanización y niveles de infestación del ácaro.

La resistencia relativa de las abejas africanizadas a enfermedades, principalmente al parasitismo de *Varroa*, ha sido evidenciada en varios estudios (De Jong et al., 1984; Moretto et al., 1991; Rosenkranz, 1999; Martin y Medina, 2004; Guzmán-Novoa et al., 1996, 1999; Mondragón et al., 2005). Se cree que esta resistencia se debe en parte a una menor susceptibilidad de las abejas africanizadas a ser parasitadas, a menores tasas de reproducción del ácaro en cría de abejas africanizadas (Ritter y De Jong 1984; Guzmán-Novoa et al., 1996; Medina y Martin, 1999; Mondragón et al., 2006), o bien, a que las abejas africanizadas manifiestan una mayor expresión del comportamiento higiénico y de acicalamiento en comparación con abejas de origen europeo (Moretto et al., 1993; Guerra et al., 2000; Arechavaleta-Velasco y Guzmán-Novoa, 2001; Vandame et al., 2002; Guzmán-Novoa et al., 2012; Invernizzi et al., 2015). Ambos comportamientos forman parte de la inmunidad social de la colonia, lo que permite a las abejas africanizadas reducir el grado de infestación por *Varroa* y restringir el crecimiento poblacional del ácaro en las colonias de abejas.

El presente trabajo es el primero en México en estudiar la prevalencia e intensidad de virosis de las abejas en relación con su grado de africanización. En cuanto a la prevalencia de las dos virosis detectadas en el estado de Jalisco, no se encontró relación con el grado de africanización de las colonias muestreadas, ya que no hubo

diferencias significativas entre los dos mitotipos y los dos morfotipos de abejas para prevalencias virales. En Uruguay, Mendoza et al. (2014) compararon la prevalencia de enfermedades virales en relación con el genotipo de las abejas y encontraron que el 100% de las muestras de colonias de abejas europeas y africanizadas estaban infectadas con el VCRN, mientras que el 54% de las colonias africanizadas y el 67% de las europeas, se diagnosticaron con VCE, lo cual tampoco muestra grandes diferencias entre genotipos de abejas africanizadas y europeas para prevalencia de estos virus. Mendoza et al. (2014) no detectaron el VAD en su estudio.

En Colombia, Tibatá et al. (2021) detectaron la presencia de cuatro virus con bajas prevalencias (VAD 19.88%, VCRN 17.39%, VCE 23.4% y VPA 10.56%) en comparación con lo que se encontró en Jalisco (VAD: 38% y VCRN: 66%) y reportaron una correlación positiva y significativa entre la altitud y la prevalencia del VAD, VCRN y VCE. Si se toman en cuenta los hallazgos del presente trabajo en donde se encontró que a mayor altitud hubo un menor grado de africanización, se podría suponer que al igual que en Jalisco, en Colombia las colonias de abejas que se ubican a mayor altitud tienden a ser menos africanizadas y posiblemente más susceptibles a infecciones virales. Además, Tibatá et al. (2021) no encontraron una correlación positiva entre niveles de infestación por *Varroa* y la prevalencia del VAD y VCRN. Similarmente en este estudio, aunque las regiones que presentaron niveles de infestación de *Varroa* más altos (Altos, Centro y Sur) coinciden con dos de las regiones con mayor prevalencia del VAD (Centro y Sur), las variables no se correlacionaron significativamente. Los autores explican que sus resultados pueden haberse debido al muy bajo nivel de infestación de *Varroa* que detectaron en las colonias estudiadas (<4.5%), el cual es muy parecido al nivel de infestación encontrado en las colonias de Jalisco (4.15%), por lo que también puede ser uno de los motivos por los que no hubo una correlación.

En cambio, la intensidad de las infecciones virales si se relacionó con la africanización de las abejas estudiadas en Jalisco. Los niveles de infección del VAD

y del VCRN fueron significativamente más altos en abejas de colonias con mitotipo y morfotipo europeo que en abejas de colonias con mitotipo y morfotipo africano. Mendoza et al. (2014) analizaron cargas virales y encontraron niveles de infección del VCRN significativamente más bajos en colonias de abejas africanizadas que en las de europeas, pero no analizaron los niveles de infección para el VAD como se hizo en este trabajo. Recientemente también en Uruguay, se encontró que colonias con bajo grado de africanización mostraron niveles más altos de infección del VAD en comparación con colonias con alto grado de africanización (Mendoza et al., 2020), lo que coincide con los resultados de las colonias de Jalisco, México. Resultados de este estudio también mostraron que la intensidad de las infecciones causadas por el VAD se correlacionó positiva y significativamente con la longitud del ala anterior de las abejas obreras, lo que sugiere que abejas de genotipo europeo son más susceptibles a las infecciones del VAD que abejas de genotipo africano.

Los resultados de correlación positiva y significativa entre intensidad de parasitismo por *V. destructor* y niveles de infección del VAD encontrados en este estudio indican que el ácaro juega un papel importante como vector y transmisor del VAD. Otros autores han apoyado esta conclusión. Por ejemplo, Anguiano-Báez et al. (2016) en México, encontraron que, a mayor grado de infestación de *V. destructor* en las colonias estudiadas, más frecuentemente se encontraron abejas con alas deformes. Asimismo, Hamiduzzaman et al. (2015) concluyeron que el VAD suele ser un virus poco patogénico en ausencia de *V. destructor*, pero que produce signos de la enfermedad cuando el ácaro parasita a las abejas. Estos autores también encontraron que las abejas africanizadas pudieran ser más resistentes al VAD, ya que los resultados de su trabajo, en el que compararon niveles de infección del virus a diferentes tiempos post-inoculación (al parasitar artificialmente abejas con varroas adultas o inyectar un homogenizado de ácaros macerados a las abejas), encontraron que el VAD se multiplicó más lentamente en abejas africanizadas que en abejas europeas. Similares resultados fueron obtenidos para el VCRN. Lo

anterior sugiere las abejas africanizadas son menos susceptibles que las europeas a la replicación de ambos virus. Sin embargo, en las muestras de Jalisco de este estudio, no hubo una correlación entre niveles de infestación de *Varroa* y niveles de infección de VCRN, pero si coincide en que las abejas de genotipo europeo tuvieron niveles más altos de infección que las abejas de genotipo africano. En Uruguay, Mendoza et al. (2020) encontraron que las poblaciones de abejas melíferas que presentan resistencia relativa a *V. destructor* también mostraban un mayor grado de africanización y un nivel de infección menor del VAD en comparación con poblaciones de abejas con menor resistencia al ácaro y de genotipo más europeo, lo cual coincide con los resultados del presente trabajo, ya que las colonias más africanizadas tuvieron niveles de infestación de *V. destructor* y de infección del VAD más bajos en comparación con colonias menos africanizadas.

Aunque existe suficiente evidencia de una mayor resistencia relativa de las abejas africanizadas al parasitismo de *V. destructor* en comparación con abejas europeas, así como de una posible mayor resistencia a virosis como lo sugieren los resultados de este estudio, aún no ha quedado del todo claro a qué se debe dicha resistencia. Las abejas poseen mecanismos de resistencia a patógenos que involucran respuestas del sistema de inmunidad innato. En estas respuestas se incluyen las de tipo humoral y las de tipo celular. Las de tipo humoral se expresan a través de la producción de péptidos antimicrobianos que inactivan microorganismos (como los virus) y proteínas ajenas. Las de tipo celular se expresan a través de hemocitos que fagocitan virus y otros microorganismos y que cierran heridas causadas por ácaros (Larsen et al., 2019). Se ha sugerido que algunos compuestos en la saliva del ácaro (proteínas o virus) pueden tener un efecto negativo en el sistema inmune de las abejas (Hamiduzzaman et al., 2015) y que en las abejas africanizadas a diferencia de las europeas, los niveles de VAD son menores durante las primeras horas de exposición a *V. destructor*, ya que probablemente presentan una mayor inmunidad inicial durante el parasitismo de *Varroa* (Hamiduzzaman et al., 2015). Sin embargo, en trabajos realizados por Koleoglu (2014) y Koleoglu et al. (2017, 2018), donde se

estudiaron las respuestas de inmunidad humoral y celular de abejas europeas y africanizadas después de exponerlas artificialmente a varroas hembras, o luego de ser inyectadas con un homogenizado de ácaros macerados, no se encontraron diferencias significativas entre ambos genotipos de abejas para el grado de expresión de genes asociados a respuestas humorales o para respuestas celulares mediadas por hemocitos. Para el caso de las respuestas humorales, en ambos tipos de abejas, el parasitismo por *V. destructor* o sus proteínas causaron una supresión en la expresión de los genes hymenoptaecina (AmHym), defensina-1 (AmDef-1), vitelogenina (AmVit2), factor múltiple de unión 68 (AmPuf68) y profenol oxidasa (AmPpo). Para el caso de las respuestas celulares, el parasitismo por *V. destructor* o la inyección de su macerado, causaron una disminución significativa en la concentración de hemocitos en la hemolinfa de abejas tanto europeas como africanizadas. Por lo tanto, los investigadores concluyeron que el parasitismo por *V. destructor* suprime las respuestas de inmunidad innata de manera similar en abejas europeas que en abejas africanizadas. Luego entonces, se infiere que la mayor resistencia de las abejas africanizadas al ácaro, en comparación con las europeas, no se debe a diferencias en las respuestas de su inmunidad innata.

La resistencia de las abejas africanizadas a *V. destructor* también se ha estudiado en diferentes etapas del desarrollo de los insectos. Reyes-Quintana et al. (2019) demostraron que la salud de la cría y de abejas emergidas de celdas parasitadas con *Varroa* en colonias africanizadas, se ve gravemente afectada por el parasitismo del ácaro y también por la infección causada por el VAD. De las crías artificialmente infestadas con *V. destructor* que tenían VAD, solo se desarrollaron y emergieron el 69% de ellas. Además, el 54% de las abejas emergidas tenían daños en las alas. Estos resultados son similares a los daños que causa el ácaro en la cría y adultos emergidos de celdas parasitadas en panales de abejas europeas (Bowen-Walker et al., 1999). Por lo tanto, la resistencia de las abejas africanizadas a *V. destructor* parece no estar asociada a mecanismos de la cría, sino que se asocia a mecanismos expresados por las abejas adultas.

Además de la inmunidad innata, las abejas melíferas manifiestan mecanismos de inmunidad social llevados a cabo por abejas adultas, a través de comportamientos como el acicalamiento, el comportamiento higiénico, la fiebre, la enjambrazón y la evasión. Parece que la inmunidad social puede explicar en mayor medida la resistencia relativa de las abejas africanizadas a *V. destructor*.

El acicalamiento consiste en la remoción de ácaros del cuerpo de las abejas mediante el uso de sus patas y mandíbulas. Los ácaros removidos muchas veces presentan lesiones en el idiosoma que se presume son causados por las mandíbulas de las abejas (Pritchard, 2016). Las abejas africanizadas remueven un porcentaje mayor de ácaros que las europeas y también les causan más lesiones (Moretto et al., 1993; Arechavaleta-Velasco y Guzmán-Novoa, 2001; Guzmán-Novoa et al., 2012). Este comportamiento está en parte influido por efectos genéticos. Arechavaleta-Velasco et al. (2012) identificaron una región cromosómica (locus) con 27 genes asociados al comportamiento. Uno de estos genes, el neurexin-1, aumenta la intensidad del acicalamiento de las abejas, lo que fue validado y corroborado en poblaciones resistentes a *V. destructor* (Hamiduzzaman et al., 2017; Morfin et al., 2020b). Dado que en parte este comportamiento es influenciado por efectos genéticos, es posible que el medio ambiente tropical haya favorecido a genotipos de abejas más acicaladoras por selección natural en poblaciones de abejas africanizadas.

El comportamiento higiénico es la habilidad de las abejas de detectar y luego remover crías de celdas operculadas que están muertas, enfermas, o parasitadas con *V. destructor* (Spivak y Reuter, 2001; Spivak et al., 1996). Este comportamiento es altamente influenciado por efectos genéticos y se hereda fundamentalmente vía materna (Spivak y Reuter, 2001; Lapidige et al., 2002; Unger y Guzmán-Novoa, 2010; Wagoner et al., 2019). Tsuruda et al. (2012) identificaron varios loci asociados a la característica de higiene sensible a *Varroa* (VSH por sus siglas en inglés), que es un tipo de comportamiento higiénico especializado en la remoción de crías parasitadas con ácaros en fase reproductiva (Harris et al., 2010). Algunos estudios

han reportado que las abejas africanizadas son más higiénicas que las europeas (Guerra et al., 2000; Mondragón et al., 2005) y como en el caso del acicalamiento, no se descarta que la selección natural haya favorecido la evolución de esta característica en mayor grado en poblaciones de abejas africanizadas que en poblaciones de abejas europeas.

La fiebre en una colonia de abejas se expresa cuando las abejas incrementan la temperatura del nido, al generar calor por medio de contracciones rápidas de sus músculos torácicos, y de esta manera reducen infecciones de enfermedades de la cría y también se favorece la caída de ácaros del cuerpo de las abejas (Starks et al., 2000; Simone-Finstrom, 2017). Se desconoce si las abejas africanizadas expresan más este comportamiento que las abejas europeas, por lo que se sugiere investigación futura al respecto.

Respecto a la enjambrazón y a la evasión, es bien sabido que las colonias de abejas africanizadas manifiestan en mayor medida estos comportamientos que las colonias de abejas europeas (Guzmán-Novoa et al., 2011). En el momento en el que una colonia de abejas enjambra o evade, se interrumpe la reproducción de las abejas porque las reinas dejan de poner, y por ende eso repercute en una menor reproducción de *V. destructor* (hay menos cría que parasitar y donde reproducirse), lo que en parte explica que las colonias de abejas africanizadas tengan menores tasas de infestación del ácaro que colonias de abejas europeas.

El hecho de que un alto grado de africanización conceda a las abejas resistencia a varroosis y virosis, las parasitosis más importantes que las afectan, puede poner en debate el que tanto en realidad conviene reducir el nivel de africanización en las colonias de abejas, tal como se ha planteado desde hace muchos años y como se discutió en el punto anterior, ya que aunque la africanización tiene serias desventajas, sobre todo productivas y de manejo, la resistencia a estas parasitosis es una ventaja que contribuye a evitar el colapso de colonias a causa de enfermedades. Sin embargo, esta ventaja relativa no las exenta de padecer dichas

enfermedades, aunque con un menor grado de daño que en abejas europeas. A pesar de ello, los estragos que *V. destructor* y las virosis causan a la salud de las abejas africanizadas, como la muerte de la cría antes de emerger, abejas con deformidades, inhibición de la respuesta inmune celular y del tiempo menor de vida como insecto adulto (Koleoglu et al., 2018; Reyes-Quintana et al., 2019), se ven reflejados directamente en la productividad de la colonia. En el caso de la varroosis se ha observado que al incrementarse el nivel de infestación por *Varroa*, también disminuye la producción de miel (Medina-Flores et al., 2011). Asimismo, Arechavaleta-Velasco y Guzmán-Novoa (2000) encontraron que colonias de abejas africanizadas tratadas contra *Varroa*, produjeron 65% más miel que las no tratadas. Por eso se sugieren estudios sobre mejoramiento genético en donde en lugar de tratar de tener colonias en las que predomine el genotipo europeo para mitigar los efectos de la africanización, se debe buscar un punto de equilibrio entre ambos genotipos de abejas al usar poblaciones locales de abejas que ya se encuentran adaptadas a las condiciones del medio, para beneficiar a la industria apícola. Sin embargo, a pesar de que se puedan producir genotipos de abejas relativamente resistentes a *V. destructor* y virosis, con bajo comportamiento defensivo, aun así se necesitarán realizar tratamientos con niveles de infestación del ácaro mayores al 4%, como lo demuestran dos estudios realizados en México (Arechavaleta-Velasco y Guzmán-Novoa, 2000; Medina-Flores et al., 2011).

Desde otro enfoque, la africanización de las colonias de abejas en el continente americano, además del alto impacto que ha tenido en la apicultura, representa una de las más importantes y rápidas invasiones de una especie exótica a los ecosistemas nativos. Algunas regiones de América no habían sido colonizadas por las poblaciones de abejas europeas que existían antes de la introducción de *A. m. scutellata* a Brasil, pero hoy día esos nichos están ocupados por colonias de abejas africanizadas. Una de las formas en las que este ecotipo de abeja invasora puede afectar a las abejas nativas es la competencia por los recursos florales y sitios de anidación, aumento o disminución en la dispersión de semillas de plantas nativas y

malezas exóticas y la transmisión de patógenos (Guzmán-Novoa et al., 2020). Hasta el momento, la información disponible indica que las abejas africanizadas no han ocasionado un daño alarmante a los ecosistemas nativos, ya que la competencia por los recursos florales depende en gran medida de la abundancia y diversidad de las plantas locales, por lo que no siempre las abejas nativas son desplazadas (Guzmán-Novoa et al., 2020).

En cuanto a la transmisión de patógenos, se ha demostrado la presencia del microsporidio *Nosema* y de algunos de los virus que afectan a las abejas melíferas, en abejas nativas (Guzmán-Novoa et al., 2015; Tehel et al., 2016; Purkiss y Lach, 2019; Macías-Macías et al., 2020), e incluso se ha demostrado la replicación del VAD y del VCRN en estas abejas (Tapia-González et al., 2019b; Morfin et al., 2020a). Sin embargo, hasta el momento no se sabe con certeza el daño que estos patógenos pudieran ocasionar en la salud de las abejas nativas, por lo que se requieren realizar más estudios de este tipo en poblaciones de abejas nativas. Los trabajos en estos temas son pocos y hace falta conocer más sobre la interacción entre las abejas africanizadas y las abejas nativas, debido a que se han adaptado tan bien al clima de Centro y Sudamérica que será imposible revertirlo, puesto que las características que las distinguen (alta tasa de enjambrazón, mayor producción de zánganos, aumento en el comportamiento de evasión y resistencia a enfermedades) son las que les dieron ventajas para colonizar casi todo el continente. Por lo tanto, pudiera ser que la resistencia a enfermedades que poseen las abejas africanizadas permite que los enjambres silvestres no se vean tan afectados por los patógenos que perjudican a las colonias manejadas. Sin embargo, en un estudio en el estado de Yucatán en el que se comparó la frecuencia de varroosis y nosemosis de colonias manejadas y silvestres, no se encontraron diferencias significativas entre las dos poblaciones de abejas para las frecuencias de ambas enfermedades (Martínez-Puc et al., 2011). Hace falta realizar más trabajos como este para tener más perspectivas sobre el tema.

8. Conclusiones

En Jalisco, la parasitosis de abejas melíferas más prevalente es la varroosis, la cual se detectó en el 90% de las colonias, seguida por la virosis del VCRN que se detectó en el 66% de ellas, la virosis del VAD detectada en el 38% de las colonias, y por último, la enfermedad con menor prevalencia fue la nosemosis, detectada en solo el 15% de las colonias muestreadas. Además, es importante señalar que de las dos especies de *Nosema spp.* que se buscaron en las muestras, solo se detectó a *N. ceranae*, especie que pudo haber desplazado a *N. apis*, o bien que ha existido históricamente en Jalisco, lo cual es difícil de determinar. Los niveles de infestación o infección para casi todas las parasitosis fueron bajos. Para la varroosis fueron menores al 5%, para la nosemosis fueron de muy ligeros a nulos y para las virosis, solo los del VAD se encontraron a niveles muy altos (8,000 veces más altos que los del VCRN). Las regiones con mayor prevalencia e intensidad de la infestación de *Varroa* en abejas adultas y cría fueron los Altos, el Centro y el Sur. Para la prevalencia de nosemosis no se encontró diferencia significativa entre las regiones, pero si para el nivel de infección, las regiones del Sureste, el Sur y la Sierra Amula fueron las de mayor intensidad. En cuanto a las virosis, las regiones con mayor prevalencia del VAD fueron el Centro, el Sur, los Altos y la Sierra Amula. Por ello, a excepción de la Sierra Amula, las regiones coinciden con las de mayor prevalencia e intensidad a la varroosis. En cuanto a la intensidad de infecciones del VAD, no hubo diferencias significativas entre regiones. Para la prevalencia del VCRN tampoco hubo diferencias significativas entre regiones, pero si las hubo para la intensidad de la infección. Las regiones con niveles de infección más altos fueron el Sur y Centro, que también coinciden con las regiones en donde se presenta con mayor intensidad el parasitismo por *Varroa*, lo que indica el rol de vector de virus del ácaro.

Sobre el nivel de africanización en el estado, se encontró que más del 50% de las colonias de abejas son africanizadas y la longitud promedio de ala anterior de las colonias clasificadas como africanizadas fue significativamente menor que el de las

europeas. Asimismo, se encontró que la frecuencia de colonias con genotipo africano fue mayor en regiones bajas, mientras que la frecuencia de colonias con genotipo europeo fue mayor en zonas altas. La altitud promedio a la que se ubicaban las colonias con genotipo africano fue significativamente más baja que la de las colonias con genotipo europeo.

En cuanto al efecto de la africanización en las parasitosis analizadas, solo la prevalencia de varroosis fue significativamente mayor en colonias con morfotipo europeo. Con respecto a la intensidad de las parasitosis, las colonias con mitotipo y morfotipo europeo tuvieron niveles significativamente más altos de infestación por *V. destructor* y de infección por el VAD y el VCRN. Solo en el caso de la nosemosis no hubo diferencias significativas para la intensidad de infección entre colonias de los dos mitotipos y morfotipos de abejas. Por lo anterior, los resultados de este estudio demuestran que la hipótesis alternativa planteada en esta tesis es verdadera y se acepta. Por ello puede afirmarse que la africanización si influye en la susceptibilidad y resistencia de las abejas melíferas al parasitismo por *V. destructor*, VAD y VCRN.

Referencias

1. Anderson, D. L., & Trueman, J. W. H. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental & applied acarology*, 24(3), 165-189.
2. Anguiano-Báez, R., Guzmán-Novoa, E., Md. Hamiduzzaman, M., Espinosa-Montano, L. G., & Correa-Benítez, A. (2016). *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) parasitism and climate differentially influence the prevalence, levels, and overt infections of deformed wing virus in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Science*, 16(1), 44.
3. Antúnez, K., D'Alessandro, B., Corbella, E., Ramallo, G., & Zunino, P. (2006). Honeybee viruses in Uruguay. *Journal of invertebrate pathology*, 93(1), 67-70.
4. Arechavaleta-Velasco, M. E., & Guzmán Novoa, E. (2000). Producción de miel de colonias de abejas (*Apis mellifera* L) tratadas y no tratadas con fluvalinato contra *Varroa jacobsoni* Oudemans en Valle de Bravo, Estado de México. *Vet. Mex*, 381-384.
5. Arechavaleta-Velasco, M. E., & Guzmán-Novoa, E. (2001). Relative effect of four characteristics that restrain the population growth of the mite *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie*, 32(2), 157-174.
6. Arechavaleta-Velasco, M. E., Alcalá-Escamilla, K., Robles-Ríos, C., Tsuruda, J. M., & Hunt, G. J. (2012). Fine-scale linkage mapping reveals a small set of candidate genes influencing honey bee grooming behavior in response to *Varroa* mites. *PLoS One*, 7(11), e47269.
7. Arvizu-Padrón G. (1996). Determinación de la africanización en las abejas, en 1995, en el Estado de Jalisco (Tesis de Licenciatura). Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.

8. Becerra, G.F. J. (2000). Distribución de la abeja africanizada (*Apis mellifera* L.) en el estado de Jalisco. [Tesis de maestría]. Universidad de Guadalajara.
9. Boecking, O., & Genersch, E. (2008). Varroosis—the ongoing crisis in bee keeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 3(2), 221-228.
10. Bowen-Walker, P. L., Martin, S. J., & Gunn, A. (1999). The transmission of deformed wing virus between Honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Journal of invertebrate pathology*, 73(1), 101-106.
11. Burnham, A. J. (2019). Scientific advances in controlling *Nosema ceranae* (Microsporidia) infections in honey bees (*Apis mellifera*). *Frontiers in veterinary science*, 6, 79.
12. Calderón, R. A., Van Veen, J. W., Sommeijer, M. J., & Sánchez, L. A. (2010). Reproductive biology of *Varroa destructor* in Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Experimental and Applied Acarology*, 50(4), 281-297.
13. Cantwell, G. E. (1970). Standard methods for counting *Nosema* spores. *Amer Bee J.*, 110, 222–223.
14. Carneiro, F. E., Torres, R. R., Strapazzon, R., Ramírez, S. A., Guerra Jr, J. C., Kolling, D. F., & Moretto, G. (2007). Changes in the reproductive ability of the mite *Varroa destructor* (Anderson e Trueman) in Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae) colonies in southern Brazil. *Neotropical Entomology*, 36(6), 949-952.
15. Chantawannakul, P., Ward, L., Boonham, N., & Brown, M. (2006). A scientific note on the detection of honeybee viruses using real-time PCR (TaqMan) in *Varroa* mites collected from a Thai honeybee (*Apis mellifera*) apiary. *Journal of invertebrate pathology*, 91(1), 69-73.

16. Chen, Y. P., Higgins, J. A., & Feldlaufer, M. F. (2005). Quantitative real-time reverse transcription-PCR analysis of deformed wing virus infection in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1), 436-441.
17. Chen, Y. P., Pettis, J. S., Collins, A., & Feldlaufer, M. F. (2006). Prevalence and transmission of honeybee viruses. *Applied and environmental microbiology*, 72(1), 606-611.
18. Chen, Y. P., & Siede, R. (2007). Honey bee viruses. *Advances in virus research*, 70, 33-80.
19. Contreras-Escareño, F., Pérez Armendáriz, B., Echazarreta, C. M., Cavazos Arroyo, J., Macías-Macías, J. O., & Tapia-González, J. M. (2013). Características y situación actual de la apicultura en las regiones Sur y Sureste de Jalisco, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 4(3), 387-398.
20. Cox-Foster, D. L., Conlan, S., Holmes, E. C., Palacios, G., Evans, J. D., Moran, N. A., Quan, P., Briese, T., Hornig, M., Geiser, D. M., Martinson, V., Vanengelsdorp, D., Kalkstein, A. L., Drysdale, A., Hui, J., Zhai, J., Cui, L., Hutchinson, S. K., Simons, J. F., Egholm, M., Pettis, J. S., & Lipkin, W. I. (2007). A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 318(5848), 283-287.
21. Crozier, Y. C., Koulianos, S., & Crozier, R. H. (1991). An improved test for Africanized honeybee mitochondrial DNA. *Experientia*, 47(9), 968-969.
22. De Jong, D. (1980). *Varroa Jacobsoni*; Survey Techniques. Leaflet No. 109, University of Maryland, USA.
23. De Jong, D., Gonçalves, L. S., & Morse, R. A. (1984). Dependence on climate of the virulence of *Varroa jacobsoni*. *Bee world*, 65(3), 117-121.

24. De La Mora-González, C. H. (1988). Flora de utilidad apícola en Jalisco (Tesis de Licenciatura). Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.
25. De Miranda, J. R., & Fries, I. J. J. O. I. P. (2008). Venereal and vertical transmission of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Journal of invertebrate pathology*, 98(2), 184-189.
26. Desai, S. D., Kumar, S., & Currie, R. W. (2016). Occurrence, detection, and quantification of economically important viruses in healthy and unhealthy honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies in Canada. *The Canadian Entomologist*, 148(01), 22-35.
27. Di Prisco, G., Pennacchio, F., Caprio, E., Boncristiani Jr, H. F., Evans, J. D., & Chen, Y. (2011). *Varroa destructor* is an effective vector of Israeli acute paralysis virus in the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of General Virology*, 92(1), 151-155.
28. Di Prisco, G., Cavaliere, V., Annoscia, D., Varricchio, P., Caprio, E., Nazzi, F., Gargiulo G. & Pennacchio, F. (2013). Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(46), 18466-18471.
29. Dietemann, V., Pflugfelder, J., Anderson, D., Charrière, J. D., Chejanovsky, N., Dainat, B., De Miranda, J., Delaplane, K., Dillier, F., Fuch, S., Gallmann, P., Gautier, L., Imdorf, A., Koeniger, N., Kralj, J., Meikle, W., Pettis, J., Rosenkranz, P., Sammataro, D., Smith, D., Yañez, O., & Neumann, P. (2012). *Varroa destructor*: research avenues towards sustainable control. *Journal of Apicultural Research*, 51(1), 125-132.
30. Doeke, M. A., Frazier, M., & Grozinger, C. M. (2015). Overwintering honey bees: biology and management. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 185-193.

31. Domínguez-Ayala, R., Moo-Valle, H., May-Itzá, W. D. J., Medina-Peralta, S., & Quezada-Euán, J. J. G. (2016). Stock composition of northern neotropical honey bees: mitotype and morphotype diversity in Mexico (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, 47(5), 642-652.
32. Dynes, T. L., Berry, J. A., Delaplane, K. S., Brosi, B. J., & de Roode, J. C. (2019). Reduced density and visually complex apiaries reduce parasite load and promote honey production and overwintering survival in honey bees. *PLoS One*, 14(5), e0216286.
33. Emsen, B., Guzmán-Novoa, E., & Kelly, P. G. (2014). Honey production of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies with high and low *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) infestation rates in eastern Canada. *The Canadian Entomologist*, 146(2), 236-240.
34. Emsen, B., Hamiduzzaman, M. M., Goodwin, P. H., & Guzmán-Novoa, E. (2015). Lower virus infections in *Varroa destructor*-infested and uninfested brood and adult honey bees (*Apis mellifera*) of a low mite population growth colony compared to a high mite population growth colony. *Plos one*, 10(2), e0118885.
35. Emsen, B., Guzmán-Novoa, E., Hamiduzzaman, M. M., Eccles, L., Lacey, B., Ruiz-Pérez, R. A., & Nasr, M. (2016). Higher prevalence and levels of *Nosema ceranae* than *Nosema apis* infections in Canadian honey bee colonies. *Parasitology research*, 115(1), 175-181.
36. Emsen, B., De la Mora, A., Lacey, B., Eccles, L., Kelly, P. G., Medina-Flores, C. A., Petukhova, T., Morfin, N., & Guzmán-Novoa, E. (2020). Seasonality of *Nosema ceranae* infections and their relationship with honey bee populations, food stores, and survivorship in a North American region. *Veterinary Sciences*, 7(3), 131.
37. Evans, J. D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B. K., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., Chen, Y., Underwood, R., Tarpy, D. R., & Pettis, J. H. (2017). Genetic diversity and population structure of honey bees (*Apis mellifera*) in the United States. *PLoS One*, 12(12), e0187888.

- J. S. (2009). Colony collapse disorder: a descriptive study. *PloS one*, 4(8), e6481.
38. FAOSTAT. [Base de datos online]. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/TP/visualize> (Última actualización: 21 diciembre 2020, Acceso: 19 enero 2021).
39. Fries, I. (2010). *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of invertebrate pathology*, 103, S73-S79.
40. García-Anaya, M. C., Romo-Chacón, A., Zamudio-Flores, P. B., Ríos-Velasco, C., & Acosta-Muñiz, C. H. (2016). Detection of viruses in colonies of honey bees (*Apis mellifera* L.) in the state of Chihuahua, México. *Journal of Apicultural Research*, 55(3), 240–242.
41. García-Anaya, M. C., Romo-Chacón, A., Sáenz-Mendoza, A. I., Pérez-Ordoñez, G., & Acosta-Muñiz, C. H. (2018). Detection of Israeli acute paralysis virus (IAPV) and *Apis mellifera* filamentous virus (AmFV) in honey bees in México. *Journal of Apicultural Science*, 62(1), 141.
42. Gisder, S., Aumeier, P., & Genersch, E. (2009). Deformed wing virus: replication and viral load in mites (*Varroa destructor*). *Journal of General Virology*, 90(2), 463-467.
43. Gisder, S., Schueler, V., Horchler, L. L., Groth, D., & Genersch, E. (2017). Long-term temporal trends of *Nosema spp.* infection prevalence in Northeast Germany: continuous spread of *Nosema ceranae*, an emerging pathogen of honey bees (*Apis mellifera*), but no general replacement of *Nosema apis*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 301.
44. Gisder, S., & Genersch, E. (2021). Direct evidence for infection of *Varroa destructor* mites with the bee-pathogenic deformed wing virus variant B, but not

variant A, via fluorescence in situ hybridization analysis. *Journal of Virology*, 95(5), e01786-20.

45. Goblirsch, M. (2018). *Nosema ceranae* disease of the honey bee (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 49(1), 131-150.
46. Goodwin, R. M., Taylor, M. A., McBrydie, H. M., & Cox, H. M. (2006). Drift of *Varroa destructor*-infested worker honey bees to neighbouring colonies. *Journal of apicultural research and bee world*, 45(3), 155.
47. Guerra Jr, J. C. V., Gonçalves, L. S., & Jong, D. D. (2000). Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) are more efficient at removing worker brood artificially infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans than are Italian bees or Italian/Africanized hybrids. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 89-92.
48. Guerrero-Molina, C., Correa-Benítez, A., Hamiduzzaman, M. M., & Guzmán-Novoa, E. (2016). *Nosema ceranae* is an old resident of honey bee (*Apis mellifera*) colonies in México, causing infection levels of one million spores per bee or higher during summer and fall. *Journal of invertebrate pathology*, 141, 38-40.
49. Guzmán-Novoa, E., Sánchez, A., Page Jr, R. E., & García, T. (1996). Susceptibility of European and Africanized honeybees (*Apis mellifera* L) and their hybrids to *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 27(2), 93-103.
50. Guzmán-Novoa, E., Vandame, R., & Arechavaleta, M. E. (1999). Susceptibility of European and Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) to *Varroa jacobsoni* Oud. in Mexico. *Apidologie*, 30(2-3), 173-182.
51. Guzmán-Novoa, E., Correa-Benítez, A., Espinosa-Montaña, L. G., & Novoa, G. G. (2011). Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México. *Veterinaria México*, 42(2), 149-178.

52. Guzmán-Novoa, E., Hamiduzzaman, M. M., Espinosa-Montaño, L. G., Correa-Benítez, A., Anguiano-Báez, R., & Ponce-Vázquez, R. (2012). First detection of four viruses in honey bee (*Apis mellifera*) workers with and without deformed wings and *Varroa destructor* in México. *Journal of Apicultural Research*, 51(4), 342-346.
53. Guzmán-Novoa, E., Hamiduzzaman, M. M., Correa-Benítez, A., Espinosa-Montaño, L. G., & Uribe-Rubio, J. L. (2013). A scientific note on the first detection of black queen cell virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Mexico. *Apidologie*, 44(4), 382-384.
54. Guzmán-Novoa, E. & Correa-Benítez, A. Eds. (2015). *Patología, Diagnóstico y Control de las Principales Enfermedades y Plagas de las Abejas Melíferas*. 2da Edición. O.I.R.S.A. Imagen Editorial Yire, México D.F. 176 pp.
55. Guzmán-Novoa, E., Hamiduzzaman, M. M., Anguiano-Báez, R., Correa-Benítez, A., Castañeda-Cervantes, E., & Arnold, N. I. (2015). First detection of honey bee viruses in stingless bees in North America. *Journal of Apicultural Research*, 54(2), 93-95.
56. Guzmán-Novoa, E., Morfin, N., De la Mora, A., Macías-Macías, J. O., Tapia-González, J. M., Contreras-Escareño, F., Medina-Flores C. A., Correa-Benítez A. & Quezada-Euán, J. J. G. (2020). The process and outcome of the Africanization of honey bees in México: lessons and future directions. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8, 404.
57. Hamiduzzaman, M. M., Guzmán-Novoa, E., & Goodwin, P. H. (2010). A multiplex PCR assay to diagnose and quantify *Nosema* infections in honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 105(2), 151-155.
58. Hamiduzzaman, M. M., Guzmán-Novoa, E., Goodwin, P. H., Reyes-Quintana, M., Koleoglu, G., Correa-Benítez, A., & Petukhova, T. (2015). Differential responses of Africanized and European honey bees (*Apis mellifera*) to viral

replication following mechanical transmission or *Varroa destructor* parasitism. *Journal of invertebrate pathology*, 126, 12-20.

59. Hamiduzzaman, M. M., Emsen, B., Hunt, G. J., Subramanyam, S., Williams, C. E., Tsuruda, J. M., & Guzmán-Novoa, E. (2017). Differential gene expression associated with honey bee grooming behavior in response to *Varroa* mites. *Behavior genetics*, 47(3), 335-344.
60. Harris, J.W., Danka, R. G., & Villa, J. D. (2010) Honey bees (hymenoptera: apidae) with the trait of *Varroa* sensitive hygiene remove brood with all reproductive stages of *Varroa* mites (Mesostigmata: Varroidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 103(2), 146-152.
61. Hou, C., Rivkin, H., Slabezki, Y., & Chejanovsky, N. (2014). Dynamics of the presence of israeli acute paralysis virus in honey bee colonies with colony collapse disorder. *Viruses*, 6(5), 2012-2027.
62. INEGI (1988). Jalisco en síntesis. Segunda edición. México.
63. Invernizzi, C., Zefferino, I., Santos, E., Sánchez, L., & Mendoza, Y. (2015). Multilevel assessment of grooming behavior against *Varroa destructor* in Italian and Africanized honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 54(4), 321-327.
64. Jaycox, E. R. (1980). Estimation of the severity of *nosema* infection. University of Illinois, Bull.
65. Kerr, W. E. (1967). The history of the introduction of African bees in Brazil. *South African Bee J.*, 39, 33-35.
66. Kevan, P. G., Hannan, M. A., Ostiguy, N., & Guzman-Novoa, E. (2006). A summary of the *Varroa*-virus disease complex in honey bees.
67. Koleoglu, G. (2014). Effect of the parasitic mite *Varroa destructor* on the immune system of Africanized and European honey bees at the molecular and cellular levels. M.Sc.Thesis. University of Guelph, Ontario, Canada.

68. Koleoglu, G., Goodwin, P. H., Reyes-Quintana, M., Hamiduzzaman, M. M., & Guzmán-Novoa, E. (2017). Effect of *Varroa destructor*, wounding and *Varroa* homogenate on gene expression in brood and adult honey bees. *PloS one*, 12(1), e0169669.
69. Koleoglu, G., Goodwin, P. H., Reyes-Quintana, M., Hamiduzzaman, M. M., & Guzmán-Novoa, E. (2018). *Varroa destructor* parasitism reduces hemocyte concentrations and prophenol oxidase gene expression in bees from two populations. *Parasitology research*, 117(4), 1175-1183.
70. Kono, Y., & Kohn, J. R. (2015). Range and frequency of Africanized honey bees in California (USA). *PLoS One*, 10(9), e0137407.
71. Lapidge, K. L., Oldroyd, B. P., & Spivak, M. (2002) Seven suggestive quantitative trait loci influence hygienic behavior of honey bees. *Naturwissenschaften* 89(12), 565-568.
72. Larsen, A., Reynaldi, F. J., & Guzmán-Novoa, E. (2019). Fundamentals of the honey bee (*Apis mellifera*) immune system. Review. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 10(3), 705-728.
73. Le Conte, Y., Ellis, M., & Ritter, W. (2010). *Varroa* mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses? *Apidologie*, 41(3), 353-363.
74. Li, B., Deng, S., Yang, D., Hou, C., & Diao, Q. (2017). Complete sequences of the RNA 1 and RNA 2 segments of chronic bee paralysis virus strain CBPV-BJ detected in China. *Archives of virology*, 162(8), 2451-2456.
75. Loeza-Concha, H., Salgado-Moreno, S., Avila-Ramos, F., Escalera-Valente, F., Lemus-Flores, C., Domínguez-Rebolledo, Á., & Carmona-Gasca, C. A. (2020). Seasonal variation in the prevalence of *Varroa*, *Nosema* and *Acarapis* in hives from which queen bee mating nuclei are produced. *Journal of Apicultural Research*, 59(4), 558-563.

76. Loftus, J. C., Smith, M. L., & Seeley, T. D. (2016). How honey bee colonies survive in the wild: testing the importance of small nests and frequent swarming. *PloS one*, 11(3), e0150362.
77. Lorente-Adame, M. P. (1992). Plantas de importancia apícola en tres localidades de la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlan, Jalisco, México (Tesis de Licenciatura). Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.
78. Rodríguez, L. A., García, C. A. Y., Invernizzi, C., Branchiccela, B., Piñeiro, A. M. P., Morfi, A. P., Zunino, P., & Antúnez, K. (2020). *Nosema ceranae* and RNA viruses in honey bee populations of Cuba. *Journal of Apicultural Research*, 59(4), 468-471.
79. Macías-Macías, J. O., Tapia-Rivera, J. C., De la Mora, A., Tapia-González, J. M., Contreras-Escareño, F., Petukhova, T., Morfin, N., & Guzmán-Novoa, E. (2020). *Nosema ceranae* causes cellular immunosuppression and interacts with thiamethoxam to increase mortality in the stingless bee *Melipona colimana*. *Scientific Reports*, 10(1), 1-8.
80. Magaña, M. M. A., Tavera Cortés, M. E., Salazar Barrientos, L. L., & Sanginés García, J. R. (2016). Productividad de la apicultura en México y su impacto sobre la rentabilidad. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(5), 1103-1115.
81. Magaña, M. M. Á., Sanginés García, J. R., Lara y Lara, P. E., Salazar Barrientos, L. D. L., & Leyva Morales, C. E. (2017). Competitividad y participación de la miel mexicana en el mercado mundial. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 8(1), 43-52.
82. Maori, E., Paldi, N., Shafir, S., Kalev, H., Tsur, E., Glick, E., & Sela, I. (2009). IAPV, a bee-affecting virus associated with Colony Collapse Disorder can be silenced by dsRNA ingestion. *Insect molecular biology*, 18(1), 55-60.

83. Martín-Hernández, R., Meana, A., Prieto, L., Salvador, A. M., Garrido-Bailón, E., & Higes, M. (2007). Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Applied and environmental microbiology*, 73(20), 6331-6338.
84. Martín-Hernández, R., Bartolomé, C., Chejanovsky, N., Le Conte, Y., Dalmon, A., Dussaubat, C., García-Palencia, P., Meana, A., Pinto, A., Soroker, V., & Higes, M. (2018). *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years postdetection perspective. *Environmental microbiology*, 20(4), 1302-1329.
85. Martin, S. J., & Medina, L. M. (2004). Africanized honeybees have unique tolerance to *Varroa* mites. *Trends in Parasitology*, 20(3), 112-114.
86. Martínez-Cesáreo, M., Rosas-Córdoba, J., Prieto-Merlos, D., Carmona-Gasca, A., Peña-Parra, B., & Ávila-Ramos, F. (2016). Presencia de *Varroa destructor*, *Nosema apis* y *Acarapis woodi* en abejas (*Apis mellifera*) de la región oriente del Estado de México. *Abanico veterinario*, 6(2), 30-38.
87. Martínez-Puc, J. F., Medina-Medina, L. A., & Catzín-Ventura, G. A. (2011). 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*, 2(1), 25-38.
88. McGowan, J., De la Mora, A., Goodwin, P. H., Habash, M., Hamiduzzaman, M. M., Kelly, P. G., & Guzman-Novoa, E. (2016). Viability and infectivity of fresh and cryopreserved *Nosema ceranae* spores. *Journal of microbiological methods*, 131, 16-22.
89. Medina, L. M., & Martin, S. J. (1999). A comparative study of *Varroa jacobsoni* reproduction in worker cells of honey bees (*Apis mellifera*) in England and Africanized bees in Yucatan, México. *Experimental & applied acarology*, 23(8), 659-667.

90. Medina-Flores, C. A., Guzmán-Novoa, E., Aréchiga-Flores, C. F., Aguilera-Soto, J. I., & Gutiérrez-Piña, F. J. (2011). 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*, 2(3), 313-317.
91. Medina-Flores, C. A., Guzmán-Novoa, E., Espinosa-Montaño, L. G., Uribe-Rubio, J. L., Gutiérrez-Luna, R., & Gutiérrez-Piña, F. J. (2014a). 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*, 20(3), 159-167.
92. Medina-Flores, C. A., Guzmán Novoa, E., Hamiduzzaman, M., Aréchiga Flores, C. F., & López Carlos, M. A. (2014b). Africanized honey bees (*Apis mellifera*) have low infestation levels of the mite *Varroa destructor* in different ecological regions in Mexico.
93. Medina-Flores, C. A., Guzmán-Novoa, E., Hamiduzzaman, M. M., Aguilera-Soto, J., & López-Carlos, M. A. (2015). Africanización de colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en tres zonas climáticas del estado de Zacatecas, México. *Veterinaria México OA*, 2(4).
94. Medina-Flores, C. A., Esquivel-Marín, N. H., López-Carlos, M., Medina-Cuellar, S. E., & Aguilera-Soto, J. I. (2018). Estimación de la pérdida de colonias de abejas melíferas en el altiplano y el norte de México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 5(14), 365-371.
95. Mendoza, Y., Antúnez, K., Branchiccela, B., Anido, M., Santos, E., & Invernizzi, C. (2014). *Nosema ceranae* and RNA viruses in European and Africanized honeybee colonies (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Apidologie*, 45(2), 224-234.
96. Mendoza, Y., Tomasco, I. H., Antúnez, K., Castelli, L., Branchiccela, B., Santos, E., & Invernizzi, C. (2020). Unraveling honey bee–*Varroa destructor* interaction:

multiple factors involved in differential resistance between two uruguayan populations. *Veterinary sciences*, 7(3), 116.

97. Molineri, A. I., Pacini, A., Giacobino, A., Bulacio-Cagnolo, N., Aignasse, A., Zago, L., Fondevila, N., Ferrufino, C., Merke, J., Orellano, E., Bertozzi, E., Pietronave, H., & Signorini, M. L. (2017). Prevalence of honey bee (*Apis mellifera*) viruses in temperate and subtropical regions from Argentina. *Revista Argentina de microbiologia*, 49(2), 166-173.
98. Mondet, F., Rau, A., Klopp, C., Rohmer, M., Severac, D., Le Conte, Y., & Alaux, C. (2018). Transcriptome profiling of the honeybee parasite *Varroa destructor* provides new biological insights into the mite adult life cycle. *BMC genomics*, 19(1), 1-19.
99. Mondragón, L., Spivak, M., & Vandame, R. (2005). A multifactorial study of the resistance of honeybees *Apis mellifera* to the mite *Varroa destructor* over one year in Mexico. *Apidologie*, 36(3), 345-358.
100. Mondragón, L., Martin, S., & Vandame, R. (2006). Mortality of mite offspring: a major component of *Varroa destructor* resistance in a population of Africanized bees. *Apidologie*, 37(1), 67-74.
101. Moretto, G., Gonçalves, L. S., De Jong, D., & Bichuette, M. Z. (1991). The effects of climate and bee race on *Varroa jacobsoni* Oud infestations in Brazil. *Apidologie*, 22(3), 197-203.
102. Moretto, G., Gonçalves, L. S., & De Jong, D. (1993). Heritability of Africanized and European honey bee defensive behavior against the mite *Varroa jacobsoni*. *Revista Brasileira de Genética*, 16(1), 71-77.
103. Morfin, N., Gashout, H. A., Macías-Macías, J. O., De la Mora, A., Tapia-Rivera, J. C., Tapia-González, J. M., Contreras-Escareño, F., & Guzmán-Novoa, E. (2020a). Detection, replication and quantification of deformed wing virus-A,

deformed wing virus-B, and black queen cell virus in the endemic stingless bee, *Melipona colimana*, from Jalisco, Mexico. *International Journal of Tropical Insect Science*, 1-8.

104. Morfin, N., Given, K., Evans, M., Guzmán-Novoa, E., & Hunt, G. J. (2020b). Grooming behavior and gene expression of the Indiana “mite-biter” honey bee stock. *Apidologie*, 51(2), 267-275.
105. Nolan, M. P., & Delaplane, K. S. (2017). Distance between honey bee *Apis mellifera* colonies regulates populations of *Varroa destructor* at a landscape scale. *Apidologie*, 48(1), 8-16.
106. Norma Oficial Mexicana NOM-001-ZOO-1994, Campaña Nacional contra la Varroasis de las Abejas. Diario Oficial de la Federación, México, D. F., 28 de abril de 1994.
107. Novoa, L. C. P. (1994). Flora de importancia apícola de Cofradía del Rosario, municipio de Amacueca, Jalisco, México (Tesis de Licenciatura). Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.
108. Özgör, E., Güzerin, E., & Keskin, N. (2015). Determination and comparison of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in terms of geographic and climatic factors. *Hacettepe J Biol Chem*, 43(1), 9-15.
109. Özkırım, A., Schiesser, A., & Keskin, N. (2019). Dynamics of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* co-infection seasonally in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Journal of Apicultural Science*, 63(1), 41-48.
110. Paudel, Y. P., Mackereth, R., Hanley, R., & Qin, W. (2015). Honey bees (*Apis mellifera* L.) and pollination issues: Current status, impacts, and potential drivers of decline. *Journal of Agricultural Science*, 7(6), 93.

111. Paxton, R. J. (2010). Does infection by *Nosema ceranae* cause “Colony Collapse Disorder” in honey bees (*Apis mellifera*)?. *Journal of Apicultural Research*, 49(1), 80-84.
112. Pinto, M. A., Johnston, J. S., Rubink, W. L., Coulson, R. N., Patton, J. C., & Sheppard, W. S. (2003). Identification of Africanized honey bee (Hymenoptera: Apidae) mitochondrial DNA: validation of a rapid polymerase chain reaction-based assay. *Annals of the Entomological Society of America*, 96(5), 679-684.
113. Prado, M. M., García, D. G., & Sastre, R. M. (2018). Los insectos polinizadores en la agricultura: importancia y gestión de su biodiversidad. *Revista Ecosistemas*, 27(2), 81-90.
114. Pritchard, D. J. (2016). Grooming by honey bees as a component of *varroa* resistant behavior. *Journal of Apicultural Research*, 55(1), 38-48.
115. Purkiss, T., & Lach, L. (2019). Pathogen spillover from *Apis mellifera* to a stingless bee. *Proceedings of the Royal Society B*, 286(1908), 20191071.
116. Ramsey, S. D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J. D., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J. M., Ellis, J. D., Hawthorne, D., & vanEngelsdorp, D. (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(5), 1792-1801.
117. Reyes-Quintana, M., Espinosa-Montaña, L. G., Prieto-Merlos, D., Koleoglu, G., Petukhova, T., Correa-Benítez, A., & Guzmán-Novoa, E. (2019). Impact of *Varroa destructor* and deformed wing virus on emergence, cellular immunity, wing integrity and survivorship of Africanized honey bees in Mexico. *Journal of invertebrate pathology*, 164, 43-48.
118. Ribière, M., Ball, B. V., & Aubert, M. (2008). Natural history and geographical distribution of honey bee viruses. *Virology and the honey bee*, 15-84.

119. Ritter, W., & De Jong, D. (1984). Reproduction of *Varroa jacobsoni* O. in Europe, the middle East and tropical South America. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 98(1-5), 55-57.
120. Rosenkranz, P. (1999). Honey bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie*, 30(2-3), 159-172.
121. Rosenkranz, P., Aumeier, P., & Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of invertebrate pathology*, 103, S96-S119.
122. Sabahi, Q., Morfin, N., Nehzati-Paghaleh, G., & Guzman-Novoa, E. (2020). Detection and replication of deformed wing virus and black queen cell virus in parasitic mites, *Varroa destructor*, from Iranian honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research*, 59(2), 211-217.
123. SADER, 2020. *La apicultura en México*. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-apicultura-en-mexico?idiom=es> (Acceso: 19 enero 2021).
124. Sánchez, H. U. R., Peña, Á. R. M., & Reyna, J. A. G. (2013). Actualización del Atlas Bioclimático del estado de Jalisco. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía*, 2013(82), 66-92.
125. Schneider, S. S., DeGrandi-Hoffman, G., & Smith, D. R. (2004). The African honey bee: factors contributing to a successful biological invasion. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), 351-376.
126. Seeley, T. D., & Smith, M. L. (2015). Crowding honeybee colonies in apiaries can increase their vulnerability to the deadly ectoparasite *Varroa destructor*. *Apidologie*, 46(6), 716-727.
127. Seeley, T. D. (2017). Life-history traits of wild honey bee colonies living in forests around Ithaca, NY, USA. *Apidologie*, 48(6), 743-754.
128. SIAP, 2020. *Panorama Agroalimentario 2020*. Edición 2020. México.

129. SIAP. [Base de datos online]. Disponible en: https://nube.siap.gob.mx/cierre_pecuario/ (Última actualización: 2021, Acceso: 27 julio 2021).
130. Simone-Finstrom, M. (2017). Social immunity and the superorganism: Behavioral defenses protecting honey bee colonies from pathogens and parasites. *Bee World*, 94(1), 21-29.
131. Spivak, M. (1996). Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 27(4), 245-260.
132. Spivak, M., & Reuter, G. S. (2001). Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. *Apidologie*, 32(6), 555-565.
133. Starks, P. T., Blackie, C. A., & Seeley, T. D. (2000). Fever in honeybee colonies. *Naturwissenschaften*, 87(5), 229-231.
134. Sylvester, H. A., & Rinderer, T. E. (1987). Fast Africanized bee identification system (FABIS) manual.
135. Tapia-González, J. M., Alcazar-Oceguera, G., Macías-Macías, J. O., Contreras-Escareño, F., Tapia-Rivera, J. C., Chavoya-Moreno, F. J., & Martínez-González, J. C. (2017). Nosemosis en abejas melíferas y su relación con factores ambientales en Jalisco, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 8(3), 325-330.
136. Tapia-González, J. M., Alcazar-Oceguera, G., Macías-Macías, J. O., Contreras-Escareño, F., Tapia-Rivera, J. C., Petukhova, T., & Guzmán-Novoa, E. (2019a). Varroosis en abejas melíferas en diferentes condiciones ambientales y regionales de Jalisco, México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 6(17), 243-251.

137. Tapia-González, J. M., Morfin, N., Macías-Macías, J. O., De la Mora, A., Tapia-Rivera, J. C., Ayala, R., Contreras-Escareño, F., Gashout, H. A., & Guzmán-Novoa, E. (2019b). Evidence of presence and replication of honey bee viruses among wild bee pollinators in subtropical environments. *Journal of invertebrate pathology*, 168, 107256.
138. Tapia-González, J. M., Alcazar-Oceguera, G., Macías-Macías, J. O., Contreras-Escareño, F., Tapia-Rivera, J. C., Petukhova, T., & Guzmán-Novoa, E. (2020). Ascospores en abejas melíferas y su relación con factores ambientales en Jalisco, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(2), 468-478.
139. Tehel, A., Brown, M. J., & Paxton, R. J. (2016). Impact of managed honey bee viruses on wild bees. *Current opinion in virology*, 19, 16-22.
140. Tentcheva, D., Gauthier, L., Zappulla, N., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M. E., & Bergoin, M. (2004). Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Applied and environmental microbiology*, 70(12), 7185-7191.
141. Thompson, G. J., Yockey, H., Lim, J., & Oldroyd, B. P. (2007). Experimental manipulation of ovary activation and gene expression in honey bee (*Apis mellifera*) queens and workers: testing hypotheses of reproductive regulation. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 307(10), 600-610.
142. Tibatá, V. M., Sánchez, A., Palmer-Young, E., Junca, H., Solarte, V. M., Madella, S., Ariza, F., Figueroa, J., & Corona, M. (2021) Africanized honey bees in Colombia exhibit high prevalence but low level of infestation of *Varroa* mites and low prevalence of pathogenic viruses. *PLoS ONE* 16(5): e0244906.

143. Traynor, K. S., Rennich, K., Forsgren, E., Rose, R., Pettis, J., Kunkel, G., Madella, S., Evans, J., Lopez, D., & vanEngelsdorp, D. (2016). Multiyear survey targeting disease incidence in US honey bees. *Apidologie*, 47(3), 325-347.
144. Traynor, K. S., Mondet, F., de Miranda, J. R., Techer, M., Kowallik, V., Oddie, M. A., Chantawannakul, P., & McAfee, A. (2020). *Varroa destructor*: A complex parasite, crippling honey bees worldwide. *Trends in Parasitology*, 36(7), 592-606.
145. Tsuruda, J. M., Harris, J. W., Bourgeois, L., Danka, R. G. & Hunt, G. J. (2012). High-resolution linkage analyses to identify genes that influence *Varroa* sensitive hygiene behavior in honey bees. *Plos one*, 7(11), e48276.
146. Unger, P. & Guzmán-Novoa, E. (2010) Maternal effects on the hygienic behavior of Russian × Ontario hybrid honeybees (*Apis mellifera* L). *Journal of Heredity*, 101(1), 91-96.
147. Urbietta-Magro, A., Higes, M., Meana, A., Barrios, L., & Martín-Hernández, R. (2019). Age and method of inoculation influence the infection of worker honey bees (*Apis mellifera*) by *Nosema ceranae*. *Insects*, 10(12), 417.
148. Uribe-Rubio, J. L., Guzmán-Novoa, E., Hunt, G. J., Correa-Benítez, A., & Zozaya-Rubio, J. A. (2003). Efecto de la africanización sobre la producción de miel, comportamiento defensivo y tamaño de las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) en el altiplano mexicano. *Veterinaria México*, 34(1), 47-59.
149. Vandame, R., Morand, S., Colin, M. E., & Belzunces, L. P. (2002). Parasitism in the social bee *Apis mellifera*: quantifying costs and benefits of behavioral resistance to *Varroa destructor* mites. *Apidologie*, 33(5), 433-445.
150. Vargas, M., Arismendi, N., Riveros, G., Zapata, N., Bruna, A., Vidal, M., Rodríguez, M., & Gerding, M. (2017). Viral and intestinal diseases detected in

Apis mellifera in Central and Southern Chile. *Chilean journal of agricultural research*, 77(3), 243-249.

151. Wagoner, K., Spivak, M., Hefetz, A., Reams, T., & Rueppell, O. (2019). Stock-specific chemical brood signals are induced by *Varroa* and Deformed Wing Virus and elicit hygienic response in the honey bee. *Scientific reports*, 9(1), 1-14.
152. Yue, C., Schröder, M., Bienefeld, K., & Genersch, E. (2006). Detection of viral sequences in semen of honeybees (*Apis mellifera*): evidence for vertical transmission of viruses through drones. *Journal of invertebrate pathology*, 92(2), 105-108.
153. Yue, C., Schröder, M., Gisder, S., & Genersch, E. (2007). Vertical-transmission routes for deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of General Virology*, 88(8), 2329-2336.
154. Zamora, O., Domínguez, R., Alaniz-Gutierrez, L., & Quezada-Euán, J. J. G. (2008). Frequency of European and African-derived morphotypes and haplotypes in colonies of honey bees (*Apis mellifera*) from NW Mexico. *Apidologie*, 39(4), 388-396.