



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

HEREDABILIDADES Y CORRELACIONES FENOTÍPICAS PARA ALGUNAS
CARACTERÍSTICAS QUE INFLUYEN EN LA RESISTENCIA DE LAS ABEJAS (*Apis
mellifera*) AL CRECIMIENTO POBLACIONAL DEL ÁCARO *Varroa destructor* EN MÉXICO

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

LAURA GUADALUPE ESPINOSA MONTAÑO

TUTOR: PhD ERNESTO GUZMÁN NOVOA

COMITÉ TUTORAL: Dr. CARLOS VÁSQUEZ PELÁEZ
Dr. HUGO MONTALDO VALDENEGRO



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.

DEDICATORIAS

A Dios por darme salud y fortaleza para seguir adelante en la vida

A mi madre quien con su gran sacrificio y ejemplo ha guiado cada paso de mi vida. Gracias mami por tu paciencia, por mis ausencias, por estar siempre a mi lado en las buenas y en las malas, con todo mi amor para ti

A Nancy, Chiquis gracias por apoyarme, por entender y soportar mis malos momentos, distracciones y desatenciones, por cuidar de mi madre cuando estuve fuera, por acompañarme en este difícil trayecto, por tus detalles especiales, para ti con infinito cariño, amor y respeto

A mi familia Carla, Raul, Anita, Trini, Lalo, Tony, Victor, Javier, Rocío, mis niños Diego, Andrea, Mariana, Raulito por estar a mi lado y animarme a seguir luchando

A mi entrañable familia de Mérida mi tierra querida, Doña Conchy, Nínive, Pepe, Conchita, Marijón, Dialet, Pepito, Landy, Nahum, Dominga, Don Pepe, por confiar en mí y darme su cariño

A mis queridos amigos de Mérida, Gely, Ricardo, Luis Medina, Javier Quezada, William, Luis Roberto, Humberto, Jorge González, Chavier, Jorge Marrufo, Carlos Echazarreta, Humberto Fuentes, Diego Cabrera †, sólo quiero decirles que todos ustedes ocupan un espacio muy importante en mi corazón

A mis también muy queridos amigos del DF, Ernesto Tanús, Lupita Saldaña, Antonieta, Jessy, porque nunca dejaron de confiar en mí y porque siempre me animaron

A los que se adelantaron en el camino, mi abuelita †, y mi padre †, por ser la raíz de esta planta que está madurando

AGRADECIMIENTOS

A los Doctores Ernesto Guzmán Novoa, Hugo Montaldo Valdenegro y Carlos Vásquez Peláez por guiar la realización de este trabajo

Al M en C Alejandro Sánchez Albarrán, MVZ Carlos A. Robles Ríos y al Técnico Eusebio Sánchez Castañeda por aportar sus conocimientos y por su apoyo en las evaluaciones de campo

A los MVZ Adriana Ramos Sánchez, Noé Leyva Meneses, Ana María Pérez y Rodrigo Medellín Pico por participar en el desarrollo de este proyecto

Al Dr. Rafael Meléndez Guzmán y la CP Nora N. Rodríguez Muñoz por su orientación en el cálculo de costos y a la Lic. Antonieta Rubín por revisar la redacción del manuscrito

Al M en C José Luis Uribe Rubio por su apoyo en las inseminaciones instrumentales y en el establecimiento de algunas colonias utilizadas en este estudio

Al honorable jurado: Dr. Hugo Montaldo Valdenegro, Dr. Carlos Vásquez Peláez, Dr. Miguel Arechavaleta Velasco, Dr. Gabriel Otero Colina, Dr. Fernando Alba Hurtado, Dr. Ernesto Guzmán Novoa y Dr. Javier Quezada Euán, quienes gracias a sus aportaciones y atinadas recomendaciones, permitieron el enriquecimiento de este documento

A la colega y amiga Adriana Correa por concederme el tiempo y espacio para concluir esta etapa académica

Al Dr. José Luis Dávalos Flores y Dr. Antonio Zozaya Rubio por darme la oportunidad de mejorar mi preparación académica

Un agradecimiento muy especial a mis compañeros y amigos del Departamento de Producción Animal Abejas, Conejos y Organismos Acuáticos (Angy, Luz, Silvia, Anita, Rodri, Chema, Angel G, Andrés, Marce, Daniel, Angel L, Faby, Nidia, Cony, Flor, Gis, Froy, Gloria, Israel, Ricardo, Adriana) por su apoyo siempre incondicional

A los Doctores Ma. Teresa Quintero, Rafael Nuñez y Francisco Galindo quienes formaron parte del jurado del examen de candidatura, por sus valiosas recomendaciones

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM y al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por proveer recursos humanos y materiales para la realización de este trabajo

A la FMVZ-UADY por darme las bases para continuar mi formación académica y sobre todo por aclarar muchos conceptos surgidos durante la realización de este trabajo

A las siguientes instituciones: DGIP-INIFAP (Proyecto 22329), al Programa de de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la DGAPA-UNAM (Proyecto IN222203) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Proyecto SEP-2003-CO2-45528) por el financiamiento otorgado

A todos los que contribuyeron en mi formación.....infinitas gracias

CONTENIDO	Pag.
DEDICATORIAS	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
CAPÍTULO I	1
HEREDABILIDADES Y CORRELACIONES FENOTÍPICAS PARA ALGUNAS CARACTERÍSTICAS QUE INFLUYEN EN LA RESISTENCIA DE LAS ABEJAS (<i>Apis mellifera</i>) AL CRECIMIENTO POBLACIONAL DEL ÁCARO <i>Varroa destructor</i> EN MÉXICO	
1. INTRODUCCIÓN	
1.1 Antecedentes	1
1.2 Desarrollo de abejas genéticamente resistentes a la varroosis	3
1.3 Mecanismos de resistencia de las abejas a <i>V. destructor</i>	4
Comportamiento higiénico	4
Comportamiento de acicalamiento	6
Características que indican inhibición de la reproducción de <i>V. destructor</i>	8
1.4 Justificación	11
3. OBJETIVO	12
4. HIPÓTESIS	13
5. MATERIAL Y MÉTODOS	
5.1. Localización del área de estudio	14
5.2. Establecimiento del apiario experimental	14
5.2.1 Origen de las reinas y zánganos	14
5.2.2 Establecimiento de las colonias experimentales	15
5.2.3 Infestación de las colonias con <i>V. destructor</i>	15
5.3 Evaluación del comportamiento higiénico en colonias de abejas (<i>A. mellifera</i>)	16
5.3.1 Experimento 1. Comparación de tres pruebas para medir el comportamiento higiénico de las abejas	16

5.3.2 Experimento 2. Comparación de dos tiempos de lectura en la prueba de punción	18
5.4 Evaluación del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas (<i>A. mellifera</i>)	19
5.4.1 Determinación de la confiabilidad de un método directo para medir el comportamiento de acicalamiento en dos poblaciones de abejas melíferas	19
5.4.2 Evaluación directa e indirecta del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas melíferas agrupadas en diferentes familias	21
5.5 Evaluación de características asociadas con la inhibición de la reproducción de <i>V. destructor</i> en colonias de <i>A. mellifera</i> agrupadas en diferentes familias	22
5.6 Evaluación del desarrollo poblacional de <i>V. destructor</i> en colonias de <i>A. mellifera</i> agrupadas en diferentes familias	24
5.7 Estimación de coeficientes de heredabilidad de las características relacionadas con la resistencia de las abejas a <i>V. destructor</i> en México	25
5.8 Estimación de correlaciones fenotípicas entre variables que confieren resistencia a las abejas contra <i>V. destructor</i> con variables del desarrollo poblacional del ácaro	27
6 RESULTADOS	
6.1 Evaluación del comportamiento higiénico en colonias de abejas (<i>A. mellifera</i>)	28
6.1.1 Experimento 1. Comparación de tres pruebas para medir el comportamiento higiénico de las abejas	28
6.1.2 Experimento 2. Comparación de dos tiempos de lectura para la prueba de punción	29
6.2 Evaluación del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas (<i>A. mellifera</i>)	29
6.2.1 Confiabilidad de un método directo para medir el comportamiento de acicalamiento en dos poblaciones de abejas melíferas	29
6.2.2 Evaluación directa e indirecta del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas agrupadas en diferentes familias	29
6.2.3 Correlaciones fenotípicas entre variables de respuesta del comportamiento de acicalamiento con las del comportamiento higiénico	30
6.3 Evaluación de características asociadas con la inhibición de la reproducción de <i>V. destructor</i> en colonias de <i>A. mellifera</i> agrupadas en diferentes familias	31
Correlaciones fenotípicas entre variables de respuesta de características de inhibición de la reproducción de varroa con las variables de respuesta del	

comportamiento de acicalamiento y con las del comportamiento higiénico	31
6.4 Evaluación del desarrollo poblacional de <i>V. destructor</i> en colonias de <i>A. mellifera</i> agrupadas en diferentes familias	31
6.5 Heredabilidades de características relacionadas con la resistencia de las abejas a <i>V. destructor</i>	32
6.6 Correlaciones fenotípicas entre las variables que confieren resistencia a las abejas contra <i>V. destructor</i> con variables del desarrollo poblacional del ácaro	35
7 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	
7.1 Evaluación del comportamiento higiénico en colonias de abejas (<i>A. mellifera</i>)	37
7.1.1 Experimento 1. Comparación de tres pruebas para medir el comportamiento higiénico de las abejas	37
7.1.2 Experimento 2. Comparación de dos tiempos de lectura para la prueba de punción	39
7.2 Evaluación del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas (<i>A. mellifera</i>)	40
7.2.1 Confiabilidad de un método directo para medir el comportamiento de acicalamiento en dos poblaciones de abejas melíferas	40
7.2.2 Evaluación directa e indirecta del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas agrupadas en diferentes familias	41
7.2.3 Correlaciones fenotípicas entre variables de respuesta del comportamiento de acicalamiento con las del comportamiento higiénico	42
7.3 Evaluación de características asociadas con la inhibición de la reproducción de <i>V. destructor</i> en colonias de <i>A. mellifera</i> agrupadas en diferentes familias	44
Correlaciones fenotípicas entre variables de respuesta de las características de inhibición de la reproducción de varroa con las variables de respuesta del comportamiento de acicalamiento y con las del comportamiento higiénico	45
7.4 Evaluación del desarrollo poblacional de <i>V. destructor</i> en colonias de <i>A. mellifera</i> agrupadas en diferentes familias	45
7.5 Heredabilidades de características relacionadas con la resistencia de las abejas a <i>V. destructor</i>	47
7.6 Correlaciones fenotípicas entre variables que confieren resistencia a las abejas contra <i>V. destructor</i> con variables del desarrollo poblacional del ácaro	50
7.7 Conclusiones	53

8. REFERENCIAS	55
9. CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS	66

LISTA DE CUADROS CAPÍTULO I

	Pag.
Cuadro 1. Correlaciones para las respuestas de comportamiento higiénico obtenidas de 60 colonias de abejas melíferas evaluadas con tres pruebas: congelación lenta, congelación rápida y punción	67
Cuadro 2. Estadísticas descriptivas del comportamiento higiénico en 60 colonias de abejas melíferas evaluadas con tres pruebas: congelación lenta, congelación rápida y punción	68
Cuadro 3. Número medio y (%) de colonias de abejas melíferas clasificadas como de bajo, intermedio o alto comportamiento higiénico luego de ser evaluadas con tres pruebas: congelación lenta, congelación rápida y punción	69
Cuadro 4. Costo estimado, tiempo invertido y número de visitas requeridas por colonia para aplicar las pruebas de congelación lenta, congelación rápida y punción, con el fin de evaluar el comportamiento higiénico de colonias de abejas melíferas en Villa Guerrero,	70
Cuadro 5. Estadísticas descriptivas por medición y general, de mecanismos que confieren resistencia a las abejas melíferas contra <i>V. destructor</i> y de características del desarrollo poblacional del ácaro	71
Cuadro 6. Correlaciones fenotípicas entre variables de inhibición de la reproducción de <i>V. destructor</i> y variables del comportamiento higiénico y del comportamiento de acicalamiento, evaluadas en 57 colonias de <i>A. mellifera</i>	72
Cuadro 7. Componentes de varianza, logaritmos de verosimilitud y coeficientes de heredabilidad* (\pm E.E.) de características de resistencia a <i>V. destructor</i> en poblaciones de abejas melíferas en México (*datos transformados)	73
Cuadro 8. Componentes de varianza, logaritmos de verosimilitud y coeficientes de heredabilidad* (\pm E.E.) de características de resistencia a <i>V. destructor</i> en poblaciones de abejas melíferas en México (*datos no transformados)	74
Cuadro 9. Correlaciones fenotípicas entre mecanismos de resistencia de las abejas a <i>V. destructor</i> y características del desarrollo poblacional del ácaro	75

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO I

	Pag.
Figura 1. Esquema sintetizado de cruzamientos y relaciones de parentesco entre abejas obreras dentro y entre colonias de diferentes familias.	76
Figura 2. Esquema del bastidor de plástico y del marco de madera para realizar la evaluación directa del comportamiento de acicalamiento.	77
Figura 3. Distribución de la respuesta higiénica (%) expresada por 60 colonias de abejas melíferas después de aplicar la prueba de congelación lenta.	78
Figura 4. Distribución de la respuesta higiénica (%) expresada por 60 colonias de abejas melíferas después de aplicar la prueba de congelación rápida.	79
Figura 5. Distribución de la respuesta higiénica (%) expresada por 60 colonias de abejas melíferas después de aplicar la prueba de punción.	80
Figura 6. Porcentaje promedio de comportamiento higiénico (\pm E.E.) de 50 colonias de abejas melíferas tras la aplicación de tres tratamientos: punción de la cría, desoperculación sin daño a la cría y testigo.	81
Figura 7. Tiempo medio (s) \pm E.E. para el inicio del comportamiento de acicalamiento de abejas melíferas evaluadas con tres tratamientos: sin varroa (testigo), con varroa y con harina.	82
Figura 8. Tiempo medio (s) \pm E.E. para el inicio del comportamiento de acicalamiento de abejas africanizadas (AA) y europeas (AE) evaluadas con tres tratamientos: sin varroa (testigo), con varroa y con harina.	83
Figura 9. Evolución de la tasa de reproducción verdadera (TRV \pm E.E.) y del porcentaje de infertilidad de <i>V. destructor</i> (VFI \pm E.E) en 57 colonias de <i>A. mellifera</i> , durante cinco mediciones mensuales realizadas entre octubre (oct) y febrero (feb) de 2004 en Villa Guerrero, México.	84

Figura 10. Evolución del porcentaje de infestación de las abejas adultas (IA \pm E.E.), de las crías (IC \pm E.E.) y del número de ácaros caídos/día (CNDA \pm E.E.) de <i>V. destructor</i> durante cinco mediciones mensuales realizadas entre octubre (oct) y febrero (feb) de 2004 en Villa Guerrero, México.	85
Figura 11. Respuestas higiénicas promedio (% de remoción de cría congelada \pm E.E.) con la prueba de congelación rápida en 10 grupos de familias diferentes.	86
Figura 12. Respuestas higiénicas promedio (% de remoción de cría puncionada \pm E.E.) en 10 grupos de familias diferentes.	87
Figura 13. Porcentaje promedio de varroas fundadoras infértiles (\pm E.E.) en 10 grupos de familias diferentes.	88
Figura 14. Número medio de ácaros caídos naturalmente/día (\pm E.E.) en 10 grupos de familias diferentes.	89
Figura 15. Porcentaje promedio de infestación en las crías de las abejas (\pm E.E.) en 10 grupos de familias diferentes.	90
Figura 16. Niveles promedio de infestación en abejas adultas (\pm E.E.) en 10 grupos de familias diferentes.	91

LISTA DE ANEXOS CAPÍTULO I

	Pag.
Anexo 1. Número inicial de colonias evaluadas por familia (grupo genético)	92
Anexo 2. Identificación (letra y número) de las ocho colonias pertenecientes a 10 familias de abejas melíferas que manifestaron mayor expresión para características que podrían conferir resistencia contra el ácaro <i>V. destructor</i>	93
Anexo 3. Identificación (letra y número) de las ocho colonias pertenecientes a 10 familias de abejas melíferas que manifestaron menor expresión para características que podrían conferir resistencia contra el ácaro <i>V. destructor</i>	94

	Pag.
CAPÍTULO II	95
EFICACIA DE DOS ACARICIDAS NATURALES, ÁCIDO FÓRMICO Y TIMOL, PARA EL CONTROL DEL ÁCARO <i>Varroa destructor</i> DE LAS ABEJAS (<i>Apis mellifera</i> L.) EN VILLA GUERRERO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO	
RESUMEN	95
ABSTRACT	96
MATERIAL Y MÉTODOS	97
RESULTADOS	100
DISCUSIÓN	101
REFERENCIAS	104
CUADROS Y FIGURAS	106

LISTA DE CUADROS CAPITULO II

	Pag.
Cuadro 1. Análisis de varianza para efectos de tratamiento, aplicación e interacción (tratamiento-aplicación), de dos acaricidas naturales usados para el control de <i>V. destructor</i> en colonias de abejas melíferas. Los tratamientos fueron ácido fórmico (65%), timol a concentración sencilla (12.5 g), timol a doble concentración (25 g) y colonias testigo (que no recibieron acaricida)	107
Cuadro 2. Número promedio (\pm E.E.) de ácaros de <i>V. destructor</i> recolectados en 34 colonias de abejas melíferas después de dos aplicaciones de tres tratamientos naturales, uno testigo (sin acaricida) y uno de finalización (flumetrina)	108
Cuadro 3. Comparación de costos estimados (M.N.) para diferentes tratamientos contra <i>V. destructor</i> aplicados a 34 colonias de abejas melíferas en Villa Guerrero, Estado de México	109

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO II

	Pag.
Figura 1. Eficacia promedio ($\% \pm$ E.E.) de tres tratamientos y uno testigo (sin acaricida) contra <i>V. destructor</i> aplicados dos o más veces en colonias de abejas melíferas. La eficacia se determinó con respecto al acaricida flumetrina.	110

RESUMEN

Se estimaron heredabilidades y correlaciones fenotípicas para algunas características que influyen en la resistencia de abejas (*Apis mellifera*) al crecimiento poblacional del ácaro *Varroa destructor*. Se establecieron 60 colonias con abejas reinas presumiblemente no relacionadas y divididas en 10 grupos. Para crear condiciones semejantes a un sistema diploide y realizar un análisis de colonias medio-hermanas, las reinas vírgenes de cada grupo fueron inseminadas con una mezcla de semen de aproximadamente 40 zánganos. Los zánganos se obtuvieron a partir de 10 abejas reinas proporcionadas por diferentes criadores de México. Las colonias fueron inicialmente tratadas con un acaricida químico para que quedaran con muy bajos niveles de infestación. Posteriormente, cada colonia fue infestada con 100 ácaros adultos para homologar las cargas parasitarias. Las evaluaciones iniciaron un mes después de las infestaciones y consistieron en medir variables del comportamiento higiénico (porcentajes de remoción de crías sacrificadas por punción y por dos técnicas de congelación) y del comportamiento de acicalamiento de las abejas (tiempo de reacción de abejas a varroa, porcentaje de ácaros lesionados); así como de características reproductivas de varroa (tasa de reproducción verdadera, porcentaje de varroas fundadoras infértiles) y del desarrollo poblacional del ácaro (porcentajes de infestación en crías y de abejas adultas, número de ácaros caídos/día). Se estimaron correlaciones fenotípicas, componentes de varianza con el método de máxima verosimilitud restringida (REML) y heredabilidades [$h^2 = 3.90 (V \text{ grupo})/V \text{ total}$]. Se obtuvieron $h^2 > 0.5$ para ácaros caídos/día, infestación en abejas adultas y en crías y para %remoción de crías sacrificadas con nitrógeno líquido. Aparentemente el acicalamiento tuvo mayor impacto en inhibir el crecimiento poblacional de varroa ($r = -0.29$ entre %ácaros lesionados y %infestación en crías, $P < 0.05$), ($r = -0.75$ entre %ácaros lesionados y %infestación en abejas adultas, $P < 0.01$). La ausencia de correlación fenotípica entre otros mecanismos de resistencia estudiados con variables del crecimiento poblacional del ácaro, hacen suponer que la resistencia de las abejas parece estar regulada por múltiples factores. Los resultados indican que podría iniciarse un programa de selección para abejas resistentes al parásito a partir de características del desarrollo poblacional de varroa.

Palabras clave: *Apis mellifera* / *Varroa destructor* / heredabilidades / correlaciones fenotípicas / resistencia / México.

ABSTRACT

Heritabilities and phenotypic correlations for some characteristics that influence honeybees (*Apis mellifera*) resistance to the population growth of the mite *Varroa destructor* were estimated. 60 honeybee colonies with presumably non related queens were established and divided in 10 groups. In order to create conditions similar to a diploid system and carry out a half-sib analysis, the virgin queens of each group were inseminated with mixed semen collected from about 40 drones. Drones were collected from 10 queens provided by different queen breeders from Mexico. The colonies were initially treated with a chemical miticide to reduce mite infestation levels. Later, each colony was artificially infested with 100 adult mites to get uniform mite populations. Evaluations began one month after the infestations and variables of bee's hygienic behavior (percentage of brood removed by pin killing and two freeze killing methods), grooming behavior (time reaction of adult bees to varroa, percentage of damaged mites); as well as reproductive characteristics of varroa (actual reproduction rate, percentage infertile founder mites) and of varroa population growth (percentages of brood and adult infestations, number of daily falling mites) were measured. Phenotypic correlations, variance components using restricted maximum likelihood (REML) and heritabilities [$h^2 = 3.90 (V \text{ group})/V \text{ total}$] were estimated. $h^2 > 0.5$ ($P < 0.01$) resulted for daily mite fall, infestations in adult bees and brood and for % of brood removed after being killed with liquid nitrogen. Apparently, grooming behavior had greatest influence in restrain varroa population growth ($r = -0.29$ between %damaged mites and %brood infestation, $P < 0.05$), ($r = -0.75$ between %damaged mites and %adult infestation, $P < 0.01$). The lack of phenotypic correlation between the other mechanisms of resistance studied with variables of mite population growth, gives the assumption that resistance of honeybees seems to be regulated by multiple factors. Results show that it could be initiated a selection program of honeybees resistant to the parasite, starting from characteristics of varroa population development.

Key words: *Apis mellifera* / *Varroa destructor* / heritabilities / phenotypic correlations / resistance / Mexico.

CAPITULO I

HEREDABILIDADES Y CORRELACIONES FENOTÍPICAS PARA ALGUNAS CARACTERÍSTICAS QUE INFLUYEN EN LA RESISTENCIA DE LAS ABEJAS (*Apis mellifera*) AL CRECIMIENTO POBLACIONAL DEL ÁCARO *Varroa destructor* EN MÉXICO

1. INTRODUCCIÓN

La apicultura en México tiene importancia socioeconómica y ecológica. Datos de la FAO (2006) indican que en 2004 se produjeron 56,808 toneladas de miel, de las cuales se exportaron 23,374, que generaron divisas del orden de los 57 millones de dólares. La venta de miel no sólo ha permitido que los cerca de 40,000 apicultores del país (Ortega y Ochoa 2004) complementen sus ingresos familiares, sino que también ha favorecido económicamente a todas las personas que indirectamente se ven involucradas en la cadena productiva, tales como comercializadores, fabricantes de equipo, de cosméticos e industriales de productos alimenticios. Adicionalmente, la polinización que realizan las abejas melíferas contribuye al equilibrio ecológico de muchas especies vegetales silvestres. En los cultivos agrícolas mexicanos se incrementa a tal grado su producción y calidad, que el valor económico llega a superar los 2,000 millones de dólares anuales (Guzmán-Novoa 1996). Actualmente el desarrollo de la apicultura se ve limitado por una gran diversidad de problemas, siendo los ocasionados por el parásito *Varroa destructor* de los más importantes para el productor apícola mexicano (Cajero 1999, SAGAR 2000).

1.1 Antecedentes

La varroosis es una parasitosis externa de las abejas melíferas (*Apis mellifera*) (Linnaeus 1758) causada por el ácaro *Varroa destructor* (Anderson y Trueman 2000). El ácaro es considerado el problema sanitario más importante que enfrenta la actividad apícola a nivel mundial, ya que en muchas regiones se ha registrado una elevada mortalidad de colonias. Las varroas¹ adultas utilizan a las abejas como medio de transporte e ingresan a las celdas con crías para reproducirse, ocasionándoles daño directo porque se alimentan de su hemolinfa (Beetsma 1994, De Jong 1997). Asimismo, el ácaro ha sido identificado como vector de enfermedades virales de las abejas; tal es el caso de la parálisis aguda y la cría ensacada (Ball 1993), e igualmente se ha asociado con el desarrollo de enfermedades bacterianas (Glinski y Jarosz 1992, Ball 1994).

¹ A lo largo de este documento se utiliza el término "varroa(s)" (De Jong 1997) con referencia al ácaro *V. destructor*, evitando con ello la repetición continua del nombre científico.

El daño que la varroosis causa depende, en parte, del grado de infestación de las colonias afectadas. Informes de otros países estiman que el efecto negativo sobre la productividad comienza cuando la población de ácaros alcanza el 10% de las abejas adultas en una colonia, y cuando la infestación supera el 30% o el equivalente a 10,000-20,000 ácaros, la colonia sucumbe (Moretto *et al.* 1991, Beetsma 1994, De Jong 1997). El desarrollo de las crías parasitadas se ve afectado, produciéndose abejas con menor peso corporal (De Jong *et al.* 1982a) y menor longevidad (De Jong y De Jong 1983), de tal forma que las colonias se debilitan y se reduce de la producción de miel y la de otros productos de la colmena.

En México, el primer informe de *V. destructor* se presentó en el estado de Veracruz en 1992 (Chihu *et al.* 1992), mientras que en el Estado de México fue a principios de 1994 (Arechavaleta y Guzmán-Novoa 2000). En la actualidad prácticamente se encuentra distribuido en todo el país. A raíz de la presencia del ácaro, los apicultores manifestaron pérdidas por mortalidad de colonias que oscilaron entre el 5 y 80% (Vázquez 1997, Medina 1998). Más tarde Arechavaleta y Guzmán-Novoa (2000) demostraron el daño que *V. destructor* puede causar a la producción de miel en México. En su estudio compararon la producción de miel de colonias tratadas con el acaricida fluvalinato con la de colonias parasitadas que no recibieron tratamiento. Al final de la floración, el grupo de colonias tratadas produjo significativamente más miel (65.5%) y presentó niveles menores de infestación. Por lo anterior, la varroosis representa un problema para la apicultura del país.

Para lograr cierto grado de control de *V. destructor* y minimizar sus efectos negativos, las colonias infestadas son tratadas con acaricidas químicos formulados a partir de diferentes principios activos, entre los que se encuentran el amitraz, coumaphos, fluvalinato y flumetrina. El uso de estos productos tiene inconvenientes; ninguno elimina completamente al parásito y se han detectado casos donde el ácaro ha desarrollado resistencia (Koeniger y Fuchs 1988, Eischen 1995, Milani 1999, Thompson *et al.* 2002). Se ha verificado que este tipo de acaricidas pueden dejar residuos en la miel y cera (Faucon y Flamini 1990, Slabezki *et al.* 1991, Wallner 1995), lo cual ha generado amenazas de cierre de mercados para las mieles mexicanas que se exportan a Europa. Algunos acaricidas pueden ser tóxicos tanto para las abejas como para el hombre, o inclusive, pueden ser carcinogénicos (Koeniger y Fuchs 1988). Se ha afirmado que el tratamiento con estos productos incrementa los costos de producción de miel y de otros productos de las abejas, tanto por el precio del acaricida como por el tiempo y mano de obra invertidos, lo que provoca una reducción en la rentabilidad de la actividad apícola.

Debido a los riesgos y desventajas asociados con el uso de productos químicos y a que no es factible la erradicación del parásito, la apicultura requiere opciones para mantener colonias de abejas con niveles bajos de infestación que permitan mantener la producción. Una alternativa que tendría efectos más permanentes, podría ser el desarrollo de abejas resistentes² al ácaro. Esto puede lograrse vía selección natural sin aplicar tratamientos a las colonias o por medio de

² Se considera como "resistencia" una respuesta adaptativa del huésped tendiente a contrarrestar el desarrollo del parásito, en cambio "tolerancia", implica que el huésped soporta los daños causados por el parásito (Vandame *et al.* 2002).

programas de selección dirigidos a reproducir las colonias más resistentes (Guzmán-Novoa y Correa 1996). Diversos investigadores han intentado desarrollar abejas resistentes a enfermedades como la loque americana (Park 1937, Rothenbuhler 1964a, 1964b), la acariosis (Adam 1987, Page y Gary 1990), la parálisis (Kulincevic y Rothenbuhler 1975) y la varroosis (De Guzmán *et al.* 1991, Harbo y Harris 2001, Rinderer *et al.* 2001, Spivak y Reuter 2001, Szabo y Szabo 2001); sin embargo, los resultados esperados no se consiguen en corto tiempo, por lo que adicionalmente se requieren soluciones a corto plazo para el control del parásito.

Entre las alternativas a corto plazo se encuentra el uso de acaricidas naturales tales como los ácidos oxálico, láctico y fórmico, así como los aceites esenciales timol, eucaliptol, mentol y alcanfor. Estos productos se formulan a partir de sustancias orgánicas que se encuentran naturalmente en la miel o en algunas plantas y se caracterizan por tener baja toxicidad y bajo impacto ambiental, ya que no dejan residuos en la miel o bien sus residuos se degradan o volatilizan en poco tiempo (Bogdanov *et al.* 1998, Mattila y Otis 1999). De los productos naturales mencionados, destacan por su eficacia contra varroa el ácido fórmico (Calderone y Nasr 1999, Stanghellini y Raybold 2004) y el timol, mismo que se extrae de la planta aromática llamada tomillo (*Thymus vulgaris*) (Chiesa 1991, Imdorf *et al.* 1999, Melathopoulos y Gates 2003).

1.2 Desarrollo de abejas genéticamente resistentes a la varroosis

Desarrollar abejas genéticamente resistentes a la varroosis es posible, siempre y cuando en las poblaciones de abejas existan características que les confieran resistencia y que su expresión sea variable e influida por efectos genéticos aditivos. Existen referencias de poblaciones de abejas resistentes a la varroosis que se han fundamentado en la desigualdad de daños causados por el ácaro. Los daños han sido más severos en colonias europeas establecidas en climas fríos, a diferencia de colonias africanizadas situadas en climas tropicales (De Jong *et al.* 1984, Moretto *et al.* 1991). Particularmente en Brasil, que cuenta con abejas africanizadas y clima tropical, los niveles de infestación del ácaro se han mantenido relativamente bajos, por lo que la varroosis no representa un grave problema para la apicultura brasileña; de hecho, los apicultores no utilizan tratamientos o métodos de control (Moretto *et al.* 1995). Lo anterior sugiere que las abejas africanizadas pudieran tener cierto grado de resistencia a varroa, que existen ácaros menos patogénicos y/o que hay efectos ambientales que traen como consecuencia una menor virulencia del parásito.

Estudios realizados en México demuestran que existe variación en el crecimiento poblacional de los ácaros entre colonias de distintas regiones del país (Arechavaleta y Guzmán-Novoa 2001). Los factores que influyen en esta variación incluyen el tipo de abeja (africanizada o europea) y el tipo de clima (García-Millán 1994, Mayagoitia y Otero-Colina 1995, Vandame *et al.* 1995, Guzmán-Novoa *et al.* 1996, Medina 1998), lo cual es similar a lo que sucede en Brasil. Las abejas

africanizadas y los climas cálidos y húmedos influyen en mantener un menor crecimiento de las poblaciones de ácaros (Guzmán-Novoa *et al.* 1999). Algunos estudios sugieren que la resistencia de las abejas africanizadas y europeas en México, podría ser relativamente menor que la de las abejas en Brasil. En México, los niveles de infestación hasta ahora encontrados son más altos que el 1 a 3% diagnosticado en Brasil (Moretto *et al.* 1995, Guzmán-Novoa *et al.* 1999). Diversos trabajos han mostrado que algunas características tales como la infestación en crías, la infestación en abejas adultas o la mortalidad de varroa, pueden ser utilizadas como indicadores directos o naturales de resistencia al crecimiento poblacional de varroa ya que presentan coeficientes de heredabilidad altos. Harbo y Harris (1999) en Estados Unidos encontraron que la heredabilidad (h^2) para la proporción de ácaros en las crías fue de 1.24 ± 0.49 . Por otro lado, en México, la h^2 para el nivel de infestación en abejas adultas se encuentra entre 0.36 y 0.91 (Arechavaleta 1998; Utrera y Cervantes 1999).

1.3 Mecanismos de resistencia de las abejas a *V. destructor*

Los primeros estudios sobre resistencia a varroa fueron realizados en la especie de abeja *Apis cerana* (Fabricius 1793), que se identificó como huésped original del parásito *Varroa jacobsoni* (Oudemans 1904) con el que ha logrado una relación equilibrada debido al largo tiempo de coexistencia. Posteriormente, las investigaciones se dirigieron a la evaluación de *A. mellifera*, especie que se posee algunos mecanismos de defensa contra *V. destructor*, lo que da esperanzas de poder desarrollar abejas resistentes. Entre estos mecanismos destacan los siguientes:

Comportamiento higiénico. Se refiere a la capacidad de algunas abejas adultas para detectar, desopercular y remover larvas o pupas enfermas o muertas de las celdas (Rothenbuhler 1964a); por ello, este comportamiento ha sido identificado como uno de los principales mecanismos responsables de conferir resistencia a las abejas melíferas contra parásitos y patógenos (Büchler 1997, Spivak y Downey 1998). Park (1936) y Rothenbuhler (1964a) demostraron que las abejas retiran crías muertas por *Paenibacillus larvae* (loque americana), mientras que otros investigadores encontraron que algunas abejas remueven crías afectadas por *Ascosphaera apis* (cría de cal) (Gilliam *et al.* 1983, Masterman *et al.* 2000), y crías infestadas con el ácaro *V. destructor* (Boecking y Drescher 1992, Spivak 1996, Spivak y Reuter 1998b), lo cual restringe su reproducción y limita su crecimiento poblacional. En este sentido, Büchler (1992) encontró una correlación negativa entre el grado de comportamiento higiénico y la susceptibilidad a varroa en cuatro líneas de abejas. Por otro lado, Vandame *et al.* (1998) observaron que las abejas africanizadas fueron cuatro veces más higiénicas que las europeas, mientras que Arechavaleta y Guzmán-Novoa (2001) encontraron que además del comportamiento de acicalamiento, el comportamiento higiénico fue la segunda característica en restringir el desarrollo poblacional de los ácaros.

Se sabe que la expresión del comportamiento higiénico es variable, lo que se debe en parte a la influencia de factores ambientales, entre los que se destacan: la edad de las crías removidas (Message y Gonçalves 1979), la abundancia de abejas adultas y crías en las colonias, así como el incremento en la cantidad de néctar recolectado por las abejas (Spivak y Gilliam 1993, Spivak *et al.* 1995, Spivak y Gilliam 1998).

Por otra parte, el comportamiento higiénico es influido por efectos genéticos. Las bases genéticas de este comportamiento fueron estudiadas por Rothenbuhler (1964b), quien propuso como explicación la influencia de dos *loci* diferentes, uno relacionado con la desoperculación y otro con la remoción de las crías afectadas. Más tarde, se realizaron otros trabajos que afirmaron que la herencia de este carácter seguía un modelo más complejo (Moritz 1988), ya que se mapearon siete *loci* que influyen en su expresión (Lapidge *et al.* 2002). Otros estudios han demostrado que el comportamiento higiénico es heredable ($h^2 = 0.65$ y 0.81), lo cual permitiría desarrollar líneas o estirpes de abejas higiénicas en programas de mejoramiento genético (Harbo y Harris 1999, Arechavaleta y Hunt 2004).

Los métodos que en la actualidad se utilizan para evaluar el comportamiento higiénico se basan en sacrificar un determinado número de pupas (crías cerradas u operculadas), con la finalidad de estimar la proporción de éstas, que es removida por las abejas obreras de una colonia. Los procedimientos utilizados para sacrificar a las crías operculadas incluyen la punción por medio de un alfiler entomológico, con el que se perfora tanto el opérculo, como la pupa en desarrollo (Newton y Ostasiewski 1986) y dos tipos de congelación: uno mediante la introducción de una sección de panal con crías operculadas en un congelador a -18°C por un mínimo de 24 h (Newton *et al.* 1975), y otro a través de la aplicación de nitrógeno líquido sobre el panal, lo que produce una muerte instantánea de las crías (Spivak y Reuter 1998a).

Estas pruebas ya se han aplicado en México (Espinosa 1998, Arechavaleta y Guzmán 2001, Medina y Medina 2003); sin embargo, no hay información referente a trabajos que evalúen comparativamente la confiabilidad de métodos para medir este comportamiento, esto es, su capacidad para diferenciar colonias altamente higiénicas de las poco higiénicas (capacidad discriminatoria), ni se han estimado sus costos y facilidad de aplicación.

Comportamiento de acicalamiento. El acicalamiento constituye una estrategia que emplean los vertebrados y artrópodos para remover ectoparásitos de su superficie corporal (Aumeier 2001). En el caso de las abejas, este comportamiento consiste en que las obreras realizan una serie de movimientos vigorosos del tórax y abdomen, y se acicalan con sus patas y mandíbulas para liberarse del ácaro *varroa* que acarrearán sobre el cuerpo (auto-acicalamiento). Si esta acción no tiene resultado, pueden ejecutar un baile para atraer a otras obreras del nido para que participen en la remoción del parásito (alo-acicalamiento) (Peng *et al.* 1987). En muchas ocasiones, las abejas lesionan a los ácaros con las mandíbulas, los tiran al piso o los sacan de la colmena, por lo

que muchos de ellos mueren durante este proceso; de esta forma decrece la carga parasitaria en las colonias (Moritz y Mautz 1990, Ruttner y Hänel 1992). Algunos autores han determinado que el comportamiento de acicalamiento de las abejas constituye uno de los mecanismos más importantes de defensa y resistencia contra *V. destructor* (Harbo y Hoopingarner 1997, Guzmán-Novoa *et al.* 1999), mientras que otros investigadores han cuestionado el efecto de este comportamiento *per se*, sobre el crecimiento poblacional del parásito, ya que han señalado que tras el acicalamiento, el ácaro únicamente cambia de huésped, sin ser removido de la colmena o matado por las abejas, de tal manera que el ácaro puede continuar con su ciclo de desarrollo (Fries *et al.* 1996, Aumeier 2001, Vandame *et al.* 2002).

Para evaluar el comportamiento de acicalamiento se han aplicado métodos que en general pueden catalogarse como indirectos y directos. Los métodos indirectos consisten en colocar trampas en el piso de las colmenas, donde se recolectan y cuentan los ácaros que caen, así como los que presentan lesiones (Ritter 1981, Fries *et al.* 1991, De Jong 1997). Posteriormente los ácaros son clasificados de acuerdo con el tipo de lesiones que exhiben. El tipo de daño más frecuente corresponde a la amputación total o parcial de las patas o sus ventosas, siguiendo las mutilaciones del idiosoma como rajaduras o mordeduras, hundimientos del escudo dorsal y la ausencia total o parcial de escudos ventrales. Cabe destacar que estos dos últimos tipos de lesiones, no se consideran causados directamente por el comportamiento de acicalamiento, ya que estos daños también pueden ser ocasionados por el comportamiento higiénico (Ruttner y Hänel 1992, Boecking y Ritter 1993, Flores *et al.* 1995, Correa-Marques y De Jong 1996, Espinosa 1998).

Harbo y Harris (1999) afirmaron que los daños físicos que presentan los ácaros no contribuyen en el descenso de sus propias poblaciones; además verificaron que la heredabilidad de esta característica fue marginal (0 y 0.17), por lo que su perspectiva como herramienta de selección pudiera ser pobre. En México también se ha evaluado indirectamente el comportamiento de acicalamiento. Vandame *et al.* (2002) comprobaron que las colonias de abejas africanizadas presentaron significativamente mayor número de ácaros con lesiones, a diferencia de colonias de abejas europeas y que la mayor parte de los daños se localizaron en las patas. Por otro lado, aunque Espinosa (1998) observó ácaros mutilados en colonias de abejas africanizadas estudiadas en Yucatán, no encontró que esta característica tuviera efecto sobre la dinámica poblacional de varroa. Por el contrario, Arechavaleta y Guzmán-Novoa (2001) comprobaron que de cuatro mecanismos estudiados, el acicalamiento fue el que tuvo el mayor impacto en inhibir el desarrollo poblacional de varroa en colonias de abejas cuyas reinas procedieron de diferentes criaderos de la república mexicana. Las colonias con menores niveles de infestación fueron las que eliminaron más ácaros y el número de ácaros lesionados fue significativamente mayor en las colonias donde la población de varroa creció a un menor ritmo. Una correlación negativa y altamente significativa entre ácaros lesionados y niveles de infestación apoya esta inferencia.

A pesar de que el método indirecto aparenta ser simple, se ha cuestionado su confiabilidad (Fries *et al.* 1996, Rosenkranz *et al.* 1997, Boecking y Spivak 1999). Se ha señalado que los ácaros

recolectados de las trampas de piso, no sólo pueden caer por efecto del acicalamiento de las abejas, sino también por muerte natural, por caída accidental al moverse de una abeja a otra o al momento en que la abeja emerge, así como por la limpieza que las abejas realizan al interior de las celdas infestadas removiendo ácaros muertos o débiles. Adicionalmente, se ha llegado a suponer que las lesiones en los ácaros pueden ser causadas por hormigas, escarabajos u otros insectos que entran en las colmenas (Szabo y Walker 1995, Lodesani *et al.* 1996, Moretto 2002).

Por lo que respecta a los métodos directos, éstos se han realizado básicamente a través de la infestación artificial de abejas obreras con hembras adultas de varroa. Posterior a la colocación del ácaro sobre el cuerpo de un determinado número de abejas, las reacciones de éstas son evaluadas visualmente a través del vidrio de una colmena de observación, durante un periodo previamente establecido. Los primeros trabajos tendientes a evaluar el comportamiento de acicalamiento de las abejas ante el estímulo de varroa, fueron realizados por observación directa comparando las especies *A. cerana* y *A. mellifera*. En ellos se pudo comprobar que una menor proporción de las abejas *A. mellifera* reaccionaron al ácaro y generalmente fallaron en removerlo del cuerpo (Peng *et al.* 1987, Ruttner y Hänel 1992, Büchler *et al.* 1992). Más tarde, en Brasil, Moretto *et al.* (1993) compararon poblaciones de abejas africanizadas y europeas y encontraron que en un periodo de 30 minutos, las abejas de origen africano fueron siete veces más eficientes en remover a los ácaros colocados artificialmente sobre sus cuerpos. Estos mismos autores calcularon una $h^2 = 0.71$, lo que sugiere que la selección para esta característica es factible; no obstante, el método para estimar este parámetro es cuestionable, pues utilizaron reinas de libre fecundación por lo que no tuvieron control del origen y del número de zánganos para los cruzamientos.

En México, Vandame *et al.* (2002) también compararon colonias de abejas africanizadas y europeas. En su estudio encontraron que el 80% de las abejas africanizadas y el 57% de las abejas europeas se acicalaron durante los primeros 30 segundos después de colocarles una varroa sobre el tórax. Estos trabajos sugieren que las abejas africanizadas pueden, a través de este comportamiento, mantener un menor número de ácaros dentro de las colonias a diferencia de abejas de origen europeo.

Sin duda, la observación directa de las abejas puede proporcionar evidencia de diferencias en el comportamiento de acicalamiento entre diferentes genotipos; no obstante, los métodos diseñados son laboriosos porque se necesita poblar y dar mantenimiento continuo a un determinado número de colmenas de observación, se requiere una manipulación cuidadosa de las abejas a medir, así como tiempo y agudeza visual para observarlas individualmente entre el gran cúmulo de abejas que las rodean (Aumeier 2001).

Características que indican inhibición en la reproducción de *V. destructor*. Las alteraciones que ocurren en la fase reproductiva de varroa pueden presentarse en diferentes etapas del proceso y pueden afectar tanto la fertilidad de las varroas progenitoras como la fecundidad de su

descendencia, lo que a su vez, limita el crecimiento poblacional del ácaro.

La reproducción del parásito se lleva a cabo cuando las abejas se encuentran en fase de cría. Los ácaros hembras fundadoras (madres) ingresan a las celdas poco antes de ser operculadas y se alimentan de la hemolinfa de la pupa en desarrollo. Alrededor de 60 h después de la operculación, el ácaro deposita su primer huevo que da origen a un macho, en tanto que los siguientes son puestos a intervalos de aproximadamente 30 horas y dan origen a hembras (De Jong 1997). En condiciones normales, cada fundadora puede depositar como máximo seis huevos en celdas de obreras y siete en celdas de zánganos (Ifantidis 1990). Posteriormente, los descendientes pasan por los estadios de protoninfa, deutoninfa y adulto (Delfinado-Baker 1984), alimentándose todos ellos de la hemolinfa de la pupa en desarrollo. El ciclo se completa entre 6.25 y 6.75 días para los machos y entre 5.5 y 6 días para las hembras (Ifantidis 1990, Martin 1994, 1995a) y el apareamiento ocurre cuando los descendientes llegan a la etapa adulta. Finalmente, las hijas adultas ya fecundadas y la progenitora salen de las celdas junto con la abeja al momento en que ésta emerge, mientras que los estados inmaduros y el macho mueren ya que son incapaces de sobrevivir fuera de las celdas (Ifantidis 1983, Fries 1993).

Se han reconocido múltiples características que afectan el proceso reproductivo de varroa, entre ellas se encuentran: la disponibilidad de celdas con crías en la colonia (Moretto *et al.* 1991, Boecking y Ritter 1994, Fries *et al.* 1994), el número de ciclos reproductivos (Fries y Rosenkranz 1993), la duración del período forético (Stürmer y Rosenkranz 1994) y la carga parasitaria por celda infestada (Fuchs y Langenbach 1989, Fries *et al.* 1994). Algunos ácaros no se reproducen o producen sólo machos o sólo hembras (Fries 1993). En otros casos se ha registrado mortalidad de fundadoras o sus descendientes (Boecking y Ritter 1994, Fries *et al.* 1994, Martin 1994), especialmente la muerte prematura de los machos (Martin *et al.* 1997). Por otro lado, el número de descendientes que no logra llegar a la etapa adulta, se ha asociado con la duración del período de operculación o con el retraso en el inicio de postura de las fundadoras (Fries 1993, Harbo y Hoopingartner 1997). También se ha sugerido que factores intrínsecos al ácaro, posiblemente de naturaleza genética, pudieran limitar o inhibir su reproducción (Rosenkranz y Engels 1994, Fuchs 1994, Medina y Martin 1999).

Se han establecido diferentes criterios para estudiar la capacidad reproductiva de varroa. La mayor parte de los trabajos consideran dos aspectos fundamentales: la fertilidad de las fundadoras y la fecundidad de la descendencia. Por ejemplo, la infertilidad puede ser examinada con base en características que pueden presentarse de manera individual o combinada, tal es el caso de investigadores que citan solamente el número de varroas fundadoras que no dejan descendientes, mientras que otros incluyen además el número de madres que producen huevos inviables (sin desarrollo larval interno) o el número de madres que producen sólo machos.

En cuanto a la fecundidad, la mayor parte de los trabajos la refieren como la capacidad de las fundadoras de producir descendencia viable, aunque en algunos de estos estudios no se especifica si la descendencia puede reproducirse a futuro. Diversos investigadores estiman la fecundidad en

función de diferentes tasas reproductivas, entre éstas se destacan: 1. Tasa de reproducción real que equivale al número de descendientes con respecto al total de varroas madres (Ifantidis 1984, Mayagoitia y Otero-Colina 1995). 2. Tasa de reproducción potencial donde se considera el número de descendientes en relación al número de madres fértiles (Ifantidis 1984, Mayagoitia y Otero-Colina 1995). 3. Tasa de incremento real que involucra el número de hijas adultas sobre el total de varroas madres (Ifantidis 1984, Martin 1994, 1995a, Mayagoitia y Otero-Colina 1995, Al Ghamdi y Hoopingarner 1997). 4. Tasa de incremento potencial que estima la proporción de hijas adultas por cada madre fértil (Ifantidis 1984, Martin 1994, Medina 1997). 5. Tasa de reproducción verdadera que consiste en calcular el número de hijas que alcanzan la etapa adulta y que cuentan con un macho viable para el apareamiento (Medina 1997).

Se han identificado factores internos y/o externos que inciden en la fertilidad de las varroas fundadoras. Dentro de los factores internos se puede citar la raza del huésped, ya que se ha encontrado en abejas europeas una fertilidad cercana al 96%, mientras que en abejas africanizadas puede llegar al 60% (Ritter y De Jong 1984, Al Ghamdi y Hoopingarner 1997, Martin 1998), situación que se mantiene aún cuando ambos genotipos se evalúan en la misma colonia o en la misma región (Camazine 1986, Rosenkranz y Engels 1994). Dentro de los factores externos se encuentran efectos ambientales que pueden actuar de manera directa o indirecta (Boecking y Ritter 1994); tal es el caso de la estacionalidad y el clima (Kulincevic *et al.* 1988, Otten y Fuchs 1990, Fries *et al.* 1994). Se ha documentado mayor fertilidad del ácaro en regiones de clima templado y menor en regiones de clima tropical o subtropical (Ritter y De Jong 1984), aunque algunas veces estas diferencias no son significativas (Rosenkranz y Engels 1994).

En México, los niveles de fertilidad oscilan aproximadamente entre el 43 y el 91%. Diferentes estudios han mostrado que la infertilidad del ácaro inducida por el huésped, parece no desempeñar un papel importante en conferir resistencia a las abejas, ya que no se han detectado diferencias significativas entre genotipos de abejas para esta característica (Santillán *et al.* 1992, García-Millán 1994, Guzmán-Novoa *et al.* 1996, Medina 1997, Medina y Martin 1999, Guzmán-Novoa *et al.* 1999, Arechavaleta y Guzmán-Novoa 2001).

Por lo que respecta a la fecundidad, Rosenkranz y Engels (1994) postularon que es influenciada por mecanismos diferentes de los que afectan la fertilidad. Estimaciones del número de hijas adultas por madre fundadora oscilan entre 0.3 a 3 en celdas de obrera y de 2 a 4 en celdas de zángano (Fries 1993, Fries *et al.* 1994, Martin 1994, 1995a, Al Ghamdi y Hoopingarner 1997).

En México no se han encontrado diferencias claras entre abejas africanizadas y europeas para esta característica (Guzmán-Novoa *et al.* 1999). En Veracruz, Santillán *et al.* (1992) observaron en abejas europeas tasas reproductivas reales de 2.64 y potenciales de 3.09, muy similares a las obtenidas con abejas del mismo genotipo en Europa. Mayagoitia y Otero-Colina (1995) obtuvieron en abejas africanizadas, tasas reproductivas reales y potenciales de 2.6 a 3.17 y de 2.94 a 3.17, respectivamente, mientras que para abejas europeas, de 2.69 a 2.91 y de 3.04 a 3.28, reales y potenciales, respectivamente. Estos autores indicaron que las tasas potenciales obtenidas en las

abejas africanizadas eran mayores a las registradas en Brasil. Por otra parte, en Yucatán, Medina (1997) estimó una tasa de incremento potencial de 1.38 para abejas africanizadas, ligeramente menor al 1.45 observado por Martin (1994) en Inglaterra. Asimismo, observó que del 88% de las hembras consideradas fértiles, menos del 68% produjeron descendientes viables. A través de un estudio posterior, donde se compararon diferentes indicadores reproductivos entre abejas africanizadas y europeas, Medina y Martin (1999) pudieron constatar que únicamente el porcentaje de varroas fundadoras que produjeron descendientes viables, fue diferente entre ambos genotipos (40% africanizadas contra 75% europeas).

Con base en la mayoría de las referencias anteriormente citadas, se ha determinado que los promedios de las variables reproductivas de varroa, estimados en México, son mayores que los obtenidos en Brasil y Estados Unidos (Guzmán-Novoa *et al.* 1999), por lo que es posible que las limitaciones reproductivas del ácaro no restrinjan su desarrollo poblacional (Arechavaleta y Guzmán-Novoa 2001). Sin embargo, se ha mostrado que algunas características reproductivas del ácaro son heredables. En este sentido, Harbo y Harris (1999) en Estados Unidos, encontraron que la heredabilidad para la supresión de la reproducción de varroa (infertilidad y reproducción retardada) fue de 0.46, por lo que recomendaron utilizar esta característica para la selección de abejas resistentes.

1.4 Justificación

De lo anteriormente expresado, resalta la importancia de buscar soluciones al problema de varroosis, por lo que desarrollar abejas genéticamente resistentes constituye una alternativa que puede ofrecer ventajas económicas, ambientales, de salud humana y animal. Si bien, antes de iniciar un programa de mejoramiento genético que tenga posibilidades de éxito, se requiere evaluar mecanismos de resistencia en poblaciones de abejas de México a través de técnicas de medición confiables, prácticas y económicas, que se identifiquen efectos genéticos afectando estas características y que estos efectos sean al menos, medianamente heredables. Con base en los estudios previamente mencionados, se pueden identificar documentos que señalan la existencia de factores asociados con la resistencia de las abejas a *V. destructor*. En México, se ha observado que el comportamiento de acicalamiento y el comportamiento higiénico de las abejas, destacan como mecanismos que restringen el desarrollo poblacional de *V. destructor*, e inclusive, muchos estudios sugieren la influencia de efectos genéticos en la expresión de estos dos comportamientos y de características que inhiben la reproducción del ácaro. No obstante, aún se desconoce si estos mecanismos están influenciados por efectos genéticos aditivos y si lo son, con qué magnitud. Como regla general, el mejoramiento genético de una característica tiene altas probabilidades de éxito si la h^2 de la característica a mejorar es >0.25 (Harbo y Harris 1999). Por lo anterior, en el presente trabajo se midieron a nivel de colonia y a través de diferentes formas, los mecanismos antes mencionados así como características del desarrollo poblacional del ácaro y se calcularon las h^2 en poblaciones de abejas de México.

3. OBJETIVO

Estimar coeficientes de heredabilidad de características relacionadas con la resistencia de las abejas melíferas a *V. destructor* en México y estimar correlaciones fenotípicas entre ellas

4. HIPÓTESIS

Los coeficientes de heredabilidad de las características relacionadas con la resistencia de las abejas a *V. destructor* en México son iguales a cero.

No hay correlación significativa entre las características relacionadas con la resistencia de las abejas a *V. destructor* en México.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Localización del área de estudio

Los datos se obtuvieron a partir de colonias ubicadas en el Centro de Mejoramiento Genético, Generación y Transferencia de Tecnología Apícola del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). El centro se ubica en el km 29 de la carretera estatal Tenango del Valle–Ixtapan de la Sal en el municipio de Villa Guerrero, Estado de México. El municipio de Villa Guerrero se localiza en la región suroeste del estado, a 18° 58' 36" de latitud norte y a 99° 38' 00" de longitud oeste, a una altitud media de 2,160 msnm. Colinda al norte con Tenango del Valle, Zinacantepec y Calimaya, al sur con Ixtapan de la Sal, al este con Tenancingo y Zumpahuacán y al oeste con Coatepec de Harinas y Texcaltitlán. El municipio posee un clima templado subhúmedo (C(w)) con lluvias en verano, una temperatura anual promedio de 12 a 14° C y precipitación pluvial de 1, 242.53 mm (INEGI 1998). Las actividades de laboratorio se realizaron en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (FMVZ-UNAM), en Ciudad Universitaria, Distrito Federal.

5.2. Establecimiento del apiario experimental

Se establecieron 60 colonias de abejas (*Apis mellifera*). Las colonias fueron las unidades experimentales en el análisis (Collins *et al.* 1984) y se agruparon en diez grupos familiares con diferente número de repeticiones cada uno (Anexo 1). Mediante inseminación instrumental, se obtuvo una relación de parentesco promedio de 0.26 entre las poblaciones de obreras de colonias pertenecientes al mismo grupo (familia); las colonias de diferentes grupos no tuvieron relación entre ellas. De esta manera se realizó un análisis de colonias medio hermanas tendiente a crear condiciones semejantes a un sistema diploide (Figura 1) (Rinderer 1977, Oldroyd y Moran 1983, Collins 1986). Los detalles sobre la conformación de los grupos así como los procedimientos para obtener la relación de parentesco promedio entre colonias, se explican más adelante y se ilustran en la Figura 1.

5.2.1 Origen de las reinas y zánganos. Se adquirieron 60 reinas presumiblemente no relacionadas entre ellas (reinas madre), procedentes de diferentes apiarios del Estado de México. De cada una de ellas, se obtuvo una reina hija para ser inseminada instrumentalmente. Paralelamente, se adquirieron otras diez reinas (reinas padre) procedentes de diferentes criadores de abejas reinas de la república mexicana que sirvieron para producir zánganos. Cada una de las reinas productoras de zánganos fue encerrada en un panal con celdas de zángano. Este panal se

introdujo en una jaula cubierta con malla criba que contó con aberturas de 5 mm, para que las obreras pudieran entrar y salir para atender a la reina y a sus crías. Las reinas estuvieron confinadas por siete días para que pusieran los suficientes huevos que dieran origen a más de 40 zánganos cada una. Los zánganos se dejaron madurar por al menos dos semanas después de que emergieron dentro de la jaula que los confinó. Las 60 reinas vírgenes descendientes de las madres obtenidas en el Estado de México, fueron inseminadas instrumentalmente de la siguiente manera. Se colectó semen de alrededor de 40 zánganos de cada una de las diez reinas padre (Figura 1). Cada lote de semen se diluyó con solución salina (1:1) y fue mezclado por centrifugación a 2,000 rpm durante 1 min (Harbo 1990) para finalmente utilizarlo en la inseminación de las reinas que formaban parte de cada grupo; de ese modo se produjeron los diez grupos (familias), constituidos por reinas cuyas obreras descendientes estuvieron relacionadas como medio hermanas de las obreras de las otras colonias de su grupo y no estuvieron relacionadas con las obreras de colonias de los otros grupos. Este procedimiento permitió emular las condiciones de parentesco que se encuentran en organismos diploides, de tal forma que se pudieran aplicar los métodos estadísticos tendientes a determinar la heredabilidad de las distintas características estudiadas.

5.2.2 Establecimiento de las colonias experimentales. Las 60 colonias de abejas se alojaron en colmenas tamaño jumbo, constituidas por tres bastidores con crías y reservas (miel y polen) y aproximadamente 2 kg de abejas obreras. A cada colonia se le introdujo una abeja reina inseminada asignada en forma aleatoria. Las abejas reinas fueron identificadas por medio de una placa plástica de color numerada¹, pegada sobre el tórax. Las colonias se revisaron cada 15 días y fueron tratadas durante nueve semanas con dos tiras plásticas impregnadas con flumetrina² con la finalidad de que estuvieran libres o con muy bajos niveles de *V. destructor*. A todas las colonias se les proporcionó un manejo uniforme, se alimentaron con 2 L de jarabe de azúcar al 50% (sacarosa/agua a partes iguales por peso) y se les administró un tratamiento preventivo contra loque europea (*Melissococcus pluton*) y contra loque americana (*Paenibacillus larvae*), consistente en espolvorear sobre los cabezales de la cámara de cría, 25 g de una mezcla constituida por 5.5 g de Oxitetraciclina HCl³ y 400 g de azúcar pulverizada.

5.2.3 Infestación de las colonias con *V. destructor*. Treinta días después de retirar el tratamiento de flumetrina, las colonias fueron infestadas artificialmente con 100 hembras de *V. destructor*, de esta manera se cubrieron dos objetivos. En primer lugar, evitar en lo posible que los residuos del acaricida afectaran las poblaciones del ácaro y en segunda instancia, iniciar la etapa

¹ Graze KG, Weinstadt, West Germany.

² Bayvarol ®, Bayer.

³ Terramicina ®, Pfizer.

experimental con cargas parasitarias homogéneas. Los ácaros utilizados para infestar las colonias fueron obtenidos de 30 colonias altamente parasitadas y localizadas a 15 km del apiario experimental. Para recolectarlos se utilizó una cubeta de plástico con capacidad de 20 L, en la cual previamente se colocaron dos envases de plástico rellenos con estopa y cubiertos con una tela porosa que permitiera la evaporación. A cada envase se le agregó 20 ml de éter etílico y enseguida a la cubeta se le introdujo una canasta fabricada con malla de alambre que sirvió para separar los ácaros de las abejas. Dentro de la cubeta se sacudieron abejas obreras de las colonias altamente infestadas y se dejaron aproximadamente 5 min dentro del recipiente cerrado, así los ácaros que estaban sobre el cuerpo de las abejas sufrieron el efecto del anestésico del éter y cayeron al fondo del recipiente de donde fueron recuperados (Arechavaleta y Guzmán-Novoa 2001).

El procedimiento de infestación consistió en confinar 50 obreras de cada colonia en dos jaulas Benton (25 abejas por jaula, 2 jaulas por colonia), cubiertas con malla de alambre de ocho cuadros por pulgada y provistas de alimento consistente en una pasta de azúcar pulverizada mezclada con jarabe de maíz. Por medio de un pincel de cerdas suaves, los ácaros fueron transferidos a las obreras a través de las mallas de las jaulas; posteriormente, las jaulas se introdujeron entre dos panales centrales de las colonias experimentales, para que las abejas y los ácaros fueran liberados por las obreras de esas colonias. Pasado un mes de las infestaciones artificiales se iniciaron las evaluaciones de campo. El tiempo transcurrido entre la introducción de las reinas inseminadas y el inicio de las mediciones (17 semanas) dio margen para que las obreras hijas de las reinas inseminadas reemplazaran a la población inicial.

5.3 Evaluación del comportamiento higiénico en colonias de abejas (*A. mellifera*)

5.3.1 Experimento 1. Comparación de tres pruebas para medir el comportamiento higiénico de las abejas. Se realizó este ensayo preliminar con el fin de comparar la capacidad discriminativa, costos y facilidad de aplicación de tres pruebas: congelación lenta, congelación rápida y punción, con las que se puede medir el comportamiento higiénico de las abejas. Para ello, se aplicaron las tres pruebas el mismo día en un mismo panal obtenido de cada colonia experimental (n= 60) de los 10 familias o grupos diferentes y se repitieron a los 15 días. Para todas las pruebas se seleccionaron áreas de crías que tuvieran la mayor cantidad de pupas en etapa de ojos color rosado (Büchler 1997).

Prueba de congelación lenta. Un día antes de aplicar las tres pruebas, se escogió un bastidor de cada colonia experimental, y de éste, se cortó una sección de panal (6 x 5 cm) que tuviera al menos 100 celdas de crías operculadas. Las secciones fueron individualmente colocadas en

bolsas de polietileno debidamente identificadas y se transportaron al laboratorio en una hielera de poliestireno con refrigerantes para después introducir las en un congelador (-18°C) por 24 h. Finalizado este tiempo, las secciones se sacaron del congelador y en cada una de ellas se contó el número de celdas operculadas en ambos lados del panel. Posteriormente se llevaron al apiario y se reinsertaron en los bastidores correspondientes a cada colonia experimental.

Prueba de congelación rápida. Se escogió otra área del mismo panel (del que se cortó la sección para la prueba anterior) que contenía al menos 100 celdas de cría operculada. Sobre esta área se encajó un cilindro metálico de 7 cm de diámetro x 11 cm de altura, sin tapa en los dos extremos, ejerciendo ligera presión con movimientos giratorios. Enseguida, se vertieron en el cilindro 250 mL de nitrógeno líquido (a una temperatura de -195° C) para sacrificar a las crías. Una vez que el hielo formado sobre el panel se derritió, se retiró el cilindro y se contaron las celdas íntegramente operculadas en el área congelada.

Prueba de punción. Se utilizó un alfiler entomológico para puncionar y sacrificar 100 pupas en celdas alineadas horizontalmente sobre el panel seleccionado. El alfiler se introdujo en el centro de cada celda hasta tocar el fondo de la misma para asegurar la muerte de la cría. Para facilitar la identificación de las celdas perforadas se insertaron alfileres cortos⁴ en los extremos de cada fila, uno al inicio y el otro al final de cada hilera.

Medición del grado de comportamiento higiénico. Después de aplicar los tres métodos, el panel seleccionado de cada colmena se identificó con una tachuela clavada sobre el cabezal superior de su bastidor y se reintrodujo al centro del nido de cría de su colmena. La lectura de resultados del comportamiento higiénico se realizó a las 24 h de aplicadas las pruebas y consistió en determinar el porcentaje de crías sacrificadas que fueron removidas por las abejas, utilizando la siguiente fórmula: $[\text{No. de pupas removidas} / \text{total de celdas tratadas (puncionadas o congeladas)}] \times 100$.

Clasificación del grado de higiene. Luego de ser evaluadas con cada una de las pruebas, las colonias experimentales fueron clasificadas de acuerdo a su grado de limpieza, en colonias de bajo, intermedio o alto comportamiento higiénico. Las colonias de alto comportamiento higiénico fueron aquellas con lecturas superiores al 95% de remoción de cría sacrificada, las de comportamiento intermedio tuvieron lecturas entre 50% y 95% y las de bajo grado de higiene limpiaron menos del 50% de la cría (Spivak y Reuter 1998b, Spivak y Downey 1998).

⁴ Alfileres para marcar sitios en mapas (Maped ®)

Costos. La estimación del costo de la aplicación (una repetición) de cada prueba por colonia se realizó considerando las siguientes variables: 1) equipo (incluyó gastos de inversión y depreciación de un congelador horizontal de 7 pulgadas y un termo para almacenar 20.5 L de nitrógeno líquido), 2) mano de obra (se estimó considerando la participación de cuatro personas. A cada una se le asignaron tres salarios mínimos para el 2004 [SEGOB 2003], tomando en cuenta el número de días que requirió la ejecución de cada prueba), 3) transporte (en este rubro se incluyeron los gastos de combustible y mantenimiento de una camioneta que rindió un desplazamiento de 8 km/L de gasolina), 4) insumos (abarcó el precio del nitrógeno líquido, materiales como alfileres entomológicos, cilindros metálicos, cuchillos, etc.), 5) gastos imprevistos (erogaciones emergentes que representaron el 10% de todos los conceptos anteriores).

Facilidad de aplicación. Se determinó en función al número de viajes (días) que se ocuparon para su realización; esto es, se consideraron los traslados destinados a la selección del panal, la ejecución de las técnicas y la lectura de resultados. También se midió el tiempo empleado para probar cada prueba en cada colonia.

5.3.2 Experimento 2. Comparación de dos tiempos de lectura para la prueba de punción.

Este segundo ensayo se realizó debido a que los resultados del experimento anterior mostraron que la prueba de punción tenía una baja capacidad discriminatoria, pero dado que resultó ser la más práctica y económica de aplicar en campo, se decidió comprobar si se podía aumentar su capacidad discriminatoria mediante la reducción del tiempo de lectura de 24 a 8 h, así como para verificar si los olores y fluidos emanados como resultado de la perforación de las crías sacrificadas, estimulaban artificialmente una rápida respuesta higiénica (ambientalmente inducida) de las abejas. Usando la prueba de punción, se compararon tres tratamientos que se aplicaron al mismo tiempo en un panal obtenido de cada una de 50 colonias adicionales a las del experimento anterior. El primer tratamiento se realizó tal como arriba se describe; el segundo, se llevó a cabo seleccionando otra área del panal donde se retiró parcialmente el opérculo de cada una de aproximadamente 100 celdas, cuidando no dañar a la pupa. El tercer tratamiento (testigo), consistió en seleccionar otra área del mismo panal en la que se delimitaron 100 celdas con crías operculadas. En estas celdas no se dañó ni a los opérculos ni a las pupas (sólo se tocaron los opérculos con el alfiler).

Análisis estadísticos. Para determinar la capacidad discriminatoria y confiabilidad de las pruebas (capacidad para diferenciar colonias con alto y colonias con bajo comportamiento higiénico), se obtuvieron medidas de dispersión (desviaciones estándar, valores máximos y mínimos y coeficientes de variación), así como coeficientes de correlación entre las dos repeticiones y entre

las pruebas. Se presume que entre mayor diferencia se encuentre en la expresión del comportamiento higiénico entre colonias, entre mayor variación y correlación exista entre repeticiones (mediciones), la prueba resulta mejor en términos de capacidad discriminativa y confiabilidad. Por lo anterior, se estimaron correlaciones lineales de Pearson entre repeticiones y se compararon las varianzas de las tres pruebas mediante la prueba de razón de varianzas. Adicionalmente para detectar diferencias entre las pruebas del primer experimento, los promedios de las dos mediciones se analizaron mediante un análisis de varianza con un modelo de efectos fijos (Snedecor y Cochran 1991, SAS 2002), previa transformación de los datos mediante la función arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción para ajustarlos a una distribución normal (Zar 1996). El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde

Y_{ij} = variable de respuesta (% de limpieza) transformada

μ = media general

T_i = efecto del *i*-ésimo tratamiento (prueba) aplicado

E_{ij} = error experimental *NID* (0, σ^2)

Los datos obtenidos del segundo experimento también se transformaron con la función arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción. Se realizó un análisis de *t* de Student para comparar las respuestas obtenidas entre la prueba de punción leída a las 24 h y la prueba de punción leída a las 8 h (experimentos 1 y 2, respectivamente). Por otro lado, los tratamientos de punción, retiro parcial del opérculo y testigo, se compararon mediante un análisis de varianza bajo el modelo de efectos fijos anteriormente señalado. Finalmente para todos los análisis de varianza, se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey (Snedecor y Cochran 1991, SAS 2002).

5.4 Evaluación del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas (*A. mellifera*)

5.4.1 Determinación de la confiabilidad de un método directo para medir el comportamiento de acicalamiento en dos poblaciones de abejas melíferas. Con el fin de contar con una herramienta para evaluar directamente el comportamiento de acicalamiento de las abejas, se realizó este ensayo preliminar, mismo que consistió en diseñar y probar un método que fuera rápido, económico y confiable. Se presume que este comportamiento puede ser estimulado por la irritación que varroa causa en el cuerpo de las abejas adultas; sin embargo, no se ha probado si esto es cierto. Para ello se compararon dos colonias, una de abejas africanizadas (AA) y otra de abejas europeas (AE); es decir, genotipos extremos entre los cuales existen diferencias en el

comportamiento de acicalamiento (Moretto *et al.* 1993).

El procedimiento consistió en recolectar aproximadamente 300 abejas adultas de cada genotipo. Para ello, se extrajeron dos panales del centro del nido de cría de cada colmena (AA y AE, respectivamente) y se sacudieron sus abejas dentro de cubetas de 18 L. Enseguida, las abejas se vaciaron en jaulas rectangulares (1,600 cm³) forradas con malla de alambre. Posteriormente, se retiraron 70 abejas de cada jaula y se refrigeraron a 5°C durante 5 min, para aletargarlas y poder pegarles una placa metálica sobre el tórax, para facilitar su manipulación con una varilla metálica de 15 cm de longitud, con punta imantada. El resto de las abejas contenidas en la jaula, a las que no se les adhirió placa (ca. 230), se utilizaron para poblar un panal de observación que fue diseñado⁵ para visualizar el comportamiento de acicalamiento. Dicho panal fue construido de la siguiente manera. A un marco de madera (42.5 x 15 cm) se le engrapó una mica transparente, a la cual se le hicieron dos aberturas centrales (3 x 2.6 cm) para introducir y retirar las abejas que se evaluaron y una abertura lateral de mayor dimensión (7 x 14 cm), cubierta con malla de alambre para proveer ventilación a las abejas. El marco con la mica adaptada, se colocó sobre un panal de plástico⁶ sujetándolo con bandas elásticas de hule. El interior del panal de observación tenía una profundidad de 1 cm, espacio suficiente para que las abejas se desplazaran con facilidad. Al centro del panal se introdujo un redondel de malla de alambre de 7.5 cm de diámetro que sirvió para confinar a cada abeja a evaluar así como a seis acompañantes (Figura 2). Fuera del redondel se introdujeron 200 abejas para tratar de emular las condiciones más cercanas al ambiente social de una colonia. Asimismo se suministró alimento por medio de un algodón impregnado con jarabe de azúcar al 50% y una pequeña torta de polen de 10 g.

Para determinar la confiabilidad de este método, se midió la capacidad de reacción de las abejas para quitarse una varroa o un elemento extraño colocado sobre su cuerpo en relación a no tenerlo. Para ello, se registró el tiempo en el que cada abeja manifestó la primera reacción de acicalamiento (movimientos intensos de patas sobre la cabeza, tórax o abdomen), mediante la observación de 50 abejas de cada genotipo por hasta 5 min (300 s) para cada individuo observado. Se compararon tres tratamientos:

- a) Tratamiento 1. Consistió en colocar una varroa viva sobre el tórax de cada abeja con la ayuda de un pincel fino. Para obtener varroas para las pruebas, se colectaron alrededor de 2,000 abejas en jaulas rectangulares (como las que se describieron anteriormente) de colonias con altos niveles de infestación. Estas abejas se anestesiaron con CO₂ durante 5 min, y luego se sacudieron sobre una cartulina blanca, para facilitar la identificación y recolección de los ácaros que se desprendieron de ellas.

⁵ Previo a la realización del experimento y con base en un prototipo diseñado por Uribe-Rubio JL, Sánchez-Albarrán A y Espinosa-Montaño L, construyeron y probaron diferentes marcos de observación hasta obtener un modelo adaptado a las necesidades experimentales.

⁶ Pierco®, Miele's Nortteñas SA de CV.

- b) Tratamiento 2. Consistió en colocar 20 mg de harina de trigo sobre el cuerpo de cada abeja a evaluar con la ayuda de un pincel fino.
- c) Tratamiento 3 o testigo. Consistió solamente en tocar con el pincel el cuerpo de cada abeja.

Análisis estadísticos. Los datos fueron sometidos a pruebas de normalidad. El efecto de tratamiento se verificó mediante un análisis de varianza bajo un diseño completamente aleatorio con un modelo de efectos fijos y se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey (Snedecor y Cochran 1991, SAS 2002).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde

Y_{ij} = tiempo (s) de reacción

μ = media poblacional

T_i = efecto fijo de tratamiento

E_{ij} = error aleatorio *NID* (0, σ^2)

Los datos de cada tratamiento se analizaron mediante una prueba *t* de Student, de esta forma se buscó verificar si el método diseñado podía diferenciar respuestas de acicalamiento entre los dos genotipos (AA y AE) de abejas utilizados (Snedecor y Cochran 1991, SAS 2002).

5.4.2 Evaluación directa e indirecta del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas melíferas agrupadas en diferentes familias. El método directo también se aplicó para evaluar en dos ocasiones, 50 abejas obreras de cada una de las colonias pertenecientes a los 10 grupos genéticos establecidos. Para ello se utilizó el panal de observación y el método descrito para el tratamiento 1 del experimento anterior, con la diferencia de que en éste, cada abeja fue observada durante 3 min (180 s) como máximo, lapso durante el cual se anotó el tiempo en el que cada una manifestó la primera reacción de acicalamiento. Este tiempo máximo de observación por abeja fue establecido porque tras analizar los datos de tiempos de reacción a 5 y 3 min de los dos genotipos del experimento anterior, las magnitudes del estadístico *t* de Student dieron valores similares.

Por otro lado, el método indirecto consistió básicamente en cuantificar los ácaros caídos de las colonias y que presentaron daños en patas e idiosoma, estructuras más susceptibles a las mordeduras de las abejas (Flores *et al.* 1995. Correa-Marques y De Jong 1996). Mensualmente, durante el período comprendido de octubre de 2003 a febrero de 2004, se colocaron trampas en el piso de las colmenas para capturar las varroas que cayeran en el curso de 20 h. A cada trampa se le introdujo una lámina galvanizada deslizable, cubierta por una malla de alambre (aberturas de 4 mm), que permitía el paso de los ácaros pero no su remoción por acción de las abejas limpiadoras

(Ritter 1981). Asimismo, los bordes de las láminas se engrasaron con petrolato para evitar que los ácaros escaparan. El corto período de colecta evitó que los ácaros presentaran lesiones debidas a la resequead de los mismos o por depredadores de los *detritus* de las colonias (hormigas y escarabajos). Las trampas se colocaron fuera de los períodos de evaluación de los niveles de infestación de la cría y de las abejas adultas, con el fin de evitar el posible incremento del número de ácaros caídos como resultado de la manipulación de las colmenas. Los ácaros fueron recolectados cuidadosamente con un pincel de cerdas suaves y se introdujeron en tubos de micro centrífuga (1.5 mL de capacidad) previamente llenados con etanol al 70%. Posteriormente, en el laboratorio, los ácaros fueron observados con un microscopio estereoscópico (40x) y se clasificaron en ácaros normales y en ácaros con lesiones, obteniendo así el porcentaje de ácaros lesionados. Los ácaros lesionados, a su vez, se catalogaron según la localización de la estructura afectada, por lo que se obtuvieron datos del número de ácaros con daños en: a) patas, b) idiosoma, y c) la combinación de lesiones en patas e idiosoma (Correa-Marques y De Jong 1996, Espinosa 1998).

Análisis estadísticos. Se obtuvieron promedios generales para las variables evaluadas (tiempo de reacción y porcentaje de ácaros lesionados), así como sus promedios por muestreo y por colonia con sus correspondientes medidas de dispersión. Se realizaron análisis de correlación simple de Pearson entre ambas variables de respuesta con el propósito de verificar si el método indirecto puede utilizarse en sustitución del método directo. También se estimaron lcoeficientes de correlación entre las variables del comportamiento de acicalamiento con las del comportamiento higiénico evaluado con las tres pruebas (Snedecor y Cochran 1991, SAS 2002).

5.5 Evaluación de características asociadas con la inhibición de la reproducción de *V. destructor* en colonias de *A. mellifera* agrupadas en diferentes familias

Con el fin de evaluar algunos aspectos que se han relacionado con la inhibición de la capacidad reproductiva de varroa, se midió la tasa de reproducción verdadera y el porcentaje de varroas fundadoras infértiles en los 10 grupos conformados. Se realizaron mediciones cada 28 días, durante el período comprendido de octubre de 2003 a febrero de 2004. Para tal efecto, se cortó un segmento de panal de aproximadamente 6 X 5 cm de cada colonia experimental, que tuviera poco más de 150 celdas con crías operculadas de obrera, preferentemente pupas con ojos oscuros y cuerpo amarillo (>210 h post operculación), etapa durante la cual las varroas fundadoras han completado su ovoposición (Martin 1994). Las muestras se introdujeron en bolsas individuales de polietileno debidamente identificadas y se conservaron en congelación (-18°C) con el propósito de

sacrificar a las abejas y los ácaros deteniendo la ontogénesis. Posteriormente en el laboratorio, a 50 de estas celdas se les retiró el opérculo, se extrajeron las pupas y se revisaron cuidadosamente con un microscopio estereoscópico, alumbrando el interior de las celdas con una fuente de luz fría de fibra óptica, para verificar si estaban infestadas y para poder reconstruir las familias del ácaro.

A partir de las celdas infestadas se calculó la tasa de reproducción verdadera, que se expresó como la proporción de descendientes hembras con capacidad reproductiva por cada varroa fundadora (hijas potencialmente fecundas). Para ello se consideró la progenie hembra adulta, y en algunos casos, cuando la pupa en desarrollo contaba con <220 h, también se consideraron las deutoninfas próximas a alcanzar la etapa adulta, siempre y cuando en ambos casos se reconociera la presencia de un macho adulto vivo para el apareamiento (Ifantidis 1983, Fries *et al.* 1994, Martin 1995b, Medina 1997). La diferenciación de la progenie hembra adulta con respecto a las progenitoras se realizó con base en la identificación de exuvias (restos cuticulares producto de la última muda de los ácaros) y a la coloración (Ifantidis 1983, 1984). Asimismo se calculó el porcentaje de varroas fundadoras infértiles, dividiendo el total de madres infértiles entre el total de celdas invadidas por una varroa. El criterio de infertilidad se estableció cuando se observaron ácaros madre vivos sin descendencia o bien huevos sin desarrollo de larva en su interior (Martin 1994). Para estimar los indicadores reproductivos únicamente se tomaron en cuenta las celdas infestadas con una varroa fundadora ya que las infestaciones múltiples afectan las tasas reproductivas del ácaro (Fuchs y Langenbach 1989, Martin 1995b).

Análisis estadísticos. Se obtuvieron promedios generales de las variables reproductivas, así como promedios por colonia y por muestreo con sus correspondientes medidas de dispersión. A partir de los promedios de las colonias se calcularon coeficientes de correlación simple de Pearson entre las dos variables reproductivas. También se calcularon coeficientes de correlación entre las variables reproductivas con los porcentajes de comportamiento higiénico expresados con las pruebas de congelación lenta, congelación rápida y punción y con las variables de respuesta del comportamiento de acicalamiento medido directa e indirectamente (Snedecor y Cochran 1991, SAS 2002).

5.6 Evaluación del desarrollo poblacional de *V. destructor* en colonias de *A. mellifera* agrupadas en diferentes familias

El desarrollo poblacional del ácaro se evaluó a través de la medición de las variables caída natural diaria de ácaros, infestación de la cría e infestación de las abejas adultas, en las 10 familias de abejas conformadas. Las mediciones se realizaron cada 28 días durante los meses comprendidos entre octubre de 2003 y febrero de 2004.

La caída natural diaria de ácaros se midió a través de la recolección de varroas que se encontraron en las trampas de piso descritas en el numeral 5.4.2, con la diferencia de que las láminas permanecieron colocadas en las colmenas durante cuatro días consecutivos, al término de los cuales los ácaros mezclados con los desechos de las colonias, se recuperaron y depositaron en bolsas de polietileno identificadas con el número de colonia y la fecha de colecta. Las bolsas permanecieron en congelación en tanto se realizó la separación y conteo de ácaros. Para facilitar este procedimiento, las muestras fueron tamizadas en seco dos veces, utilizando dos cernidores de acero inoxidable con aberturas de poro de 0.9600 y 0.0388 mm, respectivamente. El número de ácaros recolectados por día fue estimado dividiendo el total de varroas obtenidas por muestra entre los cuatro días que permanecieron las láminas colocadas en las colmenas.

Para determinar los niveles de infestación en las crías, se utilizó el mismo segmento de panal que el destinado a la evaluación de las características de inhibición de la reproducción del ácaro, tomando en cuenta, además, las celdas en las cuales se presentaban abejas en etapa de prepupa. La infestación de las crías obreras, expresada en términos del porcentaje de celdas invadidas, se calculó dividiendo el número de celdas positivas a varroa entre el total de celdas analizadas y el cociente se multiplicó por 100.

Para medir la infestación de las abejas adultas, se obtuvieron muestras de aproximadamente 200 abejas adultas tomadas del centro del nido de cría de cada colonia. Las muestras se depositaron en envases de plástico previamente identificados que contenían una solución de etanol al 70%. Posteriormente en el laboratorio, las muestras fueron lavadas dos veces mediante agitación manual (2 min por lavado) con la misma concentración de etanol. Las abejas y los ácaros fueron separadas por cernido (De Jong *et al.* 1982b). El porcentaje de infestación fue estimado dividiendo el número de ácaros recuperados entre el número de abejas de cada muestra y el cociente se multiplicó por 100.

Análisis estadísticos. Se obtuvieron promedios generales de estas tres variables que miden el desarrollo poblacional de varroa, así como promedios por colonia y por muestreo con sus correspondientes medidas de dispersión. Adicionalmente se calcularon los coeficientes de correlación simple de Pearson entre estas variables (Snedecor y Cochran 1991, SAS 2002).

5.7 Estimación de coeficientes de heredabilidad de las características relacionadas con la resistencia de las abejas a *V. destructor* en México

Se estimaron los coeficientes de heredabilidad de las características que aparentemente confieren resistencia a las abejas contra *V. destructor* y de las características del desarrollo poblacional del ácaro, a través del análisis de las siguientes variables:

1. Porcentaje de comportamiento higiénico de las abejas obtenido con la aplicación de las pruebas de congelación lenta, congelación rápida y punción.
2. Comportamiento de acicalamiento expresado en función del tiempo de reacción de las abejas al estímulo de poner una varroa sobre su cuerpo, así como del porcentaje de ácaros lesionados en patas, idiosoma o su combinación.
3. Inhibición de la reproducción de varroa: tasa de reproducción verdadera y porcentaje de varroas fundadoras infértiles.
4. Desarrollo poblacional: caída natural diaria de ácaros, porcentaje de infestación de la cría y porcentaje de infestación de las abejas adultas.

Análisis estadísticos. Antes de estimar las heredabilidades, se realizaron análisis de varianza y pruebas de comparación de medias para todas las características estudiadas, ello con el propósito de identificar diferencias entre las distintas familias conformadas (grupos genéticos) así como entre colonias anidadas dentro de grupos y entre mediciones. Previamente, para proveer una distribución normal a los datos, las características congelación lenta, punción y ácaros lesionados, se transformaron con la función arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción. Las características tiempo de reacción a varroa, tasa de reproducción verdadera, varroas fundadoras infértiles, infestación en crías y caída natural diaria de ácaros, se transformaron con el método de Box y Cox, mientras que la infestación en abejas adultas con el método de raíz cuadrada. Asimismo, por medio de un análisis *t* de Student, se compararon los promedios de las ocho colonias que manifestaron mayor expresión para características que podrían conferir resistencia contra varroa, con las ocho colonias que manifestaron menor expresión en dichas características (Snedecor y Cochran 1991, Zar 1996, SAS 2002).

Se calcularon componentes de varianza utilizando el método de máxima verosimilitud restringida (REML) bajo el siguiente modelo de efectos mixtos (Van Vlek 1993, Hofer 1998). Este modelo también fue aplicado para realizar los análisis de varianza.

$$Y_{ijkl} = \mu + M_i + R_j + C_{k(j)} + E_{ijkl}$$

Donde

Y_{ijkl} = variable de respuesta transformada de los comportamientos y características evaluadas

μ = media poblacional

M_i = efecto fijo de muestreo

R_j = efecto aleatorio de reina padre (grupo genético)

$C_{k(j)}$ = efecto aleatorio de colmena anidado en reina

E_{ijkl} = error aleatorio $NID(0, \sigma^2)$

La siguiente ecuación fue utilizada para calcular la heredabilidad en sentido estrecho de cada característica (Falconer 1989): $h^2 = \frac{3.90(V \text{ reina padre o grupo})}{V \text{ total}}$

$V \text{ total}$

Donde

3.90 = inverso de la relación genética aditiva entre colonias dentro de un mismo grupo. Este factor fue obtenido con la fórmula⁷: $1/[n \times 0.5 + ((n^2 - n) \times 0.25) / (n + (n^2 - n))] = 1/0.25625$, que representa una aproximación al promedio de relación genética entre obreras hermanas ($r_A = 0.5$) y medio hermanas ($r_A = 0.25$), sobre el total de relaciones establecidas por los diferentes zánganos ($n = 40$) que se utilizaron para inseminar a las reinas que encabezaron las colonias dentro de cada grupo genético. A fin de comprobar la validez de esta ecuación, el resultado de ésta se comparó con el obtenido de las fórmulas que se presentan a continuación, mismas que se adaptaron a las condiciones del presente estudio, previo análisis de los conceptos vertidos por Oldroyd y Moran (1983) y Milne y Friars (1984).

$$1 / [(1/(2n)) (0.5) + 0.25] = 1/0.25625 \quad (\text{Oldroyd y Moran 1983})$$

$$1 / [((n-(n-1))(0.5) + (n-1)(0.25))/n] = 1/0.25625 \quad (\text{Milne y Friars 1984})$$

La varianza genética aditiva se estimó multiplicando 3.90 por la varianza de grupo genético (V reina padre). La varianza total (V total) se obtuvo de la suma de las varianzas de grupo genético (V reina padre), de colonia (V de colmena) y residual (V del error). Los componentes de varianza, coeficientes de heredabilidad y sus correspondientes errores estándar se calcularon con el programa ASReml (Gilmour *et al.* 2002). Se realizaron pruebas de hipótesis sobre las varianzas de reina padre con el fin de verificar la significancia de las h^2 , mediante la prueba de Razón de Verosimilitud (Likelihood Ratio Test) (Kaps y Lamberston 2004). Para ello, al valor del -logaritmo de la verosimilitud del modelo completo (incluyendo el efecto aleatorio de reina padre) se le restó el -logaritmo de la verosimilitud del modelo restringido (sin incluir el efecto aleatorio de reina padre) y el valor absoluto de esta diferencia se multiplicó por dos. Este resultado se confrontó con el valor tabulado de ji-cuadrada ($\chi^2_{1, \alpha = 0.05}$) para finalmente obtener los valores de probabilidad.

⁷ Fórmula desarrollada por el Dr. Hugo Montaldo Valdenegro (Departamento de Genética y Bioestadística, FMVZ-UNAM).

5.8 Estimación de correlaciones fenotípicas entre variables que confieren resistencia a las abejas contra *V. destructor* con variables del desarrollo poblacional del ácaro

Con base en los promedios por colonia se estimaron correlaciones fenotípicas entre las características que confieren resistencia a varroa: porcentajes de comportamiento higiénico obtenidos de las pruebas de congelación lenta, congelación rápida y punción; comportamiento de acicalamiento evaluado directa (tiempo de reacción a varroa) e indirectamente (porcentaje de ácaros lesionados) y características de inhibición de la reproducción de *V. destructor* (tasa de reproducción verdadera y porcentaje de varroas fundadoras infértiles) con las que describen el desarrollo poblacional de *V. destructor* (caída natural diaria de ácaros y porcentajes de infestación en abejas adultas y en crías).

Asimismo, con el fin de identificar con mayor claridad el efecto de los mecanismos que confieren resistencia a las abejas contra varroa sobre las características del desarrollo poblacional del ácaro, se obtuvieron coeficientes de correlación a partir de los promedios de las 16 colonias que mostraron niveles extremos (8 colonias con los mayores y 8 colonias con los menores valores) de caída natural diaria de ácaros, infestación en abejas adultas e infestación en crías, con las variables de los mecanismos que confieren resistencia a las abejas contra el ácaro (Snedecor y Cochran 1991, SAS 2002).

6 RESULTADOS

6.1 Evaluación del comportamiento higiénico en colonias de abejas (*A. mellifera*)

6.1.1 Experimento 1. Comparación de tres pruebas para medir el comportamiento higiénico de las abejas. Se encontraron correlaciones positivas y significativas para las respuestas de comportamiento higiénico obtenidas con las tres pruebas ($P < 0.01$, Cuadro 1). Al comparar las pruebas mediante el análisis de varianza, se detectaron diferencias significativas entre éstas para el porcentaje de crías removidas por las abejas ($F = 30.12$; $gl = 2, 177$; $P < 0.01$). Las colonias expresaron un mayor grado de comportamiento higiénico para las crías sacrificadas con la prueba de punción (88%) en comparación con la de congelación lenta (69%) y con la de congelación rápida (65%). Entre estas dos últimas pruebas no hubo diferencia ($P < 0.01$; Cuadro 2).

Capacidad discriminatoria y confiabilidad. Se observó un mayor coeficiente de variación y desviación estándar con las dos pruebas de congelación en comparación con la de punción (Cuadro 2). La varianza de la prueba de congelación lenta no fue menor que la de congelación rápida ($F = 0.94$; $gl = 59, 59$; $P > 0.05$), mientras que las varianzas de las pruebas de congelación lenta y congelación rápida fueron mayores que las de la prueba de punción ($F = 2.59$; $gl = 59, 59$; $P < 0.01$ y $F = 2.75$; $gl = 59, 59$; $P < 0.01$, respectivamente). La correlación entre repeticiones fue de $r = 0.56, 0.45$ y 0.37 ($n = 60$, $P < 0.01$), para las pruebas de congelación lenta, congelación rápida y de punción, respectivamente. No hubo diferencia significativa entre estas tres correlaciones ($P > 0.05$). Los promedios \pm D.E. de cada medición se presentan en el Cuadro 2.

El número y porcentaje de colonias clasificadas como de bajo, intermedio y alto comportamiento higiénico se muestran en el Cuadro 3. Sólo cinco a seis colonias ($< 10\%$) fueron clasificadas como de alto comportamiento higiénico con las pruebas de congelación, pero 25 de ellas se clasificaron como altamente higiénicas cuando se usó la prueba de punción (41.7%). Asimismo, ninguna colonia entró en la categoría de bajo comportamiento higiénico con esta última prueba. En las Figuras 3, 4 y 5 se muestran las distribuciones de las pruebas de congelación lenta, congelación rápida y punción, respectivamente.

Costos y facilidad de aplicación. En cuanto a los costos de aplicación de cada prueba por colmena, la más cara fue la de congelación rápida, con un costo de \$ 15.06, seguida de la prueba de congelación lenta, cuyo costo fue de \$ 10.55, mientras que la más económica fue la de punción, con un costo de \$ 6.86. El método de punción también fue el más práctico, pues se requirió un promedio de 17 min para su aplicación en sólo dos viajes realizados al apiario. En contraste, las pruebas menos prácticas fueron las de congelación rápida y lenta, ya que para su aplicación se

invertieron 23 y 18 min por colmena, así como dos y tres viajes al apiario, respectivamente (Cuadro 4).

6.1.2 Experimento 2. Comparación de dos tiempos de lectura para la prueba de punción. No se encontró diferencia significativa entre las respuestas higiénicas de las colonias a las 8 y 24 h con la prueba de punción ($t= 0.72$, $gl= 108$, $P> 0.05$), tampoco se encontró diferencia entre las varianzas de los dos tiempos de lectura ($F= 1.54$; $gl= 59, 49$; $P> 0.05$). Se encontraron diferencias significativas entre los tres tratamientos de este experimento ($F= 609.63$; $gl= 2, 147$; $P<0.01$). La media para la limpieza de las celdas puncionadas fue de 85.5% ($S^2= 238.52$), mientras que la media de remoción para el tratamiento donde sólo se abrieron los opérculos sin puncionar la cría fue de 14.3% y para el tratamiento testigo fue de 2.1% (Figura 6).

6.2 Evaluación del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas (*A. mellifera*)

6.2.1 Confiabilidad de un método directo para medir el comportamiento de acicalamiento en dos poblaciones de abejas melíferas. Se encontraron diferencias significativas en el tiempo de inicio de acicalamiento de las abejas entre los tres tratamientos ($F= 23.43$; $gl= 2, 315$; $P<0.01$). La media del tiempo de reacción ($s \pm D.E.$) para el tratamiento con harina fue de 45.47 ± 54.61 ($n= 107$), mientras que las de los tratamientos con varroa y testigo fueron de 89.43 ± 84.35 ($n= 105$) y 128.61 ± 116.34 ($n= 106$), respectivamente (Figura 7). El método fue capaz de detectar diferencias en el tiempo de reacción entre los genotipos europeo y africanizado. Las abejas africanizadas fueron significativamente más rápidas en iniciar el acicalamiento en los tres tratamientos ($t= -2.38$, $gl= 104$ para el tratamiento sin varroa; $t= -3.83$, $gl= 103$ para el tratamiento con varroa, y $t= -3.65$, $gl= 105$ para el tratamiento con harina, $P<0.01$). Asimismo, los tiempos de reacción fueron progresivamente menores en los tratamientos con varroa y con harina en comparación con el tratamiento testigo en los dos genotipos de abejas (Figura 8). También se detectó una diferencia significativa entre los dos genotipos de abejas para el tratamiento con varroa ($t= -3.70$, $gl= 103$, $P<0.01$), aun cuando se analizaron los datos considerando tiempos de reacción ≤ 3 min.

6.2.2 Evaluación directa e indirecta del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas agrupadas en diferentes familias.

Método directo. El tiempo promedio de reacción de las abejas a varroa ($s \pm D.E.$) obtenido en la primera medición fue de 52.9 ± 19.7 ($n= 59$), mientras que el de la segunda medición fue de 58.8 ± 19.6 ($n= 59$). No se encontró correlación entre la primera y segunda medición ($r = 0.08$; $n = 59$; $P>$

0.05). Tampoco se halló diferencia significativa entre las dos mediciones ($F= 3.46$; $gl= 1, 58$; $P> 0.05$). El tiempo de reacción promedio para el apiario experimental fue de 55.9 ± 14.46 , con valores mínimos y máximos de 32.04 a 98.4 s ($n= 59$, Cuadro 5).

Método indirecto. Se analizaron microscópicamente 5087 varroas adultas, de las cuales 3077 (60.49%) fueron normales y 2010 (39.51%) mostraron daños. Entre las 2010 varroas dañadas, se detectaron 1495 (29.39%) con amputaciones de patas y/o con lesiones parecidas a mordeduras del idiosoma, mientras que 515 (10.12%) tuvieron daños consistentes en hundimientos del escudo dorsal y/o que perdieron la totalidad de los escudos ventrales (caparazones). El tipo de lesión más frecuente fue la amputación de patas (89%) y la menos frecuente la de mordeduras del idiosoma (3%). El 8% restante correspondió a una combinación de lesiones en patas e idiosoma.

Con base en promedios por colonia se obtuvo una media general para el apiario de $31.79\% \pm 13.80$ D.E. ácaros lesionados con valores mínimos y máximos de 3.34 y 73.94%. Los promedios por muestreo variaron significativamente ($F= 4.01$; $gl= 4, 205$; $P< 0.01$; Cuadro 5).

Correlación fenotípica entre variables de respuesta del comportamiento de acicalamiento (método directo e indirecto). No se encontró correlación significativa entre el tiempo de reacción a varroa y el porcentaje de ácaros lesionados ($r= 0.1469$, $n= 59$, $P>0.05$).

6.2.3 Correlaciones fenotípicas entre variables de respuesta del comportamiento de acicalamiento con las del comportamiento higiénico. No se halló correlación significativa entre el tiempo de reacción a varroa y el porcentaje de limpieza de las celdas medido con las pruebas de congelación lenta ($r= -0.0753$) y congelación rápida ($r= -0.241$) ($n= 59$; $P> 0.05$ en ambos casos). No obstante, la correlación entre el tiempo de reacción y el porcentaje de limpieza expresado con la prueba de punción, fue negativa y significativa ($r= -0.3914$, $n= 59$, $P<0.01$). El porcentaje de ácaros lesionados no tuvo correlación con el porcentaje de comportamiento higiénico medido con las pruebas de congelación lenta ($r= 0.1427$), congelación rápida ($r= 0.1098$) y punción ($r= 0.0293$) ($n= 59$, $P>0.05$ en todos los casos).

6.3 Evaluación de características asociadas con la inhibición de la reproducción de *V. destructor* en colonias de *A. mellifera* agrupadas en diferentes familias

La tasa de reproducción verdadera promedio del apiario experimental fue de 0.8 ± 0.4 D.E. con valores mínimos y máximos de 0 y 1.64 (Cuadro 5). Los promedios registrados en cada medición variaron significativamente ($F= 3.38$; $gl= 4, 172$; $P< 0.05$); se observó que en noviembre se elevó a 1.2 (Cuadro 5, Figura 9).

El porcentaje promedio de varroas fundadoras infértiles para el apiario experimental fue de 14.4 ± 11.3 D.E., con valores ubicados en un intervalo de 0 a 56.2% (Cuadro 5). Se registró diferencia significativa entre mediciones para esta característica ($F= 6.12$; $gl= 4, 172$; $P< 0.01$), misma que se fue incrementando desde octubre ($7.3\% \pm 15.4$ D.E.) hasta alcanzar su nivel más alto en febrero ($21.6\% \pm 23.9$ D.E.) (Cuadro 5, Figura 9).

No se encontró correlación significativa entre la tasa de reproducción verdadera y el porcentaje de varroas fundadoras infértiles ($r= 0.0011$, $n= 57$, $P> 0.05$).

Correlaciones fenotípicas entre variables de respuesta de características de inhibición de la reproducción de varroa con las variables de respuesta del comportamiento de acicalamiento y con las del comportamiento higiénico. La tasa de reproducción verdadera se correlacionó positiva y significativamente con el porcentaje de comportamiento higiénico expresado con la prueba de punción ($r= 0.2849$, $n= 57$, $P< 0.05$); sin embargo, la tasa de reproducción verdadera no se correlacionó con los datos del comportamiento higiénico obtenidos con las pruebas de congelación lenta y congelación rápida. La tasa de reproducción verdadera se correlacionó negativa y significativamente con el tiempo de reacción a varroa ($r= -0.3079$) y con el porcentaje de ácaros lesionados ($r= -0.2757$) ($n= 57$, $P< 0.05$ para todos los casos) (Cuadro 6). Por otro lado, el porcentaje de varroas fundadoras infértiles no tuvo correlaciones significativas con las respuestas higiénicas medidas con las tres pruebas, ni con las variables del comportamiento de acicalamiento medido directa e indirectamente (Cuadro 6).

6.4 Evaluación del desarrollo poblacional de *V. destructor* en colonias de *A. mellifera* agrupadas en diferentes familias

El promedio general de la caída natural diaria de ácaros fue de 25.7 ácaros ± 24.3 D.E. (Cuadro 5). No hubo diferencia significativa entre mediciones para esta variable ($F= 0.5781$; $gl= 4, 211$; $P>$

0.05). El promedio del número de ácaros caídos en cada uno de los cinco muestreos se presenta en el Cuadro 5 y en la Figura 10.

Referente a la infestación de las crías, se obtuvo un promedio general de $13.2\% \pm 9.47$ D.E. Se registró diferencia significativa entre mediciones para esta variable ($F= 25.46$; $gl= 4, 172$; $P< 0.01$). La infestación de las crías se fue incrementando desde el principio del estudio, de tal forma que en octubre se registró una infestación significativamente menor que la de febrero (5.9 ± 6.7 D.E. y $17\% \pm 13.7$ D.E., respectivamente) (Cuadro 5, Figura 10).

En cuanto al porcentaje de infestación en las abejas adultas, se obtuvo un promedio general de $7.9\% \pm 5.6$ D.E. Se encontraron diferencias significativas entre mediciones para esta variable ($F= 29.64$; $gl= 4, 205$; $P< 0.01$), detectándose un incremento mensual desde el inicio de las observaciones (Cuadro 5, Figura 10).

Se encontró correlación positiva y altamente significativa entre la caída natural diaria de ácaros y la infestación en abejas adultas ($r= 0.7806$, $n= 59$, $P< 0.01$) y con la infestación en las crías ($r= 0.8518$, $n= 57$, $P< 0.01$). Lo mismo ocurrió entre la infestación en abejas adultas y la infestación en crías ($r= 0.7888$, $n= 57$, $P< 0.01$).

6.5 Heredabilidades de características relacionadas con la resistencia de las abejas a *V. destructor*

Comportamiento higiénico de las abejas. No se encontraron diferencias significativas entre grupos genéticos ($F= 1.63$; $gl= 9, 59$; $P> 0.05$) ni entre mediciones ($F= 0.10$; $gl= 1, 59$; $P> 0.05$) pero sí entre colonias anidadas en grupos ($F= 2.94$; $gl= 50, 59$; $P< 0.01$) para la prueba de congelación lenta. Se encontraron diferencias significativas entre los promedios de las 16 colonias que expresaron mayor y menor comportamiento higiénico con esta prueba ($t= 23.68$, $gl= 14$, $P< 0.01$). Las medias (\pm D.E.) de los grupos clasificados por su alto y bajo comportamiento higiénico con esta prueba fueron $96.6 \pm 2.0\%$ y $37.1 \pm 5.6\%$, respectivamente. En los Anexos 2 y 3 se muestran las 16 colonias que presentaron los niveles extremos para esta característica. La h^2 para esta característica fue de 0.28 ± 0.38 E.E., sin embargo, no fue significativa ($P> 0.05$). Los componentes de varianza y logaritmos de verosimilitud con datos transformados y no transformados se presentan en los Cuadros 7 y 8, respectivamente.

Se encontraron diferencias significativas entre grupos genéticos ($F= 3.60$; $gl= 9, 59$; $P< 0.01$) y entre colonias anidadas en grupos ($F= 1.87$; $gl= 50, 59$; $P< 0.05$) pero no entre mediciones ($F= 2.10$; $gl= 1, 59$; $P> 0.05$) para la prueba de congelación rápida. Los grupos genéticos que expresaron el más alto y el más bajo comportamiento higiénico promedio con esta prueba fueron el C ($93.4 \pm 9.7\%$ D.E.) y el I ($41.5 \pm 18\%$ D.E.), respectivamente (Figura 11). Se encontraron

diferencias significativas entre los promedios de las colonias que expresaron mayor y menor comportamiento higiénico ($t= 26.45$, $gl= 14$, $P < 0.01$). Las medias (\pm D.E.) de los grupos seleccionados por su alto y bajo comportamiento higiénico fueron $96.5 \pm 2.7\%$ y $31.7 \pm 6.4\%$, respectivamente. En los Anexos 2 y 3 se muestran las 16 colonias que presentaron los niveles extremos para esta característica. Se obtuvo un coeficiente de heredabilidad alto y significativo (0.94 ± 0.50 E.E., $P < 0.01$) para el comportamiento higiénico evaluado mediante esta prueba. Los componentes de varianza y logaritmos de verosimilitud se presentan en el Cuadro 7.

Se encontraron diferencias entre grupos genéticos ($F= 2.26$; $gl= 9, 59$; $P < 0.05$), entre colonias anidadas dentro de grupos ($F= 1.76$; $gl= 50, 59$; $P < 0.05$) y entre mediciones ($F= 4.32$; $gl= 1, 59$; $P < 0.05$) para la prueba de punción. Los grupos que presentaron el mayor y menor comportamiento higiénico con esta prueba fueron el H ($97.9 \pm 1.7\%$ D.E.) y el G ($78.0 \pm 20\%$ D.E.), respectivamente (Figura 12). Se encontraron diferencias significativas entre los promedios de las colonias que expresaron mayor y menor comportamiento higiénico ($t= 15.15$, $gl= 14$, $P < 0.01$). Las medias (\pm D.E.) de las ocho colonias con alto y de las ocho colonias con bajo comportamiento higiénico con esta prueba fueron $99.2 \pm 0.64\%$ y $62.2 \pm 9.1\%$, respectivamente. En los Anexos 2 y 3 se muestran las 16 colonias que presentaron los niveles extremos para esta característica. La h^2 del comportamiento higiénico evaluado con esta prueba no fue significativa (0.47 ± 0.39 E.E., $P > 0.05$). Los componentes de varianza y logaritmos de verosimilitud con datos transformados y no transformados se presentan en los Cuadros 7 y 8, respectivamente.

Comportamiento de acicalamiento de las abejas. No se encontraron diferencias entre grupos genéticos ($F= 0.37$; $gl= 9, 58$; $P > 0.05$) ni entre colonias anidadas en grupos ($F= 1.15$; $gl= 49, 58$; $P > 0.05$) para el tiempo de reacción a varroa. Se encontraron diferencias significativas entre los promedios de las ocho colonias que expresaron mayor y las ocho colonias que expresaron menor tiempo de reacción ($t= 19.48$, $gl= 14$, $P < 0.01$). Las medias (\pm D.E.) de estas colonias seleccionadas fueron 80 ± 12.8 s y 34.6 ± 1.7 s, respectivamente. En los Anexos 2 y 3 se indican las 16 colonias que presentaron los niveles extremos para esta característica. Por otro lado, se encontró una h^2 no significativa (0.08 ± 0.2 E.E., $P > 0.05$) para el tiempo de reacción a varroa. Los componentes de varianza y logaritmos de verosimilitud con datos transformados y no transformados se presentan en los Cuadros 7 y 8, respectivamente.

Referente a la característica ácaros lesionados, no se encontraron diferencias entre grupos genéticos ($F= 0.71$; $gl= 9, 205$; $P > 0.05$), pero sí entre colonias anidadas en grupos ($F= 1.75$; $gl= 49, 205$; $P < 0.01$). Se encontraron diferencias significativas entre los promedios de las ocho colonias que expresaron el mayor y las ocho colonias que expresaron el menor porcentaje de ácaros lesionados ($t= 10.88$, $gl= 14$, $P < 0.01$). Las medias (\pm D.E.) de ambos grupos fueron $56.5 \pm 9.5\%$ y $12.3 \pm 5.0\%$, respectivamente. Los Anexos 2 y 3 muestran las 16 colonias que presentaron

los niveles extremos para esta característica. La h^2 para el porcentaje de ácaros lesionados fue de 0.0 ± 0.0 E.E. Los componentes de varianza y logaritmos de verosimilitud con datos transformados y no transformados se presentan en los Cuadros 7 y 8.

Características de inhibición de la reproducción de *V. destructor*. No se encontraron diferencias entre grupos genéticos ($F= 0.68$; $gl= 9, 172$; $P> 0.05$) ni entre colonias anidadas en grupos ($F= 0.89$; $gl= 47, 172$; $P> 0.05$) para la tasa de reproducción verdadera. Se encontraron diferencias significativas entre los promedios de las colonias en las que *V. destructor* expresó mayor y menor tasa de reproducción verdadera ($t= 20.04$, $gl= 14$, $P< 0.01$). Las medias (\pm D.E.) de las ocho colonias con alta y las ocho colonias con baja tasa de reproducción verdadera fueron 1.5 ± 0.12 y 0.18 ± 0.15 , respectivamente. En los Anexos 2 y 3 se muestran las 16 colonias que presentaron los niveles extremos para esta característica. La h^2 para esta característica fue de 0.0 ± 0.0 E.E. Los componentes de varianza y logaritmos de verosimilitud con datos transformados y no transformados se presentan en los Cuadros 7 y 8.

En cuanto a la característica de varroas fundadoras infértiles, se encontraron diferencias entre grupos genéticos ($F= 2.69$; $gl= 9, 172$; $P< 0.05$) pero no entre colonias anidadas en grupos ($F= 1.07$; $gl= 47, 172$; $P> 0.05$). Los grupos genéticos con el más alto y el más bajo porcentaje de infertilidad de varroa fueron el E (19.8 ± 16.8 D.E.) y el B (8.6 ± 12.6 D.E.), respectivamente (Figura 13). También se encontraron diferencias significativas entre los promedios de las colonias seleccionadas en las que varroa expresó alto y bajo porcentaje de infertilidad ($t= 12.9$, $gl= 14$, $P< 0.01$). Las medias (\pm D.E.) de ambos grupos de colonias fueron $34.1 \pm 12.5\%$ y $0 \pm 0\%$. En los Anexos 2 y 3 se muestran las 16 colonias que presentaron los niveles extremos para esta característica. La h^2 para el porcentaje de varroas fundadoras infértiles fue significativa (0.19 ± 0.15 E.E., $P< 0.05$). Los componentes de varianza y logaritmos de verosimilitud con datos transformados y no transformados se presentan en los Cuadros 7 y 8.

Características del desarrollo poblacional de *V. destructor*. Se encontraron diferencias entre grupos genéticos ($F= 3.19$; $gl= 9, 211$; $P< 0.01$) y entre colonias anidadas en grupos ($F= 4.09$; $gl= 49, 211$; $P< 0.01$) para la caída natural diaria de ácaros. Los grupos con el más alto y el más bajo número de ácaros caídos/día fueron el E (51 ± 39 D.E.) y el F (6.4 ± 5.8 D.E.) (Figura 14). Asimismo, se encontraron diferencias significativas entre los promedios de las colonias que tuvieron mayor y menor caída de ácaros ($t= 21.40$, $gl= 14$, $P< 0.01$). La media (\pm D.E.) del grupo con mayor caída de ácaros/día fue 75.5 ± 14 y la del grupo con menor caída de ácaros/día de 4.3 ± 1.7 . En los Anexos 2 y 3 se muestran las 16 colonias que presentaron los niveles extremos para esta característica. Las h^2 para la caída natural diaria de ácaros fue significativa (0.52 ± 0.33 E.E.,

$P < 0.01$). Los componentes de varianza y logaritmos de verosimilitud con datos transformados y no transformados se presentan en los Cuadros 7 y 8.

En cuanto a la infestación en las crías, se encontraron diferencias entre grupos genéticos ($F = 6.22$; $gl = 9, 172$; $P < 0.01$) y entre colonias anidadas en grupos ($F = 3.10$; $gl = 47, 172$; $P < 0.01$). Los grupos con la más alta y la más baja infestación en crías fueron el E ($24.4 \pm 15.5\%$ D.E.) y el F ($3.3 \pm 4.3\%$ D.E.) (Figura 15). Se encontraron diferencias significativas entre los promedios de las colonias que tuvieron mayor y menor infestación ($t = 21.42$, $gl = 14$, $P < 0.01$). La media (\pm D.E.) del grupo de alta infestación fue de $31.3 \pm 4\%$ y la del grupo de baja infestación de $2 \pm 1.9\%$. En los Anexos 2 y 3 se indican las 16 colonias que presentaron los niveles extremos para esta característica. La h^2 para la infestación en crías fue significativa (1.0 ± 0.46 E.E., $P < 0.01$). Los componentes de varianza y logaritmos de verosimilitud con datos transformados y no transformados se presentan en los Cuadros 7 y 8.

Relativo a la infestación en abejas adultas, se encontraron diferencias entre grupos genéticos ($F = 3.05$; $gl = 9, 205$; $P < 0.01$) y entre colonias anidadas dentro de grupos ($F = 4.86$; $gl = 49, 205$; $P < 0.01$). Los grupos con la más alta y la más baja infestación fueron el E ($12.7 \pm 10.4\%$ D.E.) y el F ($3.1 \pm 3.1\%$ D.E.), respectivamente (Figura 16). Se encontraron diferencias significativas entre los promedios de las colonias que tuvieron mayor y menor infestación ($t = 15.39$, $gl = 14$, $P < 0.01$). La media (\pm D.E.) del grupo de alta infestación fue de $19.2 \pm 4.6\%$ y la del grupo de baja infestación de $1.5 \pm 0.58\%$. En los Anexos 2 y 3 se muestran las 16 colonias que presentaron los niveles extremos para esta característica. La h^2 para la infestación en abejas adultas fue significativa (0.58 ± 0.38 E.E., $P < 0.01$). Los componentes de varianza y logaritmos de verosimilitud con datos transformados y no transformados se presentan en los Cuadros 7 y 8.

6.6 Correlaciones fenotípicas entre variables que confieren resistencia a las abejas contra *V. destructor* con variables del desarrollo poblacional del ácaro

Con base en los promedios de las colonias experimentales se obtuvo una correlación negativa y significativa entre el porcentaje de ácaros lesionados y el porcentaje de infestación en crías ($r = -0.2869$, $n = 57$, $P < 0.05$). Asimismo, se obtuvieron correlaciones positivas y significativas entre el porcentaje de varroas fundadoras infértiles y el número de ácaros caídos/día ($r = 0.2827$); entre el porcentaje de varroas fundadoras infértiles y el porcentaje de infestación en abejas adultas ($r = 0.2655$) y entre el porcentaje de varroas fundadoras infértiles y el porcentaje de infestación en crías ($r = 0.3005$) ($n = 57$, $P < 0.05$ para todos los casos). Los coeficientes de correlación del resto de las variables no fueron significativos (Cuadro 9).

Con respecto al análisis de los promedios de las 16 colonias que mostraron niveles extremos de

infestación en abejas adultas, se detectó adicionalmente, una correlación negativa y significativa entre el porcentaje de ácaros lesionados con el porcentaje de infestación en abejas adultas ($r = -0.7470$, $P < 0.01$).

7 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

7.1 Evaluación del comportamiento higiénico en colonias de abejas (*A. mellifera*)

7.1.1 Experimento 1. Comparación de tres pruebas para medir el comportamiento higiénico de las abejas. Los resultados revelaron que las tres pruebas midieron de manera relacionada el comportamiento higiénico en las abejas (Cuadro 1). Newton y Ostasiewski (1986) y Spivak y Downey (1998) encontraron una alta correlación entre la proporción de cría removida por punción y por congelación lenta, pero no compararon estas pruebas con la de congelación rápida. Las correlaciones entre pruebas probablemente obedecen al hecho de que en los tres casos se sacrifican crías y las abejas tienen la capacidad de detectar y remover crías muertas (Rothenbuhler 1964a, Masterman *et al.* 2000).

Los resultados de la prueba de punción mostraron la menor variabilidad entre colonias (la menor S^2 , D.E. y el más bajo C.V.) cuando se compararon con los de las pruebas de congelación, y de acuerdo con los valores máximos y mínimos, únicamente se pudieron detectar colonias con capacidad de limpieza intermedia o alta (Cuadros 2 y 3); la distribución de esta característica (Figura 5) apoya esta inferencia. Por lo anterior se considera que la prueba de punción presenta una baja capacidad discriminatoria y confiabilidad. La baja correlación obtenida entre repeticiones con esta prueba ($r = 0.37$, $n = 60$, $P < 0.01$), probablemente se debió a que el 62.2% de la variación en su expresión, se vio afectada por efectos ambientales (Cuadro 8). A pesar de su baja capacidad discriminatoria, la prueba de punción fue la más económica y práctica para medir el comportamiento higiénico de las abejas. Otros investigadores han llegado a esta misma conclusión (Newton y Ostasiewski 1986, Gramacho *et al.* 1999).

La prueba de congelación rápida mostró alta variabilidad así como una significativa correlación entre repeticiones ($r = 0.45$, $n = 60$, $P < 0.01$), y aunque esta correlación no fue significativamente diferente a las de las pruebas de punción y congelación lenta, y que su S^2 no fue diferente a la prueba de congelación lenta, la prueba de congelación rápida permitió distinguir colonias de alto y bajo nivel de comportamiento higiénico (Figura 4); esto respalda su capacidad discriminatoria y confiabilidad. Además, de acuerdo con el análisis de componentes de varianza, fue la prueba que mostró el mayor porcentaje (23.99%) de efectos genéticos aditivos (Cuadro 8). Otras cualidades de la prueba de congelación rápida radican en que provoca una muerte instantánea de las crías y en que sólo se requiere hacer dos viajes al apiario para su implementación. Sin embargo, se observaron las siguientes desventajas: el nitrógeno líquido es difícil de conseguir, es costoso, se necesita un termo especial para almacenarlo y se requiere un vehículo para transportarlo. El peso del termo dificultó su movilización en condiciones de campo, por lo que para agilizar los experimentos se tuvo que incrementar el número de personas que participaron en su aplicación.

Además se tuvieron que tomar medidas de seguridad adicionales para evitar quemaduras en el personal que lo aplicó. Aunque en conjunto estas circunstancias contribuyeron a elevar sus costos y a catalogarlo como impráctico para los apicultores que sólo se dedican a la producción, se considera que la prueba de congelación rápida es útil para investigación y para aquellos apicultores involucrados en el mejoramiento genético de las abejas.

La prueba de congelación lenta tuvo una alta capacidad discriminadora ya que sus medidas de dispersión fueron altas, y aunque su S^2 y su correlación entre repeticiones ($r= 0.56$, $n= 60$, $P< 0.01$) no fueron diferentes a las de la prueba de congelación rápida, la prueba de congelación lenta igualmente permitió detectar colonias con alta y baja respuesta higiénica (Figura 3), lo que la hace confiable. No obstante, fue la prueba que tuvo la menor variación (7.19%) debida a efectos genéticos aditivos (Cuadro 8). Spivak y Downey (1998) señalaron que la técnica de congelación lenta constituye el procedimiento más conservador y confiable para evaluar el comportamiento higiénico, empero, basaron este argumento únicamente en la comparación del método de congelación lenta y el de punción, sin haberlos comparado con el método de congelación con nitrógeno líquido. Estos investigadores encontraron que una ventaja de este método radica en que, ni la edad de las pupas sacrificadas ni la procedencia de la sección de panal utilizada, influyen en el grado de respuesta higiénica de las colonias, por lo que podrían probarse más colonias en menos tiempo. En el presente estudio se detectaron ciertas desventajas del método de congelación lenta, entre las que destacan la necesidad de contar con un congelador y el proceso de medición que implicó la realización de tres viajes al apiario. Ambas circunstancias provocaron un incremento en sus costos debido al tiempo, mano de obra y transporte empleados.

Las abejas removieron 23% y 19% más pupas con la prueba de punción que con las de congelación rápida y congelación lenta. De hecho, 25 colonias (41.7%) expresaron un comportamiento higiénico superior a 95% con esta técnica (Cuadro 3, Figura 5). Estos resultados concuerdan con los de Spivak y Downey (1998), quienes observaron un 40% de mayor remoción de las crías sacrificadas por el método de punción, cuando lo compararon con el de congelación lenta. Cinco a seis colonias (< 10%) evaluadas con los dos métodos de congelación, removieron más del 95% de las crías sacrificadas (Cuadro 3), lo que concuerda con el 12% registrado en un estudio realizado en colonias de abejas en Yucatán, México (Medina y Medina 2003) y con el estudio de Spivak y Reuter (1998a), quienes señalaron que la característica de alta higiene se ha identificado en aproximadamente el 10% de las colonias de cualquier raza o estirpe de abejas en los Estados Unidos de Norteamérica.

7.1.2 Experimento 2. Comparación de dos tiempos de lectura para la prueba de punción. Los resultados de este experimento demostraron que a pesar de que se redujo el tiempo de lectura del tratamiento de punción, la prueba no mejoró su capacidad discriminadora, ya que no hubo diferencia en el grado de comportamiento higiénico evaluado a las 8 h en relación con el evaluado a las 24 h y tampoco hubo diferencia entre las varianzas de las dos lecturas, lo que refuerza la idea de que la prueba de punción es menos confiable que las pruebas que involucran el congelamiento de las crías.

Con base en el análisis de varianza se encontró que cuando se puncionaron las crías en el tratamiento a 8 h, las abejas retiraron alrededor de 41 veces más pupas dañadas, que las inalteradas del tratamiento testigo, y seis veces más, que cuando las celdas se desopercularon parcialmente. Las crías de este último tratamiento fueron removidas en un número significativamente mayor al del tratamiento testigo, a pesar de que las crías no fueron dañadas (Figura 6). Aunado a esto, si se toma en cuenta que en el primer experimento las abejas removieron cerca de 1.3 veces más crías puncionadas que las sacrificadas con las dos pruebas de congelación, entonces se puede sugerir que con la prueba de punción se genera un mayor estímulo que desencadena una alta y rápida respuesta higiénica de las abejas, lo que puede ser ocasionado por la liberación de olores y hemolinfa a través del opérculo perforado. Este argumento se contrapone a lo referido por Newton y Ostasiewski (1986), quienes señalaron que ni la perforación del opérculo ni la pérdida de hemolinfa de la pupa provocan una rápida desoperculación de la cría sacrificada. Sin embargo, los resultados de estos investigadores son contradictorios, ya que cuando depositaron hemolinfa sobre pupas vivas, las abejas removieron 81% de éstas. Spivak y Downey (1998) y Gramacho *et al.* (1999) evaluaron las claves que estimulan el comportamiento de remoción de las crías sacrificadas por punción. En esos estudios se encontró que un mayor número de pupas fueron removidas cuando se puncionaron o cuando fueron tratadas con hemolinfa, en comparación con pupas que no se habían dañado, por lo que se concluyó que el factor desencadenante de la remoción fue la hemolinfa que fue percibida por las abejas.

En el segundo experimento de este estudio se observó que cuando se alteró la estructura del opérculo sin dañar a las crías, las abejas removieron un bajo porcentaje de pupas (14%, Figura 6). Esta situación probablemente se debió a olores liberados a través del opérculo perforado, aunque el presente estudio no lo puede demostrar. Es importante considerar que aún cuando no se dañó a las crías ni el opérculo de las celdas con el tratamiento testigo, las abejas removieron una pequeña proporción de las pupas (2.1%, Figura 6). Esto confirma que el ambiente interno de la colonia puede influir en el comportamiento higiénico tal y como lo refirieron diversos investigadores (Message y Gonçalves 1979, Spivak y Gilliam 1998, Espinosa 1998). En este sentido, Gramacho *et al.* (2003) sugieren descontar este porcentaje (que expresa el efecto ambiental) del porcentaje total

de remoción expresado particularmente con el método de punción, lo cual permitiría tener una medición más precisa del comportamiento higiénico de las colonias.

Se concluye que la prueba de congelación rápida fue la más recomendable para ser usada a nivel científico, debido a que demostró alta capacidad discriminatoria y porque fue la que expresó mayor porcentaje de efectos aditivos. Por otro lado, la prueba de congelación lenta fue la más recomendable a nivel de campo, ya que fue la segunda más económica, práctica y porque también demostró alta capacidad discriminatoria.

7.2 Evaluación del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas (*A. mellifera*)

7.2.1 Confiabilidad de un método directo para medir el comportamiento de acicalamiento en dos poblaciones de abejas melíferas. Los resultados mostraron que con el método evaluado fue posible detectar una disminución significativa en el tiempo de reacción de las abejas a cuerpos extraños puestos sobre sus cuerpos. Cuando se colocó una varroa sobre el cuerpo de cada abeja, se observó que empezaron a acicalarse en un tiempo 30% más rápido que con el tratamiento testigo. Cuando se usó harina, el tiempo de reacción de las abejas se redujo en 63% comparado al tratamiento testigo. Esto probablemente se debió a que la harina constituye un cuerpo extraño más irritante para las abejas que la propia varroa, que contribuye al igual que otros productos aplicados en polvo, a estimular la auto-limpieza de las abejas y por consiguiente, a favorecer el desprendimiento de los ácaros. Por ello, este procedimiento se ha empleado como método de control o diagnóstico de la varroosis (Fakhimzadeh 2000).

El método probado también demostró ser útil para detectar variación en el tiempo de inicio de acicalamiento entre dos genotipos de abejas. Las abejas africanizadas fueron significativamente más acicaladoras que las abejas europeas en los tres tratamientos. Esta diferencia entre genotipos se mantuvo aun cuando se consideró un tiempo máximo de observación de 3 min con el tratamiento donde se utilizó varroa. Por lo anterior, podría aplicarse la prueba con varroa durante 3 min para hacerla más eficiente, ya que reducir el tiempo de observación permitiría aligerar el trabajo, disminuyendo el cansancio visual, o bien, se podría evaluar un mayor número de abejas. Moretto *et al.* (1993) ya habían usado un método directo para estudiar el acicalamiento en colonias africanizadas y europeas, y aunque no probaron su confiabilidad antes de aplicarlo, lograron identificar diferencias significativas entre ambos genotipos, cuando evaluaron el porcentaje de abejas que se acicalaban para quitarse una varroa del cuerpo durante 5 min. Por otro lado Aumeier (2001), quien evaluó la confiabilidad de una técnica de observación directa del comportamiento de acicalamiento, detectó diferencias significativas en respuestas entre dos genotipos de abejas. Las

abejas africanizadas reaccionaron con mayor rapidez e intensidad, que las abejas carniolas de su estudio, lo que concuerda con los resultados del presente trabajo.

7.2.2 Evaluación directa e indirecta del comportamiento de acicalamiento en colonias de abejas agrupadas en diferentes familias. Los resultados de la aplicación del método directo para evaluar el comportamiento de acicalamiento en los diferentes grupos experimentales, revelaron diferencias fenotípicas entre los promedios de las colonias, ya que se detectaron colonias con rápida (32 s) y lenta (98.4 s) reacción (Cuadro 5). El promedio general de reacción (55.9 s) implica que el parásito provocó algún tipo de irritación que estimuló una respuesta rápida (< 1 min) en las abejas. Esta rápida respuesta fue semejante al promedio obtenido en las abejas africanizadas del experimento preliminar (Figura 8), así como a la reportada por Aumeier (2001) para abejas de raza carniola y a la verificada por Vandame *et al.* (2002) para abejas africanizadas y europeas. Al descomponer la variación fenotípica se verificó que un alto porcentaje (92.2%) correspondió a efectos ambientales (Cuadro 8), lo que pudo ser el factor causante de que no hubiera diferencia ni correlación entre las dos mediciones realizadas en las mismas colonias. Los resultados estadísticos descriptivos son difíciles de comparar con los de otras referencias documentales, ya que si bien en la presente evaluación se consideraron las respuestas individuales de las abejas, éstas se promediaron para obtener una estimación general del comportamiento de cada colonia.

Por lo que respecta al método indirecto de evaluación del comportamiento de acicalamiento, se observó que el 39.1% de los ácaros examinados tuvieron lesiones atribuibles al posible acicalamiento de las abejas, ya que se encontraron daños en las patas y el idiosoma. Este valor disminuyó cuando se calculó el promedio general del apiario (31.8%). El análisis de componentes de varianza demostró que gran parte de la variación (89.28%) se debió a efectos ambientales (Cuadro 8). Al comparar los promedios obtenidos en este estudio con los de otros investigadores, se observa que fueron muy superiores al 14.9% y 15.1% referidos en México por Vandame *et al.* (2002) con abejas africanizadas y por Mondragón *et al.* (2005) para abejas africanizadas e híbridas (europeas x africanizadas), respectivamente y se encuentra más cercano a los promedios de 33.2 a 37%, citados en otros estudios realizados con abejas africanizadas en México (Espinosa 1998, Correa-Marques *et al.* 1998) y Brasil (Correa-Marques *et al.* 2000). Particularmente, en un estudio realizado recientemente en Alemania por Correa-Marques *et al.* (2002), se recolectaron más ácaros lesionados en colonias de *A. m. carnica* (42.3%) en comparación con colonias de *A. m. ligustica* (35.8%) que habían demostrado ser resistentes a varroa en Brasil. A partir de estos resultados, dichos autores indicaron que ninguna de las dos razas de abejas demostró ser más resistente a varroa.

Correlación fenotípica entre variables de respuesta de los métodos directo e indirecto. En el presente trabajo no se encontró relación entre el tiempo de inicio de acicalamiento y el porcentaje de ácaros lesionados, lo cual podría ser indicativo de que los dos métodos de medición miden componentes diferentes de un comportamiento que puede ser más complejo (Aumeier 2001). Es posible que la técnica directa aplicada en condiciones de laboratorio, no reflejara lo que verdaderamente aconteció en las colonias de campo, en las cuales se midió la proporción de ácaros lesionados. En este trabajo se detectó que las abejas reaccionaron a la irritación provocada por los ácaros tratando de retirarlos con las patas, pero no se observó que logran atraparlos para provocarles lesiones. En la mayor parte de las ocasiones los ácaros se movían a la región ventral del abdomen de las abejas, del tal forma que se ocultaban a la acción de ellas. Esto mismo fue señalado por Vandame *et al.* (2002), quienes verificaron que a pesar de que las abejas reaccionaron rápidamente a la colocación del ácaro sobre sus cuerpos, sólo un bajo porcentaje logró ser removido por las abejas. A pesar de que fue menos frecuente, también en el presente estudio se llegó a observar que los ácaros caían o se trepaban sobre otra abeja, y aunque todo esto no fue cuantificado, lo primero podría explicar por qué muchos de los ácaros recolectados en los pisos de las colmenas no presentaron lesiones. Fries *et al.* (1996) también observaron que los ácaros caían debido a condiciones naturales, sin mostrar daños aparentes; además indicaron que el movimiento de ácaros de una abeja a otra, no puede interpretarse como remoción satisfactoria que implique resistencia por parte de las abejas, ya que para que la remoción sea efectiva, se requiere no sólo que las abejas remuevan a los ácaros de su cuerpo, sino que éstos sean eliminados de las colonias.

En virtud de lo anteriormente expuesto y dado que no se halló correlación entre el método directo y el método indirecto, se puede concluir que el método indirecto no podría utilizarse en sustitución del método directo, por lo que sería necesario continuar evaluándolos, de tal manera que a futuro se descifren los componentes que regulan el comportamiento de acicalamiento y se determinen aquéllos que muestren mayor grado de interrelación y la mayor correlación con los niveles de infestación de las colonias.

7.2.3 Correlaciones fenotípicas entre variables de respuesta del comportamiento de acicalamiento con las del comportamiento higiénico. En este trabajo se observó que conforme disminuye el tiempo del inicio de acicalamiento en las abejas, se incrementa la remoción de pupas sacrificadas por punción. Esto podría deberse a que las abejas son muy sensibles a estímulos evidentes, uno de ellos producido por la liberación de hemolinfa después de sacrificar a las crías tras puncionarlas (Spivak y Downey 1998, Gramacho *et al.* 1999) y el otro generado por la irritación que les provoca el ácaro sobre el cuerpo, tornándolas más rápidas en sus respuestas (Aumeier 2001, Vandame *et al.* 2002). Concretamente, quizá exista algún factor que interrelacione la rapidez

de respuesta en las abejas adultas con la rapidez en la limpieza de las celdas cuyas pupas fueron puncionadas. Guzmán-Novoa *et al.* (2002) encontraron correlaciones entre niveles de actividad y comportamiento higiénico. Las abejas más activas tendieron a ser más higiénicas.

El no haber encontrado correlación entre el tiempo de inicio de acicalamiento con la remoción de crías sacrificadas por congelación lenta y congelación rápida, pudo deberse a que las crías sacrificadas de esa forma, probablemente no liberan algún tipo de olor o cualquier otro componente que de manera inmediata incite la limpieza de las celdas, aunque invariablemente reaccionen rápidamente al ácaro que perciben sobre el cuerpo. Estas hipótesis tendrían que ser confirmadas con experimentos mas detallados. Cabe aclarar que las abejas utilizadas para medir el acicalamiento, fueron tomadas al azar de panales con crías y se desconoce tanto el número como la edad de las abejas que intervinieron en la remoción de las crías sacrificadas. Con los experimentos realizados, no se tiene respuesta acerca del efecto de los factores antes mencionados sobre la expresión de ambos comportamientos. De hecho, poco se sabe sobre los mecanismos que estimulan la respuesta higiénica de las abejas; se ha sugerido que los factores desencadenantes pueden ser mecánicos o químicos, mismos que pueden originarse de las crías o de los ácaros (Masterman *et al.* 2000).

En el presente trabajo no se halló correlación entre el comportamiento de acicalamiento medido en función de la proporción de ácaros lesionados, con el porcentaje de crías removidas después de aplicar los tres métodos de sacrificio, lo cual podría indicar que aunque las abejas lograran remover la crías sacrificadas, los ácaros maduros que posiblemente se encontraban infestándolas no sufrieron daños, mientras que los inmaduros posiblemente sí se vieron afectados al grado de morir. En este estudio no se evaluó la mortalidad ni las lesiones de los ácaros inmaduros. Es necesario precisar que en el análisis estadístico, no se incluyeron los ácaros que presentaron lesiones del tipo hundimientos del escudo dorsal o restos de ácaros que no presentaron escudos ventrales (también llamados caparazones), daños que otros investigadores han asociado significativamente con el comportamiento higiénico (Correa-Marques *et al.* 1998, Espinosa 1998). Cabe destacar que Spivak (1996) no encontró diferencias significativas en la proporción de ácaros mutilados entre colonias de *A. m. ligustica* higiénicas y no higiénicas, recalando que no había razón para esperar que las abejas higiénicas fueran más acicaladoras, a pesar de ello, no excluyó la posibilidad de seleccionar colonias que expresen estas dos características en programas tendientes a desarrollar abejas resistentes a *V. destructor*.

7.3 Evaluación de características asociadas con la inhibición de la reproducción de *V. destructor* en colonias de *A. mellifera* agrupadas en diferentes familias

El promedio de la tasa de reproducción verdadera (0.8) obtenido en este estudio, coincide con los resultados de Mondragón *et al.* (2005), quienes documentaron una tasa de 0.88 para grupos de abejas europeas y africanizadas apareadas naturalmente con zánganos africanizados. Igualmente, la tasa de reproducción verdadera del presente trabajo se ubicó entre los niveles que Medina y Martin (1999) citaron para abejas africanizadas en México y abejas europeas en Inglaterra (0.73 y 0.92, respectivamente). Correa-Marques *et al.* (2003) por el contrario, han encontrado niveles ligeramente menores (0.64) para esta característica en abejas africanizadas de Brasil.

A pesar de que esa variable no se evaluó un año completo, se notaron fluctuaciones que registraron su nivel más alto en noviembre, lo cual coincide con la temporada de floración (Figura 9), por lo que estas observaciones complementan la información vertida por Mondragón *et al.* (2005), quienes también observaron variación en la tasa de reproducción verdadera a lo largo de un año en condiciones de trópico. El análisis de componentes de varianza demostró que un alto porcentaje de la variación (99.77%) se debió a efectos ambientales (Cuadro 8). Martin (1998) con base en diferentes estudios, estimó que en condiciones normales se puede producir un promedio de 1.01 hijas adultas viables por varroa fundadora. En el presente estudio 19 colonias (33%), rebasaron ese límite, lo que indica que dependiendo del número de ciclos reproductivos de cada varroa fundadora, al menos un ácaro más puede contribuir a elevar la parasitosis en esas colonias.

En cuanto al porcentaje de varroas fundadoras infértiles, se observó una tendencia creciente desde el inicio de las mediciones, de tal forma que la última medición registró un incremento tres veces mayor que la primera (Figura 9). Aunque fenotípicamente se distinguieron colonias con diferentes niveles de infertilidad, el 94.09% de la variación fue de origen ambiental (Cuadro 8). Por otro lado, el promedio general (14.4%), coincide con los valores encontrados por diferentes investigadores en México para abejas africanizadas y europeas: 3 y 18% (Vandame *et al.* 1999); 4 y 17% (Medina *et al.* 2002); 8.5 y 25.9% (Mondragón *et al.* 2005); no obstante, fue mucho menor que los registrados con abejas africanizadas en Brasil (43 a 75%) (Ritter y De Jong 1984, Rosenkranz y Engels 1994, Martin *et al.* 1997). Por ello, se ha descartado que la fertilidad de varroa en las abejas africanizadas en México, sea el mecanismo responsable de su resistencia, ya que los niveles son similares a los citados para abejas europeas (76 a 94%) (Martin *et al.* 1997, Vandame *et al.* 1999).

En este estudio no se encontró correlación entre la tasa de reproducción verdadera y el porcentaje de varroas fundadoras infértiles, indicando que en las colonias experimentales, la infertilidad del ácaro no afectó la capacidad reproductiva de la progenie. De hecho, los resultados

de la evaluación de estas dos variables, apoyan la suposición de que el ácaro se reprodujo dentro de los límites citados para poblaciones de abejas europeas establecidas en climas templados.

Correlaciones fenotípicas entre variables de respuesta de las características de inhibición de la reproducción de varroa con las variables de respuesta del comportamiento de acicalamiento y con las del comportamiento higiénico. De acuerdo con los resultados del presente trabajo, las colonias con mayor tasa de reproducción verdadera, fueron las que mostraron mayor remoción de crías sacrificadas por la técnica de punción. Una explicación plausible podría consistir en que, al aumentar el número de descendientes del ácaro que llegan a la etapa adulta, se incrementa la posibilidad de ocurrencia de lesiones sobre las pupas por los hábitos de alimentación de los ácaros, los cuales perforan la cutícula de las pupas en desarrollo, de tal forma que se produzca liberación de hemolinfa o cualquier otra sustancia, que quizás sea detectada por las abejas y estimule una rápida limpieza de las celdas (Spivak y Downey 1998, Gramacho *et al.* 1999, Masterman *et al.* 2000). Esta suposición tendría que ser confirmada con otros experimentos, ya que la tasa de reproducción verdadera, no presentó correlación con los porcentajes de crías removidas por las técnicas de congelación lenta y rápida, pruebas en las que se hubiera esperado la misma respuesta.

En el presente trabajo, también se verificó que cuando se incrementa la proporción de ácaros lesionados o el tiempo de reacción de las abejas a varroa, disminuye la tasa de reproducción verdadera. Esta relación puede indicar que posiblemente los ácaros foréticos sufren algún tipo de alteración que afecta su fecundidad, de tal forma que los descendientes no alcanzan el estado adulto. Esta hipótesis no puede ser confirmada, toda vez que se carece de información sobre experimentos que analicen en forma específica, el efecto de los ácaros lesionados por acicalamiento sobre la fecundidad de *V. destructor*.

Referente al porcentaje de varroas fundadoras infértiles, no se observó correlación con el porcentaje de comportamiento higiénico expresado con las pruebas de punción, congelación lenta y congelación rápida, ni con las variables del comportamiento de acicalamiento (tiempo de reacción a varroa y porcentaje de ácaros lesionados). En vista de estos resultados, se confirma que aún son inciertos los factores que regulan la reproducción de *V. destructor* (Fuchs 1994, De Jong 1997).

7.4 Evaluación del desarrollo poblacional de *V. destructor* en colonias de *A. mellifera* agrupadas en diferentes familias

Los resultados del presente trabajo mostraron que los niveles de infestación de *V. destructor* en las crías y en las abejas adultas, se incrementaron a lo largo del estudio. La última medición de las dos

variables registró un valor 2.88 veces mayor que la primera observación, esto no ocurrió con la caída natural diaria de ácaros, que se mantuvo a niveles constantes (Figura 10). Probablemente esto se debió a que la reproducción de los ácaros superó la mortalidad. El incremento en la reproducción pudo deberse a que un mes después de suspender el tratamiento acaricida, las colonias se infestaron artificialmente con una gran cantidad de ácaros que no tuvieron competencia con otros, y a que las colonias al inicio de los experimentos presentaron condiciones propicias, tales como suficientes crías y abejas adultas para que las poblaciones del parásito crecieran.

Comparando el nivel de infestación en abejas adultas obtenido en este trabajo (8%) con el citado por Arechavaleta y Guzmán-Novoa (2001), quienes realizaron sus experimentos en condiciones climáticas y metodológicas parecidas a las del presente estudio, se observa que fue similar al que ellos estimaron para su línea de abejas con baja infestación (10.5%). Referente a la infestación en las crías, registrada en este trabajo (13.2%), se observa que fue menor al que estos mismos autores estimaron para su línea con baja infestación (39.8%). Por otro lado, tanto los niveles de infestación en abejas adultas como el de las crías en este estudio, coinciden con el 6.7% y 10.7% respectivamente, citados por Mondragón *et al.* (2005) con abejas africanizadas e híbridas (europeas x africanizadas) evaluadas en Veracruz. Con base en los valores máximos y mínimos, se verificaron diferencias fenotípicas entre colonias para las tres características del desarrollo poblacional de varroa, lo cual coincide con lo observado en diversos estudios (Boecking y Ritter 1994, De Jong 1997, Arechavaleta y Guzmán-Novoa 2001, Mondragón *et al.* 2005). Aunado a lo anterior, se verificó que una alta proporción de esta variación, cercana al 50%, fue causada por efectos genéticos (Cuadro 8).

Cuando se calcularon los promedios de cada colonia, se observó que la infestación en abejas adultas, la infestación en crías y la caída natural diaria de ácaros, presentaron correlaciones positivas altas, lo que significa que estas variables midieron de la misma forma el nivel de infestación de las colonias durante la fase experimental. Martin (1998) refiere que para utilizar estas variables con el fin de predecir la población de ácaros en una colonia, deben tomarse en cuenta ciertas características: para la caída natural diaria de ácaros debe considerarse que la razón [número de ácaros vivos/número de ácaros muertos] cambia dramáticamente dependiendo de la cantidad de crías presentes. Por ello, este investigador sugiere que el número de ácaros caídos por día se multiplique por un factor de 250 o 500, cuando no haya crías en las colonias o se multiplique por un factor de 20 a 40 cuando sí las hay. Es posible que este razonamiento no opere estrictamente como se sugiere, toda vez que en las condiciones generales de México, difícilmente ocurren casos de ausencia total de crías.

En cuanto al muestreo de abejas adultas y crías para estimar los niveles de infestación de las colonias, Martin (1998) sugiere considerar las variaciones estacionales relativas a la cantidad de crías o abejas adultas en las colonias, ya que dependiendo de estas características, habrá también

variación en el número de ácaros que se encuentren en fase forética o reproductiva. Este mismo investigador pone como ejemplo un caso donde la infestación de una muestra de abejas resulte baja, cuando realmente la población de ácaros se está incrementando, ésto, por efecto de un mayor crecimiento poblacional del huésped en relación con el del ácaro; es decir, la ocurrencia de un efecto de dilución del parásito con relación al huésped. Esto significa que la relación entre los niveles de infestación en crías o abejas adultas y el número de ácaros en la colonia, es muy compleja, y a menos que se obtengan estimaciones precisas del número total de abejas adultas o crías, pueden surgir graves errores en las estimaciones poblacionales de varroa. Particularmente en el presente trabajo, no pudieron estimarse las poblaciones totales de ácaros en las colonias, ya que no se midieron las cantidades de crías y/o abejas adultas de las colonias, procedimientos que de alguna forma implicaban mayor estrés hacia las colonias experimentales y que hubieran ocasionado un sesgo en los resultados de las otras variables analizadas.

7.5 Heredabilidades de características relacionadas con la resistencia de las abejas a *V. destructor*

Se encontraron diferencias significativas entre familias (grupos genéticos), para las características: congelación rápida, punción, varroas fundadoras infértiles, caída natural diaria de ácaros, infestación en abejas adultas y en crías, así como diferencias entre colonias anidadas dentro de grupos, para las características: congelación lenta, congelación rápida, punción, ácaros lesionados, caída natural diaria de ácaros, infestación en abejas adultas y en crías. Se identificó que dos grupos (A y C) fueron los que presentaron con mayor frecuencia factores de resistencia (Anexo 2). El grupo A fue resistente desde el punto de vista de que sus niveles de infestación en abejas adultas e infestación en crías fueron bajos, así como por su alto comportamiento higiénico con la prueba congelación lenta (Anexo 2). El grupo C expresó mayor frecuencia de respuestas higiénicas con las pruebas de congelación lenta, congelación rápida y punción (Anexo 2). El grupo E merece especial atención, porque aunque expresó mayor resistencia en la evaluación de las características varroas fundadoras infértiles y caída natural diaria de ácaros, mostró altos niveles de infestación en abejas adultas y en crías, e inclusive, no demostró ser higiénico con las pruebas de congelación rápida y punción, ni se acicaló rápidamente ante el estímulo de varroa (Anexo 3).

En cuanto a la evaluación independiente por colonia, el Anexo 2 muestra que tres colonias presentaron mayor frecuencia de factores de resistencia (A4, E36, J56). La colonia A4 expresó alto comportamiento higiénico con las pruebas de congelación lenta y rápida, tuvo porcentajes altos de varroas fundadoras infértiles y tuvo una alta caída de ácaros. La colonia E36 presentó alto comportamiento higiénico con las pruebas de congelación lenta y punción, menor tiempo de

reacción de sus abejas a varroa y alto porcentaje de varroas fundadoras infértiles, pero los niveles de infestación en crías y en abejas adultas fueron altos (Anexo 3). La colonia J56 tuvo altos porcentajes de ácaros lesionados, baja tasa de reproducción verdadera y bajos porcentajes de infestación en crías y en abejas adultas, pero obtuvo baja respuesta higiénica con la prueba de congelación lenta, menor porcentaje de varroas fundadoras infértiles y menor caída natural diaria de ácaros (Anexo 3). Estas inconsistencias, que se interpretan como un traslape de resultados, pudieron deberse a la desproporción en el número de colonias que conformaron los grupos. En especial la familia E estuvo constituida por un alto número de colonias ($n= 17$) en comparación con el resto de los grupos (Anexo 1). Por otro lado, cuatro grupos (B, D, F, I) evidentemente presentaron menor frecuencia de factores de resistencia, dentro de los cuales destacan las colonias F41 y D22 (Anexo 3). Estos resultados demuestran que la resistencia de las abejas a varroa parece obedecer a causas de índole multifactorial. Posiblemente algunos factores influyen más y otros menos, siendo las colonias más resistentes aquellas que tienen un balance positivo muy alto de características de resistencia.

Las tres pruebas con las que se evaluó el comportamiento higiénico (congelación lenta, punción y congelación rápida), dieron por resultado heredabilidades de 0.28, 0.34 y 0.94, respectivamente. A pesar de que estas tres técnicas midieron el mismo comportamiento, es posible que factores ambientales influyeran para que los coeficientes de heredabilidad fueran diferentes. Milne (1985) encontró heredabilidades diferentes en dos componentes del comportamiento higiénico; capacidad de desopercular celdas ($h^2= 0.14 \pm 0.017$) y capacidad de remover crías sacrificadas con la técnica de congelación lenta ($h^2= 0.02 \pm 0.001$). Por otro lado, las heredabilidades encontradas en el presente estudio coinciden con los valores estimados por otros investigadores. Harbo y Harris (1999) calcularon una $h^2= 0.65 \pm 0.61$ para porcentaje de crías removidas con la técnica de congelación lenta por medio de la estimación de componentes de varianza. Boecking *et al.* (2000), mediante un análisis de regresión madre-hija, calcularon heredabilidades de 0.18 ± 0.27 y 0.36 ± 0.30 , para la remoción de crías infestadas con *V. destructor* y para la remoción de crías sacrificadas con la técnica de punción, respectivamente. Lodesani *et al.* (2002), al evaluar el comportamiento higiénico con la prueba de punción, estimaron una $h^2_{realizada} = 1.29 \pm 1.15$ y una $h^2= 0.37$ con un análisis de regresión (progenie sobre media de los progenitores).

En general, los resultados del comportamiento higiénico indican que fue heredable y por consiguiente esta característica podría emplearse para desarrollar un programa de selección y mejoramiento genético. Es posible que este argumento sea cuestionado, dada la magnitud de los errores estándar estimados para las pruebas de congelación lenta y punción, así como para otras características que se discuten adelante. Los altos errores estándar observados pudieron ser ocasionados por el bajo número de grupos conformados, así como por el reducido número de colonias (repeticiones) que integraron cada grupo (Anexo 1).

Después de evaluar el comportamiento de acicalamiento, se encontró que no fue heredable, ya que el criterio indirecto de medición basado en la proporción de ácaros que tuvieron daños en patas e idiosoma tuvo una $h^2 = 0$, mientras que el método directo medido en función del tiempo de reacción de abejas adultas a *V. destructor* tuvo una $h^2 = 0.03 \pm 0.16$. En consecuencia, para efectos del presente estudio, es posible que estas características no constituyan una buena herramienta para desarrollar programas de selección. A esta conclusión llegaron Harbo y Harris (1999), quienes con un diseño experimental parecido al de este estudio, obtuvieron valores de h^2 de 0 y 0.17 ± 0.52 , que dependieron del tipo de daños (mutilaciones de patas o dentaciones de idiosoma) presentados por los ácaros. Lodesani *et al.* (2002) igualmente cuestionaron la utilidad de la variable que estima el porcentaje de ácaros que presentan diferentes tipos de daños, incluyendo algunos estrictamente no asociados con el comportamiento de acicalamiento (hundimientos del idiosoma y caparazones), ya que calcularon una $h^2 = 0.05$ con base en la regresión de la progenie sobre la media de los progenitores. En contraste Moretto *et al.* (1993), en su evaluación de colonias africanizadas, estimaron una $h^2 = 0.71 \pm 0.41$ para la capacidad de las obreras de eliminar al ácaro de sus cuerpos. Este coeficiente supera por mucho las estimaciones de los anteriores investigadores así como las obtenidas en el presente trabajo.

De acuerdo con los resultados de la evaluación de las características asociadas con la inhibición de la reproducción de varroa, no se encontró que la proporción de descendientes hembras potencialmente fecundas por madre fundadora (tasa de reproducción verdadera) fuera heredable ($h^2 = 0.01$), mientras que el porcentaje de varroas fundadoras infértiles lo fue marginalmente ($h^2 = 0.11$), lo que indica que estas dos características deben tomarse con reserva para ser utilizadas como herramientas tendientes a desarrollar un programa de selección. En este sentido, DeGrandi-Hoffman *et al.* (2002) expusieron que ni la fecundidad ni la fertilidad de *V. destructor* pueden ser modificadas por selección.

La heredabilidad de la infertilidad de varroa estimada en el presente estudio, coincide con la obtenida por Lodesani *et al.* (2002) con abejas *A. m. ligustica* ($h^2 = 0.2$). No obstante, las heredabilidades de las dos variables reproductivas estudiadas, contrastan con las de Harbo y Harris (1999), quienes encontraron que la característica de supresión de la reproducción del ácaro tuvo heredabilidades de 0.38 ± 0.58 , 0.06 ± 0.48 y 0.46 ± 0.59 , mismas que dependieron de mediciones realizadas en tres diferentes fechas. La discrepancia en los resultados pudo ser causada porque mientras en el presente estudio se tomaron características reproductivas del ácaro por separado, sin considerar la mortalidad de las progenitoras o de sus descendientes inmaduros, estos autores combinaron los datos de características tales como: la frecuencia de ocurrencia de varroas fundadoras muertas sin descendencia, varroas fundadoras vivas que no tuvieron descendientes y la de varroas fundadoras que no tuvieron descendientes hembras maduras.

Las características (número de ácaros caídos por día, infestación en abejas adultas e infestación en crías) con las que se midió el crecimiento poblacional de varroa, mostraron heredabilidades altas y significativas ($h^2= 0.63$, $h^2= 0.51$, $h^2= 0.97$, respectivamente). Harbo y Harris (1999) en Estados Unidos, también estimaron una heredabilidad alta ($h^2= 1.24 \pm 0.49$) para la proporción de ácaros en las crías de las abejas. La baja heredabilidad ($h^2= 0.01 \pm 0.46$) que ellos obtuvieron para el número de ácaros en 1000 abejas adultas, contrasta con el resultado del presente trabajo. En México, Arechavaleta (1998) estimó una $h^2= 0.36$ en el sentido amplio para la característica resistencia natural de colonias de *A. mellifera* L., tomando como variable el nivel de infestación en abejas adultas. Utrera y Cervantes (1999) estimaron heredabilidades de 0.91 y 0.51 para el nivel de infestación en abejas adultas procedentes de colonias híbridas (africanizadas x europeas), basados en análisis de regresión progenie sobre progenitora. Estos valores coinciden con los obtenidos en el presente trabajo.

Las altas heredabilidades obtenidas para estas tres características, las cuales reflejan directamente el grado de resistencia de las abejas al ácaro, permitirían esperar un rápido progreso genético en un programa de selección. En este sentido, resulta discutible y poco lógico que Harbo y Harris (1999) no recomienden seleccionar con base en ellas, ya que estos autores sostienen que el crecimiento poblacional de varroa es afectado por múltiples factores que requieren previamente identificarse para desarrollar un programa de mejoramiento genético eficiente. Evidentemente, como se observó tras el presente estudio, esta propuesta implicaría destinar mayor esfuerzo, tiempo y recursos económicos tendientes a descifrar los factores responsables de la resistencia a varroa, cuando es un hecho que la resistencia se expresa naturalmente cuando al evaluar determinadas poblaciones de abejas, se detectan colonias con bajos niveles de infestación. En virtud de ello, sería recomendable iniciar un programa de mejoramiento genético tomando como base características que describan el desarrollo poblacional del ácaro, realizar una selección bidireccional a partir de éstas, evaluar mecanismos involucrados en la resistencia de las abejas al ácaro en los grupos extremos conformados y posteriormente calcular heredabilidades y correlaciones genéticas de los mecanismos estudiados.

7.6 Correlaciones fenotípicas entre variables que confieren resistencia a las abejas contra *V. destructor* con variables del desarrollo poblacional del ácaro

Con base en los promedios de las colonias experimentales se verificó que el comportamiento de acicalamiento medido en función del porcentaje de ácaros lesionados, influyó negativamente sobre los niveles de infestación de las crías. Asimismo, cuando se analizaron los promedios de las 16 colonias que mostraron los niveles extremos de infestación en abejas adultas, se detectó que las

colonias con mayor porcentaje de ácaros lesionados fueron las que tuvieron menor nivel de infestación en abejas adultas. Este resultado coincide con el de Arechavaleta y Guzmán-Novoa (2001) y pudo deberse a que durante el periodo forético, algunos ácaros fueron lesionados por las obreras, disminuyendo así el nivel de infestación tanto en las crías como en las abejas adultas (Büchler *et al.* 1992, Fries *et al.* 1996). Es posible también que las abejas detectaran a los ácaros en el interior de las celdas y los lesionaran al intentar retirarlos. Estos argumentos pueden en cierto modo justificarse a través de las correlaciones positivas estimadas entre el número de ácaros recuperados en los pisos de las colmenas (caída natural diaria de ácaros) con el porcentaje de infestación en crías y con el porcentaje de infestación en abejas adultas, lo que indica que conforme los niveles de infestación se incrementaron también creció la caída de ácaros. Cabe mencionar que en este trabajo no se pudo establecer qué proporción del total de ácaros recolectados se debió al acicalamiento y qué proporción al comportamiento higiénico de las abejas. Tampoco se evaluó la capacidad higiénica de las colonias en función del número de celdas infestadas natural o artificialmente ni se halló correlación entre las variables del comportamiento de acicalamiento con las variables del comportamiento higiénico, por lo que los argumentos planteados no pueden sustentarse por completo.

El tiempo de reacción de las abejas al ácaro no tuvo relación con las variables que miden el desarrollo poblacional de varroa, por lo que el comportamiento de acicalamiento, al menos medido de esta forma, no explica la resistencia al ácaro que se ha divulgado en otros trabajos, en especial aquéllos donde se advierte que las abejas africanizadas son más tolerantes que las europeas debido a su eficiencia en eliminar al ácaro del cuerpo (Moretto *et al.* 1993, Guzmán-Novoa *et al.* 1999, Arechavaleta y Guzmán-Novoa 2001, Mondragón *et al.* 2005). Además, en este estudio no se encontró que el porcentaje de ácaros lesionados y el tiempo de reacción a varroa fueran heredables; por lo tanto, aunque el comportamiento de acicalamiento restringiera el crecimiento poblacional del parásito, tendría que valorarse la utilidad de esta característica para seleccionar abejas resistentes al ácaro (Harbo y Harris 1999, Lodesani *et al.* 2002).

Los resultados obtenidos de la evaluación del comportamiento higiénico merecen especial atención, ya que se como mecanismo de resistencia, se encontró que fue heredable, sobre todo tomando en cuenta la alta h^2 obtenida con la prueba congelación rápida. No obstante, ninguno de los datos aportados por las tres pruebas con las que fue medido se correlacionó con las variables asociadas al crecimiento poblacional del ácaro. Probablemente esto fue ocasionado por el bajo número de colonias que expresaron un alto comportamiento higiénico con las pruebas que demostraron ser más confiables (congelación lenta y congelación rápida). Asimismo, como se mencionó en párrafos anteriores, aunque se ha reconocido que al menos el método de congelación lenta es un procedimiento útil para seleccionar colonias por su habilidad para remover pupas infestadas con *V. destructor* (Boecking y Drescher 1992, Spivak y Reuter 1998b, 2001), en el

presente estudio no se diseñaron experimentos que midieran el efecto de la remoción de crías infestadas natural o artificialmente. En este sentido Spivak (1996), ya había señalado que las abejas que detectan y remueven crías sacrificada por congelación, no siempre tienen la habilidad de detectar o remover pupas infestadas. Spivak y Reuter (2001) demostraron que colonias higiénicas encabezadas por reinas apareadas libremente, se defienden activamente contra varroa cuando los niveles de infestación son relativamente bajos (< 15%). Igualmente, Mondragón *et al.* (2005) sostienen que sólo las colonias altamente higiénicas pueden demostrar la trascendencia del comportamiento higiénico como mecanismo de resistencia al ácaro.

En el presente trabajo se observó que conforme se incrementó la infestación en las crías, la infestación en las abejas adultas y la caída natural diaria de ácaros, se incrementó el porcentaje varroas fundadoras infértiles. Es posible que este resultado sea circunstancial o reflejo de un mecanismo compensatorio relacionado con la saturación ácaros dentro de las colonias, de tal forma que disminuyan en cierto grado su fertilidad para no matar al huésped, ya que de lo contrario, no asegurarían la continuidad reproductiva y por consiguiente la supervivencia de la especie. También pudo ocurrir que los ácaros se mantuvieron largo tiempo sobre las abejas adultas y durante ese tiempo sufrieron algún tipo de daño, que aunque no les causó la muerte, al menos los afectó fisiológicamente provocándoles infertilidad. Büchler (1994) refiere que el porcentaje de ácaros infértiles puede incrementarse a causa de un periodo forético prolongado, lapso durante el cual los ácaros pueden presentar condiciones de inanición. Por otro lado, Harbo y Hoopingarner (1997) notaron que la infestación total de sus colonias disminuyó a partir de niveles de infertilidad mayores a 30%.

Hoy día existe controversia acerca de si el éxito reproductivo de varroa depende de mecanismos de las abejas o de los ácaros (DeGrandi-Hoffman *et al.* 2002). Se ha argumentado que no existe influencia de la raza de abeja sobre la fertilidad de varroa, ya que derivado de diferentes estudios realizados con abejas africanizadas y europeas, se observó que esta característica no destacó como mecanismo responsable del bajo crecimiento poblacional del ácaro (Harbo y Hoopingarner 1997, DeGrandi-Hoffman *et al.* 2002, Lodesani *et al.* 2002, Vandame *et al.* 2002), por lo que se ha inferido que la reproducción de varroa puede estar más asociada con el genotipo del ácaro que con la raza de abeja (De Guzmán *et al.* 1997, Anderson y Trueman 2000).

En general, los resultados de las variables evaluadas en el presente estudio coinciden con los de Lodesani *et al.* (2002), quienes al evaluar la resistencia de colonias de *A. m. ligustica* a varroa, no encontraron que el comportamiento higiénico, el comportamiento de acicalamiento ni la infertilidad del ácaro restringieran el desarrollo poblacional del parásito. Por ello se ha afirmado que la selección de abejas resistentes a varroa, con base en características individuales, no es suficiente. Las colonias probablemente requieren la integración de múltiples mecanismos que les confieran resistencia, de tal forma que sobrevivan sin tratamiento (Flores *et al.* 1995, Harbo y

Hoopingarner 1997, Mondragón *et al.* 2005). Además, es posible que factores de naturaleza desconocida afecten la resistencia de las abejas a varroa; factores que quedan fuera de la cobertura de este estudio ya que no se analizaron, por lo cual sería inapropiado especular sobre ellos. Hacen falta más estudios para esclarecer qué otras características pueden influir en la resistencia de las abejas a varroa y cómo interactúan entre ellas.

7.7 Conclusiones

De acuerdo a las condiciones en las que se realizó este trabajo se puede concluir lo siguiente:

1. Se encontraron $h^2 > 0.5$ para las tres características del desarrollo poblacional de varroa así como para el comportamiento higiénico de las abejas expresado mediante la prueba de congelación rápida. Este mismo comportamiento evaluado con las pruebas de congelación lenta y punción tuvieron $h^2 = 0.28$ y 0.34 , respectivamente. El comportamiento de acicalamiento y la tasa de reproducción verdadera tuvieron $h^2 = 0$ y el porcentaje de varroas fundadoras infértiles de 0.11 . Estos resultados indican que es factible seleccionar colonias con base en características del crecimiento poblacional de varroa ya que funcionan como indicadores directos de resistencia.
2. Las tres técnicas con las que se evaluó el comportamiento higiénico midieron de manera relacionada la capacidad higiénica de colonias. Las técnicas de congelación lenta y congelación rápida tuvieron mayor capacidad discriminadora que la técnica de punción ya que permitieron identificar colonias de alto y bajo comportamiento higiénico. Referente a la evaluación del comportamiento de acicalamiento se encontró que el método directo fue confiable para detectar diferencias en el tiempo de reacción entre abejas pertenecientes a dos genotipos y entre abejas sometidas a tres diferentes tratamientos. No obstante, dado que no se halló correlación entre el tiempo de reacción de las abejas a varroa con el porcentaje de ácaros lesionados, se sugiere seguir utilizando métodos directos e indirectos para evaluar el comportamiento de acicalamiento.
3. Aparentemente, el comportamiento de acicalamiento evaluado en función del porcentaje de ácaros lesionados, restringió la infestación de la cría, la infestación de las abejas adultas. Asimismo, las colonias cuyas abejas reaccionaron más rápido al estímulo del ácaro sobre sus cuerpos fueron las que expresaron mayor remoción de crías sacrificadas con la técnica de punción.
4. Durante el período experimental se observó que la tasa de reproducción verdadera de varroa se mantuvo niveles prácticamente constantes, mientras que el porcentaje de varroas fundadoras infértiles fue creciendo, lo cual indica que la reproducción del ácaro se desarrolló en forma normal.

5. La ausencia de correlaciones fenotípicas entre algunos de los mecanismos de resistencia estudiados con variables del crecimiento poblacional del ácaro, hacen suponer que la resistencia de las abejas al parásito parece estar regulada por múltiples factores. Se requieren estudios más especializados para identificar los mecanismos precisos que regulan el crecimiento poblacional de los ácaros.

6. Finalmente, mientras no exista un programa de mejoramiento genético que desarrolle abejas resistentes al ácaro, se sugiere continuar aplicando diferentes tratamientos, alternando acaricidas naturales y químicos, para evitar efectos residuales y controlar los estragos de la parasitosis.

CAPÍTULO II

EFICACIA DE DOS ACARICIDAS NATURALES, ÁCIDO FÓRMICO Y TIMOL, PARA EL CONTROL DEL ÁCARO *Varroa destructor* DE LAS ABEJAS (*Apis mellifera* L.) EN VILLA GUERRERO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

RESUMEN

Se evaluó la eficacia de dos acaricidas naturales, el ácido fórmico y el timol, para el control del ácaro *Varroa destructor* en colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera* L.). Se establecieron 36 colonias infestadas con el ácaro y se dividieron en cuatro grupos con nueve repeticiones cada uno. El primer grupo fue tratado con ácido fórmico al 65%, el segundo recibió 12.5 g de timol por aplicación, el tercero fue tratado con 25 g de timol por aplicación, el cuarto no recibió tratamiento contra la parasitosis. Al final de los experimentos, las colonias fueron tratadas con cuatro tiras de un acaricida sintético (flumetrina) para matar a los ácaros remanentes y determinar la eficacia relativa de los acaricidas naturales. La mayor eficacia se obtuvo con dos aplicaciones de 12.5 g de timol (92.1%), mientras que con el ácido fórmico, la eficacia fue de 66.4%. Ambos acaricidas mataron un número significativo de parásitos ($P < 0.0001$), pero su eficacia disminuyó después de la primera aplicación. El costo total por colmena fue de 70.81, 37.76 y 70.21, pesos (6.48, 3.45 y 6.42 dólares), respectivamente, para tratamiento con ácido fórmico, timol concentración sencilla, y timol concentración doble, de manera respectiva. Estos resultados sugieren el uso de dos tratamientos con productos que contengan 12.5 g de timol como ingrediente activo principal.

Palabras clave: *Apis mellifera* L., abejas, *Varroa destructor*, timol, ácido fórmico, Estado de México.

ABSTRACT

This study was conducted to determine the efficacy of two natural miticides, formic acid, and thymol for controlling infestations of the mite *Varroa destructor* in honey bee colonies (*Apis mellifera* L.). An apiary with 36 infested colonies was established and four groups of 9 colonies each were formed. Treatments were assigned randomly to those groups as follows: 65% formic acid (group 1), 12.5 g of thymol per application (group 2), 25 g of thymol per application (group 3), and control colonies without treatment (group 4). At the end of the experiments, colonies were treated with four strips of a synthetic miticide (flumethrin), to kill remaining mites and to assess the relative efficacy of the treatments tested. The highest efficacy was obtained with two applications of 12.5 g of thymol (92.1%), whereas with the formic acid the efficacy was 66.4%. Both miticides killed a significant number of mites ($P < 0.0001$), but their efficacy decreased after the first application. The total cost of treating each colony was 70.81, 37.76 and 70.21 pesos (6.48, 3.45 and 6.42 dollars), for formic acid, thymol single concentration, and thymol double concentration, respectively. These results suggest the use of two treatments of a single concentration of a thymol-based product.

Key words: *Apis mellifera* L., honey bee, *Varroa destructor*, thymol, formic acid, Mexico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó con el propósito de ofrecer a los apicultores una alternativa natural a corto plazo para el control de la varroosis. Aun cuando estos dos acaricidas naturales ya se han evaluado en México (Vivas *et al.* 1996, Pérez-Santiago *et al.* 1997, Reyes *et al.* 1998, De Felipe *et al.* 1999, Vicario y Medina 1999, May-Itzá *et al.* 2003), ningún estudio ha comparado su eficacia en la región suroeste del Estado de México, ni tampoco se ha hecho un análisis de costos asociados con su uso. Por lo anterior el presente trabajo evaluó la eficacia y el costo del ácido fórmico al 65% y del timol en concentraciones de 12.5 g y 25 g.

Más de 100 colonias fueron inicialmente evaluadas en cuanto a la fortaleza de su población (Nasr *et al.* 1990), y se tomaron muestras de cada una de ellas para determinar los niveles de infestación de *V. destructor* (De Jong *et al.* 1982). En marzo de 2004, se seleccionaron 36 colonias con niveles similares de infestación en abejas adultas (11.5%) y con similar fortaleza de población (8.0 panales cubiertos con abejas adultas), ubicadas en un apiario localizado a 12 km del Centro de Mejoramiento Genético, Generación y Transferencia de Tecnología Apícola. Las colonias poseían una reina procedente de un programa de selección que ha seguido el INIFAP en la región. Al quedar establecidas, todas las colonias tuvieron un manejo uniforme y similar durante el desarrollo del estudio. Cada colonia fue alimentada con 2 L de jarabe de azúcar al 50% (sacarosa y agua en partes iguales por peso). Las 36 colonias se dividieron y asignaron aleatoriamente entre cuatro grupos (con 9 repeticiones cada uno) establecidos de acuerdo con su tratamiento. Los tratamientos se basaron en la evaluación de productos comerciales de acaricidas naturales cuyas presentaciones se describen a continuación:

- a) Timol.- concentraciones de 12.5 g y 25 g, dosis a las que se ha probado este producto en Europa (Floris *et al.* 2004), ambas integradas en un sustrato de gel de 25 y 50 g respectivamente, para mantener una liberación lenta y asegurar una correcta dosificación.
- b) Ácido fórmico.- concentración de 65%, usándose 80 ml del producto, contenidos en un empaque compuesto por dos bolsas de polietileno con mecha de liberación.

El grupo 1 se formó con colonias que fueron tratadas con dos aplicaciones de 12.5 g de timol cada una. Para ello, 25 g del producto comercial en gel con el ingrediente activo integrado, fue esparcido sobre una lámina de plástico (10 X 20 cm) que se colocó sobre los cabezales de los bastidores de la cámara de cría de cada colonia tratada. Una semana después de la primera aplicación se colocó otra lámina con la misma cantidad del producto. Ambas láminas se retiraron cinco semanas después de la primera aplicación.

Las colonias del grupo 2 fueron tratadas con dos dosis de 25 g de timol. La forma de aplicar el producto fue la misma que se describió para las colonias del grupo 1, excepto que las aplicaciones

se espaciaron por dos semanas y que se usaron láminas con 50 g de producto. Finalmente, las láminas fueron retiradas cinco semanas después de haberse proporcionado la primera dosis.

Las colonias del grupo 3 recibieron cuatro tratamientos de ácido fórmico al 65% a intervalos de cuatro días cada uno, como lo recomienda el fabricante. Para tal efecto, a cada colmena se le introdujo una bolsa con el producto entre los bastidores inferiores de la colmena, previa perforación cuidadosa del contenedor interno para evitar derrames del ácido que pudieran provocar quemaduras al operador, la cría o las abejas adultas.

Las colonias del grupo 4 no recibieron tratamiento (colonias testigo) y se observaron en cuanto a la mortalidad de varroa.

Durante el periodo de evaluación la temperatura media ambiental varió entre 18 y 29° C y la humedad relativa tuvo límites de entre 46 y 55%. Dos colonias no se tomaron en cuenta para el análisis, debido a que una colonia tratada con doble concentración de timol se evadió (abandonó la colmena) y otra, tratada con concentración sencilla del mismo producto enjambró (la reina y la mitad de las obreras abandonaron la colmena). Por eso en los resultados se presentan datos de 34 colmenas.

La mortalidad y población de varroa se estimaron por medio del conteo de ácaros recolectados de láminas galvanizadas (28 x 43.5 cm) impregnadas con petrolato (para que los ácaros se pegaran en las láminas al caer de las abejas) instaladas dentro de charolas de madera de 33 cm X 44.5 cm, que se colocaron entre el piso y la cámara de cría de cada colmena. Estas charolas tenían una malla criba (3 mm) sobre la lámina recolectora, para evitar que las abejas removieran los ácaros caídos. Los ácaros fueron recolectados de las láminas semanalmente, colocando una lámina limpia en cada charola al mismo tiempo que se retiraba una lámina anterior.

Al final de las cinco semanas de iniciadas las pruebas y con el fin de evaluar la eficacia de los productos y tratamientos ensayados, todas las colonias experimentales fueron tratadas con cuatro tiras plásticas impregnadas de flumetrina, acaricida sintético cuya eficacia es superior a 99% (Milani y Barbattani 1989, Ferrer *et al.* 1991, 1995). Las tiras de flumetrina se dejaron durante seis semanas en las colonias para asegurar que la totalidad de los ácaros remanentes murieran. La eficacia porcentual de los tratamientos experimentales fue determinada dividiendo el número total de ácaros recolectados durante el periodo de las evaluaciones, entre el número total de ácaros de las colonias y multiplicando el resultado por 100. El número total de ácaros de las colonias se obtuvo de sumar el número de ácaros caídos en los tratamientos, con el número de ácaros caídos durante las seis semanas de tratamiento con flumetrina (Higes y Llorente 1997).

Análisis estadísticos y de costos. Los porcentajes de eficacia obtenidos de todos los tratamientos y aplicaciones se analizaron por medio de análisis de varianza con dos factores, tratamiento y aplicación. Los datos fueron transformados mediante la función arcoseno de la raíz

cuadrada de la proporción, antes de ser sometidos al análisis de varianza y a pruebas de comparación múltiple de Tukey (Snedecor y Cochran 1991, Zar 1996, SAS 2002). Asimismo, se efectuó un análisis de costos de la aplicación de los acaricidas experimentales, mediante la estimación del valor de los productos (precio comercial de los mismos), de la mano de obra empleada y de los gastos de transportación. Los gastos de transportación fueron calculados tomando en cuenta el valor de la gasolina, el rendimiento (en km por L de combustible) de un vehículo de ocho cilindros, el costo de su mantenimiento por km recorrido y la distancia al apiario experimental (12 km). El costo de la mano de obra se calculó con base en el tiempo de movilización y aplicación de productos, así como en el número de aplicaciones requeridas para cada uno de los tratamientos. El valor de la mano de obra se estimó transformando el concepto de cuatro salarios mínimos para el área geográfica "C" en 2004 (SEGOB 2003) a minutos y multiplicando los minutos empleados en la aplicación de cada producto por este factor.

RESULTADOS

Se hallaron efectos altamente significativos en la mortalidad de varroa, debido tanto a los tratamientos ($F= 17.6$; $gl= 3, 60$; $P< 0.01$) como al número de aplicaciones de éstos ($F= 41.7$; $gl= 1, 60$; $P< 0.01$). Además, se encontraron efectos de interacción entre tratamientos y aplicaciones ($F= 9.9$; $gl= 3, 60$; $P< 0.01$; Cuadro 1). Todos los tratamientos fueron significativamente más eficaces en la primera aplicación, en comparación con la segunda o posteriores ($P< 0.01$). El tratamiento con 25 g de timol fue el que disminuyó su eficacia en mayor grado después de la primera aplicación (Figura 1).

Murieron más ácaros con dos aplicaciones de ácido fórmico al 65% (1050.8 ± 209.9 E.E.) en comparación con las dos aplicaciones de los tratamientos de timol de 12.5 g y 25 g (685 ± 120.7 E.E. y 635.6 ± 142.1 E.E., respectivamente), pero después de aplicar el acaricida flumetrina se registró mayor mortalidad de ácaros remanentes en las colonias tratadas con ácido fórmico (627.7 ± 236.3 E.E.), que en las tratadas con las dos presentaciones de timol (64.5 ± 23.7 E.E. y 60.6 ± 25.4 E.E., respectivamente, (Cuadro 2). Los dos tratamientos con timol fueron significativamente más eficaces (92.1% y 88.8%, respectivamente) que el tratamiento con ácido fórmico (66.4%), aunque no se encontraron diferencias entre los dos tratamientos con timol. La eficacia del ácido fórmico fue significativamente diferente a la del tratamiento de las colonias testigo (21.9%), ya que ocasionó una mayor caída de ácaros. Se recuperaron significativamente menos ácaros muertos de las colonias testigo (390.7 ± 188.9 E.E.) que de las colonias experimentales en todos los casos (Cuadro 2, Figura 1).

El costo de los tratamientos con cada acaricida, incluyendo el precio del producto y los gastos de mano de obra y transportación, fue menor con timol a dosis de 12.5 g (\$ 37.76) que con timol a dosis de 25 g (\$ 70.21), con ácido fórmico al 65 % (\$ 70.81) o con flumetrina (\$ 60.15). Todos los productos ensayados, incluyendo la flumetrina, requirieron en promedio cuatro minutos para su aplicación en cada tratamiento. El ácido fórmico se aplicó en cuatro ocasiones y por ende requirió de cuatro viajes al apiario, mientras que los tratamientos con timol requirieron de dos viajes y el de flumetrina de uno (Cuadro 3).

DISCUSIÓN

Los resultados muestran que todos los tratamientos causaron una mortalidad significativa en la población de ácaros *V. destructor* y que esta mortalidad también estuvo influenciada por efectos del número de aplicación y de la interacción entre los tratamientos y las aplicaciones. El timol fue el tratamiento más eficaz, y la concentración de 12.5 g fue la que mejores resultados dio, seguida por el tratamiento del mismo producto a concentración de 25 g, aunque no hubo diferencias significativas en la eficacia entre estas dos opciones, resultado que concuerda con el obtenido por May-Itzá *et al.* (2003). Investigadores en otros países han encontrado que el timol en diferentes presentaciones comerciales varía en su eficacia de 65 a 99.5% (Stanghellini y Raybold 2004, Imdorf *et al.* 1999, Mattila y Otis 2000, Ellis *et al.* 2001). Los mejores resultados se han obtenido en épocas del año con muy poca o ninguna cría en las colonias tratadas. En el presente estudio las colonias contenían mucha cría, y a pesar de ello la eficacia del timol fue alta.

El ácido fórmico tuvo una eficacia menor que el timol, pero mayor que la caída natural de ácaros en las colonias testigo. La literatura registra límites de eficacia entre 51 y 70% en estudios que evaluaron únicamente este producto (Feldlaufer *et al.* 1997, Calderone y Nasr 1999), pero sólo un estudio previo comparó la eficacia del timol y del ácido fórmico conjuntamente; en él se encontró que el ácido fórmico era menos eficaz que el timol (Stanghellini y Raybold 2004). Estos autores publicaron una eficacia de entre 66 y 79% para el ácido fórmico aplicado en almohadillas colocadas sobre los cabezales de la cámara de cría, y documentaron una eficacia de 69 a 91% para una formulación comercial compuesta por timol (76%), eucaliptol (16.4%), mentol (3.8%) y alcanfor (3.8%). Los resultados del presente trabajo concuerdan con aquéllos encontrados en otras regiones del mundo y sugieren que la eficacia de los productos probados es similar a la encontrada en otros países.

Las aplicaciones iniciales de todos los tratamientos naturales eliminaron más ácaros que las posteriores. En el caso del timol, este resultado fue diferente al obtenido por May-Itzá *et al.* (2003), quienes observaron mayor eficacia en una segunda aplicación. La caída de ácaros debida a la segunda aplicación de timol (25 g) no fue diferente a la caída natural de parásitos en las colonias testigo, lo que sugiere que su eficacia disminuyó drásticamente luego del primer tratamiento. Esto pudo haberse debido a que con la primera aplicación murieron más del 70% de los ácaros existentes en las colonias, quedando muy pocos por eliminar en el segundo tratamiento. Melathopoulos y Gates (2003) encontraron que la preparación de timol en gel tiene una alta evaporación durante los primeros tres días posteriores a su aplicación, y que durante ese periodo es cuando ocurre la mayor mortalidad de ácaros. Estos resultados concuerdan con lo observado en el presente estudio.

Los resultados del presente trabajo sugieren que los productos a base de timol a una dosis de 12.5 g por colmena por aplicación ofrecen una alternativa promisorio para el control de varroa. Se recomiendan al menos dos aplicaciones, aunque hacen falta más ensayos para determinar si una tercera aplicación incrementaría aún más la eficacia de este acaricida natural. La aplicación de 25 g de timol no se recomienda, porque aunque se logra una eficacia similar a la obtenida con la dosis de 12.5 g, el costo del producto se duplica y además se pierde eficacia en la segunda aplicación.

Dados los inconvenientes que los acaricidas químicos tienen, y dada la buena eficacia del timol, este acaricida natural podría usarse solo o alternado con acaricidas químicos (una temporada el acaricida químico y otra el timol) para un buen control de los niveles de varroa y reducir así los riesgos de desarrollo de resistencia del parásito a los acaricidas, ya que se estaría disminuyendo la frecuencia de exposición del ácaro a los pesticidas químicos. Además, mediante esta operatividad se disminuiría el riesgo de contaminación de la miel con residuos de los acaricidas químicos.

A pesar de lo promisorio que resulta el uso del timol, debe incrementarse la investigación enfocada a la evaluación de los efectos secundarios que pudieran presentarse en las colonias. Algunos estudios han registrado ligera mortalidad de abejas adultas y de la cría de colonias tratadas (Chiesa 1991, Imdorf *et al.* 1999, Ellis *et al.* 2001, Melathopoulos y Gates 2003); además, este estudio y uno previo (Calderone y Spivak 1995) sugieren que el timol puede provocar la evasión y enjambrazón de algunas colonias.

El ácido fórmico sigue siendo una buena alternativa natural para el control de varroa, pero es necesario ensayarlo con otros métodos de aplicación. La mecha liberadora contenida en el producto evaluado en este estudio, probablemente no permitió una evaporación lo suficientemente alta y constante para proveer un buen control. El ácido fórmico aumenta su eficacia cuando es proporcionado en contenedores abiertos y cuando las temperaturas externas son altas, debido a que se incrementa la evaporación del producto (Underwood y Currie 2003). La baja eficacia de ácido fórmico utilizado en este trabajo posiblemente ocurrió porque la concentración que se usó fue menor a las recomendadas (70% a 80%) para temperaturas inferiores a 30° C (De Felipe *et al.* 1999). Se ha documentado que los tratamientos prolongados (45 días) incrementan la eficacia del ácido fórmico (Stanghellini y Raybold 2004). Quizá deba intentarse su administración en otro tipo de contenedor, ya que el actual no provee suficiente control y además representa riesgos de quemaduras para quien lo aplica, lo cual llega a ocurrir cuando por descuido se sobrepasa la perforación y se rompen las bolsas contenedoras. Adicionalmente, deberían ensayarse tratamientos por periodos más largos y a diferentes concentraciones para estimar la dosis adecuada para cada localidad.

En cuanto a ventajas y desventajas de aplicación y costos, el análisis económico muestra que el costo por colmena es menor usando el timol a concentración de 12.5 g. El timol en las dos diferentes concentraciones fue tan fácil de aplicar como las tiras plásticas de flumetrina; sin

embargo, la flumetrina sólo se aplica una vez a diferencia de los tratamientos con timol que se aplican dos veces, lo que incrementa los gastos de transporte (combustible) y mano de obra.

El ácido fórmico resulta más costoso que el timol para usarse en los apiarios, ya que diferentes investigaciones sugieren aplicar este producto de tres a cuatro veces, a intervalos de cuatro a siete días (Pérez-Santiago *et al.* 1997, Reyes *et al.* 1998, De Felipe *et al.* 1999, Vicario y Medina 1999), lo que ocasiona mayores gastos en función del número de recorridos al apiario. Aunado a esto, resulta controversial y oneroso para los apicultores el hecho de que los costos del ácido fórmico al 65% y el timol a concentración de 25 g fueron mayores que el acaricida químico empleado (flumetrina). Este incremento en el costo de los acaricidas naturales quizás se deba a que paulatinamente se han ido registrando marcas comerciales de estos productos; no obstante, siguen siendo una buena opción ya que conservan dentro de sus bondades el dejar bajos residuos en la miel y el que no representan riesgos de toxicidad para el ser humano.

Se concluye que el timol a una concentración de 12.5 g fue el producto más eficaz para el control de *V. destructor* a un menor costo de aplicación, por lo que se sugiere su uso. Sin embargo, es prudente recomendar el empleo alternado de diferentes acaricidas, en tanto no se profundice la investigación sobre la resistencia que los ácaros pudieran generar a los productos naturales, así como sobre los efectos colaterales que éstos pudieran ocasionar a las colonias de abejas.

8. REFERENCIAS CAPÍTULO I

- Adam B. The honey bee tracheal mite fact and fiction. *Am Bee J* 1987;127:36-38.
- Al Ghamdi A, Hoopingarner R. Reproductive biology of *Varroa jacobsoni* in worker and drone brood of the honey bee *Apis mellifera* under midwest conditions. *Am Bee J* 1997;137:221.
- Anderson DL, Trueman JWH. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp Appl Acarol* 2000;24:165-189.
- Arechavaleta-Velasco ME. Variación genética en la resistencia de las abejas *Apis mellifera* L. al parásito *Varroa jacobsoni* Oud. e impacto relativo de los mecanismos que le confieren esta resistencia (tesis de maestría). México (DF) México: Univ Nacional Autónoma de México, 1988.
- Arechavaleta-Velasco ME, Guzmán-Novoa E. 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 Méx* 2000;31:381-384.
- Arechavaleta-Velasco ME, Guzman-Novoa E. Relative effect of four characteristics that restrain the population growth of the mite *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie* 2001;32:157-174.
- Arechavaleta VME, Hunt G. Componentes genéticos y medio ambientales del comportamiento higiénico de colonias de abejas melíferas. *Memorias del XVIII Seminario Americano de Apicultura*; 2004 septiembre 8-10; Villa Hermosa (Tabasco). México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 2004:204-207.
- Aumeier P. Bioassay for grooming effectiveness towards *Varroa destructor* mites in Africanized and Carniolan honey bees. *Apidologie* 2001;32:81-90.
- Ball BV. The damaging effects of *Varroa jacobsoni* infestation. In: Matheson A, editor. *Living with Varroa*. Cardiff:International Bee Research Association, 1993:9-16.
- Ball BV. Host-parasite-pathogen interactions. In: Matheson A, editor. *New perspectives on Varroa*. Cardiff:International Bee Research Association, 1994:5-11.
- Beetsma J. The *Varroa* mite, a devastating parasite of western honeybees and an economic threat to beekeeping. *Outlook on Agriculture* 1994;23:169-175.
- Boecking O, Bienefeld K, Drescher W. Heritability of the *Varroa*-specific hygienic behaviour in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J Anim Breed Genet* 2000;117:417-424.
- Boecking O, Drescher W. The removal response of *Apis mellifera* L. colonies to brood in wax and plastic cells after artificial and natural infestation with *Varroa jacobsoni* Oud. and to freeze-killed brood. *Exp Appl Acarol* 1992;16:321-329.
- Boecking O, Ritter W. Grooming and removal behaviour of *Apis mellifera intermissa* in Tunisia against *Varroa jacobsoni*. *J Apic Res* 1993;32:127-134.

- Boecking O, Ritter W. Current status of behavioral tolerance of the honey bee *Apis mellifera* to the mite *Varroa jacobsoni*. *Am Bee J* 1994;10:689-694.
- Boecking O, Spivak M. Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 1999;30:141-158.
- Bogdanov S, Imdorf A, Kilchenmann V. Residues in wax and honey after Apilife VAR treatment. *Apidologie* 1998;29:513-524.
- Büchler R. Test auf *Varroa* toleranz in Rahmen von Leistungsprüfungen (Test for *Varroa*-tolerance and performance). *Neue Bienen Zeitung* 1992;3:162-167.
- Büchler R. *Varroa* tolerance in honey bees – occurrence, characteristics and breeding. *Bee World* 1994;75: 54-70.
- Büchler R. Test de tolerancia de las colmenas frente a varroasis. *Vida Apícola* 1997;82: 45-48.
- Büchler R, Drescher W, Tornier I. Grooming behaviour of *Apis cerana*, *Apis mellifera* and *Apis dorsata*, and its effect on the parasitic mites *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae*. *Exp Appl Acarol* 1992;16:313-319.
- Cajero AS. Situación actual de la apicultura mexicana y sus perspectivas. Memorias del primer foro de proyectos integrales: sistema producto miel; 1999 marzo 2-3; Mérida (Yucatán) México. México (Yucatán): Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-Universidad Autónoma de Yucatán, 1999:20-28.
- Calderone NW, Nasr ME. Evaluation of a formic acid formulation for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in a temperate climate. *J Econ Entomol* 1999;92:526-533.
- Camazine S. Differential reproduction of the mite, *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae), on Africanized and European honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Ann Entomol Soc Am* 1986;79:801-803.
- Chiesa F. Effective control of varroatoxis using powdered thymol. *Apidologie* 1991;22:135-145.
- Chihu AD, Rojas LM, Rodríguez SR. Primer reporte en México del ácaro *Varroa jacobsoni*, causante de la varroasis de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.). Memorias del VI Seminario Americano de Apicultura; 1992 septiembre 4-6; Oaxtepec (Morelos). México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 1992:9-11.
- Collins AM. Quantitative genetics. In: Rinderer TE, editor. *Bee Genetics and Breeding*. Orlando FL:Academic Press, 1986:283-304.
- Collins AM, Rinderer TE, Harbo JR, Brown MA. Heritabilities and correlations for several characters in the honey bee. *J Heredity* 1984;75:135-140.

- Correa-Marques MH, De Jong D. Estudio da resistencia a varroatose em abelhas *Apis mellifera* no Brasil. Memorias de V Congreso Iberoamericano de Apicultura; 1996 mayo 30-junio 2; Intendencia Municipal de Soriano (Mercedes) Uruguay. Uruguay (Mercedes): Central Apícola Cooperativa, 1996:146-147.
- Correa-Marques MH, De Jong D, Rosenkranz P, Gonçalves LS. Varroa-tolerant Italian honey bees introduced from Brazil were not more efficient in defending themselves against the mite *Varroa destructor* than Carniolan bees in Germany. Genet Mol Res 2002;1:153-158.
- Correa-Marques MH, Issa MRC, De Jong D. Classification and quantification of damaged *Varroa jacobsoni* found in the debris of Africanized honey bee colonies as criteria for selection? Am Bee J 2000;140:820-824.
- Correa-Marques MH, Medina LM, Martin SJ, De Jong D. Comparing data on the reproduction of *Varroa destructor*. Genet Mol Res 2003;2:1-6.
- Correa-Marques MH, Medina LM, Espinosa ML, De Jong D, Echazarreta GC. Estudio de los ácaros con daños y grados de infestación en colonias de abejas africanizadas (*A. mellifera* L.) en Yucatán, México. Memorias del VI Seminario Americano de Apicultura; 1998 agosto 17-21; Mérida (Yucatán) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 1998:s/p.
- DeGrandi-Hoffman G, Page RE, Martin J, Fondrk MK. Can the frequency of reduced *Varroa destructor* fecundity in honey bee (*Apis mellifera*) pupae be increased by selection? Apidologie 2002;33:563-570.
- De Guzmán LI, Rinderer TE, Kulincevic JM. An update on the evaluation of Yugoslavian honey bees bred for resistance against *Varroa jacobsoni* Oud. In: Ritter, editor. Proceedings of the International Symposium on Recent Research on Bee Pathology; 1990 September 5-7; Ghent Belgium. Bucharest: Romania; 1991:60-62.
- De Guzmán LI, Rinderer TE, Stelzer JA. The evidence of the origin of *Varroa jacobsoni* Oud. in the Americas. Biochem Gen 1997;35:327-335.
- De Jong D. Mites: Varroa and other parasites of brood. In: Morse R, Flottum K, editors. Honey bee pests, predators, and diseases. 3^d ed. Ohio:A.I. Root Co, 1997:279-327.
- De Jong D, De Jong PH. Longevity of Africanized honey bees (Hymenoptera, Apidae) infested by *Varroa jacobsoni* (Parasitiformes: Varroidae). J Econ Entomol 1983;76:766-768.
- De Jong D, De Jong PH, Gonçalves LS. Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. J Apic Res 1982a;21:165-167.
- De Jong D, Gonçalves LS, Morse RA. Dependence of climate on the virulence of *Varroa jacobsoni*. Bee World 1984;65:117-121.
- De Jong D, Roma DA y Gonçalves LS. A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honeybees. Apidologie 1982b;13:297-306.

- Delfinado-Baker M. The nymphal stages and male of *Varroa jacobsoni* Oudemans a parasite of honey bees. *Internat J Acarol* 1984;10:75-80.
- Eischen F. *Varroa* resistance to fluvalinate. *Am Bee J* 1995;135:815-816.
- Espinosa ML. Estudio de tres factores asociados con la tolerancia al ácaro *Varroa jacobsoni* Oud. en colonias de abejas africanizadas (*Apis mellifera* L.) en Yucatán, México (tesis de maestría). Mérida (Yucatán) México: Univ Autónoma de Yucatán, 1998.
- Fabricius JC. *Entomologia systematica emendata et aucta*. T-II, Christ Gottl Proft, Hafniae, 1793.
- Fakhimzadeh K. Potential of super-fine ground, plain white sugar dusting as an ecological tool for the control of Varroasis in the honey bee (*Apis mellifera*). *Am Bee J* 2000;140:487-491.
- Falconer DS. *Introduction to Quantitative Genetics*. New York USA: Longman Scientific and Technical, 1989.
- Faucon JP, Flamini C. Residus de fluvalinate dans la cire e dans le miel. *Santé Abeille* 1990;118:182-184.
- Flores JM, Ruiz JA, Ruz JM, Puerta F, Bustos M, Padilla F, Campano F. El fenómeno de la resistencia natural a la varroasis. *Vida Apícola* 1995;74:44-51.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *Agricultural data* [serial on line] 2004 Jan-Dic [cited 2006 Apr 27]; 1 (1): [4 screens]. Available from: URL: [http:// faostat.fao.org/ faostat/collections?version=ext&hasbulk=0](http://faostat.fao.org/faostat/collections?version=ext&hasbulk=0).
- Fries I. *Varroa* biology: a brief review. In: Matheson A, editor. *Living with Varroa*. Cardiff:International Bee Research Association, 1993:3-7.
- Fries I, Camazine S, Sneyd J. Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: A model and a review. *Bee World* 1994;75:5-28.
- Fries I, Aarhus A, Hansen H, Korpela S. Comparison of diagnostic methods for detection of low infestation levels of *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Exp Appl Acarol* 1991;10:297-287.
- Fries I, Huazhen W, Wei S, Jin CS. Grooming behavior and damaged mites (*Varroa jacobsoni*) in *Apis cerana* and *Apis mellifera ligustica*. *Apidologie* 1996;27:3-11.
- Fries I, Rosenkranz P. Number of reproductive cycles in the *Varroa* mites. *Apidologie* 1993;24:484-486.
- Fuchs S. Non-reproducing *Varroa jacobsoni* Oud. In honey bee worker cells-status of mites or effect of brood cells? *Exp Appl Acarol* 1994;18:309-317.
- Fuchs S, Langenbach K. Multiple infestation of *Apis mellifera* L. brood cells and reproduction in *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 1989;20:257-266.
- García-Millán MA. A comparative study of Africanized and European honeybee colonies (*Apis mellifera* L.) infested by the mite, *Varroa jacobsoni* O. in Central Mexico [dissertation]. Cardiff (Wales): Wales Univ., 1994.

- Gilmour AR, Gogel BJ, Cullis BR, Welham SJ, Thompson R. ASReml User Guide (computer program) version 1.0. Hemel Hempstead (UK): VSN International Ltd, 2002.
- Gilliam M, Taber S, Richardson GV. Hygienic behavior of honey bees in relation to chalkbrood disease. *Apidologie* 1983;14:29-39.
- Glinski Z, Jarosz J. *Varroa jacobsoni* as a carrier of bacterial infections to a recipient bee host. *Apidologie* 1992;23:25-31.
- Gramacho KP, Gonçalves LS, Rosenkranz P, De Jong D. Influence of body fluid from pin-killed honey bee pupae on hygienic behavior. *Apidologie* 1999;30:367-374.
- Gramacho KP, Gonçalves LS, Stort A, Noronha AB. Is the number of antennal plate organs (sensilla placodea) greater in hygienic than in non-hygienic Africanized honey bees? *Genet Mol Res* 2003;2:309-316.
- Guzmán-Novoa E. La Apicultura en México y Centro América. Memorias del V Congreso Ibero Latinoamericano de Apicultura; 1996 mayo 30-junio 2; Intendencia Municipal de Soriano (Mercedes) Uruguay. Uruguay (Mercedes): Central Apícola Cooperativa, 1996:14-17.
- Guzmán-Novoa E, Correa BA. Selección de abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) resistentes al ácaro *Varroa jacobsoni* O. *Vet Méx* 1996;27:149-158.
- Guzmán-Novoa E; Hunt GJ, Page RE, Fondrk MK. Genetic correlations among honey bee (Hymenoptera: Apidae) behavioral characteristics and wing length. *Ann Entomol Soc Am* 2002;95:402-406.
- Guzmán-Novoa E; Sánchez A, Page RE, García T. Susceptibility of European and Africanized honeybees (*Apis mellifera* L.) and their hybrids to *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 1996;27:93-103.
- Guzmán-Novoa E, Vandame R, Arechavaleta M. Susceptibility of European and Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) to *Varroa jacobsoni* in Mexico. *Apidologie* 1999;30:173-182.
- Harbo JR. Artificial mixing of spermatozoa from honeybees and evidence for sperm competition. *J Apic Res* 1990;29:151-158.
- Harbo JR, Harris JW. Heritability in honey bees (Hymenoptera: Apidae) of characteristics associated with the resistance to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *J Econ Entomol* 1999;92:261-265.
- Harbo JR, Harris JW. Resistance to *Varroa destructor* (Mesostigmata:Varroidae) when mite-resistant queen honey bees (Hymenoptera: Apidae) were free-mated with unselected drones. *J Econ Entomol* 2001;94:1319-1323.
- Harbo JR, Hoopingarner R. Honey bees (Hymenoptera: Apidae) in the United States that express resistance to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *J Econ Entomol* 1997;90:893-898.
- Hofer A. Variance component estimation in animal breeding: a review. *J Anim Breed Genet* 1998;115:247-265.

- Imdorf A, Bogdanov S, Ochoa RI, Calderone N. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidologie* 1999;30:209-228.
- Ifantidis MD. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honeybee brood cells. *J Apic Res* 1983;22:200-206.
- Ifantidis MD. Parameters of the population dynamics of the *Varroa* mite on honeybees. *J Apic Res* 1984;23:227-233.
- Ifantidis MD. Reexamination of reproduction parameters of the mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Proceedings of the International Symposium on Recent Research on Bee Pathology*; 1990 September 5-7; Ghent (Belgium). Belgium: International Federation of Beekeepers Associations 1990:20-26.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Anuario estadístico del Estado de México. México (DF): INEGI, 1998.
- Kaps M, Lamberston WR. *Biostatistics for animal science*. Oxfordshire, UK: CAB International, 2004.
- Koeniger N, Fuchs S. Control of *Varroa Jacobsoni*: Current status and developments. In: Needham GR, Page RE, Delfinado-Baker M, Bowman CE, editors. *Africanized honey bees and bee mites*. Chichester UK:Ellis Horwood, 1988:360-369.
- Kulincevic JM, Rinderer TE, Urosevic DJ. Seasonality and colony variation of reproducing and non reproducing *Varroa jacobsoni* females in Western honey bee (*Apis mellifera*) worker brood. *Apidologie* 1988;19:173-179.
- Kulincevic JM, Rothenbuhler WC. Selection for resistance and susceptibility to hairless-black syndrome in the honey bee. *J Invertebr Pathol* 1975;25:147-153.
- Lapidge KL, Oldroyd BP, Spivak M. Seven suggestive quantitative trait loci influence hygienic behavior of honey bees. *Naturwissenschaften* 2002;89:565-568.
- Linnaeus C. *Systema Naturae*. 10th edit. Holmiae, Laur Salvii, 1758.
- Lodesani M, Crailsheim K, Moritz RFA. Effect of some characters on the population growth of mite *Varroa jacobsoni* in *Apis mellifera* L colonies and results of a bidirectional selection. *J Appl Ent* 2002;126:130-137.
- Lodesani M, Vecchi MA, Tommasini S, Bliardi M. A study on different kinds of damage to *Varroa jacobsoni* in *Apis mellifera ligustica* colonies. *J Apic Res* 1996;35:49-56.
- Martin SJ. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Exp Appl Acarol* 1994;18:87-100.
- Martin SJ. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in drone brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Exp Appl Acarol* 1995a;19:199-210.
- Martin SJ. Reproduction of *Varroa jacobsoni* in cells of *Apis mellifera* containing one or more mother mites and the distribution of these cells. *J Apic Res* 1995b;34:187-196.

- Martin SJ. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecol Modell* 1998;109:267-281.
- Martin SJ, Holland K, Murray M. Non-reproduction in the honeybee mite *Varroa jacobsoni*. *Exp Appl Acarol* 1997;21:539-549.
- Masterman R, Smith BH, Spivak M Brood odor discrimination abilities in hygienic honey bees (*Apis mellifera* L.) using proboscis extension reflex conditioning. *J Insect Behav* 2000;13:87-101.
- Mattila HR, Otis GW. Trials of Apiguard, a thymol-based miticide. Part 1. Efficacy for control of parasitic mites and residues in honey. *Am Bee J* 1999;139:947-952.
- Mayagoitia PM, Otero-Colina G. Niveles de infestación y tasa reproductiva de *Varroa jacobsoni* en abejas africanas, europeas e híbridos. Memorias del IX Seminario Americano de Apicultura; 1995 septiembre 1-3; Colima (Colima) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 1995:s/p.
- Medina ML. Reproducción del ácaro *Varroa jacobsoni* Oud. en las celdas de cría de obreras de abejas africanizadas (*Apis mellifera* L.) en Yucatán. Memorias del XI Seminario Americano de Apicultura; 1997 agosto 7-10; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 1997:92-95.
- Medina ML. Frequency and infestation levels of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in managed honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Yucatan, Mexico. *Am Bee J* 1998;138:125-127.
- Medina ML, Martin SJ. A comparative study of *Varroa jacobsoni* reproduction in worker cells of honey bees (*Apis mellifera*) in England and Africanized bees in Yucatan, Mexico. *Exp Appl Acarol* 1999;23:659-667.
- Medina ML, Martin SJ, Espinosa ML, Ratnieks LFW. Reproduction of *Varroa destructor* in worker brood of Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Exp Appl Acarol* 2002;27:79-88.
- Medina FCA, Medina ML. Frecuencia de colonias altamente higienistas en abejas africanizadas (*Apis mellifera*) de Yucatán. Memorias del XVIII Seminario Americano de Apicultura; 2003 agosto 7-9; Aguascalientes (Aguascalientes) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 2003:69-72.
- Melathopoulos AP, Gates J. Comparison of two thymol-based acaricides, Apilife VAR and Apiguard, for the control of Varroa mites. *Am Bee J* 2003;143:489-493.
- Message D, Gonçalves LS. Efeito de diferentes condicoes ambientais no comportamento higienico em abelhas *Apis mellifera* (Africanizadas). Anais do Simpósio Internacional sobre Apicultura em Clima Quente; 1978 octubre 19-28; Florianópolis (SC) Brasil. Bucharest (Romania): International Federation of Beekeepers Association, 1979:218-219.
- Milani N. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie* 1999;30:229-234.

- Milne CP. Estimates of the heritabilities of and genetic correlation between two components of honey bee (Hymenoptera: Apidae) hygienic behavior: Uncapping and removing. *Ann Entomol Soc Am* 1985;78:841-844.
- Milne CP, Friars GW. An estimate of the heritability of honeybee pupal weight. *J. Heredity* 1984;75:509-510.
- Mondragón L, Spivak M, Vandame R. A multifactorial study of the resistance of honeybees *Apis mellifera* to the mite *Varroa destructor* over one year in Mexico. *Apidologie* 2005;30:345-358.
- Moretto G. Mortality of *Varroa destructor* in broodless africanized and carnica honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Interciencia* 2002;27:1-7.
- Moretto G, Gonçalves LS, De Jong D, Bichuette MZ. The effects of climate and bee race on *Varroa jacobsoni* Oud. infestations in Brazil. *Apidologie* 1991;22:197-203.
- Moretto G, Gonçalves LS, De Jong D. Heritability of Africanized and European honey bee defensive behavior against the mite *Varroa jacobsoni*. *Rev Brasil Genet* 1993;16:71-77.
- Moretto G, Pillati A, De Jong D, Goncalves LS, Cassini FL. Reduction of *Varroa* infestations in the state of Santa Catarina, in Southern Brazil. *Am Bee J* 1995;135: 498-500.
- Moritz RFA. A reevaluation of the two-locus model for hygienic behavior in honeybees. *J Heredity* 1988;79:257-262.
- Moritz RFA, Mautz D. Development of *Varroa jacobsoni* in colonies of *Apis mellifera capensis* and *Apis mellifera carnica*. *Apidologie* 1990;21:53-58.
- Newton DC, Cantwell GC, Bourquin EP. Removal of freeze-killed brood as an index of nest cleaning behavior in honeybee colonies (*Apis mellifera* L.). *Am Bee J* 1975;115:388, 402, 406.
- Newton D, Ostasiewski N. A simplified bioassay for behavioral resistance to American foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Am Bee J* 1986;126:278-281.
- Oldroyd B, Moran C. Heritability of worker characters in the honeybee (*Apis mellifera*). *Aust J Biol Sci* 1983;36:323-332.
- Ortega RC, Ochoa BR. La producción de miel en México, modernidad y tradición. *Revista Claridades Agropecuarias (SAGARPA)* No. 128, abril 2004:3-13.
- Otten F, Fuchs S. Seasonal variations in the reproductive behavior of *Varroa jacobsoni* in colonies of *Apis mellifera carnica*, *A. m. ligustica* and *A. m. mellifera*. *Apidologie* 1990;21:367-368.
- Oudemans AC. On a new genus and species of parasitic Acari. *Notes Leyden Mus* 1904;24:216-222.
- Page RE, Gary NE. Genotypic variation in susceptibility of honey bees (*Apis mellifera*) to infestation by tracheal mites (*Acarapis woodi*). *Exp Appl Acarol* 1990;8:275-283.
- Park OW. Disease resistance and American foulbrood. *Am Bee J* 1936;76:12-15.
- Park OW. Testing for resistance to American foulbrood in honey bees. *J Econ Entomol* 1937;30:504-512.

- Peng YS, Fang Y, Xu S, Ge L. The resistance mechanism of the Asian honey bee, *Apis cerana* Fabr., to an ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. *J Invertebr Pathol* 1987;49:54-60.
- Rinderer TE. Measuring the heritability of characters of honeybees. *J Apic Res* 1977;16:95-98.
- Rinderer TE, De Guzman LI, Delatte GT, Stelzer JA, Lancaster VA, Kuznetsov V, Beaman L, Watts R, Harris JW. Resistance to the parasitic mite *Varroa destructor* in honey bees from far-eastern Russia. *Apidologie* 2001;32:381-394.
- Ritter W. *Varroa* disease of the honeybee *Apis mellifera*. *Bee World* 1981;62:141-153.
- Ritter W, De Jong D. Reproduction of *Varroa jacobsoni* O. in Europe, the Middle East and tropical South America. *Z Angew Entomol* 1984;98:55-57.
- Rosenkranz P, Engels W. Infertility of *Varroa jacobsoni* females after invasion into *Apis mellifera* worker brood as a tolerance factor against varroaosis. *Apidologie* 1994;25:402-411.
- Rosenkranz P, Fries I, Boecking O, Sturner M. Damaged *Varroa* mites in the debris of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies with and without hatching brood. *Apidologie* 1997;28:427-437.
- Rothenbuhler WC. Behavior genetics of nest cleaning in honey bees I Responses of four inbred lines to disease-killed brood. *Anim Behav* 1964a;12:578-583.
- Rothenbuhler WC. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. IV Responses of F1 and backcross generations to disease-killed brood. *Am Zool* 1964b;4:111-123
- Ruttner F, Hänel H. Active defense against *Varroa* mites in a Carniolan strain of honeybee (*Apis mellifera carnica* Pollman). *Apidologie* 1992;23:173-178.
- Santillán-Galicia MT, Otero-Colina G, Vázquez GME. Reproducción de *Varroa jacobsoni* como una forma de pronosticar su impacto en la apicultura mexicana. *Memorias del VI Seminario Americano de Apicultura*; 1992 septiembre 4-6; Oaxtepec (Morelos) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 1992:3-5.
- SAS Institute. JMP The statistical discovery software (computer program) versión 5.0.1 Cary (NC): SAS Institute Inc, 2002.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Situación actual y perspectiva de la producción apícola 2000. México (DF): SAGAR-CEA, 2000.
- Secretaría de Gobernación. Diario Oficial de la Federación, Comisión Nacional de los Salarios Mínimos. Salario mínimo fijado para el área geográfica C. México (DF): SEGOB, 2003.
- Slabezki Y, Gal H, Lensky Y. The effect of fluvalinate application in bee colonies on population levels of *Varroa jacobsoni* and honey bees (*Apis mellifera* L.) and on residues in honey and wax. *Bee Science* 1991;1:189-195.
- Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical methods*. 8th ed. USA: Iowa State University Press, 1991.
- Spivak M. Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 1996;27:245-260.

- Spivak M, Downey DL. Field assays for hygienic behaviour in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J Econ Entomol* 1998;91:64-70.
- Spivak M, Gilliam M. Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. *J Apic Res* 1993;32:147-157.
- Spivak M, Gilliam M. Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and varroa. *Bee World* 1998;79:124-134.
- Spivak M, Reuter GS. Honey bee hygienic behavior. *Am Bee J* 1998a;138:283-286.
- Spivak M, Reuter GS. Performance of hygienic honey bee colonies in a commercial apiary. *Apidologie* 1998b;29:291-302.
- Spivak M, Reuter GS. *Varroa destructor* infestation in untreated honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies selected for hygienic behavior. *J Econ Entomol* 2001;94:326-331.
- Spivak M, Reuter GS, Lamb M. Frequency of hygienic behavior in naturally mated daughters of a hygienic breeder queen. *Am Bee J* 1995;135:830-831.
- Stanghellini MS, Raybold P. Evaluation of selected biopesticides for the late fall control of *Varroa* mites in a northern temperate climate. *Am Bee J* 2004;144:475-480.
- Stürmer M, Rosenkranz P. The importance of the phoretic phase for the oogenesis of *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 1994;25:453-454.
- Szabo T, Walker T. Damages to dead *Varroa jacobsoni* caused by larvae of *Galleria mellonella*. *Am Bee J* 1995;135:515-517.
- Szabo TI, Szabo DC. *Varroa jacobsoni* infestation levels of honey bee colonies in the fourth year of a breeding program: Report for 2000. *Am Bee J* 2001;141:437-440.
- Thompson HM, Brown MA, Ball RF, Bew MH. First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie* 2002;33:357-366.
- Utrera QF, Cervantes ST. Heredabilidad de la tolerancia a *Varroa jacobsoni* O. de una población de abejas euroafricanas. *Memorias del 6° Congreso Internacional de Actualización Apícola*; 1999 mayo 28-30; Celaya (Guanajuato). México (DF): Asociación Nacional de Médicos Veterinarios Especialistas en Abejas, AC, 1999:29-32.
- Van Vleck LD. Selection index and introduction to mixed model methods. Florida USA: CRC Press Inc, 1993.
- Vandame R, Colin M, Otero-Colina G. Ensayos con abejas europeas y africanizadas en México. 3.- Explicación de la tolerancia. *Vida Apícola* 1998;88:12-19.
- Vandame R, Colin M, Otero-Colina G. Africanized honeybees tolerance to *Varroa* in Mexico: mite infertility is not the main tolerance factor. *Apiacta* 1999;34:1-5.

- Vandame R, Otero-Colina G, Colin M. Dinámica comparativa de las poblaciones de *Varroa jacobsoni* en colmenas de abejas europeas y africanizadas en Córdoba, Ver. Memorias del IX Seminario Americano de Apicultura; 1995 septiembre 1-3; Colima (Colima). México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 1995:61-62.
- Vandame R, Morand S, Colin M, Belzunces LP. Parasitism in the social bee *Apis mellifera*: quantifying costs and benefits of behavioral resistance to *Varroa destructor* mites. *Apidologie* 2002;33:433-445.
- Vázquez CR. Resultados y perspectivas de la campaña nacional contra la varroasis de las abejas. Memorias del XI Seminario Americano de Apicultura; 1997 agosto 7-10; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 1997:83-90.
- Wallner K. The use of varroacides and their influence on the quality of bee products. *Am Bee J* 1995;135:817-821.
- Zar JH. *Bioestatistical Analysis. Data transformations*. New Jersey: Prentice Hall, 1996.

REFERENCIAS CAPÍTULO II

- Calderone NW, Nasr ME. Evaluation of a formic acid formulation for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in a temperate climate. J Econ Entomol 1999;92:526-533.
- Calderone NW, Spivak M. Plant-extracts for control of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the Western honey bee (Hymenoptera: Apidae). J Econ Entomol 1995;88:1211-1215.
- Chiesa F. Effective control of varroaosis using powdered thymol. Apidologie 1991;22:135-145.
- De Felipe HM, Guzmán CS, Vandame R. Control alternativo de *Varroa* con ácidos orgánicos y timol. Investigación y capacitación en el Estado de Veracruz. Memorias del XIII Seminario Americano de Apicultura; 1999 agosto 26-28; Morelia (Michoacán) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 1999:s/p.
- De Jong D, Roma DA y Gonçalves LS. A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honeybees. Apidologie 1982;13:297-306.
- Ellis JD, Delaplane KS, Hood WM. Efficacy of a bottom screen device, Apistan®, and Apilife VAR®, in controlling *Varroa destructor*. Am Bee J 2001;141:813-816.
- Feldlaufer MF, Pettis JS, Kochansky P, Shimanuki H. A gel formulation of formic acid for the control of parasitic mites of honey bees. Am Bee J 1997;137:661-663.
- Ferrer-Dufol M, Martinez VAI, Sanchez AC. Comparative tests of fluvalinate and flumethrin to control *Varroa jacobsoni* Oudemans. J Apic Res 1991;30:103-106.
- Ferrer-Dufol M, Moreno MC, Martinez VAI, Sanchez AC, Garcia SMJ. Field trials of treatments against *Varroa jacobsoni* using fluvalinate and flumethrin strips in honey bee colonies containing sealed brood. J Apic Res 1995;34:147-152.
- Floris I, Satta A, Cabras P, Garau VL, Angioni A. Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*. Effectiveness, persistence, and residues. J Econ Entomol 2004;97:187-191.
- Higes M, Llorente J. Ensayo de eficacia en el control de la varroosis en colmenas de producción: timol. Vida Apícola 1997;81:14-17.
- Imdorf A, Bogdanov S, Ochoa RI, Calderone N. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. Apidologie 1999;30:209-228.
- Mattila HR, Otis GW. The efficacy of Apiguard against varroa and tracheal mites, and its effect on honey production: 1999 trial. Am Bee J 2000;140:969-973.
- May-Itzá WJ, Marrufo-Olivares JC, Delabra-Vaca G, Quezada-Euán J. Control del ácaro *Varroa destructor* con un gel a base de timol en colonias de abejas africanizadas (*Apis mellifera* L.) bajo condiciones de clima tropical en Yucatán. Memorias del XVII Seminario Americano de

- Apicultura; 2003 agosto 7-9; Aguascalientes (Aguascalientes) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 2003:158-160.
- Melathopoulos AP, Gates J. Comparison of two thymol-based acaricides, Apilife VAR and Apiguard, for the control of Varroa mites. *Am Bee J* 2003;143:489-493.
- Milani N, Barbattani R. Treatment of varroasis with Bayvarol strips (flumethrin) in northern Italy. *Apicultura* 1989;5:173-192.
- Nasr ME, Thorp RW, Tyler TL, Briggs DL. Estimating honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony strength by a simple method: Measuring cluster size. *J Econ Entomol* 1990;83: 748-754.
- Pérez-Santiago G, Gonzalez CM, Marrufo OJ, Zapata MS. Mortalidad de *Varroa jacobsoni* con tratamientos de Apistan y ácido fórmico en abejas melíferas. Memorias del XI Seminario Americano de Apicultura; 1997 agosto 7-10; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 1997:s/p.
- Reyes SA, Delabra-Vaca G, Fragoso SH, Bojorques NL, Castell BH. Uso del Api-plus para el control de varroa en abejas melíferas (*Apis mellifera*). Memorias del 5º Congreso Internacional de Actualización Apícola; 1998 mayo 29-31; Guadalajara (Jalisco) México. México (DF): Asociación Nacional de Médicos Veterinarios Especialistas en Abejas, AC, 1998:s/p.
- SAS Institute. JMP The statistical discovery software (computer program) versión 5.0.1 Cary (NC): SAS Institute Inc, 2002.
- Secretaría de Gobernación. Diario Oficial de la Federación, Comisión Nacional de los Salarios Mínimos. Salario mínimo fijado para el área geográfica C. México (DF): SEGOB, 2003.
- Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods. 8th ed. USA: Iowa State University Press, 1991.
- Stanghellini MS, Raybold P. Evaluation of selected biopesticides for the late fall control of *Varroa* mites in a northern temperate climate. *Am Bee J* 2004;144:475-480.
- Underwood RM, Currie RW. The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), a parasite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Exp Appl Acarol* 2003;29:303-313.
- Vicario ME, Medina ML. Uso del ácido fórmico y timol en el control del ácaro *Varroa jacobsoni* en Yucatán, México: Resultados preliminares. Memorias del XIII Seminario Americano de Apicultura; 1999 agosto 26-28; Morelia (Michoacán) México. México (DF): Unión Nacional de Apicultores, 1999:s/p.
- Vivas RJA, Otero-Colina G, Rodríguez BD. Aplicación de tratamientos con ácido fórmico para el control de la varroasis. Memorias del X Seminario Americano de Apicultura; 1996 agosto 2-4; Veracruz (Veracruz) México. México (DF): Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, 1996:s/p.
- Zar JH. Bioestatistical Analysis. Data transformations. New Jersey: Prentice Hall, 1996.

9. CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS CAPÍTULO I

Cuadro 1

CORRELACIONES PARA LAS RESPUESTAS DE COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO OBTENIDAS DE 60 COLONIAS DE ABEJAS MELÍFERAS EVALUADAS CON TRES PRUEBAS: CONGELACIÓN LENTA, CONGELACIÓN RÁPIDA Y PUNCIÓN

	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Congelación lenta – Congelación rápida	60	0.63	< 0.0001
Congelación lenta - Punción	60	0.54	< 0.0001
Congelación rápida - Punción	60	0.62	< 0.0001

Cuadro 2

ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS DEL COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO EN 60 COLONIAS DE ABEJAS MELÍFERAS EVALUADAS CON TRES PRUEBAS: CONGELACIÓN LENTA, CONGELACIÓN RÁPIDA Y PUNCIÓN

Prueba	Comportamiento higiénico (% ± D.E.)			Varianza	Valores mínimos y máximos (%)	Coefficiente de variación (%)
	Medición 1	Medición 2	Total			
Congelación lenta	69.1 ± 22.4	68.3 ± 22.9	68.7 ± 20 a	400.54	27.2 - 99.5	29.1
Congelación rápida	67.1 ± 25.1	62.3 ± 23.3	64.7 ± 20.6 a	424.53	23.2 - 99.5	31.8
Punción	89.9 ± 14.5	86 ± 15.5	88.0 ± 12.4 b	154.47	52.4 - 100	14.1

Literales diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.01$) con la prueba de comparación múltiple de Tukey

Cuadro 3

NÚMERO MEDIO Y (%) DE COLONIAS DE ABEJAS MELÍFERAS CLASIFICADAS COMO DE BAJO, INTERMEDIO O ALTO COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO LUEGO DE SER EVALUADAS CON TRES PRUEBAS: CONGELACIÓN LENTA, CONGELACIÓN RÁPIDA Y PUNCIÓN

<i>Prueba</i>	<i>Comportamiento</i>	<i>Comportamiento</i>	<i>Comportamiento</i>
	<i>bajo</i> (<i>< 50.0 %</i>)	<i>intermedio</i> (<i>50.0 a 95.0 %</i>)	<i>alto</i> (<i>> 95.0 %</i>)
Congelación lenta	12 (20.0)	43 (71.7)	5 (8.3)
Congelación rápida	15 (25.0)	39 (65.0)	6 (10.0)
Punción	0 (0.0)	35 (58.3)	25 (41.7)

Cuadro 4

COSTO ESTIMADO, TIEMPO INVERTIDO Y NÚMERO DE VISITAS REQUERIDAS POR COLONIA PARA APLICAR LAS PRUEBAS DE CONGELACIÓN LENTA, CONGELACIÓN RÁPIDA Y PUNCIÓN, CON EL FIN DE EVALUAR EL COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO DE COLONIAS DE ABEJAS MELÍFERAS EN VILLA GUERRERO, ESTADO DE MÉXICO

Conceptos	PRUEBAS		
	Congelación lenta	Congelación rápida	Punción
	Costos* por colmena (una repetición)		
Equipo	0.12	0.26	0.00
Mano de obra	8.42	5.85	5.62
Transportación	0.88	0.58	0.58
Insumos	0.17	7.00	0.04
Imprevistos	0.96	1.37	0.62
Total	10.55	15.06	6.86
Ventajas/desventajas			
Número de visitas (días)	3 [†]	2 ^{**}	2 ^{**}
Tiempo invertido (min)	18	23	17

- Costo en moneda nacional 2004.

^{**}Viaje 1 = selección del panal y aplicación de la prueba; Viaje 2 = lectura de resultados.

[†] Viaje 1 = selección del panal y corte de sección; Viaje 2 = aplicación de la prueba; Viaje 3 = lectura de resultados.

Cuadro 5

ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS POR MEDICIÓN Y GENERAL, DE MECANISMOS QUE CONFIEREN RESISTENCIA A LAS ABEJAS MELÍFERAS CONTRA *V. destructor* Y DE CARACTERÍSTICAS DEL DESARROLLO POBLACIONAL DEL ÁCARO

Característica	variable	n	MEDICIÓN															GENERAL			
			(oct)			(nov)			(dic)			(ene)			(feb)			Media	CV	Min.-Max.	
			n	Media	CV	n	Media	CV	n	Media	CV	n	Media	CV	n	Media	CV	n	Media	CV	Min.-Max.
Comportamiento de acicalamiento	Directo TIRA (s)	59	53 a	37.3	59	58.8 a	33.4	—	—	—	—	—	—	—	—	59	55.9	25.9	32-98.4		
	Indirecto ALES (%)	59	23.1 b	90.3	59	35 a	73.1	57	35.1 a	80.6	48	33 a	56.4	45	27.6 ab	61.6	59	31.8	43.4	3.3-73.9	
Inhibición de la reproducción de varroa	TRV (No.)	54	0.6 b	146	49	1.2 a	99	46	0.93 a	80.6	47	0.73 ab	106.2	37	0.78 ab	100	57	0.8	54.1	0-1.64	
	VFI (%)	54	7.3 b	206	49	12.5 ab	148.5	46	14.1 ab	103.9	47	21 a	91.9	37	21.6 a	111	57	14.4	78.9	0-56.2	
Desarrollo poblacional de varroa	CNDA (No.)	59	25.3 a	110	59	27 a	125.3	59	25.2 a	122.1	50	27 a	106.6	47	24.8 a	112.8	59	25.7	94.5	2-95.9	
	IA (%)	58	4.1 d	100	59	6.5 c	81	56	9.2 bc	107.2	50	10 ab	71.8	45	11.6 a	70.9	59	7.9	71.1	1-27.0	
	IC (%)	54	5.9 c	113	49	14.7 b	91.6	46	17 ab	85.4	47	16.4 ab	60.8	37	17 a	81.2	57	13.2	71.7	0-37.6	

n= número de colonias, CV= coeficiente de variación (%), valores mínimos y máximos (min.-max.), CNDA= número de ácaros caídos/día, IA= infestación en abejas adultas, IC= infestación en cría, CL= congelación lenta, CR= congelación rápida, P= punción, TIRA= tiempo de reacción a *V. destructor*, ALES= ácaros lesionados, TRV= tasa de reproducción verdadera, VFI= varroas fundadoras infértiles

Literales diferentes entre mediciones de cada característica, indican diferencias significativas con base en el análisis de comparación de medias de Tukey (P< 0.05)

Cuadro 6

CORRELACIONES FENOTÍPICAS ENTRE VARIABLES DE INHIBICIÓN DE LA REPRODUCCIÓN DE *V. destructor* Y VARIABLES DEL COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO Y DEL COMPORTAMIENTO DE ACICALAMIENTO, EVALUADAS EN 57 COLONIAS DE *A. mellifera*

Variables	Congelación lenta	Congelación rápida	Punción	Tiempo de reacción a varroa	Ácaros lesionados
Tasa de reproducción verdadera	0.2421	0.1247	0.2849*	-0.3079*	-0.2757*
Varroas fundadoras infértiles	-0.1402	-0.0688	-0.0780	-0.1442	-0.0897

VARIABLES de inhibición de la reproducción de *V. destructor*= Tasa de reproducción verdadera, porcentaje de varroas fundadoras infértiles. Porcentajes de comportamiento higiénico evaluado mediante las pruebas de congelación lenta, congelación rápida y punción. Variables del comportamiento de acicalamiento medido directa e indirectamente= Tiempo de reacción al ácaro varroa y porcentaje de ácaros lesionados. * P <0.05

Estimación de coeficientes de correlación simple de Pearson calculados a partir de los promedios totales de las características en cada una de las colonias experimentales.

Cuadro 7

COMPONENTES DE VARIANZA, LOGARITMOS DE VEROSIMILITUD Y COEFICIENTES DE HEREDABILIDAD* (\pm E.E.) DE CARACTERÍSTICAS DE RESISTENCIA A *V. destructor* EN POBLACIONES DE ABEJAS MELÍFERAS EN MÉXICO

Variable	Componentes de varianza				A	B	2*/A-B/	h ² \pm EE	P
	Reina padre o grupo (%)	Colonia (%)	Residuo (%)	Total	-LogL Modelo completo	-LogL Modelo reducido			
Congelación lenta	7.12	46.27	46.61	0.088	91.34	91.05	0.58	0.28 \pm 0.38	0.4463
Congelación rápida	23.99	23.11	52.90	612.75	-428.46	-432.59	8.26	0.94 \pm 0.50	0.0040
Punción	12.03	24.56	63.42	0.052	118.1	116.53	3.14	0.47 \pm 0.39	0.0764
Tiempo de reacción	2.09	5.91	92.0	347.75	-401.04	-401.18	0.28	0.08 \pm 0.2	0.5967
Ácaros lesionados	0.00	9.95	90.05	0.111	150.23	150.23	0	0.0 \pm 0.0	1
Tasa de reproducción verdadera	0.00	0.00	100.0	0.488	-41.84	-41.84	0	0.0 \pm 0.0	1
Varroas fundadoras infértiles	4.88	0.56	94.56	0.021	318.51	315.42	6.18	0.19 \pm 0.15	0.0129
Caída natural diaria de ácaros	13.26	35.15	51.59	272.23	-854.83	-859.99	10.32	0.52 \pm 0.33	0.0013
Infestación en abejas adultas	14.71	40.44	44.85	0.014	478.06	474.08	7.96	0.58 \pm 0.38	0.0048
Infestación en crías	26.14	25.00	48.86	0.009	459.30	447.26	24.08	1.0 \pm 0.46	9.24E-07

* Datos transformados (con excepción de la variable de congelación rápida).

-LogL (Modelo completo) = -Logaritmo de la verosimilitud del modelo con efecto de reina padre. -LogL (Modelo reducido) = -Logaritmo de la verosimilitud del modelo sin efecto de reina padre.

2*/A-B/ = Multiplicación por 2 a los valores absolutos de la diferencia de los -LogL de ambos modelos conforme se describe en el inciso 5.7 del capítulo material y métodos. Variables del comportamiento higiénico (% limpieza): congelación lenta, congelación rápida, punción. Variables del comportamiento de acicalamiento: tiempo de reacción a *V. destructor*, % de ácaros lesionados. Variables asociadas con la inhibición de la reproducción de *V. destructor*: tasa de reproducción verdadera, % de varroas fundadoras infértiles. Variables del desarrollo poblacional de *V. destructor*: caída natural diaria de ácaros (no. ácaros), % de infestación en abejas adultas, % de infestación en cría.

Cuadro 8

COMPONENTES DE VARIANZA, LOGARITMOS DE VEROSIMILITUD Y COEFICIENTES DE HEREDABILIDAD** (\pm E.E.) DE CARACTERÍSTICAS DE RESISTENCIA A *V. destructor* EN POBLACIONES DE ABEJAS MELÍFERAS EN MÉXICO

Variable	Componentes de varianza				A	B	2*/A-B/	h ² \pm EE	P
	Reina padre o grupo (%)	Colonia (%)	Residuo (%)	Total	-LogL Modelo completo	-LogL Modelo reducido			
Congelación lenta	7.19	49.03	43.78	0.052	123.10	122.81	0.58	0.28 \pm 0.39	0.4463
Congelación rápida	23.99	23.11	52.90	0.061	114.95	110.82	8.27	0.94 \pm 0.50	0.0040
Punción	8.82	28.98	62.20	0.023	166.03	165.08	1.89	0.34 \pm 0.35	0.1692
Tiempo de reacción	0.71	7.05	92.24	388.464	-407.65	-407.67	0.04	0.03 \pm 0.16	0.8415
Ácaros lesionados	0.00	10.72	89.28	0.052	249.31	249.31	0	0.0 \pm 0.0	1
Tasa de reproducción verdadera	0.23	0.00	99.77	0.798	-97.83	-97.84	0.024	0.01 \pm 0.07	0.8796
Varroas fundadoras infértiles	2.89	3.02	94.09	0.033	265.82	264.69	2.262	0.11 \pm 0.13	0.1326
Caída natural diaria de ácaros	16.19	34.54	49.26	846.324	-1002.43	-1009.63	14.4	0.63 \pm 0.36	0.0002
Infestación en abejas adultas	13.07	36.20	50.73	0.005	598.83	594.69	8.3	0.51 \pm 0.34	0.004
Infestación en crías	24.89	20.67	54.44	0.012	414.14	400.95	26.38	0.97 \pm 0.44	2.804E-07

** Datos sin transformar.

-LogL (Modelo completo) = -Logaritmo de la verosimilitud del modelo con efecto de reina padre. -LogL (Modelo reducido) = -Logaritmo de la verosimilitud del modelo sin efecto de reina padre.

2*/A-B/ = Multiplicación por 2 a los valores absolutos de la diferencia de los -LogL de ambos modelos conforme se describe en el inciso 5.7 del capítulo material y métodos. Variables del comportamiento higiénico (% de limpieza): congelación lenta, congelación rápida, punción. Variables del comportamiento de acicalamiento: tiempo de reacción a *V. destructor*, % de ácaros lesionados. Variables asociadas con la inhibición de la reproducción de *V. destructor*: tasa de reproducción verdadera, % de varroas fundadoras infértiles. Variables del desarrollo poblacional de *V. destructor*: caída natural diaria de ácaros (no. ácaros), % de infestación en abejas adultas, % de infestación en cría.

Cuadro 9

**CORRELACIONES FENOTÍPICAS* ENTRE MECANISMOS DE RESISTENCIA DE LAS ABEJAS
A *V. destructor* Y CARACTERÍSTICAS DEL DESARROLLO POBLACIONAL DEL ÁCARO**

VARIABLES	Caída natural diaria de ácaros	Infestación en abejas adultas	Infestación en crías
Congelación lenta	r= 0.0290 P= 0.8275	r= 0.0785 P= 0.5544	r= 0.0721 P= 0.5942
Congelación rápida	r= -0.2041 P= 0.1209	r= -0.1583 P= 0.2311	r= -0.1994 P= 0.1370
Punción	r= 0.0112 P= 0.9329	r= 0.1872 P= 0.1557	r= 0.0557 P= 0.6808
Tiempo de reacción a varroa	r= -0.0671 P= 0.6134	r= -0.0842 P= 0.5261	r= 0.0870 P= 0.5199
Ácaros lesionados	r= -0.2530 P= 0.0532	r= -0.1610 P= 0.2232	r= -0.2869 P= 0.0305
Tasa de reproducción verdadera	r= -0.0239 P= 0.8597	r= -0.0008 P= 0.9955	r= 0.0108 P= 0.9367
Varroas fundadoras infértiles	r= 0.2827 P= 0.0331	r= 0.2655 P= 0.0460	r= 0.3005 P= 0.0231

n= 57 para tasa de reproducción verdadera, varroas fundadoras infértiles, infestación en abejas adultas e infestación en crías; n= 59 para el resto de las variables.

*Estimación de coeficientes de correlación simple de Pearson calculados a partir de los promedios totales de las características en cada una de las colonias experimentales.

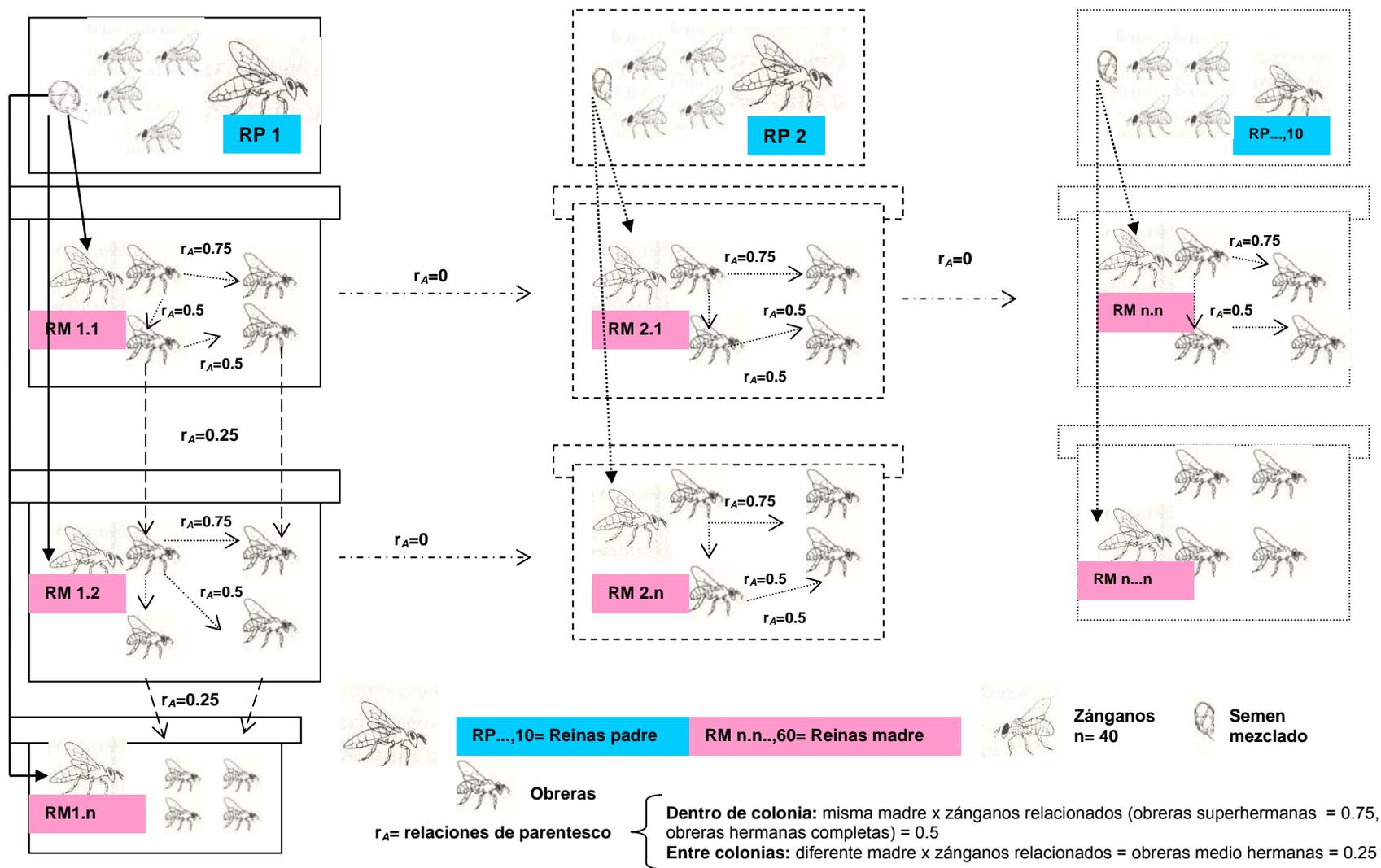


Figura 1. Esquema sintetizado de cruzamientos y relaciones de parentesco entre abejas obreras dentro y entre colonias de diferentes familias.

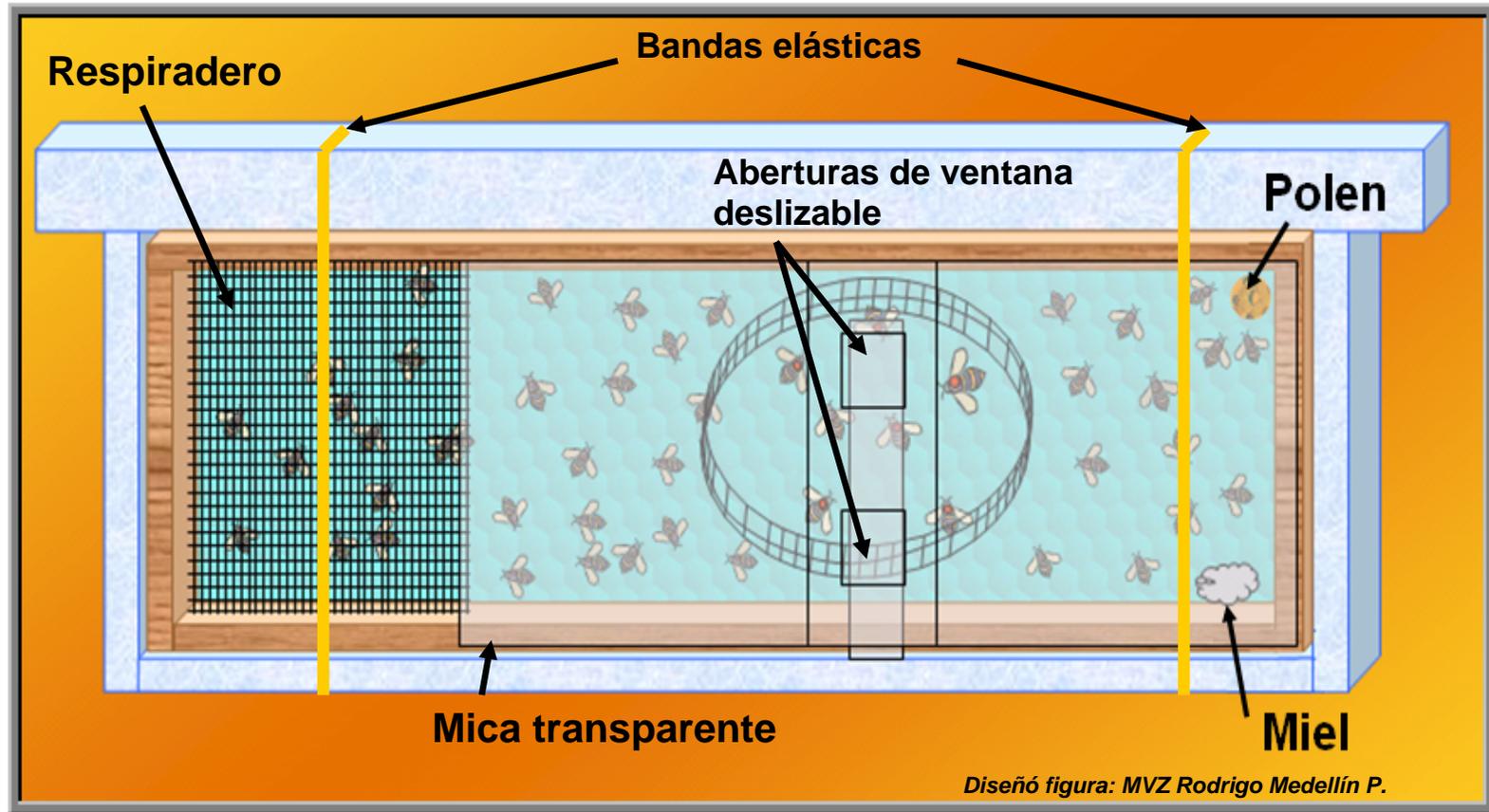


Figura 2. Esquema del bastidor de plástico y del marco de madera para realizar la evaluación directa del comportamiento de acicalamiento.

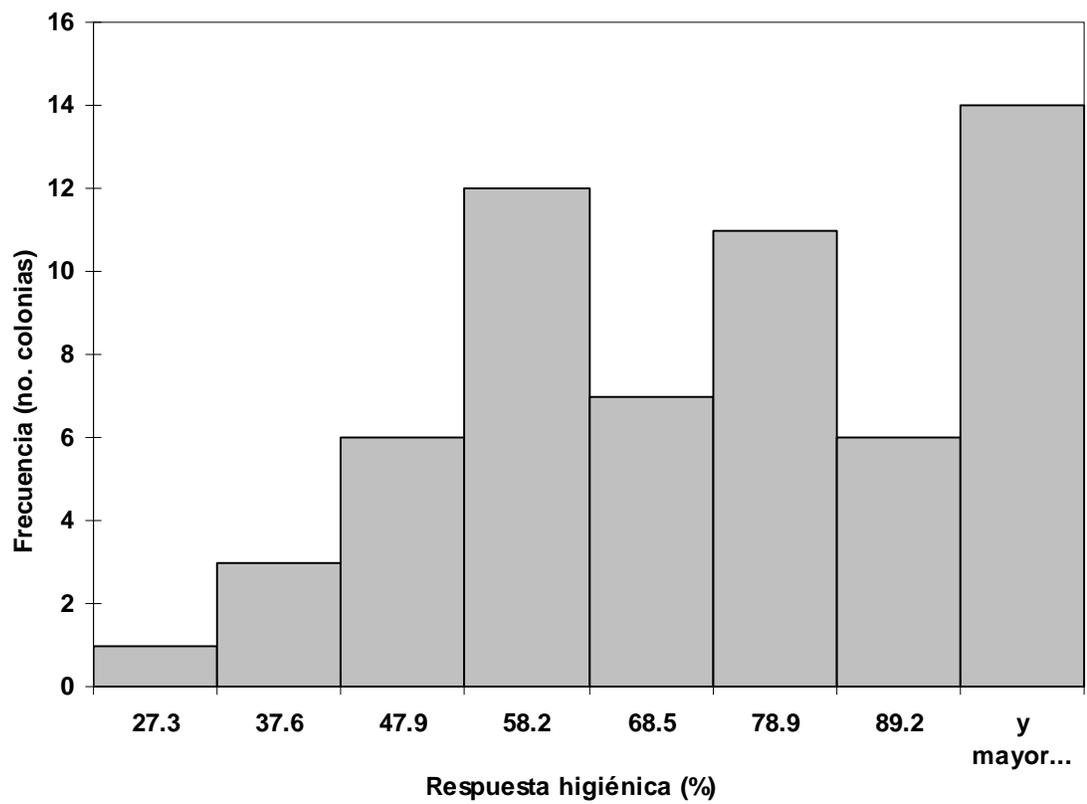


Figura 3. Distribución de la respuesta higiénica (%) expresada por 60 colonias de abejas melíferas después de aplicar la prueba de congelación lenta.

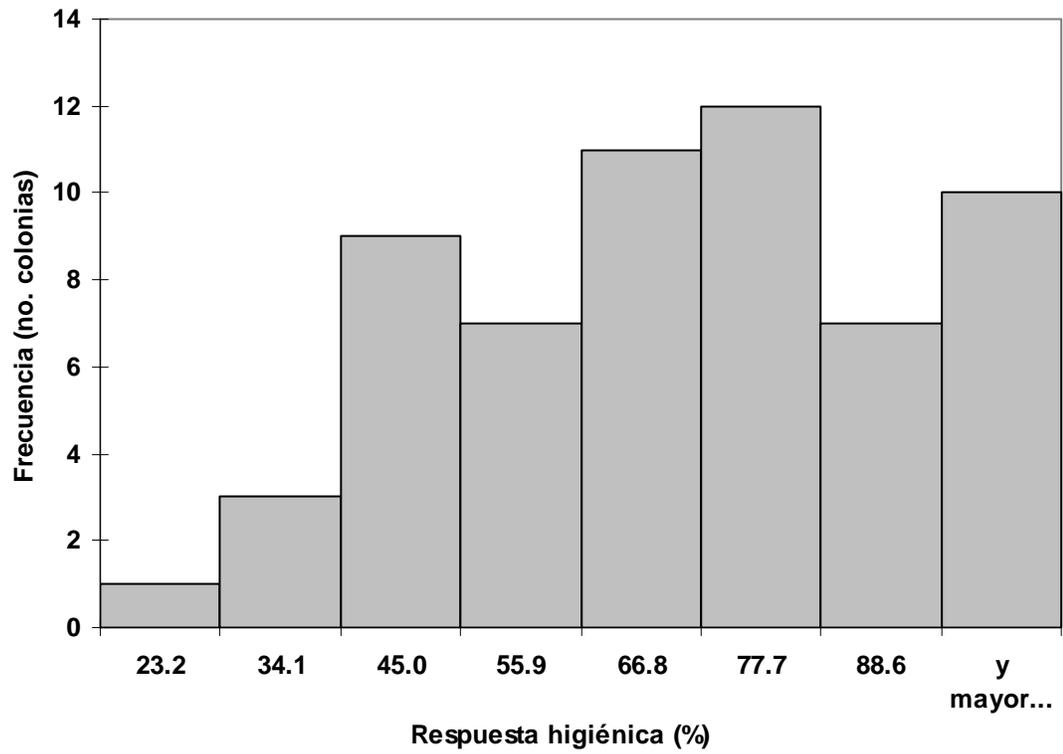


Figura 4. Distribución de la respuesta higiénica (%) expresada por 60 colonias de abejas melíferas después de aplicar la prueba de congelación rápida.

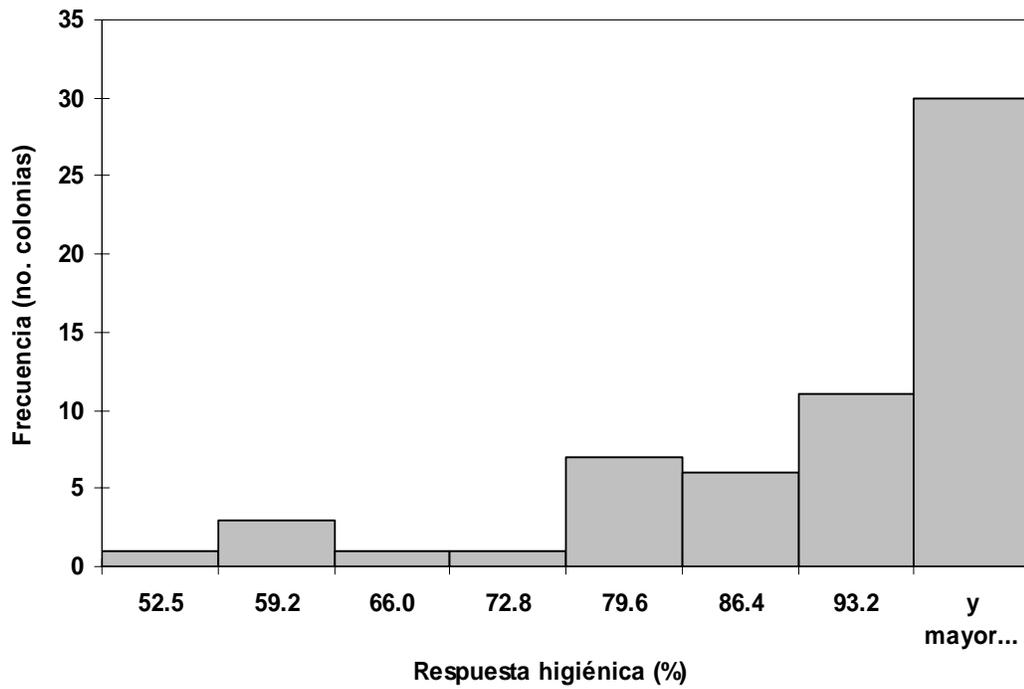


Figura 5. Distribución de la respuesta higiénica (%) expresada por 60 colonias de abejas melíferas después de aplicar la prueba de punción.

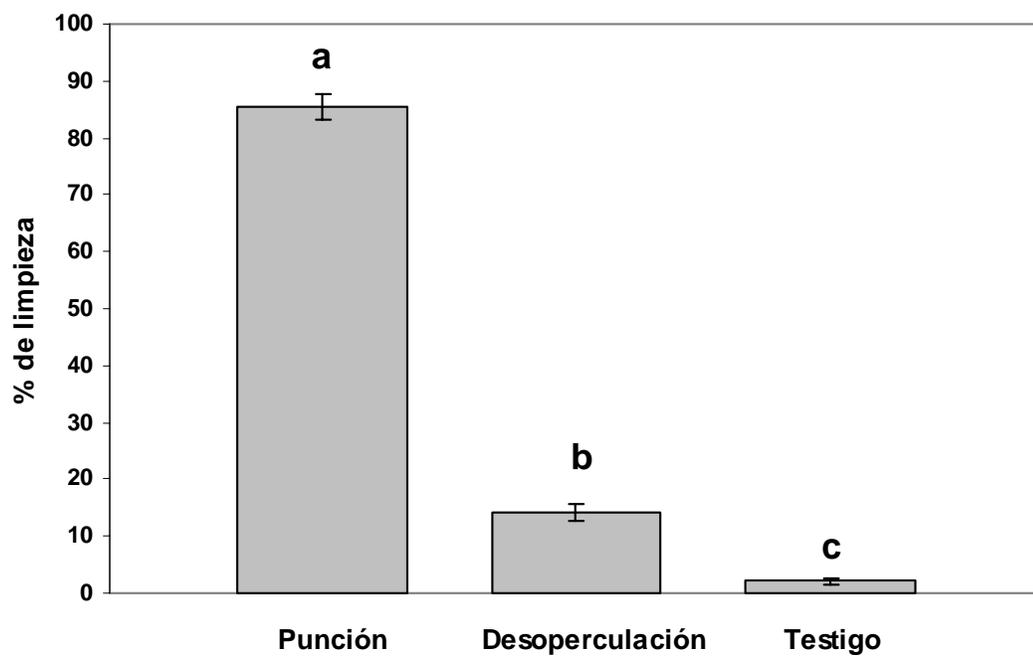


Figura 6. Porcentaje promedio de comportamiento higiénico (\pm E.E.) de 50 colonias de abejas melíferas tras la aplicación de tres tratamientos: punción de la cría, desoperculación sin daño a la cría y testigo.

Literales diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$) basadas en un análisis de varianza y en una prueba de comparación múltiple de Tukey, con datos transformados mediante la función arcoseno de la raíz cuadrada.

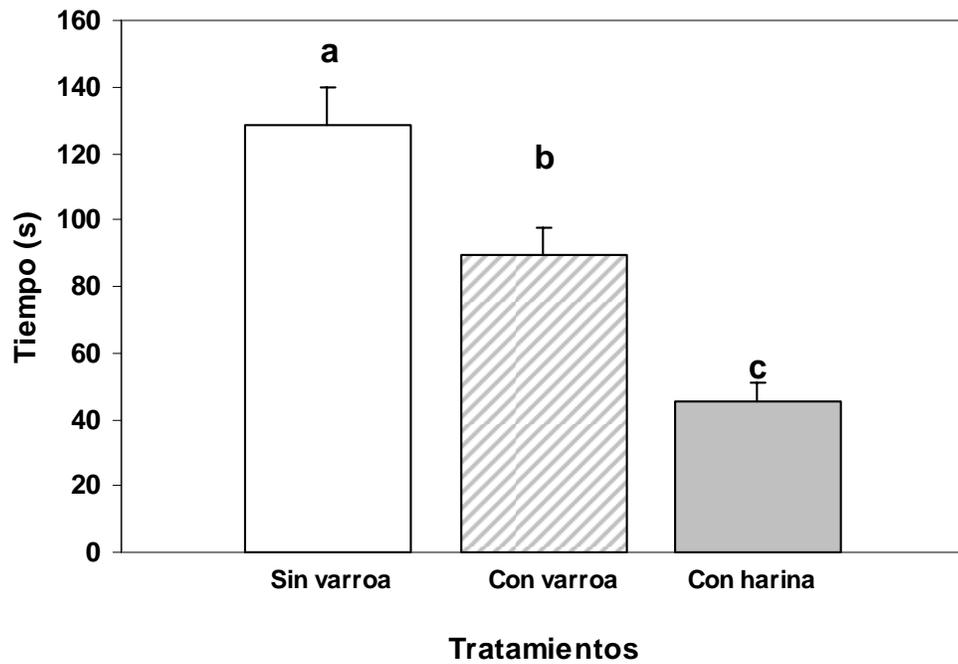


Figura 7. Tiempo medio (s) \pm E.E. para el inicio del comportamiento de acicalamiento de abejas melíferas evaluadas con tres tratamientos: sin varroa (testigo), con varroa y con harina. Literales diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.01$), con base en un análisis de varianza y en la prueba de comparación múltiple de Tukey.

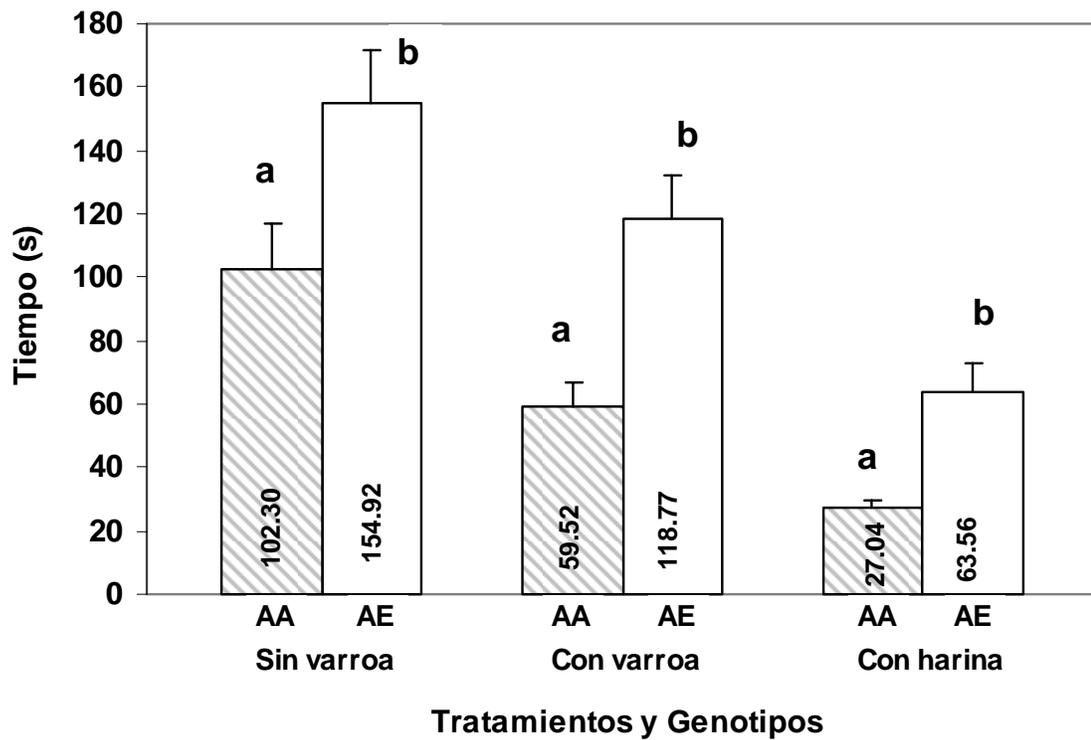


Figura 8. Tiempo medio (s) \pm E.E. para el inicio del comportamiento de acicalamiento de abejas africanizadas (AA) y europeas (AE) evaluadas con tres tratamientos: sin varroa (testigo), con varroa y con harina.

Literales diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.01$) entre genotipos para cada uno de los tres tratamientos, con base en pruebas t-Student.

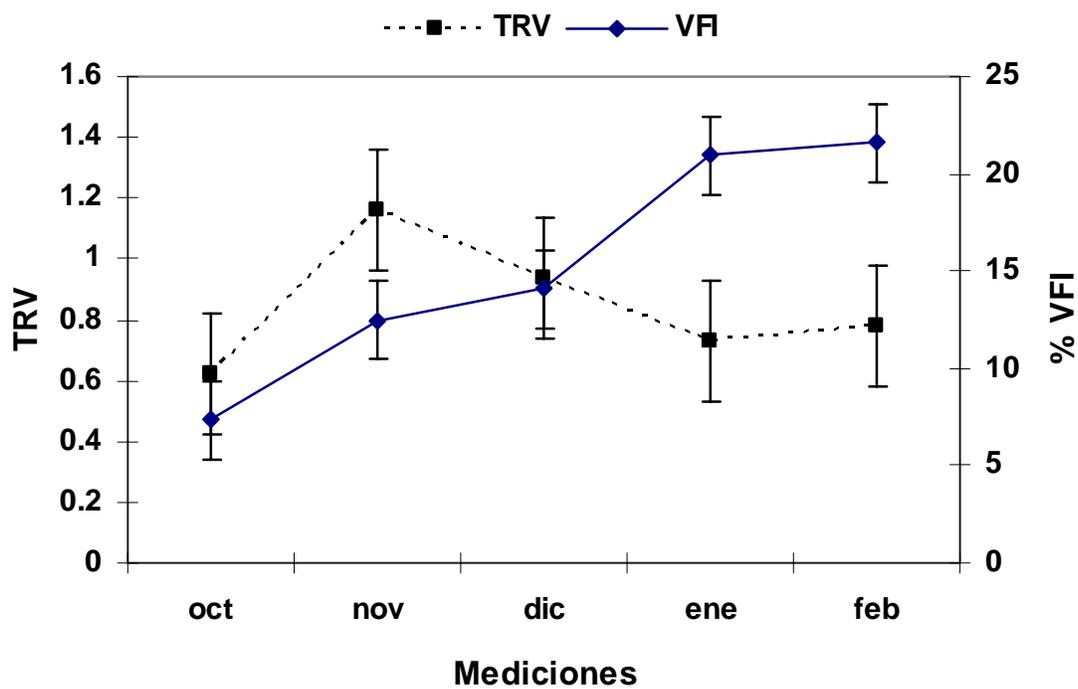


Figura 9. Evolución de la tasa de reproducción verdadera (TRV ± E.E.) y del porcentaje de infertilidad de *V. destructor* (VFI ± E.E.) en 57 colonias de *A. mellifera*, durante cinco mediciones mensuales realizadas entre octubre (oct) y febrero (feb) de 2004 en Villa Guerrero, México.

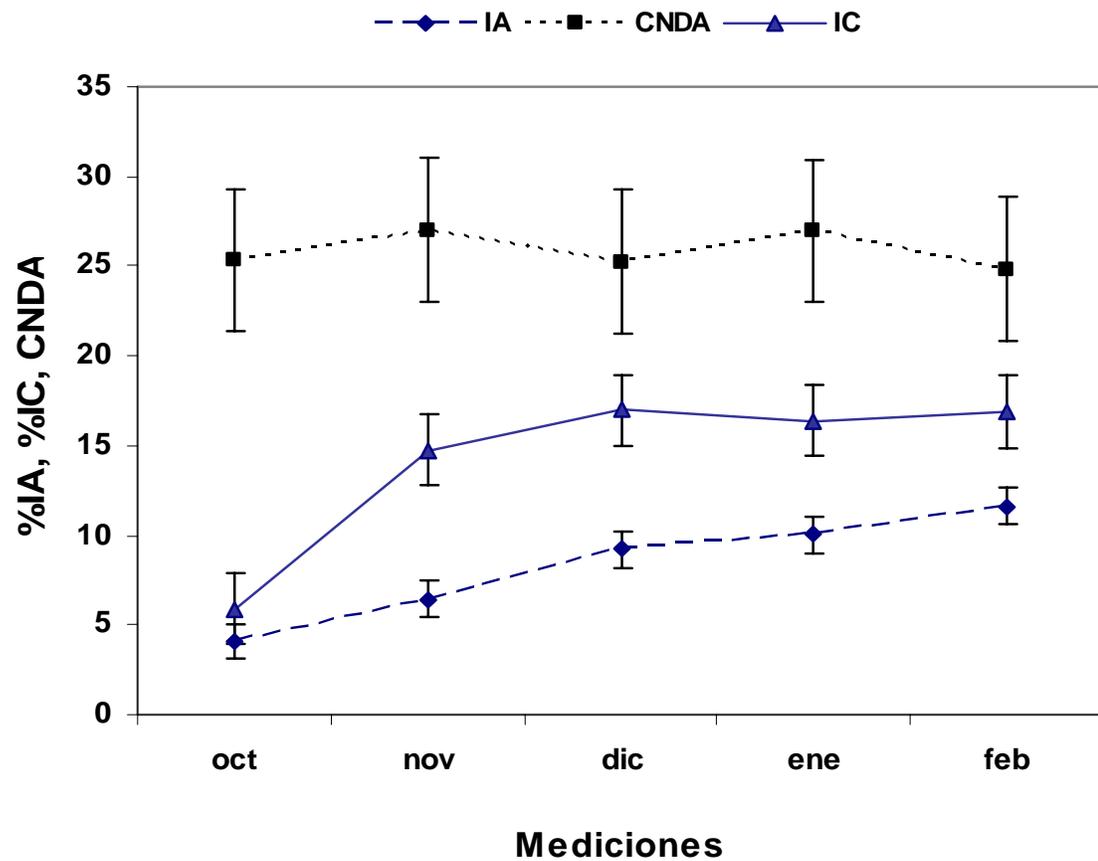


Figura 10. Evolución del porcentaje de infestación de las abejas adultas (IA \pm E.E.), de las crías (IC \pm E.E.) y del número de ácaros caídos/día (CNDA \pm E.E.) de *V. destructor* durante cinco mediciones mensuales realizadas entre octubre (oct) y febrero (feb) de 2004 en Villa Guerrero, México.

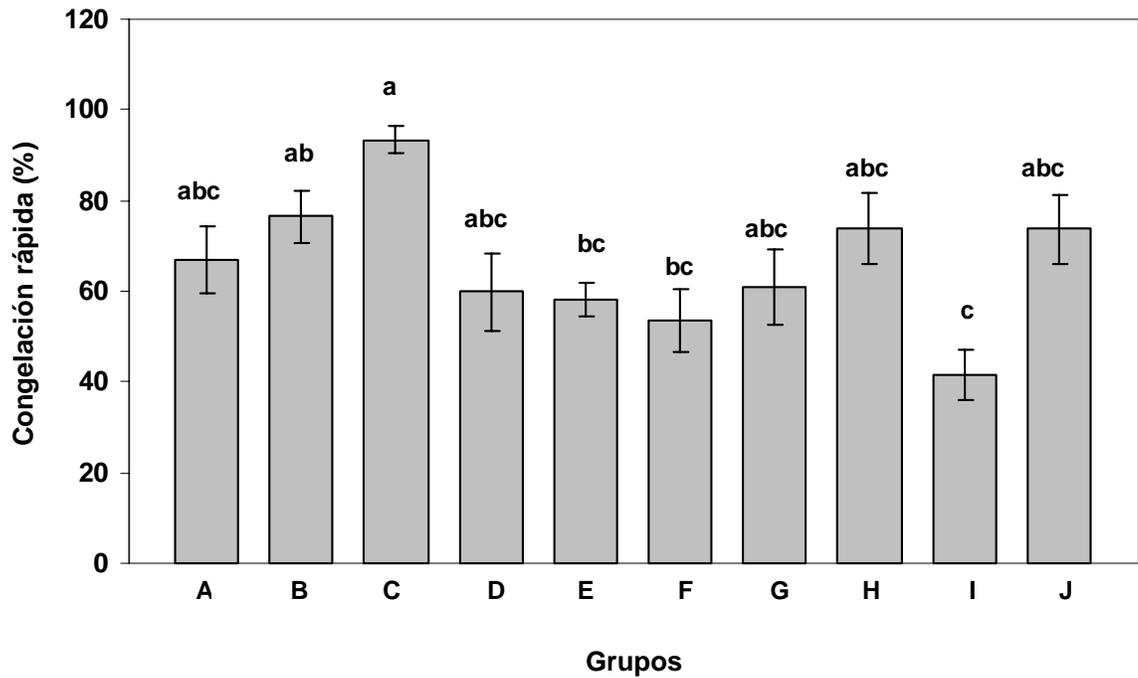


Figura 11. Respuestas higiénicas promedio (% de remoción de cría congelada \pm E.E.) con la prueba de congelación rápida en 10 grupos de familias diferentes. Literales diferentes indican diferencias entre las medias de los grupos con base en la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$). Estos análisis fueron realizados con datos no transformados ya que la variable presentó una distribución normal. Los valores de la figura representan datos reales ($n = 60$ colonias).

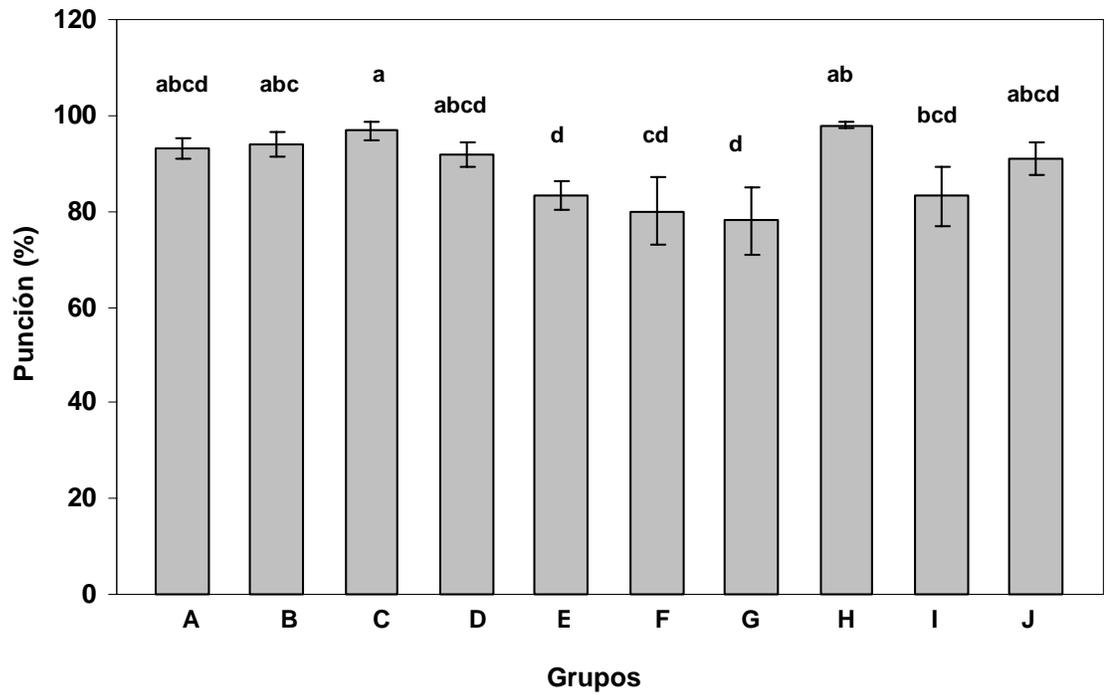


Figura 12. Respuestas higiénicas promedio (% de remoción de cría puncionada \pm E.E.) en 10 grupos de familias diferentes.

Literales diferentes indican diferencias significativas con base en la prueba de comparación de medias de Fisher ($P < 0.05$). Los análisis fueron realizados con datos transformados con la función arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción. Los valores de la figura representan datos reales ($n = 60$ colonias).

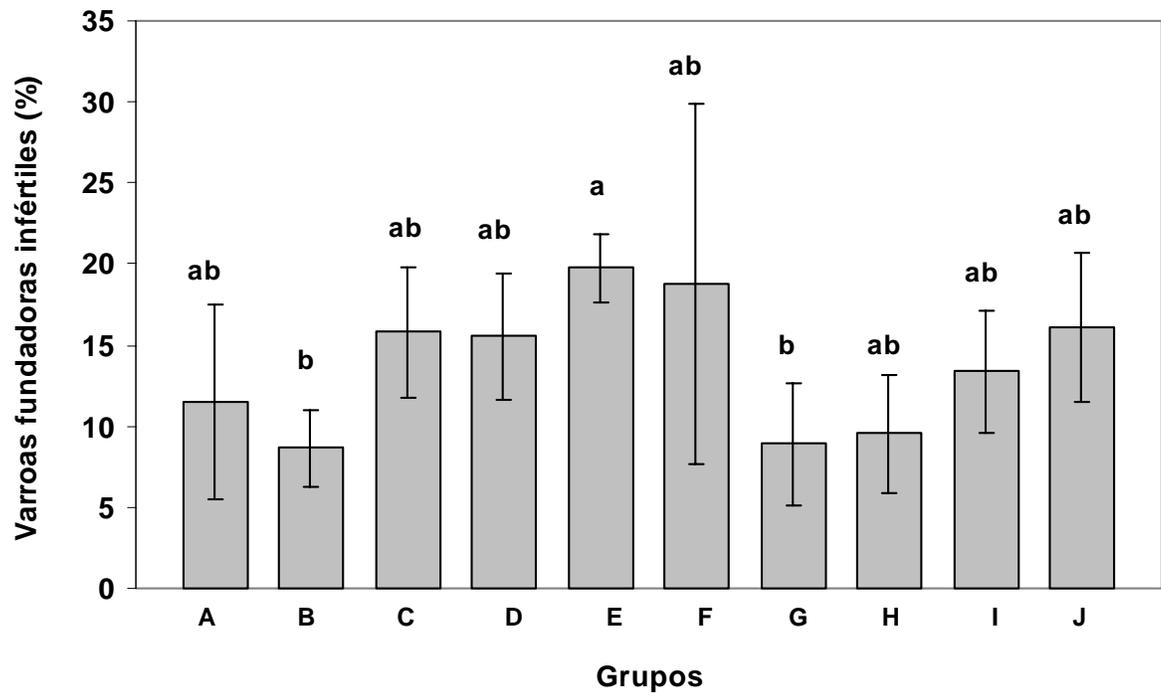


Figura 13. Porcentaje promedio de varroas fundadoras infértiles (\pm E.E.) en 10 grupos de familias diferentes.

Literales diferentes indican diferencias entre las medias de los grupos con base en análisis de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$). Estos análisis fueron realizados con datos transformados utilizando la función de Box y Cox. Los valores de la figura representan datos reales no transformados ($n = 57$ colonias)

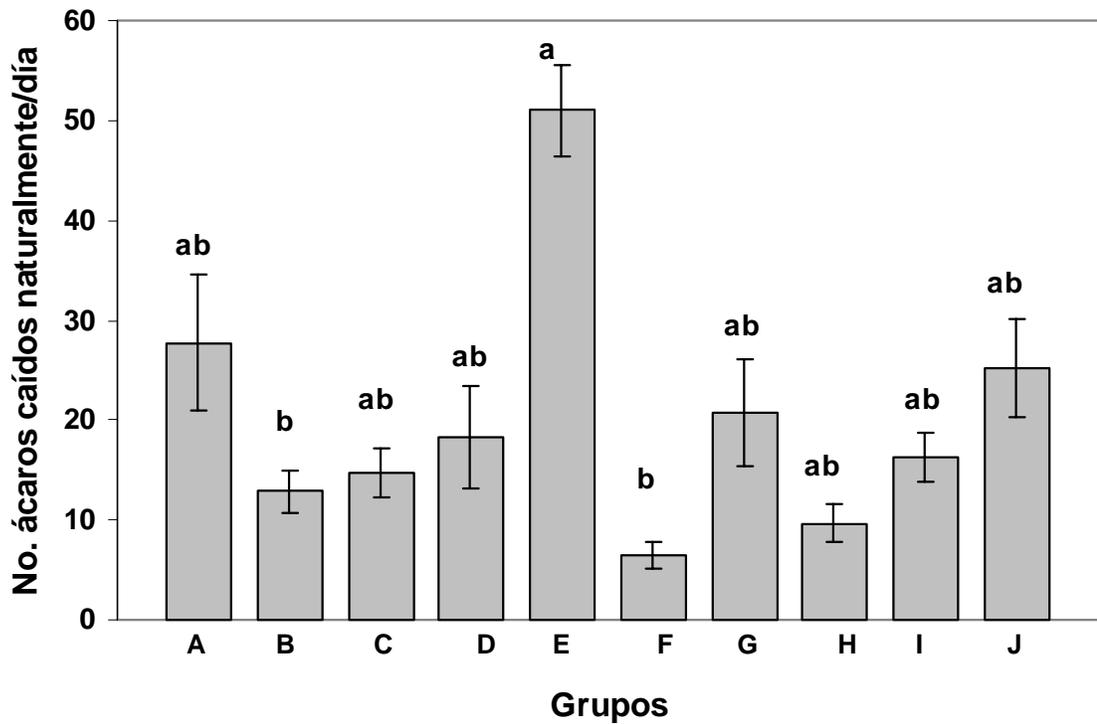


Figura 14. Número medio de ácaros caídos naturalmente/día (\pm E.E.) en 10 grupos de familias diferentes.

Literales diferentes indican diferencias entre las medias de los grupos con base en análisis de medias de Tukey ($P < 0.05$). Estos análisis fueron realizados con datos transformados utilizando la función de Box y Cox. Los valores de la figura representan datos reales no transformados ($n = 59$ colonias).

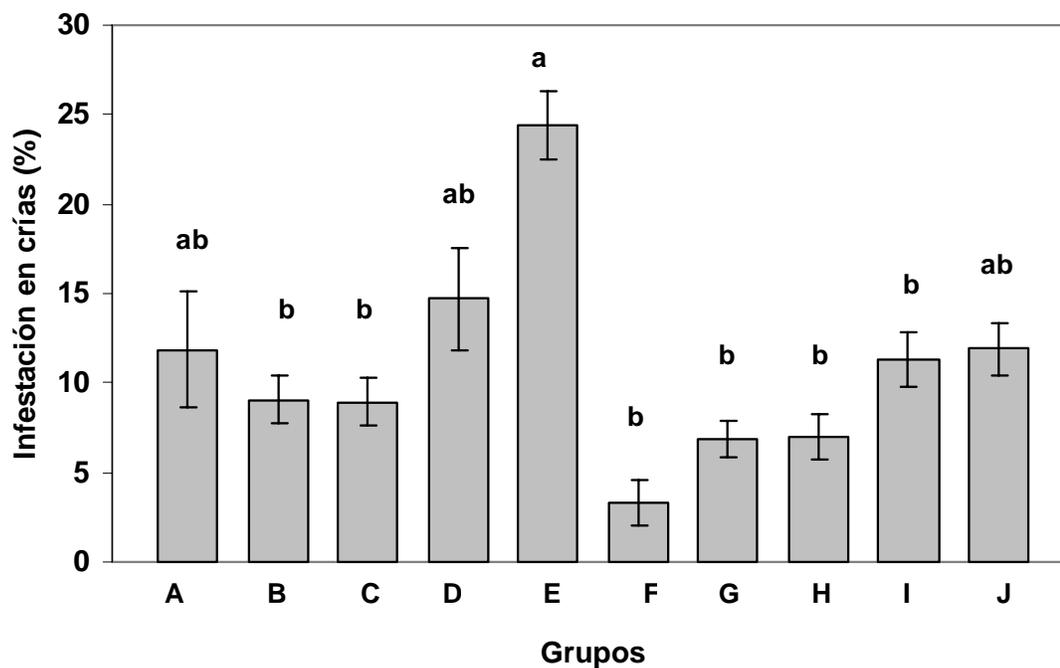


Figura 15. Porcentaje promedio de infestación en las crías de las abejas (\pm E.E.) en 10 grupos de familias diferentes.

Literales diferentes indican diferencias entre las medias de los grupos con base en análisis de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$). Estos análisis fueron realizados con datos transformados con el método de Box y Cox. Los valores de la figura representan datos reales no transformados ($n = 57$ colonias).

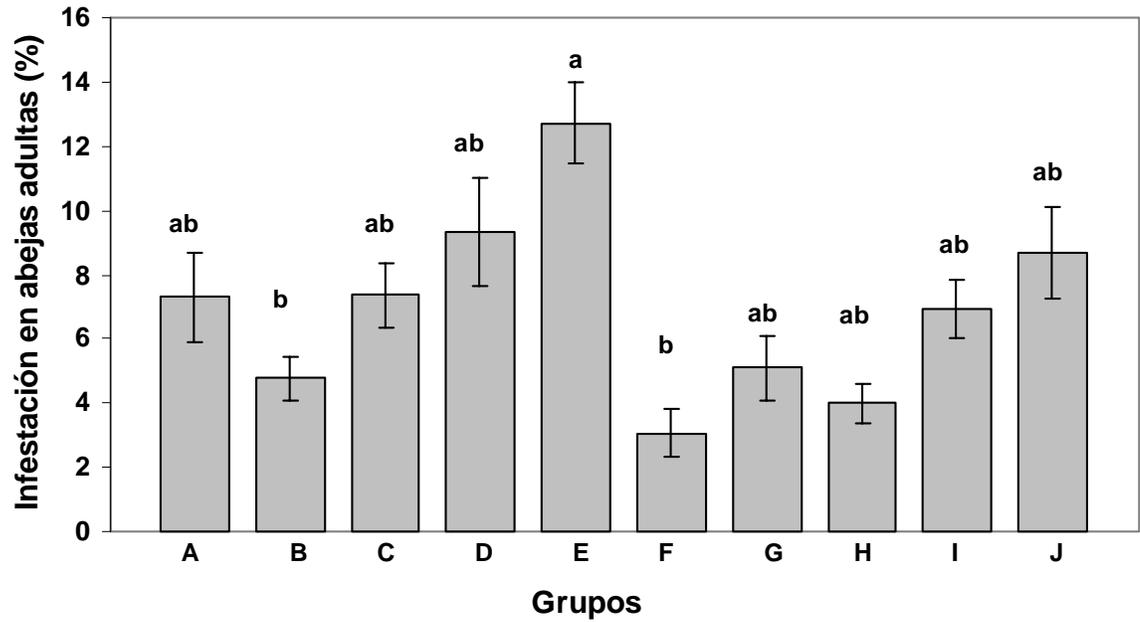


Figura 16. Niveles promedio de infestación en abejas adultas (\pm E.E.) en 10 grupos de familias diferentes.

Literales diferentes indican diferencias entre las medias de los grupos con base en análisis de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$). Estos análisis fueron realizados con datos transformados utilizando la función raíz cuadrada. Los valores de la figura representan datos reales no transformados ($n = 59$ colonias).

Anexo 1

NÚMERO INICIAL DE COLONIAS EVALUADAS POR FAMILIA (GRUPO GENÉTICO)

Familia	No. de colonias
A	5
B	7
C	5
D	5
E	17
F	4
G	4
H	3
I	5
J	5
Total	60

Anexo 2

IDENTIFICACIÓN (LETRA Y NÚMERO*) DE LAS OCHO COLONIAS PERTENECIENTES A 10 FAMILIAS DE ABEJAS MELÍFERAS QUE MANIFESTARON MAYOR EXPRESIÓN PARA CARACTERÍSTICAS QUE PODRÍAN CONFERIR RESISTENCIA CONTRA EL ÁCARO *V. destructor*

Características	CL	CR	P	TIRA	ALES	TRV	VFI	CNDA	IA	IC
Valores mínimos y máximos	94.5-99.5%	91.1-99.5%	98.5-100%	32-37.4 s	45.3-73.9%	0-0.33	24-56%	61.9-95.9	1-3%	0-4%
1	A1	J57	F40	J60	H50	J56	E24	E39	J56	J56
2	A4	A4	E36	B9	C14	F41	D22	E38	E28	F41
3	C14	B8	H49	I53	E33	A2	A4	E31	A3	A2
4	E27	D19	I53	E36	G47	G46	I54	A4	F43	F42
5	C13	C17	E38	J57	J56	E25	E36	E29	F42	A5
6	E36	C15	C15	C16	E28	D19	E30	E34	A5	F43
7	C15	C13	C14	B7	D21	B6	E33	E26	G47	C16
8	J57	B12	C13	G44	A2	B11	F43	E36	B11	B11

Comportamiento higiénico expresado con las pruebas: congelación lenta (CL), congelación rápida (CR), punción (P). Comportamiento de acicalamiento: tiempo de reacción a varroa (TIRA), porcentaje de ácaros lesionados (ALES). Características reproductivas de varroa: tasa de reproducción verdadera (TRV), porcentaje de varroas fundadoras infértiles (VFI). Características del desarrollo poblacional de varroa: caída natural diaria de ácaros (CNDA), porcentaje de infestación en abejas adultas (IA), porcentaje de infestación en crías (IC).

*Literales de las diferentes familias= A a J. Números correspondientes a las colonias= 1 a 60.

Anexo 3

IDENTIFICACIÓN (LETRA Y NÚMERO*) DE LAS OCHO COLONIAS PERTENECIENTES A 10 FAMILIAS DE ABEJAS MELÍFERAS QUE MANIFESTARON MENOR EXPRESIÓN PARA CARACTERÍSTICAS QUE PODRÍAN CONFERIR RESISTENCIA CONTRA EL ÁCARO *V. destructor*

Características	CL	CR	P	TIRA	ALES	TRV	VFI	CNDA	IA	IC
Valores mínimos y máximos	27.3-44.7%	23.2-40.4%	52.5-78.7%	66.2-98.4 s	3.3-17.6%	1.3-1.6	0-0%	2-6.2	12.4-27%	26-37.6%
1	F41	D22	F41	E23	F41	I51	J56	B7	E24	D22
2	D22	E28	E28	E37	D18	H50	F41	E33	J60	E39
3	B6	I54	G47	J58	B7	G45	A2	F43	E38	E26
4	F43	F41	E37	A2	I51	D18	F42	F42	E34	E38
5	I54	E29	E30	F41	H49	J59	F40	J56	E31	E35
6	J56	E26	G46	A1	A4	B12	C13	D19	D22	E31
7	E39	I52	I54	E31	B10	E24	B11	B12	E35	E36
8	I53	E30	E29	E28	B9	B10	B9	A2	E36	E34

Comportamiento higiénico expresado con las pruebas: congelación lenta (CL), congelación rápida (CR), punción (P). Comportamiento de acicalamiento: tiempo de reacción a varroa (TIRA), porcentaje de ácaros lesionados (ALES). Características reproductivas de varroa: tasa de reproducción verdadera (TRV), porcentaje de varroas fundadoras infértiles (VFI). Características del desarrollo poblacional de varroa: caída natural diaria de ácaros (CNDA), porcentaje de infestación en abejas adultas (IA), porcentaje de infestación en crías (IC).

*Literales de las diferentes familias= A a J. Números correspondientes a las colonias= 1 a 60.

CUADROS Y FIGURAS CAPÍTULO II

Cuadro 1

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EFECTOS DE TRATAMIENTO, APLICACIÓN E INTERACCIÓN (TRATAMIENTO-APLICACIÓN), DE DOS ACARICIDAS NATURALES USADOS PARA EL CONTROL DE *V. destructor* EN COLONIAS DE ABEJAS MELÍFERAS. LOS TRATAMIENTOS FUERON ÁCIDO FÓRMICO (65%), TIMOL A CONCENTRACIÓN SENCILLA (12.5 g), TIMOL A DOBLE CONCENTRACIÓN (25 g) Y COLONIAS TESTIGO (QUE NO RECIBIERON ACARICIDA)

<i>Fuente de variación</i>	<i>G.L.</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>Valor F</i>	<i>Probabilidad</i>
Tratamiento	3	1.746	0.582	17.604	< 0.01
Aplicación	1	1.380	1.380	41.733	< 0.01
Tratamiento x aplicación	3	0.987	0.329	9.947	< 0.01
Residual	60	1.984	0.033		

El análisis de varianza se realizó con datos porcentuales transformados mediante la función arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción.

Cuadro 2

NÚMERO PROMEDIO (\pm E.E.) DE ÁCAROS DE *V. destructor* RECOLECTADOS EN 34 COLONIAS DE ABEJAS MELÍFERAS DESPUÉS DE DOS APLICACIONES DE TRES TRATAMIENTOS NATURALES, UNO TESTIGO (SIN ACARICIDA) Y UNO DE FINALIZACION (FLUMETRINA)

	<i>Tratamientos</i>			
	<i>Ácido fórmico (65%)</i>	<i>Timol (12.5 g)</i>	<i>Timol (25 g)</i>	<i>Testigo</i>
1ª aplicación	643.4 \pm 152.1	446.9 \pm 98.9	510.9 \pm 116.4	160.4 \pm 67.6
2ª aplicación	407.3 \pm 81.9	238.1 \pm 69.7	124.7 \pm 35.5	230.2 \pm 124.1
Total (dos aplicaciones)	1050.8 \pm 209.9	685 \pm 120.75	635.6 \pm 142.1	390.7 \pm 188.9
Flumetrina	627.7 \pm 236.3	64.5 \pm 23.7	60.6 \pm 25.4	1174 \pm 297.4
Total (dos aplicaciones) + flumetrina	1678.4 \pm 311.4	749.5 \pm 138.1	696.2 \pm 137.6	1564.7 \pm 474.8

n= 9 colonias para los tratamientos con ácido fórmico y el testigo; n= 8 para cada uno de los tratamientos a base de timol.

Cuadro 3

COMPARACIÓN DE COSTOS ESTIMADOS (M.N.) PARA DIFERENTES TRATAMIENTOS CONTRA *V. destructor* APLICADOS A 34 COLONIAS DE ABEJAS MELÍFERAS EN VILLA GUERRERO, ESTADO DE MÉXICO

<i>Costos por colmena</i>				
<i>Tratamiento</i>	<i>Producto</i>	<i>Mano de obra</i>	<i>Transportación</i>	<i>Total</i>
Ácido fórmico (65%)	60.00	5.61	5.20	70.81
Timol (12.5 g)	32.45	2.81	2.50	37.76
Timol (25 g)	64.90	2.81	2.50	70.21
Flumetrina	57.50	1.40	1.25	60.15

Los costos fueron estimados considerando el valor comercial de los productos más los gastos de mano de obra y transportación para su aplicación. La sección de material y métodos describe como se estimaron estos gastos.

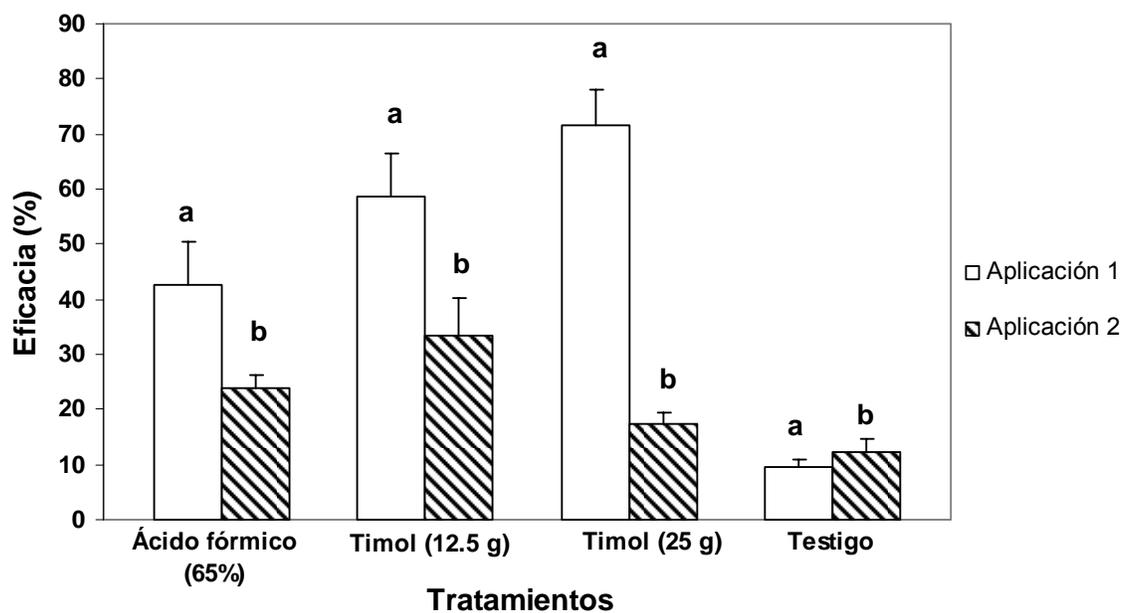


Figura 1. Eficacia promedio ($\% \pm \text{E.E.}$) de tres tratamientos y uno testigo (sin acaricida) contra *V. destructor* aplicados dos o más veces en colonias de abejas melíferas. La eficacia se determinó con respecto al acaricida flumetrina.

Literales diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.01$) basadas en un análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple de Tukey a partir de datos porcentuales transformados mediante la función arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción.