

REVISTA NICARAGUENSE DE ENTOMOLOGIA

N° 413

Julio 2026

Interacción entre *Apis mellifera* L. y *Varroa destructor* Anderson & Trueman en condiciones ambientales y de manejo zootécnico en Nicaragua

Christiane Düttmann



**PUBLICACIÓN DEL MUSEO ENTOMOLÓGICO
LEÓN - - - NICARAGUA**

La Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) es una publicación reconocida en la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (Red ALyC). Todos los artículos que en ella se publican son sometidos a un sistema de doble arbitraje por especialistas en el tema.

The Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) is a journal listed in the Latin-American Index of Scientific Journals. Two independent specialists referee all published papers.

Consejo Editorial

Jean Michel Maes
Editor General
Museo Entomológico
Nicaragua

Fernando Hernández-Baz
Editor Asociado
Universidad Veracruzana
México

José Clavijo Albertos
Universidad Central de
Venezuela

Silvia A. Mazzucconi
Universidad de Buenos Aires
Argentina

Weston Opitz
Kansas Wesleyan University
United States of America

Don Windsor
Smithsonian Tropical Research
Institute, Panama

Fernando Fernández
Universidad Nacional de
Colombia

Jack Schuster †
Universidad del Valle de
Guatemala

Julieta Ledezma
Museo de Historia Natural
“Noel Kempf”
Bolivia

**Olaf Hermann Hendrik
Mielke**
Universidade Federal do
Paraná, Brasil

URL DE LA REVISTA: <http://www.bio-nica.info/RevNicaEntomo/RevNicaEntomo.htm>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Sin Obra Derivada 4.0 Internacional

Foto de la portada: *Apis mellifera* (foto © Christiane Düttmann).

Interacción entre *Apis mellifera* L. y *Varroa destructor* Anderson & Trueman en condiciones ambientales y de manejo zootécnico en Nicaragua

Christiane Düttmann* 

DOI: 10.5281/zenodo.20387196

Recibido el 10 de mayo 2026

Documento basado ampliamente en la tesis del mismo nombre, presentada para grado científico de Doctora en Ciencias Veterinarias, en la Facultad de Medicina Veterinaria, Departamento de Prevencion, en la Universidad Agraria de La Habana “Fructoso Rodríguez Pérez”, San José de las Lajas, Mayabeque, 2024.

* Nicaragua christianeduettmann@gmail.com ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8214-5059>

RESUMEN

La apicultura contribuye de manera esencial a la producción de alimentos. Entre los polinizadores, la abeja melífera juega un papel fundamental en el mantenimiento de la diversidad biológica. El objetivo de esta tesis fue determinar los índices de infestación por *Varroa destructor* con base en las características de las abejas y del parásito y la influencia de las condiciones ambientales y de manejo en tres regiones de Nicaragua. Se trabajó en tres direcciones: la abeja, el ácaro y la relación entre ellos (varroosis), en las regiones Occidente, Centro y Norte, sin contrastes térmicos notables, pero esta última con temperaturas ligeramente inferiores. El estudio transversal comprendió 150 colmenas en 27 apiarios. La longitud del ala anterior se midió en 1460 abejas (10 abejas/colmena); se realizó la PCR (*Dral*) de 110 abejas y se secuenció ADNmt de 10 abejas. El comportamiento defensivo (CD) se evaluó en 150 colmenas, y el comportamiento higiénico (CH), por punción, en 70. Se determinó largo y ancho de 153 ácaros. Se realizó la PCR (*SacI*) a 24 pools de cinco ácaros y la secuenciación a dos pools de cinco especímenes. Como indicadores de varroosis se utilizaron la focalidad, la prevalencia y la tasa de infestación en abejas adultas (TIA) de 150 colmenas. Se aplicó una encuesta a los apicultores para obtener datos sobre las condiciones ambientales y características del manejo. Se obtuvieron evidencias morfológicas y moleculares de total africanización (mitotipos A1 y A4); se apreció diversidad del CD y por el cual se calificó como dócil más del 25 % de las colonias; las altamente higiénicas sobrepasaron el 50 % y colmenas con TIA ≤ 1 % un 30 %, aunque al parecer, hubo efecto reductor del tratamiento con ácido oxálico. La encuesta mostró insuficiente renovación de reinas y panales, con bajo crecimiento vertical y ausencia de enfermedad clínica. Los ácaros se clasificaron en cuatro morfotipos, sin diferencias significativas en las zonas geográficas y se identificó únicamente el haplotipo coreano. Se concluye que, de la interacción abejas africanizadas - *V. destructor* haplotipo K - condiciones ambientales y de manejo, resultan colmenas localmente adaptadas, pero con baja productividad media. Existen sólidas bases para el mejoramiento productivo y genético en rasgos como bajas TIA y CD, y elevado CH, comprendidas más capacitación y mejores prácticas de manejo.

Palabras clave: africanización, haplotipo, mitotipo, salud apícola, varroosis.

ABSTRACT

Interaction between *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* Anderson & Trueman in environmental conditions and zootechnical management in Nicaragua.

Beekeeping contributes essential to food production. Among pollinators, the honey bee plays a fundamental role in maintaining biological diversity. The aim of this thesis was to determine the infestation rates of *Varroa destructor* based on the characteristics of the bees and the parasite, and the influence of environmental and management conditions, in three regions of Nicaragua. The study was carried out in three directions: the bee, the mite and the relationships between them (varroosis), in the Western, Central and Northern regions, without notable thermal contrasts, but the latter with temperatures slightly lower. The cross-sectional study comprised 150 hives in 27 apiaries, as follows. Forewing length was measured in 1460 bees (10 bees/hive); PCR (*Dral*) was applied to 110 bees and mtDNA sequenced from 10 bees. Defensive behavior (DB) was determined in 150 hives, and hygienic behavior (HB), by puncture, in 70. Length and width of 153 mites were determined, PCR (*SacI*) of 24 pools with five mites each, and further sequencing of two selected pools. Quantitative indicators of varroosis were focality, prevalence and the infestation rate in adult bees (IR) of 150 hives. A survey was conducted among beekeepers to obtain data about environmental conditions and management characteristics. Morphological and molecular evidence of full Africanization (mitotypes A1 and A4) was obtained; diversity of DB was observed, with more than 25 % of colonies classified as docile; 50 % with high hygienic level and 30 % of those hives had $IR \leq 1$ %, though apparently, the application of the oxalic acid treatment showed a reducing effect. The survey revealed insufficient renewal of queens and combs, low vertical growth and absence of clinical diseases. The mites were classified into four morphotypes, without significant differences in geographical areas and only the Korean haplotype was identified. It is concluded that through the interaction of Africanized bees - *V. destructor* haplotype K - environmental and management conditions, hives are locally adapted, but with low average productivity. With training for better management practices and the presence of traits such as low IR, gentleness and good HB, there is a solid foundation for productive and genetic improvement in beekeeping in Nicaragua.

Key words: Africanization, bee health, haplotype, mitotype, varroosis

SYNTHESE

Interaktion *Apis mellifera* L. - *Varroa destructor* Anderson & Trueman - Umweltbedingungen und zootechnisches Management in Nicaragua.

Ziel dieser Doktorarbeit war es, die Befallsraten von *Varroa destructor* in drei Regionen Nicaraguas zu bestimmen unter Einbeziehung der Merkmale der Bienen, der Milben, deren Beziehungen (Varroose) und möglichem Einfluss von Umweltfaktoren und Management. Die Querschnittsstudie umfasste 150 Bienenstöcke in 27 Bienenständen mit einer Datenerhebung wie folgt. Die Vorderflügelänge wurde bei 1460 Bienen (10 Bienen/Stock) gemessen; PCR (*Dral*) wurde bei 110 Bienen angewendet und mtDNA von 10 Bienen sequenziert. Abwehrverhalten (AV) wurde in 150 Bienenstöcken und Hygieneverhalten (HV) durch Punktion in 70 bestimmt. Länge und Breite von 153 Milben wurden gemessen, PCR Analyse (*SacI*) von 24 Pools je 5 Milben und Sequenzierung von zwei Pools. Quantitative Indikatoren der Varroose waren Fokalität, Prävalenz und Befallsrate bei erwachsenen Bienen (BR) von 150 Bienenstöcken. Zur Datenerhebung wurde bei den Imker:nnen eine Umfrage durchgeführt mit Schwerpunkt auf Umweltfaktoren und Bienenstockmanagement. Die Ergebnisse: Morphologische und molekulare Nachweise für eine vollständige Afrikanisierung (Mitotypen A1 und A4); eine Vielfalt des AV wurde beobachtet, wobei mehr als 25 % der Kolonien als sanftmütig eingestuft wurden; über 50 % der Stöcke zeigten ein extrem gutes HV, wobei 30 % dieser Stöcke eine BR ≤ 1 % hatten, allerdings zeigte zudem die Anwendung der Behandlung mit Oxalsäure eine reduzierende Wirkung. Weitere Untersuchungsergebnisse liessen eine unzureichende Wabenerneuerung im Brutraum erkennen, als auch fehlendes Umweisel, geringes vertikales Wachstum und aber auch keine klinischen Krankheiten. Die Milben wurden in vier Morphotypen eingeteilt, ohne signifikante Unterschiede in den Regionen, und nur der koreanische Haplotyp wurde identifiziert. Die Bienenstöcke sind lokal angepasst durch die Interaktion von afrikanisierten Bienen - *V. destructor* Haplotyp K - Umwelt- und Managementbedingungen, aber mit geringer durchschnittlicher Produktivität. Schulungen und bessere Managementpraktiken in Kombination mit Merkmalen wie niedrige BR, Sanftmütigkeit und gutem HV bieten eine solide Grundlage für eine produktive und genetische Verbesserung der Imkerei in Nicaragua.

Schlüsselwörter: Afrikanisierung, Bienengesundheit, Haplotyp, Mitotyp, Varroose

INTRODUCCIÓN

Entre los factores que influyen negativamente sobre la apicultura con la especie *Apis mellifera* L. están las variaciones meteorológicas asociadas o no al cambio climático con alteraciones en la floración, el uso de agroquímicos con impacto directo e indirecto y la fragmentación de los hábitats por actividades humanas como la conversión de terrenos para la producción agrícola y diversas construcciones (Leclercq et al., 2018b). En paralelo, diversos agentes biológicos patógenos se mantienen como amenazas, si no para la supervivencia, sí para su desarrollo normal. La OMSA (2023a) registra en su lista de declaración obligatoria seis entidades, entre las cuales se destaca por su impacto la varroosis ocasionada por el ácaro *Varroa destructor* Anderson & Trueman.

La varroosis es una ectoparasitosis de las abejas melíferas causada por ácaros del género *Varroa*, principalmente *V. destructor* en *A. mellifera*. La enfermedad, considerada la peor entidad que afecta a la especie, tiene distribución mundial y provoca daños económicos y ecológicos, que conllevan pérdidas en la producción y reproducción apícola (Roth et al., 2020). Los efectos indirectos se manifiestan en la agricultura y la flora silvestre por reducción en la polinización (Khalifa et al., 2021).

Los efectos patógenos del ácaro se ejercen sobre todas las abejas adultas y en la cría operculada donde se reproduce. Resulta significativo el hecho que, además de la hemolinfa, el ácaro se alimenta del cuerpo graso en cría operculada y abejas adultas (acción expoliatriz) (Ramsey et al., 2019). Las posibles consecuencias se reflejan generalmente en un debilitamiento físico e inmunológico de las abejas adultas que limita la eficiencia para realizar las acciones necesarias al desarrollo de la colonia. Específicamente, se ha observado la disminución del peso corporal y malformaciones en las abejas recién nacidas que fueron parasitadas en la fase de pupa. También, se observa una mayor tasa de infección (TIA) por el Virus de las alas deformes capaz de conducir a brotes epidémicos (Marche et al., 2019; Ramsey et al., 2019; Yáñez et al., 2020). Además, la reproducción se ve alterada por un déficit en la producción espermática de los zánganos y por la cría extraída como resultado del comportamiento higiénico (CH) de las obreras. El parásito tiene la capacidad de alterar los procesos neuronales de las abejas (Larsen et al., 2019; Noël et al., 2020).

El ectoparásito realiza una actividad traumática con sus quelíceros en el exoesqueleto de la abeja; durante el proceso inyecta sus secreciones salivares de acción tóxica y vehiculizadoras de agentes biológicos patógenos, principalmente el Virus de las alas deformes (DWV) (Wilfert et al., 2016; Ramsey et al., 2019). Poco estudiado es el efecto mecánico de los parásitos en movimiento ejerciendo una intensa acción irritativa que desencadena una agotadora respuesta de acicalamiento (Morfin et al., 2020).

Los niveles de infestación por *Varroa* y el grado de las consecuencias dependen de varios factores como el origen genético de las abejas infestadas y su desempeño defensivo contra las enfermedades (Techer et al., 2019; Guichard et al., 2020; van Alphen & Fernhout, 2020), el haplotipo del ácaro (Pinto et al., 2022), las condiciones ambientales (Hristov et al., 2020), la transmisión de enfermedades virales (Beaurepaire et al., 2020) y las fallas técnicas en el manejo de las colmenas, que aumentan el éxito reproductivo del parásito (Noël et al., 2020). En apiarios de los EEUU y Europa, está en discusión si la parasitación por *V. destructor* aumenta el riesgo de que se desarrolle el síndrome del colapso de las colonias (Evans & Chen, 2021).

Un declive de las poblaciones de abejas melíferas podría representar un riesgo global para los ecosistemas. La apicultura proporciona una importante contribución ecológica y económica a la agricultura y la flora silvestre. Sin los servicios de polinización proporcionados por *A. mellifera*, 5-8 % de la producción agrícola mundial se perdería (Khalifa et al., 2021); otros autores señalaron un potencial impacto mayor (Sosenski & Domínguez, 2018; Popovska Stojanov et al., 2021). En los hábitats naturales, *A. mellifera* visita alrededor del 13 % de la flora investigada (rango 0-85 %) y el 5 % de las especies de plantas registradas son exclusivamente visitada por esta abeja. Sin embargo, en el 33 % de los registros estudiados, correspondientes al 49 % de las especies de plantas, no se observó la visita de *A. mellifera*. Las visitas fueron más frecuentes en climas más cálidos y estables, y en áreas continentales más que en insulares, pero no difirieron entre abejas nativas e introducidas (Hung et al., 2018).

Según otros autores, a nivel mundial, 87 de los principales cultivos alimentarios dependen de la polinización animal, que se refleja en el 35 % del volumen de producción mundial de alimentos (van der Sluijs, 2020). El valor económico anual generado por el servicio de polinización por parte de los insectos para la producción agrícola se estima entre 200 y 400 mil millones de USD (University of Göttingen, 2021). Las abejas se encuentran entre los principales polinizadores y en particular en la producción agrícola, el servicio de polinización de *A. mellifera* demuestra una alta eficiencia en la propagación masiva de cultivos (Rader et al., 2020).

Según la experiencia internacional, lideran el reducidísimo grupo de polinizadores que, manejados a voluntad del productor, se pueden colocar en el momento, la cantidad, el lugar, la distancia y durante el tiempo requeridos por el cultivo. Por otro lado, si se considera un factor tan obvio como el número de individuos polinizadores y la cantidad de polen que requieren sus colonias, *A. mellifera* supera con holgura a todos los demás (Poveda Hernández, 2020).

El cálculo de la contribución específica de *A. mellifera* depende de la zona geo-climática, de los sistemas de la producción agrícola y del uso de la apicultura como sistema de polinización. Regiones como Estados Unidos, Europa y China dependen de un manejo intensivo de polinizadores para producir cultivos de alto valor económico, mientras países como la India, dependen principalmente de la actividad polinífera de otros insectos silvestres y/o polinizadores de otros filo de animales (Das et al., 2018; Kumawat, 2021). Aún queda una tercera categoría que comprende a gran parte de los llamados "en vías de desarrollo", donde ni siquiera existe conciencia de su valor (Alebachew, 2018).

Según el Observatorio de la Complejidad Económica (OEC) los países centroamericanos que exportan la mayor cantidad de miel son Guatemala, El Salvador y Nicaragua medido por los ingresos en dólares. Aunque en 2021 Guatemala generó 1.52 M \$ más que Nicaragua con la miel exportada, el porcentaje de los ingresos por miel en Nicaragua es mayor que en Guatemala 0.041 % versus 0.031 %. En comparación con Cuba, la miel en Nicaragua aporta el 0.041 % de todas las exportaciones y el 0.16 % de los productos de origen animal exportados, mientras en Cuba la miel juega un papel considerable del rubro productos animales con 20.6 % y el 1.79 % de las exportaciones en total (OEC, 2023).

Las abejas del género *Apis* no son nativas del continente americano, sino que llegaron con los colonizadores a partir del siglo XVI desde Europa (Requier, 2019). La introducción de *A. mellifera* en las Américas es un ejemplo de una especie exótica invasora que afectó a especies nativas. Los apiarios con abejas melíferas sustituyeron masivamente la apicultura tradicional con abejas sin aguijón (González et al., 2018). En adición, grandes poblaciones silvestres de *A. mellifera* se convirtieron en competidoras por espacios y recursos alimenticios de especies nativas (Cunningham et al., 2022).

Si la introducción de la abeja melífera en las Américas desde Europa fue una invasión biológica exitosa, el posterior traslado de subespecies africanas a Brasil se convirtió en un evento de impacto no solo biológico, sino social, hasta nuestros días, a causa de la elevada defensividad y los consiguientes numerosos incidentes que en ocasiones se saldaron con pérdidas de vidas.

El resultado del cruce de *A. mellifera scutellata* con diversas subespecies europeas fue una nueva subespecie, la abeja africanizada, que se propagó por todo el continente. En Nicaragua, la abeja con comportamiento africanizado fue primeramente registrada en 1984 (Swezey, 1986; Guzmán-Novoa et al., 2020; Zárte et al., 2022).

El hábitat nativo del parásito clasificado por Oudemans (1904a) con el nombre *V. jacobsoni*, se limitaba al Sudeste de Asia en colonias de la abeja melífera asiática *A. cerana* Fabricius. Durante el proceso coevolutivo, el hospedero natural desarrolló varios mecanismos de defensa que afectan la reproducción del ácaro e inhiben el aumento de la infestación, una acción destacada es el sacrificio de crías de zánganos infestadas con múltiples ácaros. Además, se ha observado infertilidad de las hembras *Varroa*, con altos niveles de no reproducción en las celdas de la cría de obreras. Mientras, la capacidad de adaptación de los ácaros es su gran fortaleza para seguir parasitando y ampliando el rango de hospederos, con excelentes habilidades quimiosensoriales y mimetismo químico para eludir al hospedero. Además, se ha observado un rápido desarrollo de resistencia a los acaricidas (Traynor et al., 2020; Moro et al., 2021).

Cuatro especies de *Varroa* parasitan a la abeja melífera: *V. destructor*, *V. jacobsoni*, *V. rindereri* De Guzman & Delfinado-Baker *V. underwoodi* Delfinado-Baker & Aggarwal, de las cuales *V. destructor* parasita a las colonias de *A. mellifera* y afecta a obreras, reinas y zánganos. La propagación fue posible por el comercio mundial de abejas partir de los años 1950 en Asia; desde Japón a Sudamérica (1971) y vía Rusia a Europa y al continente americano (Traynor et al., 2020; Moro et al., 2021).

La varroosis manifiesta una amplia escala en la dinámica de infestación y en el daño que ocasiona a las colonias. Como un factor primordial de esto se considera la diversidad genética del ácaro, con 18 haplotipos mitocondriales identificados. De ellos, solo dos se han encontrado parasitando en colonias de *A. mellifera*: el K1 (coreano), altamente virulento y de amplia distribución en el Mundo, y el J1 (japonés/tailandés), menos agresivo y de distribución más limitada (Li et al., 2019; Pinto et al., 2022). En Nicaragua, la presencia del ácaro *V. destructor* fue registrada por primera vez en 1996 (OIE, 1996) y numerosos nichos permanecen sin estudiar.

Diversos estudios espaciotemporales han evidenciado una influencia significativa de las condiciones ambientales sobre los índices de infestación del parásito.

Ha resultado que, de manera general, los niveles de infestación varían entre regiones climáticas de un mismo país (Galindo-Cardona et al., 2020) y que la agricultura intensiva y de monocultivo en grandes extensiones influye negativamente en los recursos alimentarios de las colonias y conduce al incremento de la infestación por desnutrición (Balvino-Olvera et al., 2023). También se encontró un efecto manifiesto de las variables ambientales sobre la dinámica poblacional del parásito, reflejado en las diferencias en la prevalencia de la enfermedad (Le Conte et al., 2020).

En su hábitat de origen, el Sudeste de Asia, la evolución del hospedero y del parásito fue estrechamente entrelazada, de manera que, durante ciclos de coevolución alcanzó un punto de equilibrio (Buckingham & Ashby, 2022). El rango geográfico del ácaro fue restringido a la abeja asiática *A. cerana*, pero con la introducción de *A. mellifera* a su hábitat y sobre todo a través del consiguiente traslado de colonias y reinas infestadas se desencadenó su propagación mundial (Lin et al., 2021). La dispersión geográfica es un factor importante que afecta la ecología evolutiva de las interacciones hospedero-parásito con consecuencias significativas para la evolución de la virulencia del parásito (Best & Ashby, 2023), además la interacción hospedero-parásito se desarrolló en favor de la expansión de la varroosis, a causa de la mayor susceptibilidad del nuevo hospedero. Sin embargo, determinadas subespecies de *A. mellifera* han demostrado resistencia/tolerancia al parásito (Le Conte et al., 2020). Aunque se considera que en zonas tropicales la inestabilidad y/o pérdida de recursos florales tiene mayor importancia en el declive de la producción de miel que la infestación por *V. destructor*, es necesario de controlar la presencia del ácaro y los posibles daños en la población de las abejas. Los factores que inciden en la presentación y severidad de la varroosis se representan en la triada ecológica, un modelo que describe la interacción entre la especie hospedera y el patógeno, dentro de un ambiente específico, mediado por la acción del ser humano (Requier & Leonhardt, 2020). En el presente estudio, en los vértices de la triada epidemiológica están las colonias de *A. mellifera*, el ácaro *V. destructor* y las condiciones ambientales en las tres zonas geo-climáticas, en tanto la acción humana se ejerce a través del manejo de los apicultores. Para aproximarse a la determinación de las interacciones entre los factores participantes y recomendar las acciones factibles para mejorar el desempeño futuro de la actividad apícola, se deberán esclarecer las deficiencias cognitivas que se identificarán en el problema científico.

El limitante es el insuficiente conocimiento acerca de la tríada interactiva abeja melífera - ácaro *Varroa destructor* - zonas geo-climáticas mediadas por el manejo de las colmenas en Nicaragua como base de un futuro programa de mejoramiento genético para lograr una mayor productividad.

La hipótesis planteada es que la interacción de los factores de la tríada epidemiológica, en un contexto de amplia africanización, junto a la probable diversidad conductual, ambiental y de manejo, deben propiciar una situación sanitaria favorable reflejada en bajos índices de infestación por *Varroa destructor*.

El objetivo general del trabajo es caracterizar la tríada epidemiológica de la varroosis y el impacto de su interacción sobre los índices de infestación bajo el accionar de los apicultores en tres regiones de Nicaragua.

Algunos objetivos específicos fueron determinar el grado de africanización del hospedero (*Apis mellifera*); Identificar los morfotipos y haplotipos del ácaro parásito *Varroa destructor* presente y relacionar los índices de infestación de *Varroa destructor* con los factores de la triada epidemiológica y el manejo.

Los principales resultados obtenidos fueron la evidencia por primera vez en Nicaragua de la africanización en colonias de *A. mellifera* a través de estudios morfométricos y moleculares. Se desconocían los linajes y mitotipos de *A. mellifera* presentes. En adición, se realizó por primera vez la secuenciación del ADNmt. Se realizaron primeramente evaluaciones de comportamientos defensivo e higiénico, como parte de la caracterización de las abejas. La investigación es la primera caracterización del haplotipo del ácaro parásito *V. destructor* presente en Nicaragua y su morfometría (largo y ancho). Por primera vez se relaciona el estatus racial de las abejas y el haplotipo del parásito, en diferentes zonas del país con variaciones geo-climáticas y bajo la influencia del manejo por los apicultores.

De manera práctica, los resultados obtenidos son importantes para el incremento productivo apícola en el país, se brinda la base para un Programa de Manejo Integrado (PMI). También permiten estructurar un programa de mejoramiento genético que seleccione y multiplique las colmenas más productivas, dóciles e higiénicas.

TAXONOMIA DE *APIS MELLIFERA*

El origen evolutivo del gran grupo de las abejas y de las avispas es común. La familia Apidae incluye las abejas (solitarias y eusociales), los abejorros y las abejas parasitarias. La subfamilia Apinae agrupa todas las abejas sociales en 19 tribus. Finalmente, las abejas melíferas pertenecen a la tribu Apini, que solamente presenta un género, *Apis* y entre sus varias especies, *A. mellifera* L., la llamada “abeja Occidental”, la única presente en las Américas (Guzmán-Novoa et al., 2020).

El género *Apis* comprende, según el sistema de clasificación, entre cuatro y 10 especies (Engel, 2005; Ruttner, 2013; Dogantzis et al., 2021). Todas las especies menos una, *A. mellifera*, tienen su origen y distribución en el hemisferio oriental. No obstante, es precisamente *A. mellifera* la de mayor cantidad de subespecies, además, con distribución mundial, en gran parte inducida por el ser humano. Antes de establecer una clasificación filogenética, la identificación de las especies de *Apis* se había basado en caracteres morfológicos (Alpatov, 1929; Goetze, 1964; Dupraw, 1965; Ruttner et al., 1978). Asimismo, la diferente forma de anidar distingue a las abejas melíferas en dos grupos: 1. anidación en cavidades y 2. anidación abierta (Koeniger, 1975; Ruttner, 2013). Según estas características, hay investigadores que solamente reconocen cuatro especies verdaderas del género *Apis* que tienen sus colonias en cavidades: *A. mellifera* y *A. cerana*; además *A. koschevnikovi* Buttel-Reepen y *A. nigrocincta* Smith con una extensión geográfica más limitada. No obstante, se describe *Apis nuluensis* Tingek, Koeniger & Koeniger como especie propia por sus características de elaborar los panales en cavidades (Dogantzis et al., 2021). Las otras cinco especies de las abejas melíferas pertenecen a los subgéneros descritos por Ashmead (1904): *Micrapis* con las especies *Apis florea* Fabricius y *Apis andreniformis* Smith; y *Megapis*, que comprende a las especies *Apis dorsata* Fabricius, *Apis laboriosa* Smith y *Apis binghami* Cockerell, aunque *A. laboriosa* y *A. binghami* fueron clasificadas como subespecies de *A. dorsata* por Engel (1999). En la figura 1 se muestra la lista de las subespecies de *A. mellifera* publicada por Ruttner (2013) quien clasifica 24 subespecies en 1988 y la de Ilyasov et al. (2020) que contempla 33.

Zona		Ruttner 1988	Autor, año	Ilyasov 2020	Zona
I. Cercano oriente		A. m. anatoliaca	Maa, 1953	A. m. anatoliaca	Asia Occidental, Medio Oriente
		A. m. adami	Ruttner, 1975		
		A. m. cypria	Pollmann, 1879		
		A. m. syriaca	Buttel-Reepen, 1906 Skorikov, 1929b	A. m. syriaca	
		A. m. meda	Skorikov, 1929 a	A. m. meda	
		A. m. caucasica	Gorbachev, 1916 Pollmann, 1889	A. m. caucasica	
		A. m. armeniaca	Skorikov, 1929 Gerstäcker, 1862	A. m. remipes	
			Sheppard and Meixner, 2003	A. m. pomonella	
			Sheppard, Arias, Grech & Meixner, 1997	A. m. ruttneri	
			Chen, Liu, Pan, Chen, Wang, Guo, Liu, Lu, Tian, Li & Shi, 2019	A. m. sinixinyuan	
		Linneus, 1758	A. m. mellifera*		
II. África tropical		A. m. lamarckii	Cockerell, 1906	A. m. lamarckii	África
		A. m. yemenitica	Ruttner, 1975/76	A. m. yemenitica	
		A. m. litorea	Smith, 1961	A. m. litorea	
		A. m. scutellata	Lepeletier, 1836	A. m. scutellata	
		A. m. adansonii	Latreille, 1804	A. m. adansonii	
		A. m. monticola	Smith, 1961	A. m. monticola	
		A. m. capensis	Escholtz, 1821/22	A. m. capensis	
		A. m. unicolor	Latreille, 1804	A. m. unicolor	
III. Mediterraneo	África del Norte	A. m. sahariensis	Baldensperger, 1924/32	A. m. sahariensis	Europa
		A. m. intermissa	Buttel-Reepen, 1906 Maa, 1953	A. m. intermissa	
			Meixner, Leta, Koeniger & Fuchs, 2011	A. m. simensis	
	Medi.occidental y Europa del Norte	A. m. iberica	Goetze, 1964 Engel, 1999	A. m. iberiensis	
		A. m. mellifera	Linnaeus, 1758		
	Mediterráneo Central y Europa del Sureste	A. m. sicula	Montagano, 1911 Dalla Torre, 1896	A. m. siciliana	
		A. m. ligustica	Spinola, 1806	A. m. ligustica	
		A. m. cecropia	Kiesenwetter, 1860	A. m. cecropia	
		A. m. macedonica	Ruttner, 1987/88	A. m. macedonica	
		A. m. carnica	Pollmann, 1879	A. m. carnica	
			Ruttner, 1975	A. m. adami	
			Engel, 1999	A. m. artemisia	
		Foti, 1965	A. m. carpatica		
		Pollmann, 1879	A. m. cypria		
		Petrov, 1991	A. m. rodopica		
	Engel , 1999	A. m. sossimai			
	Alpatov, 1935	A. m. taurica			

Figura 1: Clasificación de subespecies *A. mellifera* (Ruttner 1988 e Ilyasov 2020). Elaboración propia; los colores amarillo y celeste indican la distinta taxonomía/año de una misma especie clasificada por Ruttner (1988) e Ilyasov (2020). Nota: en el artículo “A revision of subspecies structure of western honey bee *Apis mellifera*” (Ilyasov et al., 2020), *A. m. mellifera* fue erróneamente incluido en el grupo Asia Occidental y Medio Oriente, así como *A. m. adami* en el grupo de Europa. En la presente tabla, la posición fue corregida después de una comunicación personal con Rustem Ilyasov, autor correspondiente del artículo citado.

ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DE *APIS MELLIFERA*

Principalmente *A. mellifera* está afectada por la varroosis; tanto hospedero como parásito muestran una variedad de caracteres morfométricos y genéticos. La historia filogenética de la abeja melífera occidental demuestra que no era nativa en las Américas y su historia evolutiva está marcada por expansiones en diversas regiones, con probable origen entre el Medio Oriente y África Nororiental (Cridland et al., 2017). Numerosos estudios han contribuido a la recolección de datos morfométricos (Daly et al., 1982; Rinderer et al., 1993; Ruttner, 2013; Silva et al., 2015; Rebelo et al., 2021) y genéticos (Garnery et al., 1992; Zayed & Whitfield, 2008; Han et al., 2012; Tihelka et al., 2020) para explicar la historia evolutiva y el origen geográfico. Hasta la fecha la población de *A. mellifera* en Europa, África y Medio Oriente, comprende cinco linajes evolutivos (Toth & Zayed, 2021) y entre 24 y 33 subespecies según autor (Ruttner, 2013; Ilyasov et al., 2020; Tihelka et al., 2020).

Las actividades humanas, especialmente las migraciones y el comercio internacional, han contribuido a la expansión de la especie *A. mellifera* por todos los continentes, excepto las zonas árticas, y han favorecido el intercambio genético, con la aparición de nuevos ecotipos (adaptación al medio ambiente) e incluso nuevos híbridos (cruce de diferentes subespecies) (Tihelka et al., 2020). Este ganado fue trasladado, tanto con fines productivos de los propios migrantes como para abrir nuevos mercados a los productos apícolas (Leclercq et al., 2018b).

Por su trascendencia para la comprensión de la presencia de determinados linajes y mitotipos en la región y en cada país, se debe recordar que la primera llegada de *A. mellifera* a Norteamérica procedió de Inglaterra, su metrópoli, en 1617 (Crane, 1999); allí muchas se asilvestraron y multiplicaron por enjambrazón (Carpenter & Harpur, 2021). Por otra parte, existe poca documentación sobre la llegada de la abeja melífera a la región de la actual América Latina, pero fidedigna o no, las primeras misiones Jesuitas en el Norte de México las introdujeron en el siglo XVI (Arriaga-Jiménez & González-Vanegas, 2019), además del arribo de una colonia desde un barco a Veracruz en 1660 (Jaime Lorén, 2007).

Las abejas españolas no llegaron antes de 1839 a América del Sur (Crane, 1999; Bierzychudek, 2011), pero después de su introducción y posterior propagación a través del comercio y la enjambrazón, comenzó la apicultura comercial.

En algunas zonas de Brasil se argumentaba que, factores climáticos hacían imposible alcanzar la productividad de miel de los países de origen, lo que propició la aprobación en 1954-55 de un proyecto para iniciar un programa de mejoramiento genético mediante la importación de reinas desde el Sur de África, en su mayoría *A. mellifera scutellata* Lepeletier. Si bien los responsables del proyecto (Kerr, 1967) y sus colaboradores han resaltado los beneficios productivos, el proceso de hibridación-sustitución transcurrió fuera de su control y hoy día está africanizada en diversos grados una proporción variable de las colmenas manejadas y silvestres, hasta los estados del Sur de EE.UU. (Calfee et al., 2020; Guzmán-Novoa et al., 2020). En resumen, al considerar las primeras introducciones desde Europa debieron ser de *A. mellifera* (Linaje M) por los británicos, desde allí a Cuba y luego a México, y en el siglo XX, *A. mellifera ligustica* y *A. mellifera carnica* (ambas del Linaje C); se mantiene la incógnita acerca de las circunstancias en que pudo haber arribado *A. mellifera iberiensis*, pero en todo caso, debió ser traída por españoles y portugueses a sus colonias de América.

En Nicaragua, el proceso de africanización comenzó hace casi cuatro décadas; según comunicaciones personales con Montalván, 2013, Apicultor; Técnico del anterior Centro Nacional Apicultura Km 43 Carretera a Masatepe 250 varas al sur, San Marcos, Nicaragua y Maes, 2015, del Museo Entomólogo de León, al reportarse enjambres de esta abeja en abril 1984. En 1985, enjambres con características africanas fueron identificados en las ciudades de León, Larreynaga y El Sauce, departamento León. En junio de 1986, en La Paz Centro (León), se observó por primera vez el comportamiento africano en colmenas comerciales para la polinización de cultivos de melón, confirmado por pruebas morfométricas y del comportamiento. La propagación en Nicaragua se estimó a una velocidad promedio de 50 km/mes (Swezey, 1986). La abundante flora del país y una apicultura mayoritariamente rústica, con poca intervención de los apicultores, ayudó a que las abejas melíferas con características africanas se reprodujeran con rapidez, en especial, cuando colonias de abejas silvestres capturadas se incorporaban a un colmenar manejado, hecho ya observado en Brasil y México (Francoy et al., 2009; Guzmán-Novoa et al., 2020).

BIOLOGIA REPRODUCTIVA DE *APIS MELLIFERA*

El sistema de reproducción de las abejas es haplo-diploide, donde los machos se desarrollan a partir de huevos no fecundados y las hembras de huevos fecundados. Una característica de la haplo-diploidía importante para el proceso evolutivo es que los alelos recesivos letales se eliminan de la población, porque se expresan en los machos, que mueren al presentarlos (Netschitailo et al., 2022).

Fecundación: las abejas muestran altos niveles de poliandria y se han reportado apareamientos de reinas con 15-19 zánganos (Simone-Finstrom & Tarpy, 2018), lo que incide en la variedad genética de una zona o incluso, dentro de una colmena. Al ser fecundada el semen se mantiene en la espermateca durante la vida de la reina, que dura un máximo de cinco años, pero se ha observado que cuanto mayor es la edad de la reina, menor es la viabilidad de los espermatozoides, debido a las reacciones enzimáticas adversas en la bolsa espermática (Rangel et al., 2021).

Las abejas obreras realizan el reemplazo de una reina cuando su postura no garantiza la conservación del número de individuos que forman la colonia. De igual manera, los apicultores realizan cambios de reinas para mantener la colmena productiva, aunque no solo la edad es un indicador para la introducción de una nueva reina, sino también el tamaño de la colonia, que cuando es necesario, se divide. En el momento de la división, la colonia organiza la salida de una parte de sus abejas con la reina vieja (enjambrazón) y el resto queda con una reina nueva o el apicultor aprovecha la gran cantidad de abejas para multiplicar la colonia o darle crecimiento vertical. El mecanismo para asegurando solamente una reina por colonia es que la reina que nació primero mata a las nacidas posteriormente. Las reinas africanizadas tienen un periodo metamórfico más corto (hasta un día menos), lo que les brinda una ventaja sobre las reinas europeas al poder eliminar las rivales (Calfree et al., 2020).

En colmenas europeas la reina que nació primero mata a las que están por nacer, mientras en las africanizadas, se ha observado que la reina virgen suele matar a las no nacidas, en la celda de cría. Las obreras responden a la señal feromonal de reinas vírgenes que refleja la calidad reproductiva de la reina, persiguen a las que no aceptan y, eventualmente, las matan. La reina que satisface las necesidades de la colonia es aceptada y recibe todo el apoyo (Margarita et al., 2020).

En colmenas con abejas africanizadas, el porcentaje de aceptación de una reina es mayor durante el flujo de néctar y varía entre 33-75 % (Moretto et al., 2004); en contraste, un apicultor cubano, Adrián Bárbaro Rodríguez García, Apicultor, profesor de la Universidad Agraria de La Habana; Residencia en Jovellanos, Matanzas, UEB Apícola Matanzas, 2023, comunicación personal) informa un 93-96 % promedio de aceptación en sus 120 colmenas de origen europeo. Es evidente que se requiere adecuar o desarrollar un método de cría y reemplazo adecuado a las particularidades de las abejas africanizadas.

Desde hace tiempo se sabe que los zánganos africanizados tienen tres ventajas principales en el proceso reproductivo: 1. Hay una mayor producción de zánganos en colmenas africanizadas; 2. Los zánganos africanizados ingresan a colonias europeas y son mantenidos allí, lo que posiblemente suprime la producción de zánganos europeos; y 3. Existen características del vuelo nupcial que promueven el apareamiento entre reinas europeas y zánganos africanizados, pero disminuyen la posibilidad del apareamiento inverso (Schneider et al., 2004).

El predominio de las reinas y zánganos africanizados en la reproducción de las colonias posibilitó el proceso de africanización en el Continente Americano, casi siempre desplazando a las poblaciones de razas europeas residentes (Schneider et al., 2003). Se demostró la sustitución de alelos heredados del padre de la abeja melífera europea con los alelos de los zánganos africanizados. Al comparar los resultados de reinas europeas y africanas, todas inseminadas con semen de zánganos europeos y africanos, y observadas durante seis meses, nueve de diez produjeron más obreras con ADN nuclear africano (DeGrandi-Hoffman et al., 2003). Agregan los propios autores que, las ventajas no solamente son en la competencia de apareamiento, sino también por la calidad y cantidad del semen, lo que se refleja en la competencia intraoviductual de espermatozoides y dentro de la espermateca durante la fertilización de los óvulos. Indicadores como el volumen del eyaculado, el número, la concentración, la viabilidad y la longitud de los espermatozoides determinan la cantidad y calidad del semen y, por lo tanto, la capacidad de inseminación y fertilización.

Se ha demostrado que existe una correlación positiva entre el tamaño corporal y el número de espermatozoides en los zánganos. Los zánganos más grandes y pesados producen un mayor volumen de semen con una mayor cantidad de espermatozoides, en comparación con los zánganos más pequeños y livianos. Las diferencias, tanto en cantidad como en calidad del semen que obtiene la reina durante el vuelo nupcial, contribuyen a la diversidad de la descendencia en una colonia (Gençer & Kahya, 2020).

Se comprende que, cualquier factor que incida negativamente en el tamaño y peso de estos sementales, como la parasitación por *V. destructor*, puede perjudicar su capacidad fecundante (Ocaña et al., 2021).

Enjambrazón: este comportamiento reproductivo natural prevalece en las colonias africanizadas y se manifiesta como la tendencia al abandono parcial de las colmenas y la migración. En las zonas tropicales, las abejas tienen un ciclo reproductivo continuo debido a la no invernación. Al iniciar el flujo de néctar y la presencia de polen en el medio ambiente, las obreras estimulan la ovoposición de la reina a un alto nivel, hasta 3000 huevos diarios (Guzmán-Novoa et al., 2020). Debido al rápido crecimiento de la colonia, la manera natural de multiplicarse es mediante la enjambrazón y las abejas africanizadas lo hacen varias veces en un año (máximo registro hasta 16), mientras las europeas en raras ocasiones producen más de un enjambre, con máximo observado entre tres y seis (Schneider et al., 2004).

En México, con la entrada de la abeja africanizada, la frecuencia del mitotipo africano en enjambres silvestres aumentó de 29 a 96 % en cinco años (Guzmán-Novoa et al., 2005). Además de la extensión en las poblaciones asilvestradas, el flujo de genes entre estas poblaciones africanizadas y las europeas manejadas en apiarios, corrió el riesgo de eliminación del genotipo europeo debido a la ventaja de los zánganos en el apareamiento. El número de zánganos con origen africano en áreas de congregación puede superar el 90 % de la población total de zánganos en áreas africanizadas, lo que contribuye a la introgresión de genes africanos (Calfée et al., 2020).

COMPORTAMIENTO COLECTIVO DE *APIS MELLIFERA*

El conocimiento sobre la determinación genética del comportamiento, permite controlar características no deseables y seleccionar las deseables. La abeja melífera representa un excelente modelo para determinar el grado en que el comportamiento está influenciado por la herencia y/o por el entorno, debido a su vida social (Jones et al., 2020).

El comportamiento defensivo (CD) de las abejas es una característica altamente heredable, con dominancia genética y evidencias de una mayor defensividad en colonias con genes de zánganos africanizados (Guzmán-Novoa et al., 2020). Factores extrínsecos como la temperatura y la velocidad del viento influyen en el grado de expresión de la respuesta defensiva, como una respuesta fisiológica mediada por la comunicación química que propician las feromonas de alarma emitidas por abejas guardianas que transmiten la información a las obreras del nido.

La respuesta de la colonia a la alarma, sobre todo a la feromona Isopentil Acetato (IPA), puede variar desde amenazas hasta un ataque masivo, o también una respuesta opuesta, la fuga colectiva (Nates-Parra, 2011; López-Incera et al., 2021; Sieber et al., 2021). El entorno en el que evolucionaron las africanas se caracteriza por la depredación, que elimina las colonias dóciles y débiles, la razón fundamental del fuerte CD de *A. mellifera scutellata* y las abejas africanizadas (Guzmán-Novoa et al., 2020). La expresión de cientos de genes difiere en abejas africanizadas y europeas, y las diferencias más evidentes se observan en colonias con mayor comportamiento defensivo (Sieber et al., 2021).

La defensividad ha manifestado correlación negativa con la longitud del ala, en lugares con abejas de orígenes europeos y africanizados, pero a la vez, se observó que la producción de miel no tuvo correlación con la longitud del ala ni con la defensividad. Aunque el estudio se realizó en un momento temprano de la africanización en México (Uribe-Rubio et al., 2003), el promedio de agujones en los señuelos de 101.7, 56.9 y 41.9 resultaron altos si se comparan con lo reportado en el propio país por Esquivel Rojas et al. (2015), 15.75 (en zona alta) y 23 (en un valle).

Se ha comprobado la influencia genética en el CD al analizar los sitios genéticos asociados con rasgos cuantitativos para el agujoneo (QTL - quantitative trait loci). La correlación genotípica - fenotípica fue presentada en un mapeo (Hunt et al., 2007), que diferencia tres regiones QTL con genes candidatos que expresan la defensividad: Sting 1 fue el único QTL asociado al ataque a nivel individual y mostró la más alta probabilidad para la respuesta “agujoneo” a nivel de la colonia, en tanto Sting 2 y Sting 3 son responsables de coordinar el agujoneo a nivel de colonia. Las abejas africanizadas son conocidas por su actitud defensiva, que es significativamente mayor que en las de origen europeo (López-Incera et al., 2021).

Todo indica que la introgresión de genes africanos en las poblaciones de abejas disminuye su tamaño y su producción de miel, pero incrementa la defensividad, de manera que la misma acción en sentido contrario permitiría mantener abejas más dóciles y productivas. Esta es la base de los programas de introducción sistemática de reinas de linajes europeos, pero se trata de una acción difícil de sostener en el tiempo, si se considera que, según otros autores, la introgresión de los genes africanizados tiene una ventaja biológica natural (Guzmán-Novoa et al., 2020; Mendoza et al., 2020).

Entre los seis mecanismos del comportamiento colectivo del sistema inmunológico social (Tabla 1) se destacan el comportamiento higiénico (CH) y el acicalamiento.

Tabla 1. Sistema de la inmunidad social: comportamiento colectivo de *A. mellifera*.

Término	Base del mecanismo	Efecto del comportamiento colectivo
Fiebre social	Aumento del calor en el nido	Control de patógenos como por ejemplo el hongo <i>A. apis</i> .
Propóleos	Propiedades antisépticas y antimicrobianos	Uso como medicación profiláctica para evitar o minimizar la presencia de microorganismos y hongos; momificación de cadáveres dentro de la colmena.
Altruismo	Retiro del nido	El individuo enfermo se aleja de la colmena para morir lejos de la colonia.
Canibalismo	Canibalizar la cría muerta	Al comer la cría muerta, las nodrizas evitan el desarrollo de patógenos en los cadáveres.
Acicalamiento	Auto-limpieza y limpieza grupal	La habilidad de las obreras de remover ectoparásitos de sus cuerpos y/o de las compañeras, usando sus mandíbulas y sus patas.
Comportamiento higiénico	Capacidad de reconocer efectos de patógenos en las celdas de la cría y eliminarlas	Al detectar cría enferma operculada, las obreras destapan las celdas y la cría enferma se remueve fuera de la colonia.

Fuente: elaboración propia basada en Larsen et al. (2019).

El CH es un mecanismo que consiste en la habilidad de las obreras de detectar y remover cría muerta o enferma. Las colonias no-higiénicas son más propensas a desarrollar diversas enfermedades, principalmente loques americana y europea, cría de cal (ascosferosis) y varroosis (Rothenbuhler, 1964a; Nates-Parra, 2011; Leclercq et al., 2018a). Las abejas africanizadas tienen el CH más desarrollado, lo que se traduce en un mayor grado de resistencia (Guzmán-Novoa et al., 2020). El CH es un pilar esencial del sistema inmunológico colectivo de la especie. Su importancia radica en la organización social de las defensas naturales, soporte que permite reducir la presión sobre el sistema inmunológico individual que consta de un número menor de genes en comparación con otros insectos estudiados, que no tienen una inmunidad social tan pronunciada como *A. mellifera* (Larsen et al., 2019).

A mediados del siglo pasado Rothenbuhler (1964b) investigó una posible base genética del comportamiento frente a la cría muerta por loque americana en una serie de experimentos. En el primer ensayo, determinó que abejas genotípicamente diferentes demostraron un CH diferente (remover vs. no remover) en cría infectada experimentalmente con esporas de *Bacillus larvae* White. Por otra parte, Thompson (1964) evaluó, si la edad de las abejas resistentes a loque americana influye en la respuesta inmune social y pudo confirmar que las colonias compuestas de abejas jóvenes eliminaron casi todas las larvas muertas, independientemente de las condiciones de flujo de néctar, mientras las colonias de la misma línea formadas por abejas mayores de cuatro semanas las eliminaron solamente durante el flujo de néctar. Al obtener generaciones F1 no higiénicas del cruzamiento de colonias con y sin CH fue posible determinar que este depende de la homocigosidad de dos genes recesivos, un gen para destapar celdas que contienen larvas muertas y el otro para eliminarlas (Rothenbuhler, 1964a).

Diversos estudios demostraron que, a pesar de su base genética, el CH es influenciado por factores ambientales y fisiológicos tales como la proporción de abejas higiénicas y no higiénicas (Trump et al., 1967), la edad de las obreras y el flujo de néctar (Momot & Rothenbuhler, 1971). Con posterioridad se consideró que el mecanismo tenía un origen más complejo, con diversas interacciones genético-ambientales (Moritz, 1988), hasta el planteamiento de la existencia de al menos siete QTL sugestivos, uno de los cuales controla del 9 al 15 % de ese carácter fenotípico (Lapidge et al., 2002).

Estudios en colonias de abejas europeas (Locke, 2016a), africanas (Cheruiyot et al., 2018) y africanizadas, e incluso, en *A. cerana* (Lin et al., 2016) evidenciaron que el buen CH está correlacionado con TIAs de *Varroa* más bajas, que corresponden con colmenas más saludables. Con tales antecedentes, mientras en países latinoamericanos como Argentina, México y Brasil, con producción apícola empresarial a nivel mundial y otros como Cuba, Uruguay y Chile, con una actividad especializada (Campos García et al., 2018), las colmenas con alto CH se incluyen en la crianza selectiva; en países con una apicultura más artesanal, como Ecuador, Nicaragua y otros, todavía no se enfocan en los procesos selectivos con características heredables, favorables para la producción (Masaquiza et al., 2021).

El comportamiento de acicalamiento es la capacidad de las abejas para detectar y remover ectoparásitos de sus cuerpos usando sus patas y mandíbulas. El auto-acicalamiento predomina sobre el acicalamiento grupal (Larsen et al., 2019).

En comparación con las de origen europeo, las abejas africanizadas muestran una mayor eficiencia para desprenderse del ácaro *V. destructor*.

Así, De Mattos et al. (2017) comprobaron en Brasil, que las africanizadas son siete veces más eficientes (38.5 %) que las europeas (5.7 %), al eliminar ácaros de sus cuerpos. Fuentes et al. (2022) observaron en Argentina y Uruguay que las abejas redujeron la capacidad reproductiva de los ácaros a través del acicalamiento. También en Argentina, se reportó en las colonias africanizadas, una proporción significativamente mayor de ácaros mutilados que en las de abejas italianas (Invernizzi et al., 2015).

En México, se relacionaron las bajas TIAs y el comportamiento de acicalamiento, al irritar a las abejas con la aplicación de harina, para medir el nivel del auto-acicalamiento a través el tiempo de reacción después de la exposición, pero quedó la duda si la irritación es la misma causada por los ácaros. La respuesta de auto-limpieza en abejas europeas con exposición a la harina fue significativamente mayor que el acicalamiento observado contra *V. destructor*, mientras que no hubo diferencias en las africanizadas (Morfin et al., 2020). Por otra parte, en Cuba, donde nunca se ha reportado africanización, se observó una reducción de las TIAs por *V. destructor*, atribuidos a la resistencia natural de las abejas por el elevado CH y por el acicalamiento, además de la baja reproductividad de los ácaros (Sanabria et al., 2015).

Los análisis moleculares efectuados demostraron una expresión genética con varios genes asociados al acicalamiento, y el gen neurexina1 (AmNrx1) con la mayor expresión, encontrado en abejas con una alta sensibilidad para detectar y eliminar el parásito. Se supone que el mecanismo de acción es activado por estímulos mecánicos y quimiosensoriales emitidos por el parásito lo que induce sensibilidad neural en la abeja, los que a su vez se traduce en la respuesta de acicalamiento. La evaluación con base en los porcentajes de ácaros dañados físicamente, por sí sola no ha mostrado una clara correlación con las TIAs, pero su contribución al esfuerzo colectivo de controlar el parásito, es innegable (Hamiduzzaman et al., 2017; Morfin et al., 2020).

ESTATUS RACIAL DE *APIS MELLIFERA*

La morfometría clásica para la identificación de *A. mellifera* inició en la tercera década del siglo XX, cuando Alpatov (1929) describió los caracteres de tamaño corporal, patrones de coloración, características de venación del ala y de pilosidad. Le siguió la medición de la venación del ala de un conjunto de 17 ángulos (Dupraw, 1965), en tanto Ruttner (1978) determinó un conjunto de 36 caracteres seleccionados por su poder discriminante, lo que le permitió identificar cuatro linajes evolutivos de *A. mellifera*, A, M, C y O, y 24 subespecies, los que aún conservan su vigencia, a pesar de los instrumentos moleculares más modernos (Ruttner, 2013).

La morfometría clásica del ala fue completada con el método de morfometría geométrica de su forma, basada en las coordenadas de los puntos de referencia ubicados en las intersecciones de las venas alares (Ruttner et al., 1978). El progreso técnico facilitó la medición y el análisis computadorizado (Daly et al., 1982) y se utilizó la morfometría geométrica para caracterizar los linajes evolutivos de *A. mellifera* (Schneider et al., 2003; Francoy et al., 2008). La combinación de técnicas de selección de características y clasificadores (algoritmo de aprendizaje automático) se han utilizado para mejorar la identificación de subespecies de abejas (Silva et al., 2015).

Ante la laboriosidad que requieren las técnicas morfométricas que se basan en la medición de numerosos caracteres, se desarrolló un método simplificado que se basa en solo un carácter altamente discriminante, la longitud del ala anterior. Rinderer et al. (1986) determinaron medias generales de 8.87 mm para abejas africanizadas y 9.20 mm (o más) para europeas. En adición, ofrecen una tabla discriminante que es útil como referencia para un diagnóstico básico rápido y económico. La medición del ala anterior derecha en comparación con el análisis multivariado demostró que es un criterio primario confiable y barato para identificar la africanización.

Uribe-Rubio et al. (2003), en México, comprobaron en 416 colmenas, que aquellas con mitotipo africano fueron menos productivas, más defensivas y menores en tamaño que las de mitotipos europeos y diferentes en términos de longitud de las alas anteriores: 8.9 mm, 9.1 mm y 9.2 mm para africanizados, europeos occidentales y orientales, respectivamente.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *APIS MELLIFERA*

La investigación genética ofreció nuevas posibilidades para inferir relaciones filogenéticas entre especies de abejas; en particular, el análisis del ADN mitocondrial (ADNmt) es efectivo debido a la herencia materna en las colonias de abejas (Garnery et al., 1992). Se investiga preferiblemente la región intergénica COI-COII del ADNmt de *A. mellifera* debido a la variabilidad de la secuencia 192 - 196 pares de base (pb) (Q) y la ausencia completa o parcial de la secuencia de 67 pb (Po). Asimismo, los marcadores nucleares se utilizan en estudios genéticos a través del análisis de los microsatélites (repeticiones de secuencia simple, SSR) identificando la variación en el número y tipo de repeticiones de los loci (Franck et al., 2001). En un nivel más profundo y también más costoso, es el estudio de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) que son marcadores genéticos moleculares. El análisis de los SNP identifica los sitios donde difieren en un solo nucleótido en la secuencia del ADN nuclear (Wallberg et al., 2014).

Se han realizado investigaciones con ambos enfoques, morfométricos y genéticos, para identificar subespecies de abejas, comparar poblaciones en diferentes épocas y regiones, y en particular para determinar el proceso de africanización (Francoy et al., 2009; Meixner et al., 2013; Domínguez-Ayala et al., 2016). Con énfasis en la metodología del diagnóstico del ADNmt de la región intergénica COI-COII con la enzima *Dral* se encuentran estudios desde hace 30 años que clasifican poblaciones con abejas africanizadas (Garnery et al., 1993; Whitfield et al., 2006; Szalanski & Magnus, 2010; Techer et al., 2017; Zárate et al., 2022). Garnery et al. (1998) confirmaron que el genoma mitocondrial contribuye al concepto de que las poblaciones de *A. mellifera* encontradas en la Península Ibérica pueden haberse originado a partir del contacto constante entre poblaciones norteafricanas y europeas. Sin embargo, aunque el haplotipo *A. m. iberiensis* Engel está estrechamente relacionado con los haplotipos africanos, no son completamente idénticos. La diversidad entre las poblaciones de España y Portugal es mayor que entre las poblaciones de África, y además los haplotipos A1 y A16 con la mayor presencia en España y Portugal, mientras en Marruecos hubo escaso A1 y ausencia completa de A16. Pareciera más probable que la introducción de los haplotipos A desde África no fue natural, pasando el estrecho de Gibraltar, sino por actividades apícolas (Henriques et al., 2020).

Investigaciones por un periodo de 10 años indicaron una variabilidad de las secuencias de la región intergénica entre las poblaciones de *A. mellifera* de la región de Sudáfrica en general y las poblaciones africanizadas de las Américas, pero se encontró una mayor similitud con las abejas de la provincia sudafricana de Transvaal, de donde provinieron las reinas introducidas en

Brasil en 1957 (Hall & Smith, 1991; Moritz et al., 1994; Lobo, 2000). Por otra parte, se demostró con marcadores microsatélites que las poblaciones de *A. mellifera* de la Península Ibérica y de las Américas presentaron un nivel bajo de africanización en el ADN nuclear, pero con predominio de los mitotipos A1 y A4 en las poblaciones africanizadas de las Américas (Franck et al., 2001).

En abejas africanizadas de Brasil y Uruguay se determinó un gradiente norte-sur para la proporción de los mitotipos A1 y A4; similar a los hallazgos en Sudáfrica, el mitotipo A4 mostró mayor presencia en las regiones sureñas de Brasil. Al igual que en los anteriores, el tema sobre el origen del mitotipo A1 (africano o sudoeste europeo), no alcanzó una conclusión definitiva (Collet et al., 2006).

Kraus et al. (2007) encontraron una introgresión asimétrica en las poblaciones de *A. mellifera* en la región de Veracruz, en altitudes desde 72 hasta 2800 m. En dos zonas altas encontraron mitotipos con el 95 % de africanización, significativamente diferente al de tres zonas bajas (67 %). El análisis del ADN nuclear indicó que el 58 % de africanización en ambas zonas, pero al igual que los mitotipos, mayor en las zonas altas (60 %) que en las bajas (51 %). Los mitotipos antes encontrados fueron A1 (53 %) y A4 (25 %), así como europeos C1 (15 %), C2 (5 %) y M3 (2 %). Con posterioridad se invirtió la proporción, los europeos eran del 87 % (C1 y C2) y solamente 13 % de A1, pero no se detectó el mitotipo africano A4. La mayor frecuencia de mitotipos europeos en las zonas bajas se atribuyó a la introducción masiva de reinas europeas, en especial, *A. m. ligustica* Spinola y *A. m. carnica* Pollman. La presencia del mitotipo A1 se atribuyó a las abejas traídas desde la Península Ibérica durante la colonización.

En Colombia, el 98.3 % de las abejas examinadas (n= 645) pertenecieron a 17 mitotipos del linaje A, y solo 11 especímenes relacionado al mitotipo C (*A. m. ligustica*). Los más prevalentes fueron A1e (31.9 %), A26a (23.1 %), A1 (19.8 %), A4 (12.4 %), A26d (4 %) y A26c (2.2 %). Los 11 mitotipos africanizados restantes comprendían el 5.3 %. Se adujo que pocos apicultores compraron reinas europeas para sus colmenas por lo cual coincidieron con los hallazgos del mitotipo C (Tibatá et al., 2018).

TAXONOMIA DE *VARROA DESTRUCTOR*

El ácaro ectoparásito de las abejas encontrado a inicios del siglo XX por Jacobson fue clasificado por Oudemans en 1904 como especie *Varroa jacobsoni* (Figura 2), perteneciente a la Familia Laelapidae, Berlese 1892 (Oudemans, 1904a). No fue hasta 1974, cuando Delfinado & Baker crearon la nueva familia Varroidae, que incluye los géneros *Varroa* y *Euvarroa*.

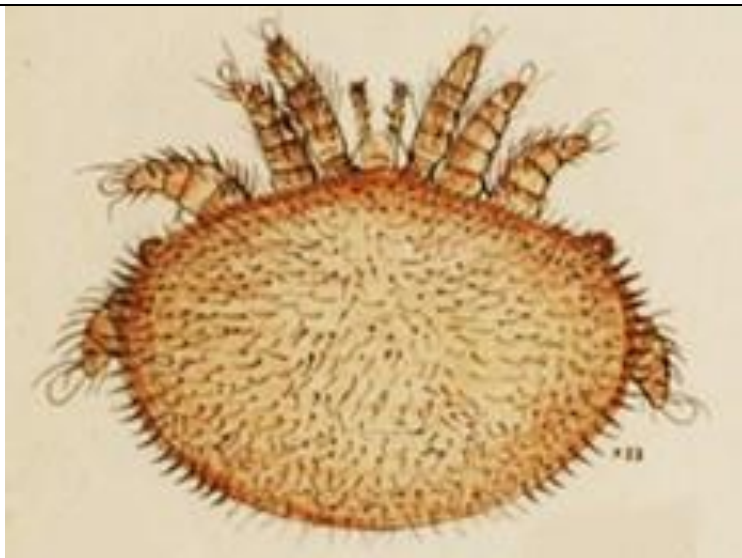


Figura 2: Ácaro *V. jacobsoni* vista dorsal, ilustración Oudemans, 1904, “Notes of the Leyden Museum 24(4), 218” (original).

En las Notas Acarológicas XIII del año 1904, Oudemans explicó que el nombre *Varroa* para el género del ácaro parásito de la abeja deriva del nombre del romano Marcus Terentius Varro, porque “el ya menciona el ricino” en su obra “De Re Rustica” libro II cap. IX, 16, aunque allí se refiere a las garrapatas (Oudemans, 1904b). Aparte de esto, Oudemans usó la especie taxón ‘jacobsoni’ para conmemorar al descubridor del ácaro.

ORIGEN, DISTRIBUCIÓN Y PROPAGACIÓN DE *VARROA DESTRUCTOR*

En términos de historia evolutiva, los ácaros del género *Varroa* son originarios de Asia. Se clasificaron cuatro especies con diferentes afinidades de hospedero y diferentes distribuciones geográficas: *V. jacobsoni* (1904), *V. underwoodi* (1974), *V. rindereri* (1996) y *V. destructor* (2000). Durante mucho tiempo se consideró que *V. jacobsoni* era el ácaro que infestaba las poblaciones de *A. mellifera* a medida que se propagaba por los continentes, hasta que, finalizando el milenio se determinó que se trata de una especie diferente, con el llamativo nombre *V. destructor* (Anderson & Trueman, 2000). Según los propios autores, de las seis especies de *Varroa*, solamente *V. destructor* parasita y se reproduce con éxito en *A. mellifera*.

La presencia del ectoparásito se describió por primera vez en la abeja melífera asiática una relación parásito - hospedero que pareciera tener un proceso de la coadaptación entre los dos, ejerciendo fuerzas selectivas hasta lograr una relación equilibrada entre *A. cerana* y el ácaro parásito (Techer et al., 2019). En un momento crucial, a principios del siglo XX, el parásito obtuvo como hospedero adicional a las colonias de *A. mellifera* introducidas a diferentes zonas de Asia. En los años 50 del siglo pasado, con la redistribución de colmenas o reinas de *A. mellifera* infestadas desde la zona de origen se inició la propagación del parásito hacia los apiarios y por enjambres silvestres. A partir de los años 70 se produjo la extensión masiva del ácaro a nivel mundial. Aunque se indicaba a *V. jacobsoni* como agente parasitando en *A. cerana* y *A. mellifera* antes de la determinación de la especie *V. destructor*, varios estudios señalaron variaciones morfométricas, genéticas y conductuales del ácaro, con un cuadro patológico distinto, según el hospedero afectado (Tabla 2).

BIOLOGIA REPRODUCTIVA DE *VARROA DESTRUCTOR*

Los ácaros del género *Varroa* son ectoparásitos obligados y sus hembras adultas parasitan a las abejas adultas de las tres castas, mientras su completo ciclo reproductivo se desarrolla dentro de las celdas de la cría operculada. La hembra adulta del ácaro puede sobrevivir 24 h sin contacto con una abeja, fuera de la colmena (Castilhos et al., 2023). En la llamada fase forética, mejor denominada fase de dispersión (Vilarem et al., 2021), los ácaros se encuentran comúnmente sobre el abdomen, entre los esternitos abdominales de las abejas adultas, donde perforan las membranas intersegmentales con los quelíceros para alimentarse.

Tabla 2. Estudios hasta el año 2000 con diferentes manifestaciones de varroosis.

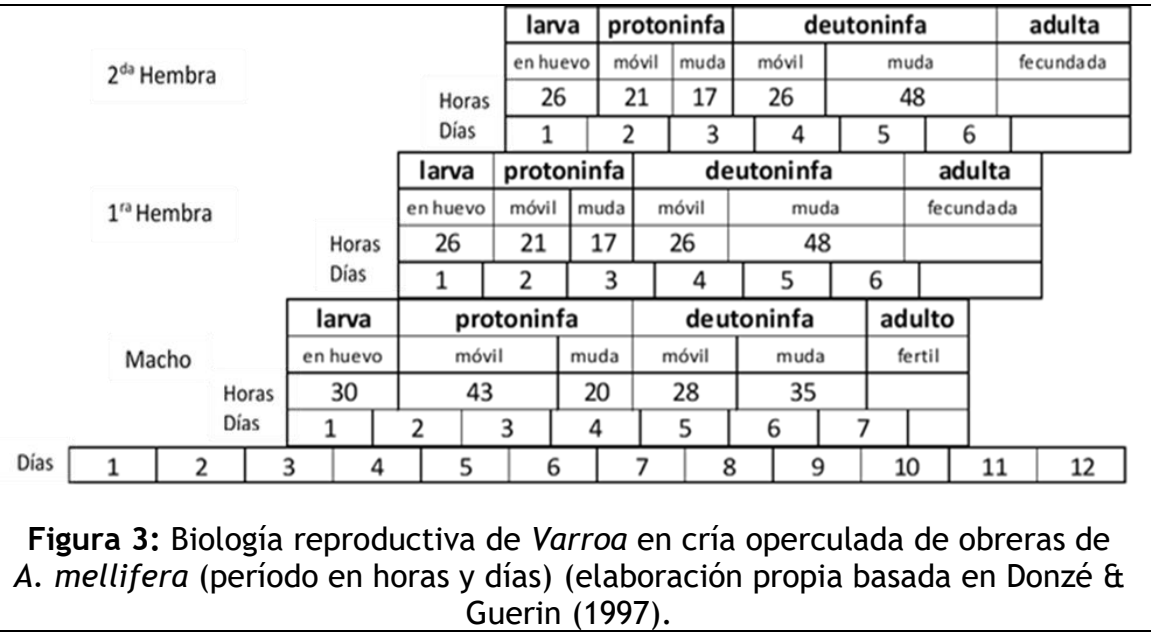
Autores	Año	Tema central: manifestaciones de varroosis
Moritz y Haenel	1984	En colonias de Sudáfrica, debido al poco tiempo con la cría operculada, solo el 21 % de <i>A. mellifera capensis</i> tenía ácaros hembras capaces de reproducirse.
Camazine	1986	En Brasil, el 75 % de las celdas de cría infestadas (abejas europeas) tenían ácaros inmaduros en comparación con solo el 49 % de las celdas de cría infestadas en colonias de abejas africanizadas.
Delfinado - Baker & Houck	1989	En un estudio con ácaros de 17 países, identificaron tres biotipos del ácaro con variabilidad morfométrica según hospedero, pero negaron la existencia de otra especie que <i>V. jacobsoni</i>
Ritter et al.	1990	En Túnez, 30 a 50 % de hembras infértiles de los ácaros fueron observadas en la cría de obreras, un porcentaje más alto que en Europa; notable es que lo mismo se presentó en la cría de zánganos.
Moretto et al.	1991	En Brasil, compararon la tasa de infestación en tres zonas climáticas (21, 18 y 13 °C), resultando la zona más fría con mayor infestación, asimismo, en las subespecies con mayor genética europea.
Anderson	1994	En el Sudeste Asiático, <i>V. jacobsoni</i> no se reproduce en colmenas de <i>A. mellifera</i> , ni en cría de obreras ni en cría de zánganos; la causa no está determinada, si depende del ácaro, la abeja o el medio ambiente.
Kraus y Hunt	1995	Comparación de ácaros recolectados de colmenas de <i>A. mellifera</i> en EEUU y Alemania con los de <i>A. cerana</i> indican variabilidad genética según marcadores RAPD.
Anderson y Sukarsih	1996	Reproducción de <i>V. jacobsoni</i> cambió en colonias de <i>A. mellifera</i> en Java; después de 1992 había ácaros hembras reproductivas en cría sellada de obreras y zánganos, lo mismo en Biak y Yapen, en 1995.
De Guzman et al.	1997	Marcadores RAPD indicaron que <i>V. jacobsoni</i> de EE.UU. es probablemente de origen ruso, mientras que <i>V. jacobsoni</i> de Brasil y Puerto Rico es probablemente de origen japonés.
Anderson y Fuchs	1998	En el Sudeste Asiático, dos poblaciones de <i>V. jacobsoni</i> diferían genéticamente (COI) en un 6.8 %, con capacidades contrastantes para reproducirse en las poblaciones de <i>A. mellifera</i> .
Anderson y Trueman	2000	<i>V. jacobsoni</i> con nueve haplotipos (distintas secuencias del gen COI de ADNmt) infestando <i>A. cerana</i> en Malasia e Indonesia. <i>V. destructor</i> con seis haplotipos infestando <i>A. cerana</i> en Asia continental.

Fuente: elaboración propia basada en Warrit & Lekprayoon (2011).

Sustraen no solo la hemolinfa como se suponía antes, sino también las grasas y probablemente, nutrientes del intestino, un hecho que podría explicar la mayor proporción de ácaros en esta porción del abdomen. Prefieren ubicarse sobre abejas jóvenes, probablemente porque las pecoreadoras tienen títulos más altos de la feromona de la glándula de Nasonov, fuerte repelente para el ácaro (Noël et al., 2020; Traynor et al., 2020).

Se ha observado que *V. destructor* tiene una organización social bien desarrollada y compartimentan el uso del espacio disponible, que es de mayor importancia cuando parasitan con tiempo y espacio limitados para reproducirse y desarrollarse. Primero, la hembra fundadora marca un sitio en la parte posterior de la celda con su acumulación fecal, que sirve como punto de referencia para aparearse; segundo, la fundadora perfora la cutícula de la pupa donde se alimentará su cría (Donzé & Guerin, 1997).

El periodo para poder reproducirse está limitado al tiempo del desarrollo de la cría operculada: 288 h la cría de obreras y 360 la de zánganos. La abeja sella la celda y después de 60 h, la fundadora pone el primer huevo no fecundado que origina un macho, que madura en unas 156 h, mientras sus hermanas (un huevo cada 26 h) que nacen después, se desarrollan en 138 h. En general, dos ácaros alcanzan la adultez en cría de obreras y 3-4 en la de zánganos (Figura 3).



DIAGNÓSTICO MORFOMÉTRICO DE *VARROA DESTRUCTOR*

Las medidas morfométricas son una herramienta para describir y diferenciar las especies. Las características de *V. destructor* difieren entre sexos y etapas de desarrollo. Los ácaros se reconocen a simple vista, sobre todo las hembras adultas en su fase de dispersión; se caracterizan por la forma del cuerpo, transversalmente elíptica y aplanada, con una cutícula esclerotizada de color marrón rojizo. Los machos son más pequeños y tienen patas más largas en relación con el cuerpo, que es redondo/triangular, de color blanquecino/crema. El ácaro pasa por los estadios de larva, protoninfa, deutoninfa y adulto. Las ninfas son más pequeñas y cambian de forma oblonga a elíptica transversal, de color blanquecino a causa de su débil esclerotización (Rosenkranz et al., 2010; Martin et al., 2020).

El carácter morfométrico más indicativo es el tamaño corporal. Ya con anterioridad se realizó una detallada descripción del cuerpo del ácaro hembra con base en numerosas características morfológicas (Delfinado-Baker & Houck, 1989; Loeza-Concha et al., 2018) (Figura 4). Las dimensiones corporales permitirían determinar la posible existencia de morfotipos, condicionados por la diversidad ecológica macro y microambiental (De Guzman & Rinderer, 1999; Dietemann et al., 2013).

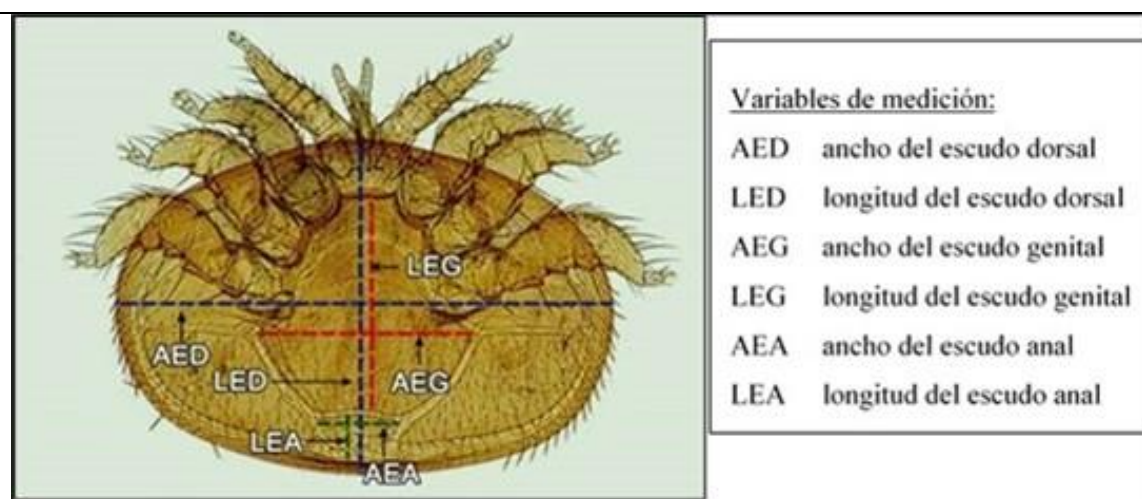


Figura 4: Medidas en *V. destructor*, hembra, vista ventral a 20x (Fuente: Loeza-Concha et al., 2018).

Tabla 3. Medidas del largo y ancho del ácaro *Varroa* spp., según región y hospedero.

Autor	Región Hospedero	Largo (µm)	Ancho (µm)	Especie de <i>Varroa</i>
Oudemans 1904	Java <i>A. cerana</i>	1065	1575	<i>V. jacobsoni</i>
Delfinado & Baker, 1974	Asia <i>A. cerana</i>	1108	1660	<i>V. jacobsoni</i> *
Akratanakul, 1975	Tailandia <i>A. cerana</i> y <i>A. mellifera</i>	1056	1540	<i>V. jacobsoni</i> *
Delfinado - Baker & Houck 1989	Nepal <i>A. cerana</i>	1125	1646	<i>V. jacobsoni</i> *
	Europa <i>A. mellifera</i>	1117	1677	<i>V. jacobsoni</i> *
de Guzmán & Delfinado-Baker, 1996	Borneo <i>A. cerana</i>	1077	1596	<i>V. jacobsoni</i>
Anderson & Trueman, 2000	Sudeste Asiático <i>A. cerana</i>	1063	1507	<i>V. jacobsoni</i>
	32 países mundial <i>A. mellifera</i>	1167	1709	<i>V. destructor</i>
Demedio et al., 2002	Cuba <i>A. mellifera</i>	1153	1700	<i>V. destructor</i>
Akimov et al., 2004	Ucrania <i>A. mellifera</i>	1149	1693	<i>V. destructor</i>
Maggi et al. 2009	Argentina <i>A. mellifera</i>	1151	1725	<i>V. destructor</i>
Salamanca et al. 2012	Colombia <i>A. mellifera</i>	1035	1605	<i>V. destructor</i>
Loeza-Concha et al. 2018	México <i>A. mellifera</i>	1128	1688	<i>V. destructor</i>
Yevstafieva et al. 2020	Ucrania <i>A. mellifera</i>	1143	1713	<i>V. destructor</i>

Nota: * posiblemente la especie era *V. destructor*, por lo menos en *A. mellifera*. Elaboración propia.

Con el nuevo siglo apareció la hipótesis de que había ácaros de la especie *V. jacobsoni* fenotípicamente similares, pero genéticamente diferentes. La variación morfológica de *V. jacobsoni* en colonias de *A. cerana* y *A. mellifera* reveló solo diferencias fenotípicas limitadas, excepto en el tamaño corporal, al resultar los ácaros de *A. cerana* más pequeños que los encontrados en *A. mellifera*. Se concluyó que, sin una base genética, la variación de los caracteres de los ácaros clasificados en el género *Varroa*, se consideraran como "biotipos" distintos (Anderson, 2000). Otros autores aseguraron que ácaros definidos como de la especie *V. jacobsoni* en realidad pertenecían a otra especie, y que diferían, sobre todo, en la genética, y en menor grado morfométrica y conductualmente. En la tabla 3 se relacionan las mediciones del ancho y largo de los ácaros en distintos países. La diferenciación en dos especies finalmente concluyó con la nueva especie *V. destructor* (Anderson & Trueman, 2000).

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *VARROA DESTRUCTOR*

Diversos estudios con la técnica de la amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD) fueron utilizados para determinar la genética de *Varroa* spp. Estudios realizados por De Guzman et al. (1997), distinguieron el tipo R (proveniente de Rusia) que correspondía a ácaros de poblaciones de Estados Unidos, Rusia, Marruecos, Alemania, Italia, España y Portugal; y el tipo J (proveniente de Japón) encontrado en poblaciones de Japón, Brasil y Puerto Rico. Profundizaron la investigación en las Américas y observaron ambos tipos, ruso y japonés, en los EEUU y Canadá, mientras en México solamente el tipo R se presentó en las colonias de *A. mellifera*, lo que indica que en América del Norte hubo invasión de *Varroa* spp. por diferentes vías (De Guzman & Rinderer, 1999).

Al mismo tiempo, otros estudios determinaron haplotipos a través del método de PCR, con amplificación de un fragmento del gen COI del ADNmt, cuyo producto de la PCR fue sometido a la digestión con la enzima de restricción *SacI* (Anderson & Fuchs, 1998). Luego, en 2000, Anderson & Trueman confirmaron la existencia de otra especie de Varroidae, a la que asignaron el taxón *V. destructor*. Por los antecedentes de la variación morfométrica, genética y conductual de las poblaciones de *Varroa* spp. en todos los países donde se establecieron en las colonias de las abejas melíferas, los investigadores decidieron examinar ácaros hembras del hasta entonces llamado *V. jacobsoni*, y una cantidad menor de las especies *V. rindereri* y *V. underwoodi*. Las muestras fueron tomadas de colonias de *A. cerana* (31 localidades en 11 países del Sudeste Asiático), *A. nigrocincta* (dos localidades en Indonesia) y *A. mellifera* (en 32 países).

En la primera fase se realizó un análisis genético de ADNmt y la secuenciación del ADN aislado. Para confirmar la identidad de los ácaros definida a través del perfil genético de ADNmt y construir un árbol filogenético, realizaron una búsqueda en las bases de datos del GenBank (EE.UU.), European Molecular Biology Laboratory (Inglaterra) y DNA Data Bank of Japan (Japón) utilizando el programa FASTA a través de la red del Servicio Nacional de Información Genómica de Australia.

Tabla 4. Haplotipos de *Varroa* spp., según hospedero y región.

Especie abeja	<i>Apis</i> agrupado por genética	Región	Clado	Especie <i>Varroa</i>	Haplotipo <i>Varroa</i>
<i>A. cerana</i>	Grupo de 'Sundalandia' Malasia peninsular, Borneo, Java, Bali, Lombok, Flores, Timor y Sulawesi	Indonesia Indonesia Indonesia Indonesia Peninsular Malaysia Indonesia Indonesia Indonesia/PNG	Flores-Java	<i>V. jacobsoni</i>	Flores Sumbawa Lombok Sumatra Malaysia Borneo Ambon Bali Java+
<i>A. cerana</i>	Grupo de 'Asia continental' India, Nepal, Tailandia, Corea, Japón y Taiwán	Japón/Tailandia Nepal Corea China Vietnam	Japón/Tailandia - Vietnam	<i>V. destructor</i>	Japón/Tailandia Nepal Corea China Vietnam
<i>A. cerana</i>		Sri Lanka	Conespecífico	<i>V. destructor</i>	Sri Lanka
<i>A. cerana</i>	Grupo 'filipino'	Filipinas	Sin agrupar	<i>V. jacobsoni</i>	Luzon 1
<i>A. cerana</i>		Filipinas		<i>V. jacobsoni</i>	Luzon 2
<i>A. cerana</i>		Filipinas		<i>V. jacobsoni</i>	Mindanao
<i>A. mellifera</i>	Subespecies	Nivel mundial	Japón/Tailandia - Vietnam	<i>V. destructor</i>	Japón/Tailandia Corea

Fuente: elaboración propia basada en Anderson & Trueman (2000).

Los resultados genéticos de Anderson & Trueman (2000) (Tabla 4) marcaron un avance significativo en la investigación sobre la varroosis, al revelar 18 haplotipos diferentes de *Varroa* spp. recolectados de *A. cerana* en diferentes regiones de Asia, divididos en los dos clados principales, Mindanao-Vietnam (nueve haplotipos) y Flores-Java (cinco haplotipos), así como en Filipinas (tres haplotipos) y Sri Lanka (un haplotipo).

El análisis genético de los ácaros *Varroa* spp. recolectados de *A. mellifera* en 32 países diferentes reveló la presencia de solamente dos haplotipos los cuales fueron encontrados también en *A. cerana*: el haplotipo de Corea y el haplotipo de Japón/Tailandia. La infestación de *A. mellifera* con ácaros el haplotipo japonés (J) se detectó solamente en Japón, Tailandia, Brasil, EEUU y Canadá, resultado similar a los anteriores de De Guzman et al. (1997). El haplotipo coreano (K) que Anderson & Trueman (2000) encontraron en África, Europa, Medio Oriente, Asia y América coincide con el haplotipo R descrito.

Existe una situación particular en Java, por la cercanía de colonias de *A. cerana* y *A. mellifera*, sin embargo, las muestras de *Varroa* recolectadas de *A. cerana* se identificaron con el haplotipo Java, mientras que las muestras de *Varroa* procedentes de *A. mellifera* en estudios anteriores, mostraron el haplotipo coreano (K). No se demostró la introducción del haplotipo coreano en las colonias de *A. cerana*. Además, se descubrió que los ácaros del haplotipo de Java que se encuentran ocasionalmente en las colonias de *A. mellifera* no se pueden reproducir. Anderson & Trueman (2000) llegaron a la conclusión de que las diferencias dentro del clado son lo suficientemente pequeñas para que correspondan a una misma especie, al igual que las diferencias entre clados son lo suficientemente grandes para representar diferentes especies.

Existe una correlación entre los linajes de *A. cerana* y los haplotipos de *Varroa* spp., lo que refleja la relación natural hospedero-parásito, no obstante los investigadores asumieron que al investigar diferentes linajes de *A. cerana* por ejemplo de la India y de Nepal, podría probablemente conducir a conocer nuevas variantes de los ácaros *Varroa* spp. Sin embargo, morfométricamente no hubo relación entre el tamaño de *Varroa* spp. y el tamaño de su hospedero *Apis* spp., lo que se refleja en que *V. destructor* es significativamente más grande que *V. jacobsoni* sin importar que parasite en *A. mellifera*, una abeja más grande o en *A. cerana*, que es de menor tamaño (Anderson & Trueman, 2000).

La secuencia completa del ADNmt de *V. destructor* muestra un genoma compacto de 15.218 pb y específicamente la región de COI con 458 pb, resulta la indicada para determinar parámetros genéticos en las poblaciones del ácaro. Además, se han descrito 45 cebadores de oligonucleótidos para estudios taxonómicos y filogenéticos, no solamente útiles para estudios en *Varroa* sino también en otros ácaros y garrapatas (Evans & López, 2002).

El diseño de los dos nuevos cebadores se realizó con la secuencia completa del ADNmt descrito por Navajas et al. (2002). La restricción del producto de la PCR de 376 pb generó dos bandas (128/124 y 252/256 pb) en el haplotipo japonés y una sola banda (sin digerir) en el haplotipo coreano (K). El análisis de veinte loci microsatélites reveló baja variabilidad y la secuenciación, completa identidad con los resultados de los estudios anteriores, probablemente porque *V. destructor*, al ser una especie invasiva, provocó un efecto fundador en una nueva población aislada, en tanto causaba una reducción en la variación genética (Solignac et al., 2005).

Tabla 5. Haplotipos y subgrupos de *Varroa* spp. del clado Japón/Tailandia - Vietnam según, país y año de recolección y hospedero.

Haplotipo	Sub grupo	País	Año	Especie <i>Varroa</i>	Especie <i>Apis</i>	
Japón 1	J1	J1-1	Taiwán	2002	<i>V. destructor</i>	<i>A. mellifera</i>
		J1-2	Japón	1994	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
		J1-3	Japón	1998	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
		J1-4	Japón	1996	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
		J1-5	Tailandia	1997	<i>V. destructor</i>	<i>A. mellifera</i>
		J1-6	Japón	1996	<i>V. destructor</i>	<i>A. mellifera</i>
Laos 1	L1	L1-1	Tailandia	2003	<i>V. jacobsoni</i>	<i>A. cerana</i>
		L1-2	Tailandia	2003	<i>V. jacobsoni</i>	<i>A. cerana</i>
Corea 1	K1	K1-1	Japón, Corea, Rusia	2000, 1996, 1995	<i>V. destructor</i>	<i>A. mellifera</i>
		K1-2	China, Vietnam	2004, 1996	<i>V. destructor</i>	<i>A. mellifera</i>
		K1-3	China	2002, 2004	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
		K1-4	China		<i>V. destructor</i>	<i>A. mellifera</i>
China 1	C1	C1-1	China	2001	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
		C1-2	China	2002	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
China 2	C2	C2-1	China	2002	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
China 3	C3	C3-1	China	2002	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
Vietnam 1	V1	V1-1	Vietnam	1996	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
		V1-2	China	2002	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
		V1-3	Tailandia	2003	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>
		V1-4	Tailandia	2003	<i>V. destructor</i>	<i>A. cerana</i>

Fuente: elaboración propia basada en Navajas et al. (2010).

En Asia, Navajas et al. (2010) se enfocaron en las regiones donde *V. destructor* con los haplotipos J1 y K1 parasita *A. mellifera*, para determinar si provenían de diferentes poblaciones, o si reflejan haplotipos muestreados aleatoriamente de una sola población grande de *V. destructor*. Los ácaros examinados fueron de China, Japón, Corea, Lejano Oriente de Rusia, Taiwán y Vietnam del Norte donde solamente parasita *V. destructor* y de Tailandia donde también *V. jacobsoni* fue encontrado. El hallazgo más importante fue que ningún subgrupo identificado en *A. mellifera* se encontró en *A. cerana* y viceversa (Tabla 5).

Otro método para identificar la diversidad genética en el análisis de la estructura y la dinámica de la población de *Varroa* spp., es el diagnóstico del ADN nuclear, para incluir el flujo de genes paternos. Dietemann et al. (2013) pudieron determinar que las variantes de la línea invasora de *V. destructor*, que previamente parasitaron las colonias de *A. mellifera* y se reproducían en la cría de obreras y zánganos, actualmente presentan el mismo comportamiento reproductivo en las colonias de *A. cerana*. Se generó la hipótesis que existe el riesgo de que *Varroa* spp. se convierte más virulento para *A. cerana*. Las dos razones principales que sustentan esta hipótesis son la probable especiación del linaje debido al efecto fundador, porque el parásito tuvo la oportunidad de parasitar una nueva especie hospedera y por la evolución de los ácaros híbridos que alteran el equilibrio dentro de la interacción coevolucionada, amenazando así al hospedero original (Clark et al., 2018).

DEFINICIÓN DE VARROOSIS

La varroosis se considera actualmente la mayor amenaza para la apicultura a nivel mundial. Generalmente, la enfermedad se define por su efecto patógeno directo al infestar las abejas melíferas adultas y crías con ácaros *Varroa* spp. (OMSA, 2023b). Aunque el daño provocado por una infestación severa afecta la salud y la producción de la colonia, la mayor amenaza radica en que los ácaros pueden actuar como un vector biológico/mecánico en la transmisión de virus, confirmado para el de las alas deformes (DWV) y probablemente un vector mecánico para el virus de la parálisis aguda (ABPV), el virus de la abeja de Cachemira (KBV) y el virus de la parálisis aguda israelí (IAPV) (Yáñez et al., 2020). Además la presencia de *V. destructor* es determinada como factor asociado al síndrome del colapso de las colonias (Medina-Flores et al., 2018).

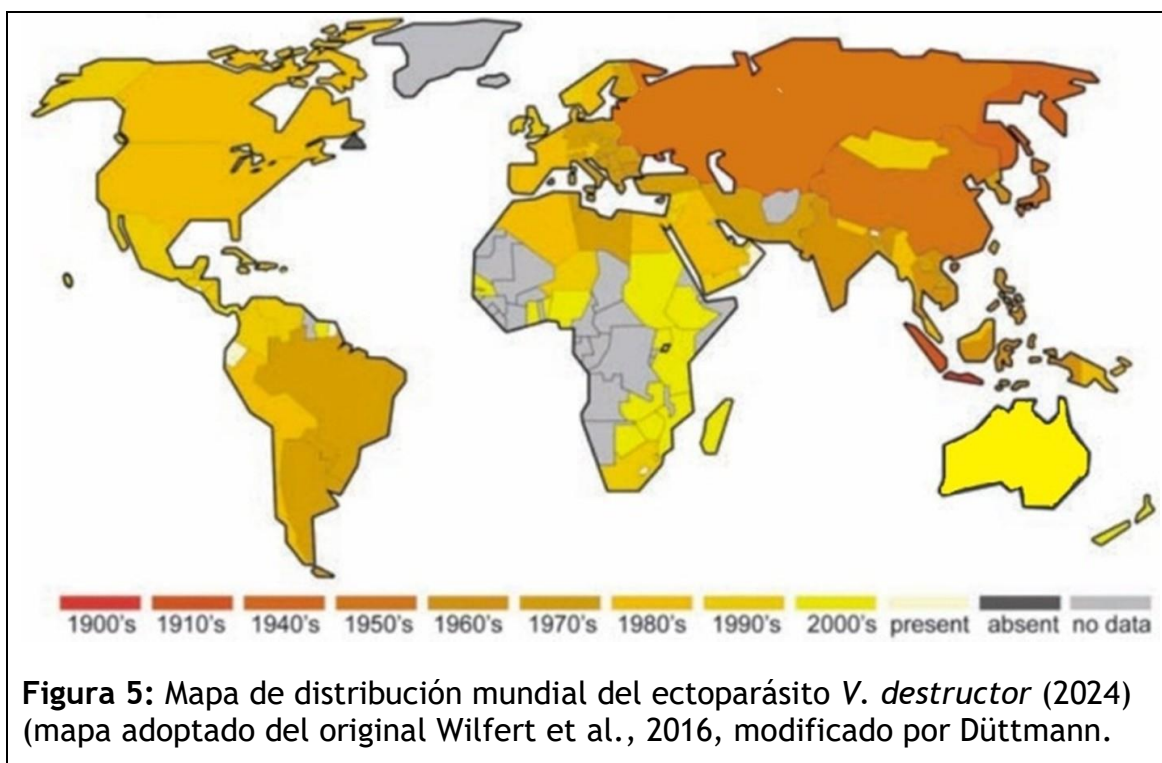
DISTRIBUCIÓN MUNDIAL DE VARROOSIS

La varroosis es una de las seis enfermedades de las abejas en la lista de la OMSA según el Código Sanitario para los Animales Terrestres, capítulo 1.3, artículo 1.3.8. (OMSA, 2023b).

En un análisis espacial - temporal de la varroosis de 2005 a 2018, Fanelli & Tizzani (2020) obtuvieron los siguientes resultados: el 53.4 % de los países reportaron la presencia del ácaro, al menos una vez, y la frecuencia relativa fue clasificada en cinco categorías según el estado de la enfermedad: 22 % como enzoóticos, 18 % como epizoóticos, 9 % como libres, 12 y 26 % respectivamente como enfermedad presente o ausente al menos una vez y 12 % de los países sin datos. En promedio, los países reportaron una incidencia estable de la enfermedad a lo largo del estudio y se observó una tendencia creciente, estadísticamente significativa, en el número de brotes por año, variable según las regiones climáticas. La utilización del término “brotes” pudiera ser discutible, del mismo modo que resulta inapropiado cuando se trata de garrapatas en animales mayores, ya que el método de diagnóstico tiene una modesta sensibilidad y esto se refleja en la existencia de numerosos falsos negativos.

La dinámica de las TIAs de *V. destructor* en abejas melíferas africanizadas en Brasil fue analizada con datos de diversas fuentes, entre los años 1977 y 2020, encontrando una diferencia significativa a lo largo de los años con una media de 3.8 ácaros por cada 100 abejas adultas. Se encontró una variación geográfica con una tendencia a infestaciones más altas en las regiones del sur del país. En general, no hubo indicios de un impacto negativo en la apicultura brasileña por la varroosis, con los principales factores favorables para una baja TIA en el clima tropical y subtropical, las condiciones ambientales con poco estrés nutricional, la genética de las abejas africanizadas y la genética de los ácaros. La condición de una baja TIA generalizada permite a la apicultura brasileña evitar la aplicación de tratamientos químicos y favorece una apicultura orgánica (Castilhos et al., 2023). Sin embargo, en un país tan grande y diverso, tal generalización ha sido cuestionada por los resultados de Mascena Peixoto et al. (2021), al comunicar TIAs de hasta 17 % en varios estados. En tales circunstancias, es posible sobrevivir, pero no obtener altas productividades.

En la distribución global de la varroosis (Figura 5), la variabilidad genética de las poblaciones de *V. destructor* es un factor determinante. Los estudios moleculares han revelado haplotipos y/o definido poblaciones particulares como haplogrupos, con los marcadores mitocondriales (ADNmt) como los más utilizados y el análisis de la región de 458 pb del gen COI (Navajas et al., 2010; Muntaabski et al., 2020). Existe consenso en que solo dos haplotipos están parasitando con éxito a *A. mellifera*: el haplotipo coreano/ruso (K1) altamente virulento y distribuido globalmente y el haplotipo japonés/tailandés (J1) reportado en Japón, Tailandia y parcialmente en las Américas. Debido a la reproducción con altos niveles de endogamia, *V. destructor* ha sido considerado como un parásito con bajo potencial evolutivo (Traynor et al., 2020), sin embargo, estudios recientes muestran que sus poblaciones son genéticamente más variables de lo que se pensaba y tienen la capacidad de evolucionar rápidamente en respuesta a presiones selectivas (Mondet et al., 2020).



En años sucesivos se ha observado una enérgica sustitución de las poblaciones del haplotipo J por las del K, claramente apreciada en Chile, Argentina y Brasil (Solignac et al., 2005; Maggi et al., 2012a; Muntaabski et al., 2020; Pinto et al., 2022). También Guerra et al. (2010) habían reportado el haplotipo K en varias localidades de Brasil, además de Cuba, México, Venezuela y Uruguay, al igual que Mendoza et al. (2020), en este último país, y hasta en Japón, la sustitución es ya casi total (Ogihara et al., 2020).

EPIDEMIOLOGÍA DE VARROOSIS

La relación entre abeja y ácaro respecto al grado de la infestación, depende de: 1) rasgos higiénicos versus rasgos infestantes; 2) aspectos de la dinámica de la población; y 3) aspectos fisiológicos. Dentro de la primera categoría, las habilidades sensoriales de ambos, parásito y hospedero, para reconocerse y actuar al respecto, son decisivas. El parásito logra infestar exitosamente a la colonia y la abeja trata de librarse de la carga parasitaria. El ácaro consigue detectar los sitios seguros en el cuerpo de la abeja para mantenerse en la fase forética y alcanza el momento adecuado para entrar a las celdas indicadas donde realiza su reproducción. Al otro lado, la abeja detecta la presencia del parásito en su fase forética y reproductiva. Adicionalmente, para lograr su meta, en ambos se desarrollaron adaptaciones morfológicas. El ácaro se ajusta perfectamente con su forma cóncava ventral a las curvaturas de la abeja al momento de fijarse en los espacios intersegmentales, logra con su estructura introducirse en la celda con la cría y alimentarse. La habilidad morfométrica y conductual de liberarse del parásito que evolucionó es un aspecto fundamental del proceso de la coadaptación y tiene un grado de desarrollo diferente en ambas poblaciones. La confrontación se traduce en el éxito reproductivo del parásito y la inmunidad social de la abeja. El segundo factor que influye es la dinámica poblacional del hospedero y en este sentido, las abejas africanizadas poseen una tolerancia exclusiva al ácaro (Techer et al., 2019).

Entre las características relacionadas con la supervivencia de las abejas melíferas con infestaciones de *Varroa*, cinco son de abejas adultas (sensibilidad higiénica a *Varroa* (SHV), acicalamiento, reoperculado, CH y tamaño de las celdas), cuatro de la cría (no reproducción del ácaro (MNR), duración del período de operculación, atractividad de la cría y apoptosis social a través de una alta susceptibilidad de la cría), dos características de colonia (enjambrazón, tamaño de la colonia), tres características del ácaro (virulencia, fertilidad y fecundidad) y tres características de tolerancia (tolerancia a los patógenos, automedicación a través de propóleos y baja

susceptibilidad de la cría), que en conjunto, actúan como rasgos reguladores (Mondet et al., 2020; Ihle et al., 2022).

Se ha descrito la dinámica coevolutiva como un proceso geográfico, una combinación de gradientes físicos e interacciones entre especies, de manera que las especies se involucran constantemente en fuertes interacciones, como polinizadores-plantas, depredadores-presas y parásitos-hospederos. Enfocado en la interacción parásitos-hospederos, existe una visión de la virulencia parasitaria que difiere de la forma clásica de adaptación entre el parásito y el hospedero; es la perspectiva geográfica la que establece que la virulencia parasitaria y las defensas del hospedero evolucionan de manera diferente bajo diferentes condiciones geo-climáticas (Thompson, 2005).

Desde la perspectiva evolutiva, las consecuencias de la intervención humana en los ecosistemas, como la fragmentación y destrucción de hábitats específicos de especies, son relativamente recientes. El mosaico geográfico natural da paso al mosaico hecho por el ser humano y una interrupción en el intercambio genético asociada con la fragmentación de la población hospedera puede conducir a una mayor densidad de parásitos coevolutivos (Buckingham & Ashby, 2022). Sin embargo, ese no es el único modo de interacción con la especie apícola, al tratarse de una ganadería sujeta a diversas condiciones de manejo, incluidas medidas de control del parásito, que siempre ejercen efectos secundarios complejos sobre las colonias.

COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO VERSUS TASA DE INFESTACIÓN DE VARROOSIS

Las medidas para controlar la varroosis se basan en la aplicación de tratamientos Anti-*Varroa* y en la selección de colonias con características de resistencia / tolerancia para trabajar con colmenas que no necesitan constantemente la aplicación de tratamientos. La vía medicamentosa es un camino cómodo, pero lleno de inconvenientes e insostenible (Pérez & Demedio, 2017).

La resistencia del hospedero se define como su capacidad de reducir y eliminar una infección (habilidad de acción sobre el parásito), mientras la tolerancia es la capacidad para reducir el efecto del parásito (aptitud física propia) (Schmid-Hempel, 2011).

Si se parte del concepto aún más general de salud como un estado de equilibrio resultante de las interacciones Parásito - Hospedero - Medio Ambiente, mediado por la actividad humana, resulta difícil determinar el límite entre resistencia y tolerancia. En el caso *Varroa*, se da la paradoja de que el estado nutricional del hospedero no actúa de igual modo que en otras parasitosis, porque la abundancia de alimentos estimula el obrado de panales e incrementa la cantidad de cría, de manera que los parásitos disponen de un nicho más amplio para su reproducción.

Los programas de cría de abejas han resultado en una serie de líneas conocidas y utilizadas comercialmente. En los EE. UU., las tres líneas "tolerantes" son: 1) Abejas con Sensibilidad Higiénica a *Varroa* (VSH); 2) Línea de abejas melíferas rusas y 3) Líneas higiénicas de Minnesota (Spivak et al., 2009; Rinderer et al., 2010). En Europa, se crearon varias líneas tolerantes mediante selección natural a partir de abejas locales, como en Francia (Kefuss et al., 2015) y Noruega (Cuypers, 2018). En Cuba, más de 200,000 colmenas con ancestros europeos mantienen productividad cercana a 50 kg/año, con prohibición total del uso de cualquier medicamento, gracias al sistema de manejo integrado de la salud, con un programa nacional de selección y mejoramiento genético de colmenas localmente adaptadas (APICUBA, 2021; García et al., 2021).

Entre los rasgos de selección como mecanismo, no solo Anti-*Varroa*, sino para prevenir el desarrollo de enfermedades de la cría, se encuentra el CH. En Israel (Seltzer et al., 2022a.), tras un estudio de campo por cinco años, ratificaron la heredabilidad del mecanismo CH, con un efecto materno significativo sobre la carga parasitaria, al observar que las colonias fundadas con hijas de reinas higiénicas mostraron índices de infestación significativamente menores, sin otros efectos sobre la cosecha de miel ni el tamaño de la población de abejas. Concluyen que, al medir los beneficios directos del CH para el desempeño de las colonias, la crianza con base en este rasgo las hace más resistentes al ácaro, lo que resulta prometedor para el éxito de su programa de mejoramiento, en clima mediterráneo. En el mismo escenario Seltzer et al. (2022b.) comprobaron la significativa contribución de ambos padres al fenotipo de la descendencia y en particular, la consistente y significativa influencia de los zánganos a través de generaciones de la progenie. Enfatizaron en el gran potencial de los zánganos para propagar un elevado CH en poblaciones locales.

Para Leclercq et al. (2017), el notable incremento de las publicaciones sobre el CH de *A. mellifera* frente al ácaro *Varroa* ha alimentado el debate sobre la eficiencia de este mecanismo contra el parásito. A través de una revisión de esos artículos determinaron que sus beneficios parecen pesar más que los costos, tanto para las colmenas como para los apicultores. No obstante, no hay consenso sobre qué método es mejor, por congelación o por punción de la cría. Perrin et al. (2020) observaron diferencias entre los resultados obtenidos por ambos métodos, pero solo la prueba de punción obtuvo un buen valor predictivo sobre el mecanismo de supresión de la reproducción del ácaro (SMR), con sensibilidad de 0.90 y especificidad de 0.727.

Gracias a su aislamiento geográfico, la apicultura chilena ha mantenido su población de abejas originarias de Europa libre de africanización y Araneda et al. (2008), en un apiario de 21 colmenas, aplicaron la prueba de punción de la cría de manera seriada y determinaron un bajo y variable CH (20-80 %), con solo dos colonias que rebasaron el último valor. La TIA fue 4.5 %, sin relación significativa con el CH.

En Cuba, Pérez & Demedio (2014) obtuvieron un porcentaje de limpieza total de 92 % por el método de la punción, en un estudio seriado de un centro de cría de reinas, con abejas de origen europeo seleccionadas para este rasgo, mientras en Ecuador, Álvarez (2018) encontró que abejas africanizadas a más de 2000 m, también por el mismo método, mostraron elevada variabilidad entre dos apiarios, 95 y 52 %, respectivamente y en este mismo país, Masaquiza et al. (2019) observaron entre 72 y 87 %, también en abejas africanizadas.

En Brasil, Moreira et al. (2017) determinaron TIAs de 7.24 y 5.25 % en dos localidades de Brasil y las consideraron niveles bajos, menores a 15 % y por tanto, sin riesgo para las colonias. Atribuyen las diferencias a factores como el CH, las razas de la abeja, la habilidad reproductiva y tasa de mortalidad del ácaro, así como posiblemente factores climáticos y ambientales de cada región. En este propio país, Schafaschek et al. (2019) trabajaron con tres grupos de colonias africanizadas de tres orígenes y concluyeron que las selectas para CH mostraron los más altos valores para este rasgo (92 %) y los más bajos valores de reproducción del ácaro (1.7 total y 0.9 efectivo). Las originadas de enjambres silvestres expresaron los menores valores de CH (78 %) y la mayor tasa de reproducción del ácaro (12.6 total y 5.3 efectiva).

En Etiopía, Gebremedhn et al. (2019), al estudiar colmenas consideradas de la nueva subespecie *A. m. simensis* (Meixner et al., 2011), no claramente diferenciada de *A. m. scutellata*, observaron menores TIAs en colonias tradicionales rústicas que en las modernizadas, originadas de enjambres capturados.

Del mismo modo, las TIAs por *Varroa* fueron menores en las tradicionales, pero no se apreció influencia del tamaño de las celdas. El CH, evaluado por la prueba de punción de la cría, alcanzó 92.2 % en 24 h y estuvo negativamente correlacionado con la TIA.

En un centro de cría de reinas de Costa Rica, Arias (2019) realizó un trabajo de selección con un reducido número de colmenas y observó que el 43 % mostraron un CH por encima de 95 % mediante la prueba de punción de la cría y el resto alcanzó 75-95 %, por lo que lo consideró favorable para el trabajo de selección.

En resumen, la extensión de la infestación y los efectos de la varroosis dependen de los factores evidentes según la revisión bibliográfica. En América, la interacción entre *V. destructor* y *A. mellifera* se caracteriza por diferentes procesos adaptativos ya que las dos especies no eran nativas del continente. De manera similar a la situación sanitaria mundial, las TIAs de varroosis en Nicaragua varían ampliamente y se requiere una investigación exhaustiva para responder a las complejidades.

ABREVIATURAS, SIGLAS Y ACRÓNIMOS

ADNmt	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
AmNrx1	Gen neurexina-1 de <i>Apis mellifera</i>
APICUBA	Empresa Apícola Cubana
ARNtleu	Ácido ribonucleico de transferencia, leucina (región intergénica)
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool (Herramienta básica de búsqueda de alineación local)
CEVEDI	Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación, UNAN-León, Nicaragua
CH	Comportamiento Higiénico (Hygienic Behavior - HB)
CD	Comportamiento Defensivo (Defensive Behavior - DB)
COI-COII	Citocromo oxidasa subunidad I y II
<i>Dral</i>	Enzima de restricción, extraída y purificada de <i>Deinococcus radiophilus</i>
FASTA	Software para el alineamiento de secuencias de ADN y proteínas
IPSA	Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria, Nicaragua
loci	la posición de un gen o una mutación en un cromosoma

MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
MNR	Mite non-reproduction (No reproducción del ácaro)
NCBI	National Center or Biotechnology Information
OIE	Oficina Internacional de las Epizootias
OMSA	Organización Mundial de Sanidad Animal
PCR	Polymerase chain reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)
PMI	Programa de Manejo Integrado
QTL	Quantitative trait loci (locus de rasgo cuantitativo)
RAPD	Random Amplification of Polymorphic DNA (Amplificación aleatoria de ADN polimórfico)
SacI	Enzima de restricción, extraída y purificada de <i>Streptomyces achromogenes</i>
SMR	Suppression of mite reproduction (supresión de la reproducción del ácaro)
SNP	Single-nucleotide polymorphism (Polimorfismo de nucleótido único)
SSR	Secuencias Simples Repetidas (Short tandem repeat - STR)
SHV	Sensibilidad Higiénica a <i>Varroa</i> (<i>Varroa</i> Sensitive Hygiene - VSH)
TIA	Tasa de infestación en abejas adultas

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo de la tesis doctoral se realizó con un estudio de corte transversal (2013 a 2016) para evaluar la interacción parásito - hospedero - factores extrínsecos de la varroosis en Nicaragua con el fin de determinar si existe una asociación entre las características morfométricas y genéticas del parásito *V. destructor* y las características morfométricas, genéticas y conductuales de *A. mellifera*, así como la relación de estas características según la zona de ubicación de los apiarios y del manejo apícola aplicado.

Las actividades apícolas en Nicaragua están generalmente dominadas por un clima tropical. Sin embargo, el presente estudio distingue tres estratos geoclimáticos diferentes en base a la clasificación del Índice de Confort Climático del Instituto Nicaragüense de Estudios Territoriales (INETER) (Figura 6). Los estratos muestran diferencias en la altitud de los apiarios, temperatura y precipitación. Alrededor del 80 % de las actividades apícolas del país se desarrollan en estas zonas.

La zona con mayor importancia económica en la apicultura nicaragüense es el Occidente, región del Pacífico Norte (estrato 1) con un clima de sabana tropical (temperatura media de 26.8 °C y ocasionalmente alcanzando hasta 45 °C). Los apiarios se encuentran en sitios de baja elevación de 20 a 100 m, excepcionalmente apiarios en la cadena volcánica a 290 m. En el orden de importancia económica sigue la zona Central (estrato 2), con la diferencia que parcialmente se manifiesta un clima monzónico tropical durante el verano (temperatura media de 24.9 °C). La ubicación de los apiarios es levemente más alta que en el Occidente con sitios de apiarios de 165 a 375 m. La tercera zona con mayor cantidad de apicultores, pero con menor tamaño empresarial, es en el Norte (estrato 3) con clima tropical monzónico (temperatura media de 21.6 °C y ocasionalmente temperaturas bajas hasta 14 °C). Las ubicaciones de apiarios varían en altitudes desde 280 hasta 1009 m (Figura 6).

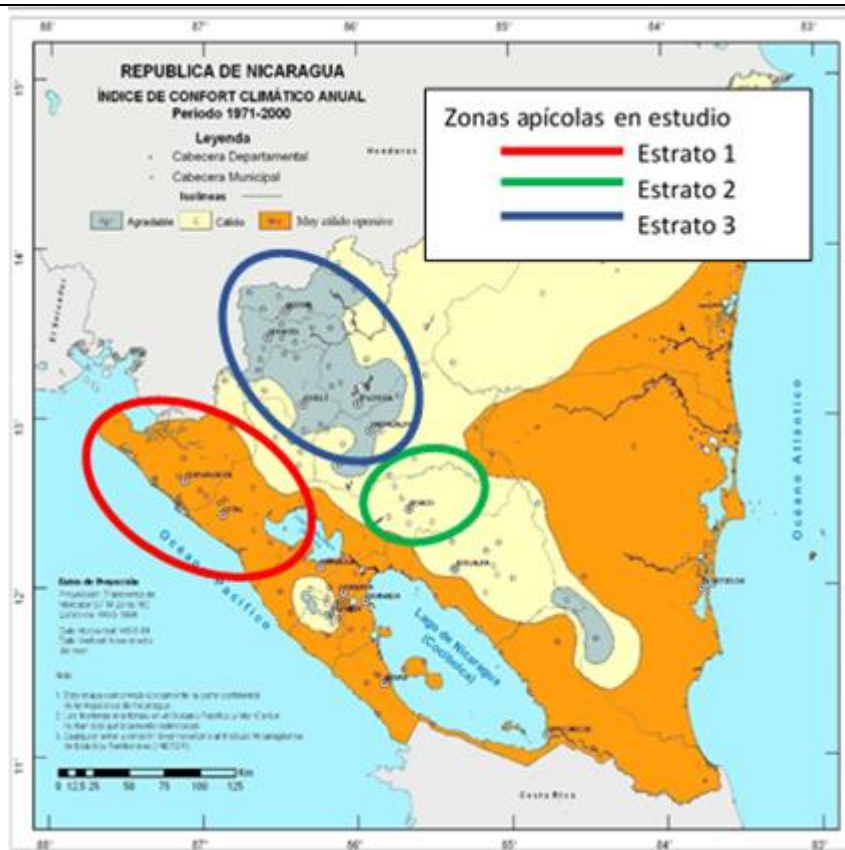


Figura 6: Estratos del estudio 2013-16, según el Índice de Confort Climático Anual, Nicaragua (Nota: mapa Dirección General de Meteorología, INETER, (2005), modificado por Düttmann).

Datos que indican la cantidad de apicultores por departamento y zona están en el Tabla 6, su nivel empresarial determinado por la cantidad de colmenas que poseen (Tabla 7), datos del comercio de miel en Centroamérica y el Caribe (Tabla 8), línea de base de temperatura y precipitación del último informe del treintañal 1970 - 2000, Nicaragua (Figuras 7 y 8).

Tabla 6. Número de apicultores por departamento y zona.

Departamento	Apicultores	Zona	Apicultores
León	244	Occidente	324
Chinandega	80		
Boaco	262	Central	263
Chontales	1		
Matagalpa	119	Norte	456
Jinotega	105		
Madriz	99		
Estelí	75		
Nueva Segovia	58		
Managua	109	Pacífico Sur	242
Rivas	71		
Masaya	29		
Granada	17		
Carazo	16		
TOTAL	1285		1285

Fuente: Censo Apícola (2012), Nicaragua.

Tamaño y selección de la muestra.

La unidad de análisis fue la colmena. El muestreo probabilístico realizado fue estratificado proporcional según las tres zonas geo-climáticas con mayor actividad apícola. El cálculo del tamaño de la muestra se realizó a través del programa EpiDat3.1 el cual indicó que la cantidad de colmenas a evaluar son n=150, según los siguientes parámetros:

1. Tamaño de la población: 16,200 colmenas de dos cuerpos
2. Proporción estimada: 89 % cantidad de colmenas infestadas con *Varroa* spp.
3. Error aceptado: 5 %
4. Nivel de confianza: 95 %

Tabla 7. Número de apicultores y porcentaje de colmenas según zona, Nicaragua.

Zona	2012* apicultores	2018** apicultores	≤ 20 colmenas	21 a 50 colmenas	51 a 100 colmenas	> 100 colmenas
Occidente	324	470	68.9	17.3	8.9	4.9
Central	263	138	58.7	31.2	3.6	6.5
Norte	456	586	80.5	14.5	1.9	3.1
Pacífico Sur	242	135	81.5	14.8	3.7	0
RACCS		4	75	0	25	0
	1285	1333				

Fuente: * Censo Apícola (2012); **Comunicación personal con el Director Área Apícola del IPSA, (2022). Nota: el número de apicultores en Nicaragua subió a 1550 hasta el año 2023 y la cantidad de colmenas sobrepasó los 53,000.

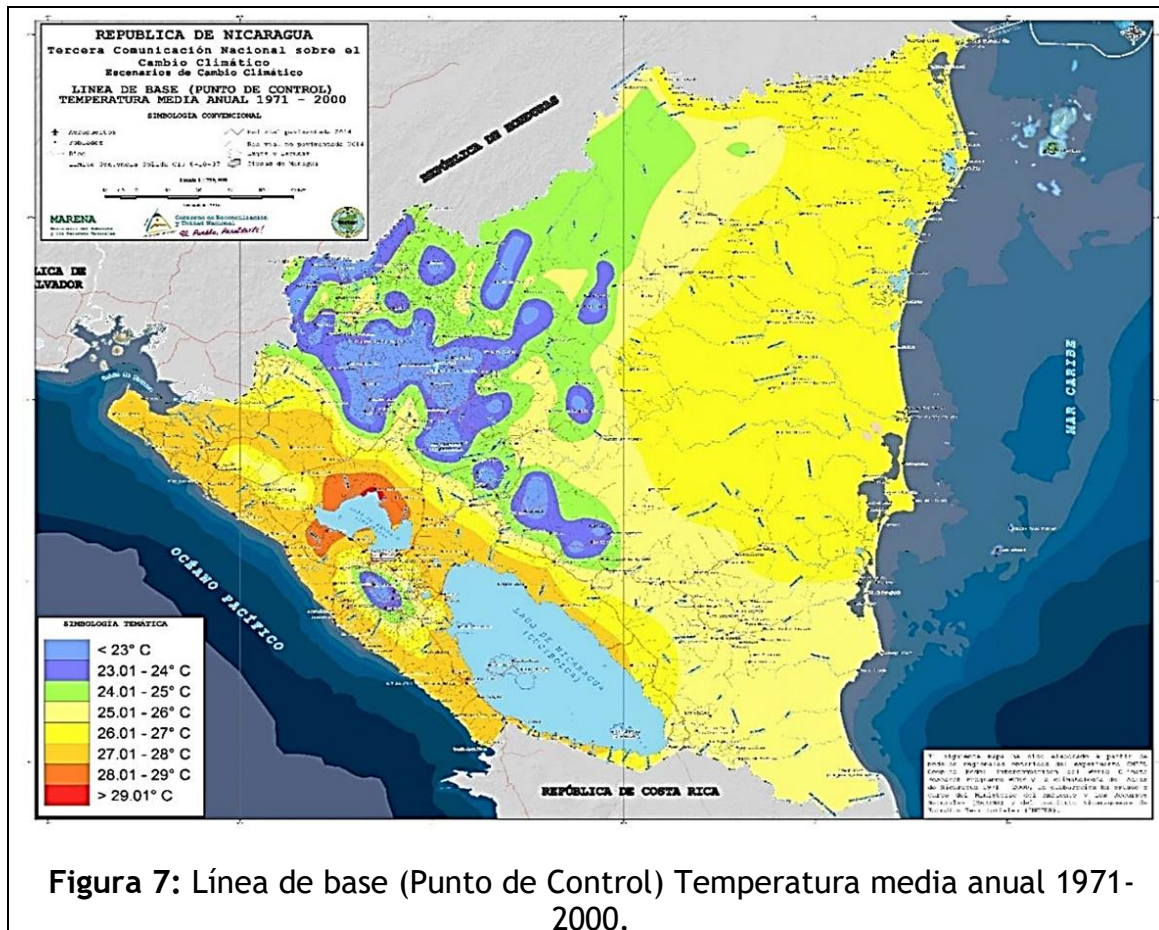
Tabla 8. Datos sobre el comercio de miel en Centroamérica y el Caribe.

a. Exportación de miel en \$	2021	2020	2019	2018	2017
Nicaragua	2.85 M	1.73 M	2.67 M	4.05 M	2.93 M
El Salvador	3.72 M	2.13 M	2.09 M	4.46 M	3.65 M
Guatemala	4.37 M	3.85 M	3.81 M	5 M	4.6 M
Costa Rica	611 K	258 K	27.6 K	n.d.	n.d.
Cuba	19.4 M	15.1 M	14.5 M	11.7 M	19.1 M

b. % Exportación miel/exportaciones totales

Cuba	1.79
Nicaragua	0.041
El Salvador	0.054
Guatemala	0.031
Costa Rica	0.0044

Fuente: OEC (Observatorio de la Complejidad Económica); n.d.: no hay datos



1. Determinación del tamaño de la población: durante el Censo Apícola (datos no publicados (Lic. Ana Cristina Miranda, 2012, directora del área Apícola del IPSA (Instituto de Protección y Sanidad Animal). Managua, Nicaragua, comunicación personal) la cantidad de las colmenas en producción variaron en los dos ciclos productivos evaluados entre 21,000 y 26,000 en toda Nicaragua (actividades apícolas en 14 de 17 departamentos). En las tres zonas determinadas para el estudio que comprenden los siete departamentos más activos en apicultura, el número de colmenas fue de 19,000 en los dos ciclos, que representan el 79 % de las 24,000 colmenas del país. Las zonas Occidente (Pacífico Norte), zona Central y zona Norte, fueron seleccionadas, porque son las principales en producción apícola y además difieren en características geográficas y climatológicas. La unidad de análisis fueron las colmenas de dos cuerpos, las cuales a nivel nacional fueron 21,000, mientras para las zonas seleccionadas la cantidad a dos alzas fue 16,200, que constituye el 77 % del total nacional, según el Censo Apícola 2012 (Tabla 9).

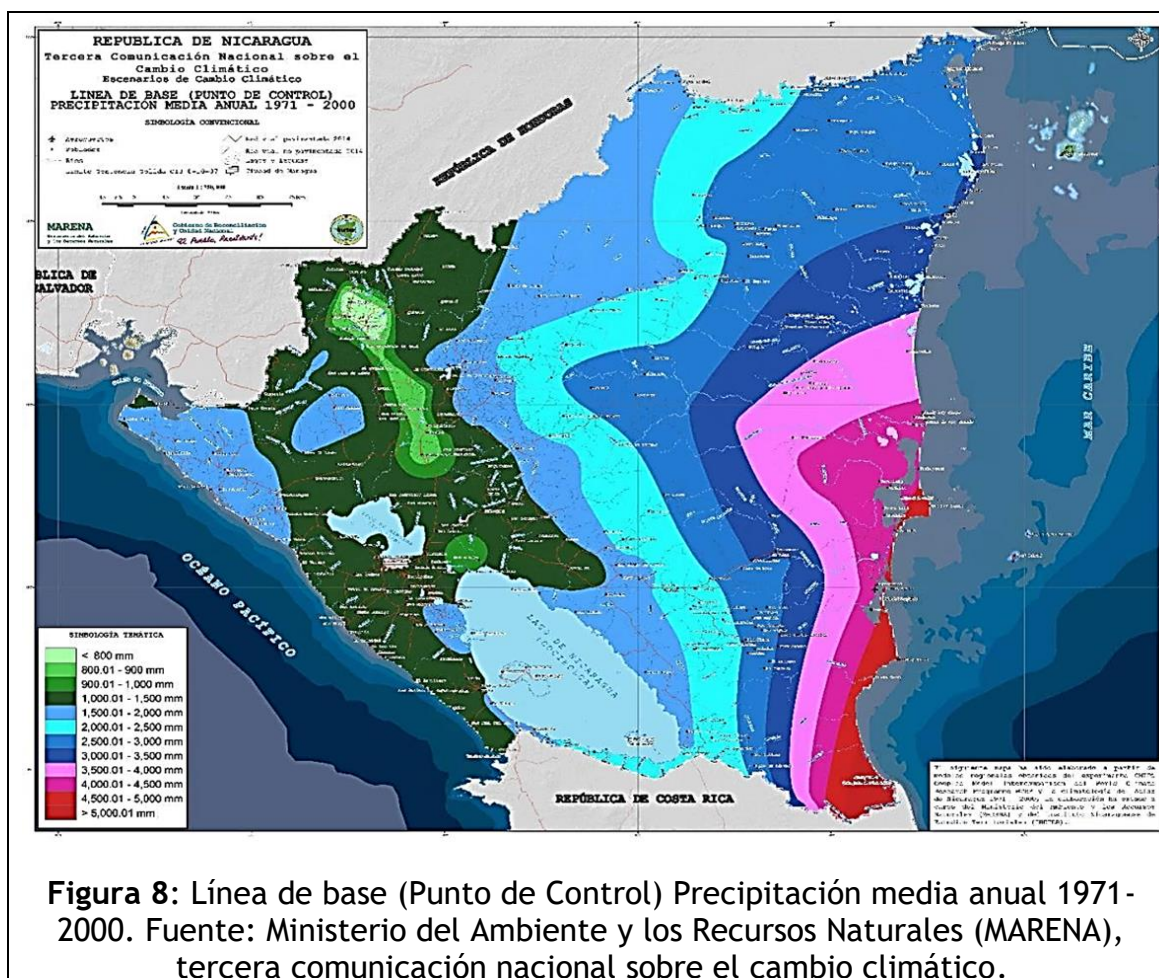


Figura 8: Línea de base (Punto de Control) Precipitación media anual 1971-2000. Fuente: Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales (MARENA), tercera comunicación nacional sobre el cambio climático.

2. Proporción estimada: para calcular la muestra en estudios de corte transversal la proporción es un valor estimado. La proporción se estimó en 89 % relacionándolo al promedio de las colmenas infestadas con *Varroa* en los años 2010 al 2012 en 600 colmenas ubicadas en los departamentos que se determinaron para la presente investigación. La referencia de esta prevalencia son las colmenas revisadas por la Vigilancia Epidemiológica del MAG-FOR (hoy IPSA).
3. Precisión: el margen del error admitido fue 5 %, parámetro generalmente aplicado.
4. Nivel de confianza: el valor del nivel de confianza se fijó en 95 %, parámetro generalmente aplicado.

Para asignar el tamaño de muestras a cada estrato se calculó la fracción muestral k .

$$k = \frac{n}{N},$$

donde n = tamaño de la muestra calculada, N = cantidad de colmenas en estudio:

$$k = \frac{150}{16\ 200} = 0.00926$$

Tabla 9. Cantidad de colmenas por departamento durante dos ciclos productivos, 2012.

	Primer ciclo				Segundo ciclo			
Departamento	NUC	CC	2C	3C	NUC	CC	2C	3C
León*	7	175	4720	6	17	480	4931	27
Chinandega*		463	2730	38		586	2715	
Boaco*	341	371	3794	78	276	1218	4997	159
Chontales						30	50	
Matagalpa*	20	161	1354	1	31	435	1542	136
Jinotega*	10	23	923			53	953	10
Madriz*		49	1032			95	1123	2
Estelí*		37	538	13	4	61	521	10
Nueva Segovia		3	339				415	
Managua		133	3346	20	5	252	3861	49
Rivas	5	48	435		7	52	444	25
Masaya		19	145		1	34	273	7
Granada			387			82	326	52
Carazo			72				77	
Total / categoría	383	1482	19815	156	341	3378	22228	477
Total / ciclo productivo	21,836				26,424			

Nota: NUC: núcleos; CC: cámara de cría; 2C: dos cuerpos; 3C: tres cuerpos;
*: departamento en estudio (fuente: Censo Apícola 2012, Nicaragua).

Según la cantidad de colmenas en los tres estratos, el número de muestras asignadas a cada estrato, calculado con la fracción muestral (0.00926) para un total de 150 muestras, determinó la distribución del número de colmenas a estudiar con el siguiente resultado: 69 colmenas en el Occidente (de 7500),

40 en la zona Central (de 4300) y 41 colmenas en el Norte (de 4400). Determinado el tamaño de muestra, se evaluó la disposición y condiciones de los apicultores para estar dentro del estudio. Se utilizó la lista de contactos de los estudios previos realizados en apiarios de las tres zonas, con énfasis en el cubrimiento de diferentes áreas con el muestreo. Finalmente se trabajó en 27 apiarios de 14 apicultores individuales y 13 apiarios manejados por cooperativas, todos de propiedad privada (Tabla 10).

Tabla 10. Muestreo aleatorio estratificado por zona y departamento, estudio de corte transversal 2013-16, Nicaragua.

Estudio de corte transversal 2015-16, Nicaragua					
Estrato	Zona	Colmenas dos cuerpos	Muestras según k	Departamento	Muestras en estudio
1	Occidente	7500	69	León	39
				Chinandega	30
2	Central	4300	40	Boaco	40
3	Norte	4400	41	Matagalpa	15
				Jinotega	15
				Madriz	8
				Estelí	3
TOTAL		16200	150		150

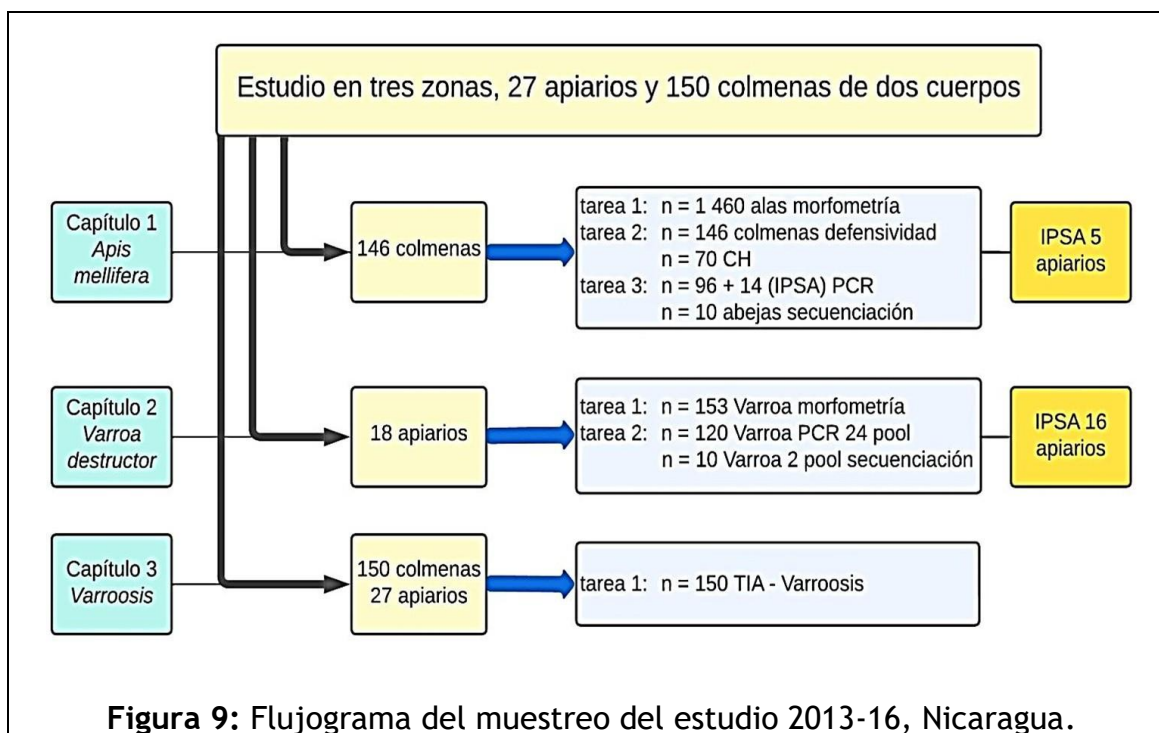
Fuente: Censo Apícola (2012), Nicaragua.

La selección de las colmenas dentro de los apiarios se realizó con apoyo de los propietarios para cumplir con los criterios de inclusión (a dos cuerpos y no huérfanas).

Por solicitud del IPSA, se procesaron adicionalmente sitios de su interés como las zonas fronterizas Sur y Norte, la parte oeste de la Región Autónoma de la Costa Caribe Sur y la isla Ometepe, en el lago Nicaragua para el análisis de la genética de las abejas melíferas; además, se agregaron ácaros de 16 apiarios centinelas para determinar los morfo y haplotipos de *Varroa* (Figura 9).

Recolección de los datos: los datos de los apiarios y las colmenas se registraron incluyendo información sobre las condiciones generales del apiario, el manejo técnico de los apicultores, con datos relevantes para el tema estudiado como los métodos de multiplicar las colmenas y el manejo de la reina; además información específica de cada colmena incluida en el estudio (fortaleza, patrón de postura, estado de los panales, presencia de cría de zánganos), así como el estado sanitario general de las colmenas y presencia de signos clínicos de otras enfermedades.

Para recopilar datos, se elaboró un cuestionario que fue aprobado en un estudio piloto antes de su aplicación en el estudio (Figura 10).



El estudio contribuyó a obtener los siguientes resultados:

- Características geo-climáticas
- Características de las colmenas
- Datos sobre el manejo zootécnico
- Longitud del ala anterior derecha de *A. mellifera*
- Grado de africanización
- Rasgos conductuales de *A. mellifera*
- Mitotipos de *A. mellifera*
- Características morfométricas de *Varroa*
- Haplotipos del ácaro *Varroa*
- Tasas de infestación por *Varroa* (TIA)
- Factores asociados a la TIA.

La estadística aplicada de cada capítulo se presenta, resumida, en el acápite siguiente.

Página 1 Datos generales del apiario		Página 2 Revisión de las colmenas seleccionadas		
Código apiario		Identificación colmena		
Ficha no		Origen colmena		
Fecha muestreo		Zona captura		
Propietario		Zona compra		
Dirección		Zona crianza propia		
Teléfono		Utilidad colmena		
Apiarios # total		Origen lamina		
Ubicación apiario		Rendimiento kg		
GPS		Fortaleza		
Departamento		Postura		
Municipio		Estado panal cc		
Entrada apiario		Uniformidad		
Salida apiario		Cría de zángano		
Investigador		Cambio reina		
Apicultor acompañante		Ultimo cambio		
Condición clima		Origen reina		
Condiciones apiario		Celdas vacías inicio		
Humedad		Celdas vacías final		
Fuente agua		Comportamiento parcial		
Distancia agua		# celda sucia		
# cámara cría		Nivel defensivo		
# dos cuerpos		Sitio prueba defensiva		
# tres cuerpos		Primer agujoneo		
# núcleos		Ataque masiva		
Trashumancia, km		Observaciones:		
Apiario vecino, km				
Aplicación tratamiento				
Floración actual				
Alimentación artificial				

Figura 10: Instrumento para la recolección de datos durante el estudio (recorte).

Estadística descriptiva y analítica aplicada en el estudio.

1. Estadística descriptiva en frecuencias absolutas y relativas para las mediciones de características de abejas y ácaros, las condiciones generales del apiario y específicos de las colmenas, el manejo técnico de las colmenas, así como las TIAs
2. Prueba ANOVA para la longitud de las alas en relación a las zonas, departamentos, municipios de muestreo, mitotipo de la abeja, características de las colmenas y su manejo; y su relación a la altura de los apiarios.
3. Prueba de correlación de Pearson para relacionar las medias de longitud de las alas anteriores con la altitud de los sitios de muestreo.
4. Prueba *t de Student* para comparar variables cuantitativas con distribución normal como la longitud de las alas anteriores y la altura de ubicación de los apiarios CAP 1; caracteres de los ácaros.
5. Pruebas de Chi Cuadrado (χ^2) para mostrar asociación entre la distribución geográfica de los mitotipos y así como las características de las colmenas y su manejo.
6. Prueba exacta de Fisher para comparar la frecuencia de mitotipos entre 10 departamentos muestreados del país - CAP 1 y para comparar la frecuencia de morfotipos entre 10 departamentos del país.
7. Prueba ANOVA con prueba post-hoc de Tukey de diferencia honestamente significativa (HSD) para diferentes caracteres morfométricos y tasas de infestación, relacionadas con las zonas de muestreo.
8. Prueba de Kruskal-Wallis para mostrar asociación de la TIA con características de los anfitriones de varroosis y condiciones geo-climáticas.
9. Prueba rho de Spearman para comparar variables cuantitativas sin distribución normal como la TIA.
10. Análisis evolutivos en MEGA11 para confirmar y comparar los mitotipos determinados.
11. Estimación de la divergencia evolucionaria entre los mitotipos seleccionados de *A. mellifera*.
12. Análisis de conglomerados jerárquicos según el método de Ward (Distancia euclidiana al cuadrado) para la identificación de los morfotipos de *V. destructor*.

RESULTADOS

Grado de africanización de las colmenas

Introducción

Debido al CD observado de las abejas melíferas en Nicaragua durante las últimas cuatro décadas, se asume un alto grado de africanización en las poblaciones manejadas y silvestres. La apicultura tiene poco nivel tecnificado y la mayoría de los apicultores no practican crianza selectiva. El método frecuente de multiplicar las colmenas es por captura de enjambres asilvestrados, con la consecuencia que hubo un proceso de selección natural en beneficio de la abeja africanizada que se reportó en 1984 por primera vez (Swezey, 1986).

Aún no hay información publicada sobre la morfología y variabilidad genética en las poblaciones de *A. mellifera* de Nicaragua. Los resultados del presente estudio podrían ser utilizados para futuros programas de mejoramiento genético incluyendo los rasgos positivos de la abeja presente y atenuando los negativos. Los apicultores nicaragüenses conocieron las ventajas de trabajar las “nuevas abejas”, por ejemplo, su resistencia y tolerancia a enfermedades, las reinas prolíficas y supuesta mayor productividad de miel, con un manejo apropiado (Guzmán-Novoa, et al., 2011).

Objetivo

Determinar el grado de africanización según los rasgos biométricos, conductuales y genéticos en las colmenas de *A. mellifera* en tres regiones de Nicaragua.

Materiales y métodos

Tamaño de las muestras: para clasificar *A. mellifera* se incluyeron los resultados de 146 colmenas (26 apiarios): 67 colmenas (7 apiarios) en el Occidente, Pacífico Norte, 38 colmenas (6 apiarios) en la zona Central y 41 colmenas (13 apiarios) en la zona Norte, del total de 150 muestras tomadas durante el estudio (ver Materiales y Métodos generales 3.1.3).

Con la modificación de utilizar alcohol en lugar de agua con jabón, se tomó una muestra de ~ 250 abejas obreras por colonia, de tres marcos diferentes de la cámara de cría según el método descrito por De Jong et al. (1982).

Las abejas fueron recolectadas en un recipiente plástico de boca ancha (500 ml) que contenía 150 ml de etanol al 95 %. Las muestras debidamente etiquetadas con datos para su identificación, fueron llevadas al Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación (CEVEDI), en la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinarias (ECAV), Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León (UNAN-León) para su posterior análisis. Además de las abejas (diagnóstico morfométrico y genético), se obtuvieron del mismo muestreo los ácaros para los demás análisis: diagnóstico morfométrico y molecular de los ácaros *Varroa* y para el cálculo de los índices de infestación de varroosis. Para obtener los datos sobre el comportamiento de las abejas, se aplicaron las pruebas para determinar el CD y el CH de la colonia (acápite siguiente).

Identificación fenotípica (color abdominal y morfometría del ala).

De las 150 muestras tomadas durante el estudio, 146 fueron aptas para incluirlas en el diagnóstico y análisis biométrico. Aunque la variabilidad del color abdominal distinguida por la variación de la pigmentación de los tergitos abdominales y del escutelo, no se utiliza como principal característica de discriminación, es un rasgo óptico que demuestra diversidad fenotípica dentro de la colonia. La simple observación de la variación bimodal entre abejas “amarillas” y “oscuras” en la misma colmena indica homogeneidad o diversidad (Meixner et al., 2013; Ruttner, 2013). Para documentar la uniformidad o diversidad del patrón de color abdominal, se tomaron fotografías de un conjunto de las abejas recolectadas dentro de una muestra.

La medición de la longitud del ala anterior derecha como un carácter único, es una herramienta eficaz que discrimina a las abejas africanizadas de las europeas; se realizó una identificación morfométrica simple descrita por Rinderer et al. (1986). Se midieron 10 alas de 10 abejas por muestra (n = 1460); el parámetro de selección de las abejas, se determinó por el fenotipo del color abdominal (en el caso de heterogeneidad: cinco abejas oscuras y cinco amarillas). El ala anterior derecha de cada espécimen seleccionado se extrajo del alinotum (placa dorsal del exoesqueleto torácico) sin dañar los escleritos que juntan el ala al tórax. Las alas extraídas se montaron en un portaobjetos, fijadas con esmalte transparente (30 unidades por portaobjeto). Las alas fijadas en los portaobjetos fueron fotografiadas; a cada portaobjeto se le montó una regla para asegurar la correcta escala en la medición con el programa Image Tool 3. Para la evaluación óptica se utilizó un estereoscopio digital con cámara digital de la marca Rohs (Figura 11).

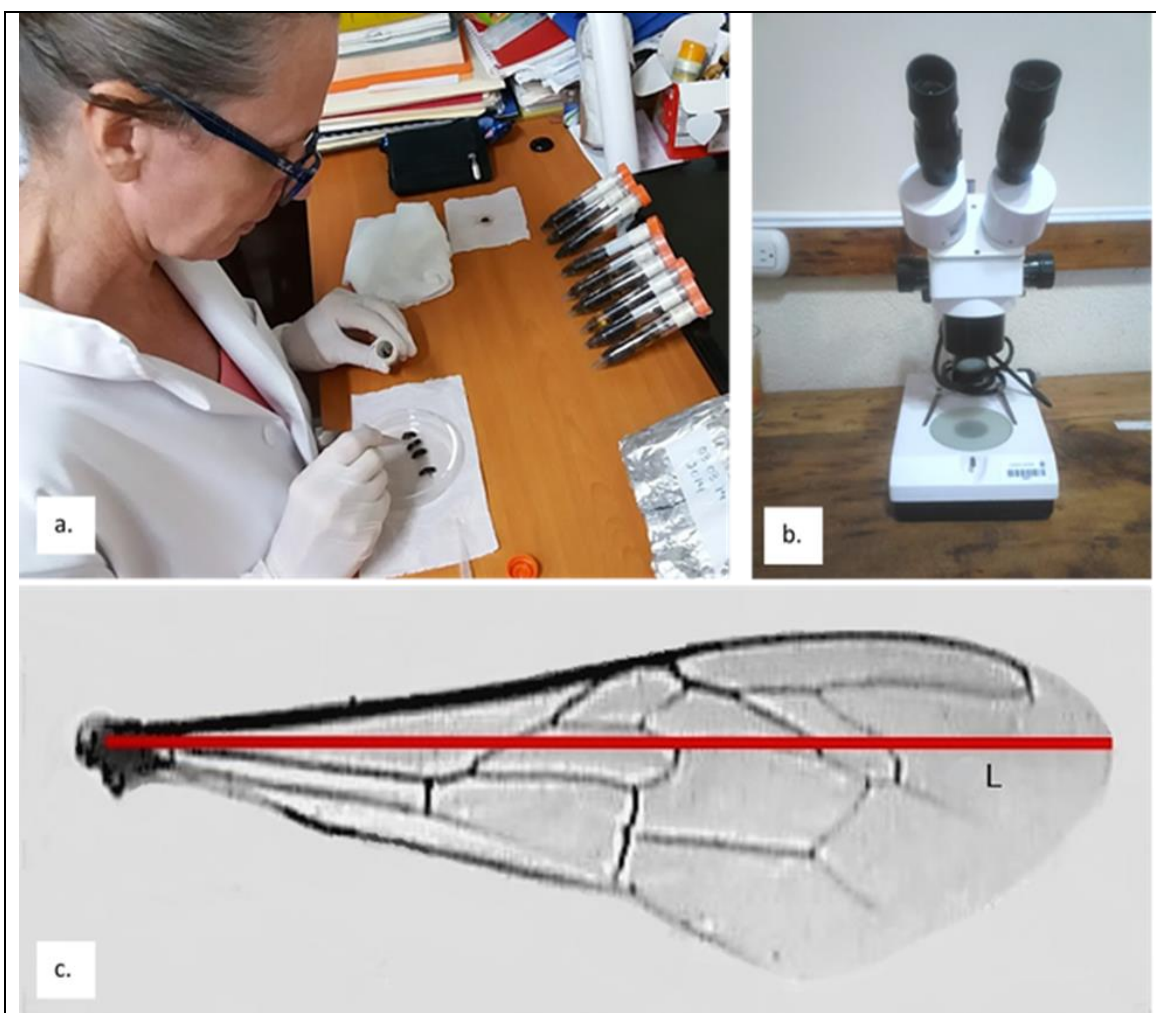


Figura 11: Análisis fenotípico de *A. mellifera*, a. determinación fenotípica del color abdominal; b. estereoscopio Rohs; c. medición del ala (L = longitud del ala anterior derecha) (foto a: Sheleby 2016, foto b: Düttmann 2015, foto c: Düttmann 2015).

Evaluación del comportamiento defensivo e higiénico.

El CD como característica de las abejas en respuesta a feromonas en forma de ataque, se evaluó mediante las siguientes mediciones: 1. El primer agujoneo, en tiempo de reacción en segundos y la cantidad de agujones fijados en la gamuza (Hunt et al., 2007; Masaquiza et al., 2019; López-Incera et al., 2021) y 2. La manifestación de un ataque masivo (sí o no) (Tabla 11).

La prueba para determinar el aguijoneo se realizó mediante un parche de gamuza negra (10 x 10 cm) colocado en una cartulina blanca, fijada a una vara de madera de 1.0 m de longitud. La prueba se aplicó en las colonias seleccionadas de cada apiario de manera simultánea, sin utilizar humo. Se expuso la bandera con la gamuza negra hacia la piquera a una distancia de 20 cm. La bandera fue agitada hacia arriba y hacia abajo 1 vez/s durante 60 s, para provocar que las abejas salieran a defender la colonia y al picar dejaran sus aguijones en la gamuza (Figura 12). Después de un minuto se retiró la bandera y se depositó en una bolsa plástica, rotulada con los datos de la colmena seleccionada, para el posterior conteo de los aguijones (Guzmán-Novoa et al., 2003).



Figura 12: Prueba del comportamiento defensivo con bandera de gamuza negra (foto Ellis & Ellis, 2009).

Tabla 11. Parámetros para la calificación del comportamiento defensivo en colmenas de *A. mellifera*, Nicaragua.

	Clasificación	Aguijoneo	Ataque masivo
1	Dócil	Poca reacción al estímulo No pican o pican pasados 30 s Cantidad de aguijones ≤ 5	No se presenta en 60 s
2	Moderadamente defensiva	Pocas reaccionan al estímulo Primer ataque después de 10 s Cantidad de aguijones 6-25	No se presenta en 60 s
3	Muy defensiva	Muchas abejas en actitud defensiva, Reacción inmediata < 10 s Cantidad de aguijones > 25	Ataque masivo contra el señuelo

Fuente: elaboración propia basada en Masaquiza et al. (2019) y López-Incera et al. (2021).

Se distingue el comportamiento en diferentes niveles de defensividad clasificado por los resultados de los dos caracteres medidos, aguijoneo y ataque masivo: 1. *Dócil*: sin ataque masivo y baja reacción, con no más de cinco aguijones en la gamuza; 2. *Moderadamente defensiva*: sin ataque masivo, pero una mayor excitación por la piquera y más abejas que se decidieron a atacar; y 3. *Muy defensiva*: ataque masivo e inmediato o casi inmediato, con una corriente de abejas que atacan el señuelo e incluso a su portador. Aunque se ha utilizado la distancia de persecución como criterio evaluativo, en la práctica resulta imposible determinar en un apiario a cuáles colmenas pertenecen las abejas que ejecutan tal acción.

El CH de una colonia de *A. mellifera* es la habilidad de las obreras de desopercular las celdas con cría afectada o muerta, removerla y limpiar el interior para recibir un nuevo huevo (Rothenbuhler, 1964a). Un método de evaluación es mediante la prueba de punción de la cría. Solo colmenas que responden a la prueba del CH con más del 90 % son capaces de mantener un estado higiénico saludable para la colonia (Spivak & Danka, 2021; Paolillo et al., 2022). El método aplicado en el estudio es una modificación de la prueba utilizada por Gramacho & Gonçalves (Figura 13).

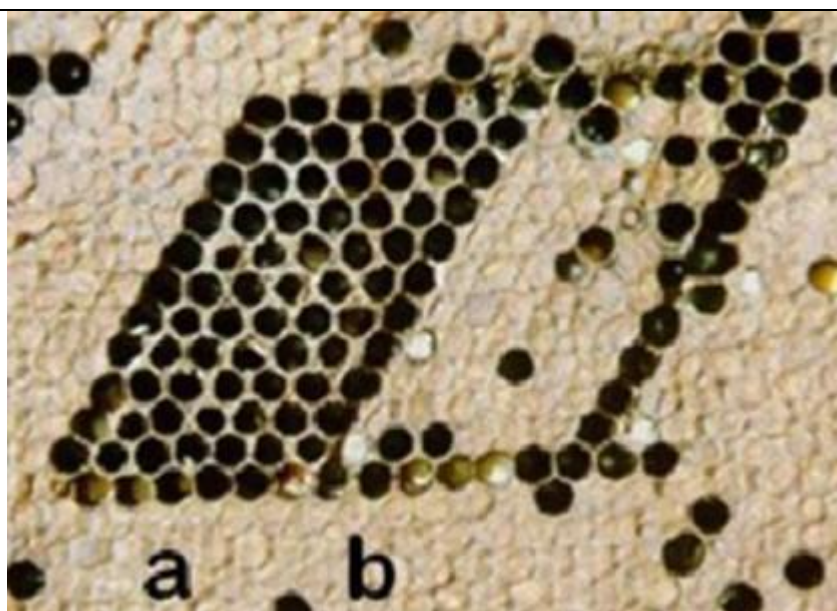


Figura 13: Prueba del comportamiento higiénico (a) y control (b) (foto Gramacho & Gonçalves, 2009).

Para la evaluación del CH en Nicaragua, se utilizó una metodología modificada. Se escogió un panal con cría operculada de obreras del estadio de pupas con ojos rosados y se perforaron 100 celdas mediante el uso de un alfiler, por lo que quedó un campo de cría muerta en forma de un rombo de 10 x 10 celdas. Además, se perforó un cuadro de control únicamente como marco romboidal de 11 x 11 celdas. Se contaron las celdas vacías al iniciar la prueba para restarlas antes de calcular el porcentaje del CH. De igual manera, en ocasiones no se perforan correctamente las celdas y las abejas no proceden sobre ellas, por lo que resultan celdas operculadas con cría viva. Al momento de evaluar se verificó la integridad del opérculo no removido y el contenido de la celda. El panal tratado se colocó en la colonia original y después de 24 h se contaron las celdas limpias o no, para el cálculo:

$$CH = \frac{\text{celdas limpiadas}}{100 - (\text{no pinchadas} + \text{vacías iniciales})} \times 100$$

Las celdas que contenían pupas muertas, opérculos perforados o cualquier resto de cría no se consideraron limpiadas, lo que se tuvo en cuenta al calcular el porcentaje del CH. Las categorías de calificación se reflejan en la tabla 12.

Tabla 12. Parámetros para la calificación del comportamiento higiénico en colmenas de *A. mellifera*, Nicaragua.

Categoría	Clasificación	Características
1	Excelente	Limpieza de las celdas 100 %
2	Bueno	Limpieza de las celdas entre 91 y 99 %
3	Moderado	Limpieza de las celdas entre 80 y 90 %
4	Malo	Limpieza de las celdas < 80 %

Identificación molecular de ADNmt y secuenciación.

Para el diagnóstico molecular, se seleccionaron abejas de todos los apiarios inspeccionados durante el estudio. Para poder determinar si existe una diversidad genética dentro de la población de las abejas nicaragüenses, los criterios de selección se basaron en la heterogeneidad del color abdominal dentro de la colonia y la longitud media del ala anterior. En principio, una obrera por colonia es suficiente para determinar el ADNmt. No obstante, Evans et al. (2013) recomendaron muestrear más de un individuo por colmena para evitar errores en el diagnóstico debido al riesgo de deriva entre colonias. Además, en Nicaragua se realiza frecuentemente un intercambio de panales entre colmenas fuertes y débiles. Por lo tanto, se decidió muestrear dos obreras por colmena, lo cual constituye una modificación de la metodología generalmente aplicada en el procesamiento de la identificación del ADNmt con el *Dral*-Test en las abejas melíferas.

Para el análisis genético únicamente (no para la medición de la longitud del ala anterior y los datos adicionales), se incluyeron abejas de apiarios centinelas del programa de monitoreo anual del Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA); los cinco apiarios seleccionados tienen una ubicación particular: frontera norte con Honduras (1), frontera sur con Costa Rica (1), Isla de Ometepe en el Lago de Nicaragua (1) y la región Costa Caribe Sur (2). La muestra para la PCR comprendió 110 abejas obreras de 31 apiarios: occidente (30 abejas), zona Central (18 abejas), zona Norte (48 abejas) y 14 abejas de las colmenas centinelas.

Amplificación del ADNmt.

Para la extracción del ADN se utilizaron las 110 abejas conservadas en etanol al 95 % y almacenadas a -20 °C hasta el análisis molecular; se lavaron tres veces con PBS y una vez con agua destilada estéril. El aislamiento del ADN se realizó a partir de las dos patas traseras de cada individuo (Garnery et al., 1993). Se realizó una modificación en el protocolo para los kits Qiagen Blood and Tissue DNA (Qiagen, Alemania) ajustando el volumen de elución a 50 µl de cada muestra en lugar de 200 µl.

El análisis de ADNmt inició con la amplificación de la región intergénica COI-COI por la PCR. Se utilizaron el cebador directo E2 5'-GGCAGAATAAGTGCATTG-3' y el cebador indirecto H2 5'-CAATATCATTGATGACC-3'. La reacción se llevó a cabo en un volumen total de 50 µl, y contenía 25 µl de Master Mix 2X (Promega, EE. UU.), 2 µl de cada cebador (10,000 nM), 16 µl de agua libre de nucleasas y 5 µl de ADN de la muestra. El protocolo de la amplificación tuvo el siguiente programa: temperatura inicial de 95 °C por 5 min, seguida de 35 ciclos de 95 °C por 30 s, así 47 °C por 30 s y 72 °C por un minuto. Posteriormente una elongación final a 72 °C durante 15 min y el mantenimiento a 4 °C. La reacción de la PCR se realizó con el Termociclador Applied Biosystem 2720. Se realizó una separación por electroforesis (120 V por 30 min) en tampón de carga Tris Acetato EDTA (TAE), colocando 10 µl del producto de la PCR y 5 µl de marcador de peso molecular de 100 pb (Promega, EE. UU.) en gel de agarosa al 1.5 % con bromuro de etidio (0.5 mg/ml) y se visualizaron bajo luz ultravioleta (460 nm).

La digestión de los productos de la PCR se realizó con la enzima de restricción *DraI* para identificar los mitotipos de *A. mellifera* por la secuencia de corte 5'-TTTAAA-3'. Según el protocolo de Thermo Fisher Scientific (MA, EE. UU.), se agregaron 18 µl de agua libre de nucleasas, 2 µl de tampón 10X, 2 µl de la enzima (50 U/µl), 10 µl del producto de la PCR. Se mezcló suavemente y se incubó a 37 °C durante 16 h. Se realizó una separación por electroforesis (120 V por 30 min) en tampón de carga TAE, colocando 10 µl del producto de la digestión y 5 µl de marcador de peso molecular de 100 pb (Promega, EE. UU.) en gel de agarosa al 1.5 % con bromuro de etidio (0.5 mg/ml) y se visualizaron bajo luz ultravioleta (460 nm). La determinación de los mitotipos se realizó de acuerdo al número y tamaño de los segmentos de ADN determinados (Garnery et al., 1993).

Secuenciación.

Para confirmar los hallazgos del diagnóstico por la PCR, se seleccionaron 10 especímenes pertinentes de las tres zonas para secuenciación: tres especímenes del Occidente, tres de la zona Central y cuatro del Norte. Además de su origen geográfico, los 10 ejemplares fueron seleccionados con base en los resultados de la determinación del mitotipo; también se consideraron dos abejas con diferentes mitotipos de una misma colmena (zona Central).

Se realizó secuenciación de sentido inverso (cebador H2) para las 10 muestras seleccionadas. Las purificaciones de ADN se realizaron con el kit comercial según indicaciones del fabricante Ultra-Clean115 DNA Purification (MO BIO, EE. UU.). La secuenciación se llevó a cabo en el Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM), Universidad de Costa Rica (UCR).

Para estudiar la historia evolutiva a través del análisis filogenético, se cargaron y se limpiaron las secuencias en el programa MEGA 11 y posteriormente se alinearon usando ClustalW v.1.6. Las divergencias evolutivas se calcularon por el método de Máxima Verosimilitud y se reportaron como unidades de la cantidad de sustituciones de base por sitio. Se realizó la prueba Bootstrap (1000 repeticiones) para determinar significancia estadística y se reportó como el porcentaje de frecuencia de cada taxón en las ramas del árbol filogenético. El análisis evolutivo se realizó en el software MEGA 11 (Tamura et al., 2021). Las secuencias se enviaron al Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) a través de BankIt (NCBI, 2021), y se obtuvieron los números de identificación: MW695396, MW695397, MW695398, MW695399, MW695400, MW695401, MW695402, MW695403, MW695404 y MW695405.

Análisis estadístico.

Los resultados se procesaron a través del análisis estadístico descriptivo y analítico. Las variables cualitativas se expresaron en frecuencia relativa. Se realizó la prueba ANOVA para la longitud media de las alas anteriores en relación con las zonas, departamentos, municipios de muestreo y características de las colmenas y su manejo.

El grado de africanización de las colmenas se determinó de acuerdo a la tabla “Medias de la longitud del ala anterior derecha $\bar{x}$ de 10 abejas y las correspondientes probabilidades de que sean africanizadas (PA) o europeas (PE)” (Rinderer et al., 1986) (Figura 14).

$\bar{X}$	PE	PA	X	PE	PA
8.770	.001	.999	9.035	.500	.500
8.775	.002	.998	9.040	.531	.469
8.780	.002	.998	9.045	.561	.439
8.785	.002	.998	9.050	.591	.409
8.790	.002	.998	9.055	.621	.379
8.795	.003	.997	9.060	.649	.351
8.800	.003	.997	9.065	.677	.323
8.805	.003	.997	9.070	.703	.297
8.810	.004	.996	9.075	.728	.272
8.815	.004	.996	9.080	.752	.248
8.820	.005	.995	9.085	.774	.226
8.825	.006	.994	9.090	.795	.205
8.830	.006	.994	9.095	.814	.186
8.835	.007	.993	9.100	.832	.168
8.840	.008	.992	9.105	.848	.152
8.845	.009	.991	9.110	.863	.137
8.850	.010	.990	9.115	.877	.123
8.855	.012	.988	9.120	.890	.110
8.860	.013	.987	9.125	.901	.099
8.865	.015	.985	9.130	.912	.088
8.870	.017	.983	9.135	.921	.079
8.875	.019	.981	9.140	.930	.070
8.880	.022	.978	9.145	.937	.063
8.885	.024	.976	9.150	.944	.056
8.890	.027	.973	9.155	.950	.050
8.895	.031	.969	9.160	.956	.044
8.900	.035	.965	9.165	.961	.039
8.905	.039	.961	9.170	.965	.035
8.910	.044	.956	9.175	.969	.031
8.915	.050	.950	9.180	.975	.027
8.920	.056	.944	9.185	.976	.024
8.925	.063	.937	9.190	.978	.023
8.930	.070	.923	9.195	.981	.019
8.935	.079	.921	9.200	.983	.017
8.940	.088	.912	9.205	.985	.015
8.945	.099	.901	9.210	.987	.013
8.950	.110	.890	9.215	.988	.012
8.955	.123	.877	9.220	.990	.010
8.960	.137	.863	9.225	.991	.009
8.965	.152	.848	9.230	.992	.008
8.970	.168	.832	9.235	.993	.007
8.975	.186	.814	9.240	.994	.006
8.980	.205	.795	9.245	.994	.006
8.985	.226	.778	9.250	.995	.005
8.990	.248	.752	9.255	.996	.004
8.995	.272	.728	9.260	.996	.004
9.000	.297	.703	9.265	.997	.003
9.005	.323	.677	9.270	.997	.003
9.010	.351	.649	9.275	.997	.003
9.015	.379	.621	9.280	.998	.002
9.020	.409	.591	9.285	.998	.002
9.025	.439	.561	9.290	.998	.002
9.030	.469	.531	9.295	.998	.002
			9.300	.999	.001

Figura 14: Análisis discriminante para distinguir abejas africanizadas de europeas (Fuente: Rinderer et al. (1986). Técnicas de campo simplificadas para la identificación de abejas africanizadas y europeas a través de la medición del ala anterior derecha. $\bar{X}$ = Longitud media del ala anterior derecha; PA = Probabilidad de ser abeja Africanizada; PE = Probabilidad de ser abeja Europea.

Se aplicó la prueba de correlación de Pearson para relacionar las medias de longitud de las alas anteriores con la altitud de los sitios de muestreo.

Se aplicó la prueba *t de Student* para comparar variables cuantitativas con distribución normal como la longitud de las alas anteriores y la altura de ubicación de los apiarios; ambas variables numéricas fueron relacionadas con los dos mitotipos identificados.

Se realizaron pruebas de Chi Cuadrado (χ^2) para mostrar si existe asociación entre la distribución geográfica de los mitotipos y las características de las colmenas y su manejo.

Se aplicó la prueba exacta de Fisher para comparar la frecuencia de los mitotipos entre 10 departamentos muestreados del país, y se consideró estadísticamente significativa en $\alpha = 0.05$.

Para los análisis evolutivos se utilizó el programa MEGA11. La gestión de datos y los análisis se realizaron mediante las hojas de cálculo del programa Excel y el software estadístico SPSS (Statistical Package for Social Science versión 21).

Resultados

Las características de la colonia, el rasgo fenotípico del color abdominal, la defensividad y el manejo de la reina mostraron diferencia significativa entre las zonas de estudio. Pero no hubo asociación de estas características con el grado de africanización según la morfometría y genética de las abejas en estudio.

Fenotipo según color abdominal.

La observación del patrón de color del abdomen de las abejas de una misma colonia, mostró diversidad fenotípica en 61.3 % de las colmenas estudiadas, con variaciones del color abdominal de café oscuro a amarillo claro (Figura 15). Se presentó un mayor grado de heterogeneidad en las colmenas del Occidente con más del 80 % de las colonias con un patrón de color abdominal diferente, mientras en la zona Central solamente la tercera parte de las colmenas presentó heterogeneidad dentro de una misma colmena. En el Norte, la diferencia entre colmenas uniformes y diferentes está menor, 44 y 56 % respectivamente.



Figura 15: Agrupaciones de abejas según fenotipo “color abdominal” en dos colmenas en un apiario de Somoto, Nicaragua (fotos Demedio (2013); a. heterogéneo, b. homogéneo).

Defensividad.

Un rasgo de la mayor importancia expresiva de la africanización en *A. mellifera* es el CD de la colmena. El 20.7 % de las estudiadas resultó altamente defensivo, con ataques masivos que promediaron 44.1 aguijones en una media temporal de 7.29 s contra los señuelos de gamuza, con el mayor porcentaje de esta categoría en la zona Norte. El 51.3 % fueron moderadamente defensivas, con 13.58 aguijones en 34.68 s como promedio, pero no realizaron ataques que pudieran considerarse masivos. Por último, como el dato del mayor valor para un futuro programa de selección, el 28.0 % de las colonias (42) tuvieron un comportamiento que las calificó como dócil, con la primera reacción a los 39 s y una media de 1.36 aguijones en 60 s; de ellas, 22 no realizaron ningún ataque. Esta categoría tuvo su mayor presencia en la región del Occidente, que es la más cálida (Tabla 13).

Origen de la colmena.

A partir de las encuestas se determinó que los apicultores utilizaron cuatro métodos para la reproducción de las colmenas en estudio. El método no tecnificado fue la captura de enjambres silvestres (22.0 % de las colmenas) y el 93.9 % de estas se establecieron sin cambio de reina. Ningún apicultor que compró colmenas de otros apicultores cambió la reina (18.0 %). El método de multiplicación más aplicado fue la división de las colmenas (46.7 %) y el 98.6 % utilizó reinas originadas de sus propias colmenas para introducir a las nuevas colmenas. La crianza de reinas tecnificada solamente se realizó en la zona Central del país, pero alcanzó solo el 13.3 % del total. (Tabla 13).

Cambio de reina y su origen.

A penas el 58.0 % de los apicultores renovaron las reinas y el 94.3 % de ellos utilizaron reinas propias para este fin. Solamente un apicultor compró reinas de una cooperativa con técnicas específicas para la crianza (Tabla 13). No existe ningún programa de crianza de reinas en Nicaragua que pueda suministrarlas con algún nivel de selección o certificación.

Tabla 13. Asociación de características de colmenas (*A. mellifera*) y su manejo según zonas del estudio, Nicaragua.

Características y manejo de las colmenas		Occidente n= 69	Centro n= 40	Norte n= 41	gl	x ²	p
Patrón del color abdominal	diferente	56	13	23	2	25.93	< 0.05
	uniforme	13	27	18			
Conducta Defensiva	dócil	31	5	6	4	29.29	< 0.05
	moderada	31	28	18			
	muy defensiva	7	7	17			
Origen de la colmena	dividida	30	5	35	6	117.59	< 0.05
	capturada	30	0	3			
	comprada	9	15	3			
	criada/núcleo	0	20	0			
Cambio de la reina	sí	29	25	33	2	16.07	< 0.05
	no	40	15	8			
Origen de la reina	propia	29	35	40	4	71.71	< 0.05
	silvestre	40	0	1			
	criada	0	5	0			

n: cantidad de colmenas evaluadas, gl: grados de libertad, x²: Chi-cuadrado, significancia: p < 0.05

Comportamiento higiénico (CH).

Según las categorías que se establecieron en el presente estudio y el requisito de revisión a las 24 h, de las 70 colonias evaluadas, 40 (57.14 %) mostraron un CH que se calificó de excelente (100 % de limpieza total), seguidas por 16 colmenas (22.86 %) con un CH entre 90 y 99 % y ocho colmenas (11.43 %) entre 80 y 89 %. Solo seis colmenas (8.57 %) no alcanzaron el 80 % (Figura 16).

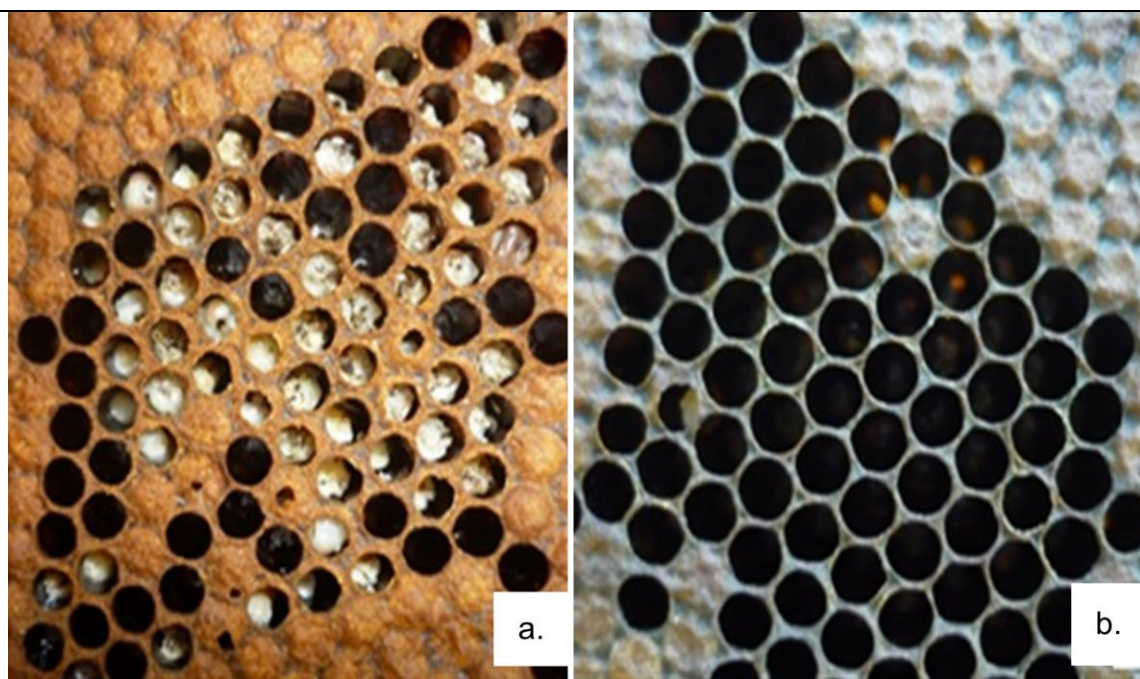


Figura 16: Prueba del comportamiento higiénico de *A. mellifera* evaluada con los resultados a las 24 horas, Nicaragua (fotos Düttmann, 2013); a. mal y b. excelente.

Longitud de las alas anteriores.

El promedio general de la longitud del ala anterior derecha $\bar{x} = 8.74$ mm; DE= 0.16 mm), medido en 146 colmenas muestreadas, indicó un alto grado de africanización. Este estudio reveló que en Nicaragua más del 79 % de las colmenas tenían un grado de africanización del 99 % según la característica de la longitud del ala. El nivel de 90 % de africanización se detectó en el 87 % de las colmenas; solo hubo 8/146 colonias manejadas (5.48 %) con probabilidad de ser europeas superior al 50 %, según la longitud del ala anterior (Figura 17).

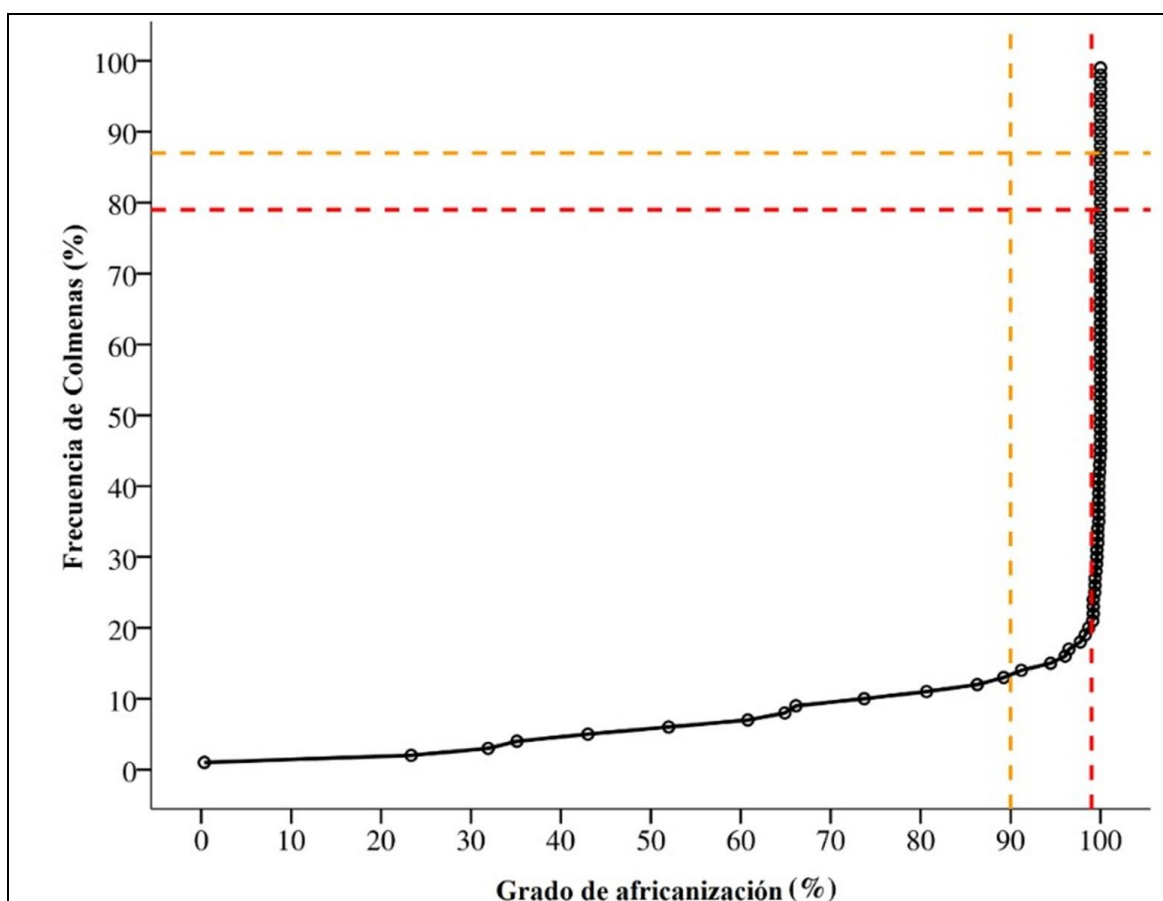


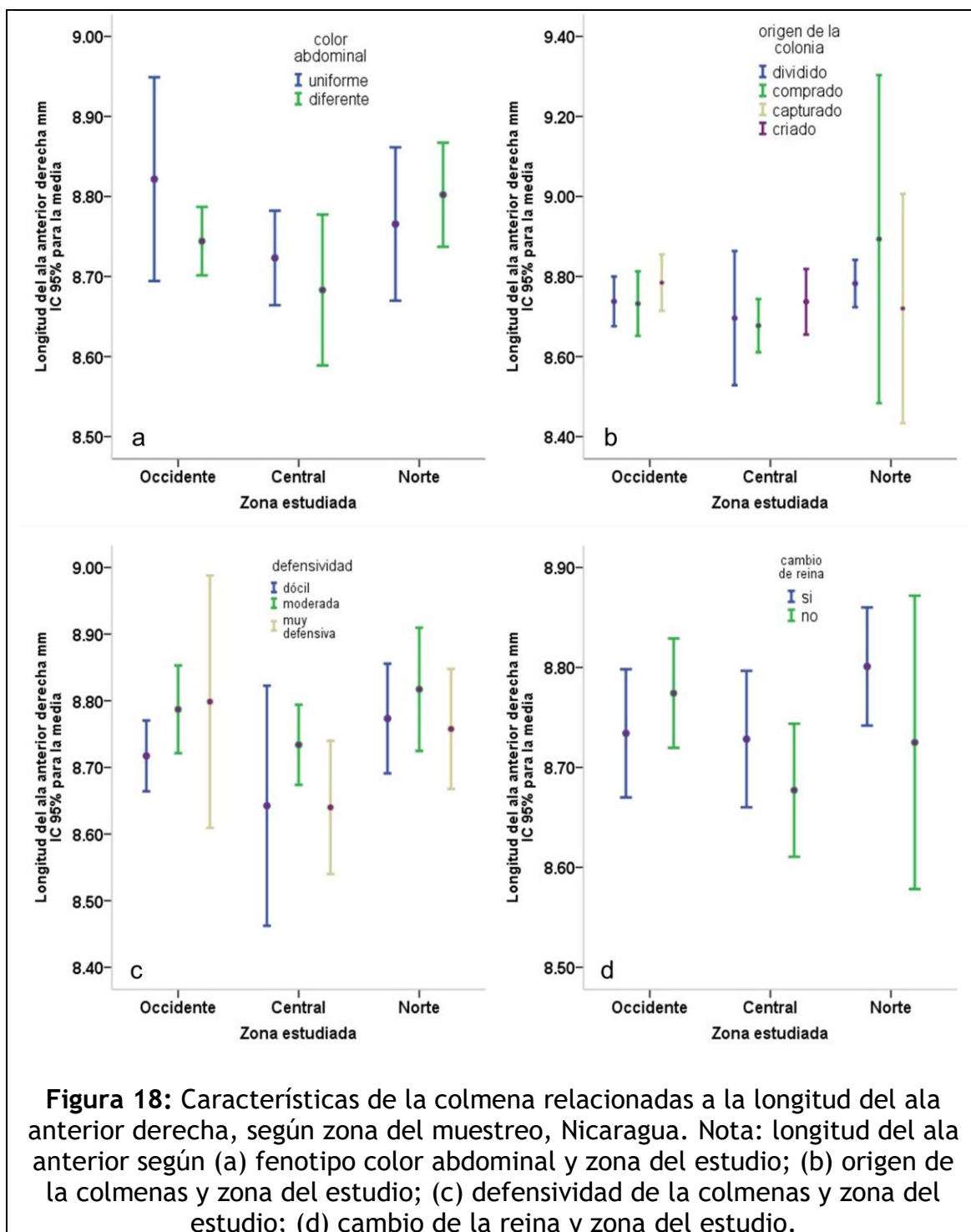
Figura 17: Grado de africanización en las colmenas (*A. mellifera*), Nicaragua. ----- 90 % de africanización; - - - - - 99 % de africanización a nivel de colmena.

La longitud media del ala anterior derecha por colmena no fue diferente entre los sitios de muestreo: (ANOVA, zona: $F_{2, 145} = 1.77$, $p > 0.05$; departamento: $F_{6, 145} = 1.32$, $p > 0.05$; municipio: $F_{13, 145} = 1.25$, $p > 0.05$) (Tabla 14); tampoco hubo correlación entre la longitud de las alas y las altitudes de localización de los apiarios ($R = -0.02$, $p > 0.05$). Además, no hubo diferencia significativa de la longitud de las alas anteriores respecto a las características de las colmenas y las actividades de manejo (ANOVA, origen de la colonia: $F_{3, 146} = 0.13$, $p > 0.05$; patrón de coloración abdominal: $F_{1, 146} = 0.55$, $p > 0.05$; defensividad de la colmena: $F_{2, 146} = 1.52$, $p > 0.05$; cambio de reina: $F_{1, 146} = 0.48$, $p > 0.05$; origen de la reina: $F_{2, 146} = 0.66$, $p > 0.05$) (Figura 18).

Tabla 14. Longitud media del ala anterior derecha (*A. mellifera*) a nivel de colmenas en los diferentes sitios estudiados, Nicaragua.

Ubicación del estudio		Muestras		Longitud AAD	DE	Intervalo de Confianza 95 %		gl	F	P
		Api	Col	$\bar{X}$		superior	inferior			
Zona	Occidente	7	67	8.74	0.16	8.70	8.78	2	1.768	0.17
	Central	6	38	8.71	0.16	8.66	8.77			
	Norte	13	41	8.78	0.17	8.73	8.83			
Departamento	León	4	38	8.73	0.15	8.68	8.78	6	1.317	0.25
	Chinandega	3	29	8.75	0.16	8.69	8.81			
	Boaco	6	38	8.71	0.16	8.66	8.77			
	Matagalpa	5	15	8.78	0.21	8.66	8.90			
	Jinotega	5	15	8.82	0.14	8.74	8.90			
	Estelí	1	3	8.62	0.23	8.05	9.18			
	Madriz	2	8	8.77	0.07	8.71	8.83			
Municipio	León	3	28	8.72	0.15	8.66	8.78	13	1.250	0.25
	Nagarote	1	10	8.75	0.17	8.62	8.87			
	Villanueva	3	29	8.75	0.16	8.69	8.81			
	Boaco	1	5	8.71	0.13	8.54	8.87			
	Teustepe	5	33	8.71	0.17	8.65	8.77			
	Ciudad Darío	2	6	8.66	0.05	8.61	8.71			
	La Dalia	1	3	8.80	0.36	7.91	9.70			
	Matiguás	1	3	8.81	0.23	8.23	9.40			
	Muy Muy	1	3	8.94	0.21	8.42	9.47			
	Jinotega	1	3	8.71	0.22	8.17	9.26			
	El Cuá	3	9	8.85	0.13	8.75	8.95			
	Wiwilí	1	3	8.84	0.06	8.69	8.99			
	Estelí	1	3	8.62	0.23	8.05	9.18			
	Somoto	2	8	8.77	0.07	8.71	8.83			

Api: número de apiarios, **Col:** número de colmenas, $\bar{X}$: media, **DE:** desviación estándar, **gl:** grado de libertad, **F:** valor estadístico de ANOVA, significancia $p < 0.05$; **Depto.:** departamento; **AAD:** ala anterior derecha.



Identificación de mitotipos.

Los resultados obtenidos por la prueba *DraI* indicaron que el 100 % de la población de *A. mellifera* estudiada (110 abejas obreras) tenía un mitotipo africano, representado en tres clases: el 80 % (88/110) de las muestras se identificó como mitotipo A1, mientras que el 19.1 % (21/110) se identificó como mitotipo A4. Un mitotipo mostró el patrón de restricción PoQQQ en la secuencia COI-COII, pero quedó sin clasificación (Figura 19).

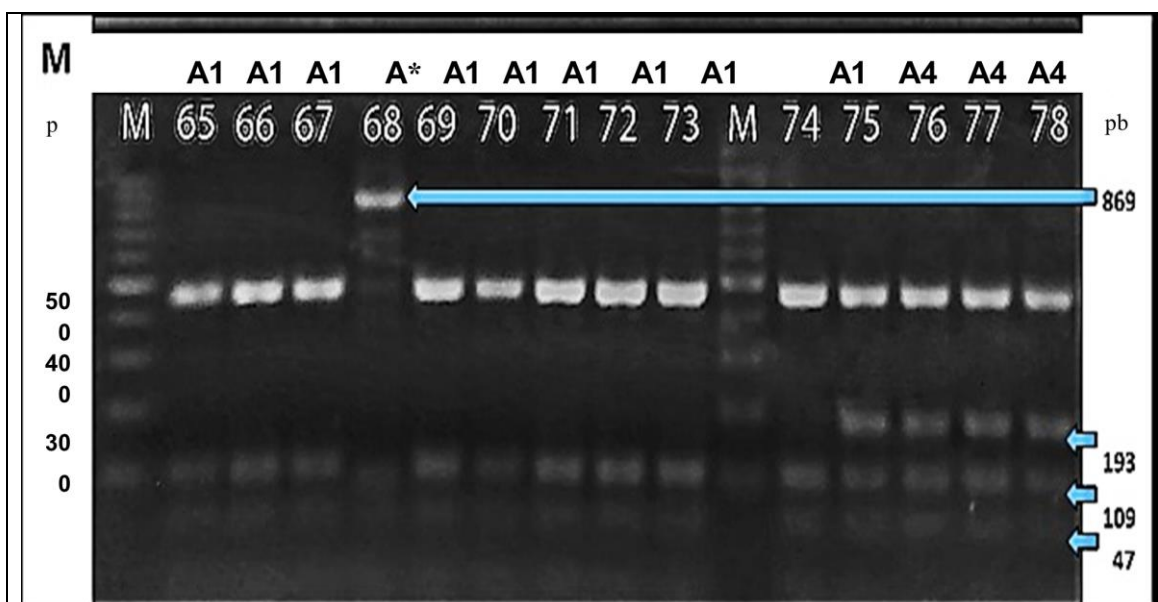


Figura 19: Patrones de restricción de la región intergénica ARNtleu-COII del ADNmt, digestión por la enzima de restricción *DraI*, Nicaragua (Nota: M: marcador; pb: pares de base; no. 65 - 78: número de la muestra de la abeja; A1, A* y A4: mitotipos encontrados).

La imagen de los 10 productos de amplificación seleccionados para la secuenciación se muestra en la figura 20 y las imágenes de la electroforesis de la digestión con *DraI* están en las figuras 21 y 22.

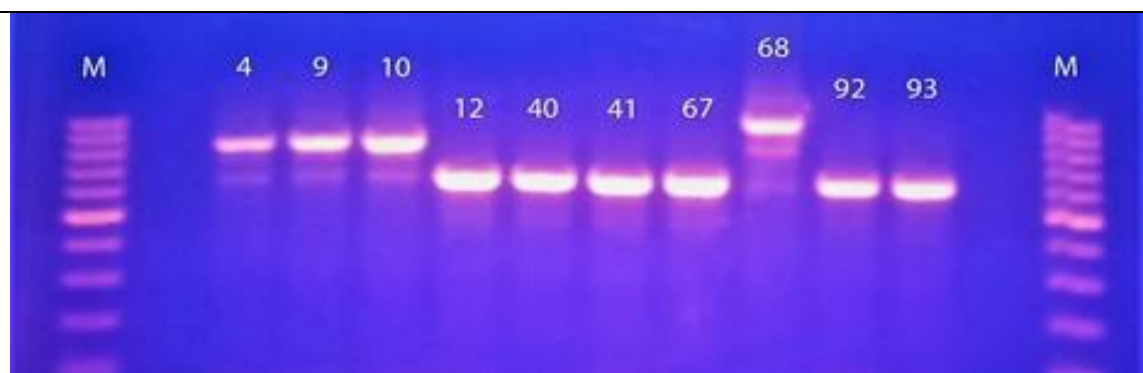


Figura 20: Productos de amplificación por la PCR de 10 especímenes (*A. mellifera*) seleccionados para la secuenciación (foto Düttmann (2016); M: marcador; no.4 - 93: especímenes *A. mellifera*).

La distribución de los mitotipos por las zonas muestreadas fue significativamente diferente (zonas muestreadas: $\chi^2_{4,110} = 10.48$, $p < 0.05$). El mitotipo A1 se encontró con una frecuencia de 80.8 % (21/26) y 97 % (32/33) en la zona Central y Occidente respectivamente, mientras en el Norte la frecuencia de este mitotipo fue de 68.3 % (35/51). En cuanto a la altitud de la ubicación de los apiarios, la distribución de los mitotipos fue significativamente diferente (ANOVA, $p < 0.001$), ubicado el mitotipo A4 mayoritariamente en zonas más altas $\bar{x} = 674.78$ m, DE = 281.14 m) y el mitotipo A1 más frecuente en zonas más bajas $\bar{x} = 316.68$ m, DE = 275.76 m) (Figura 23).

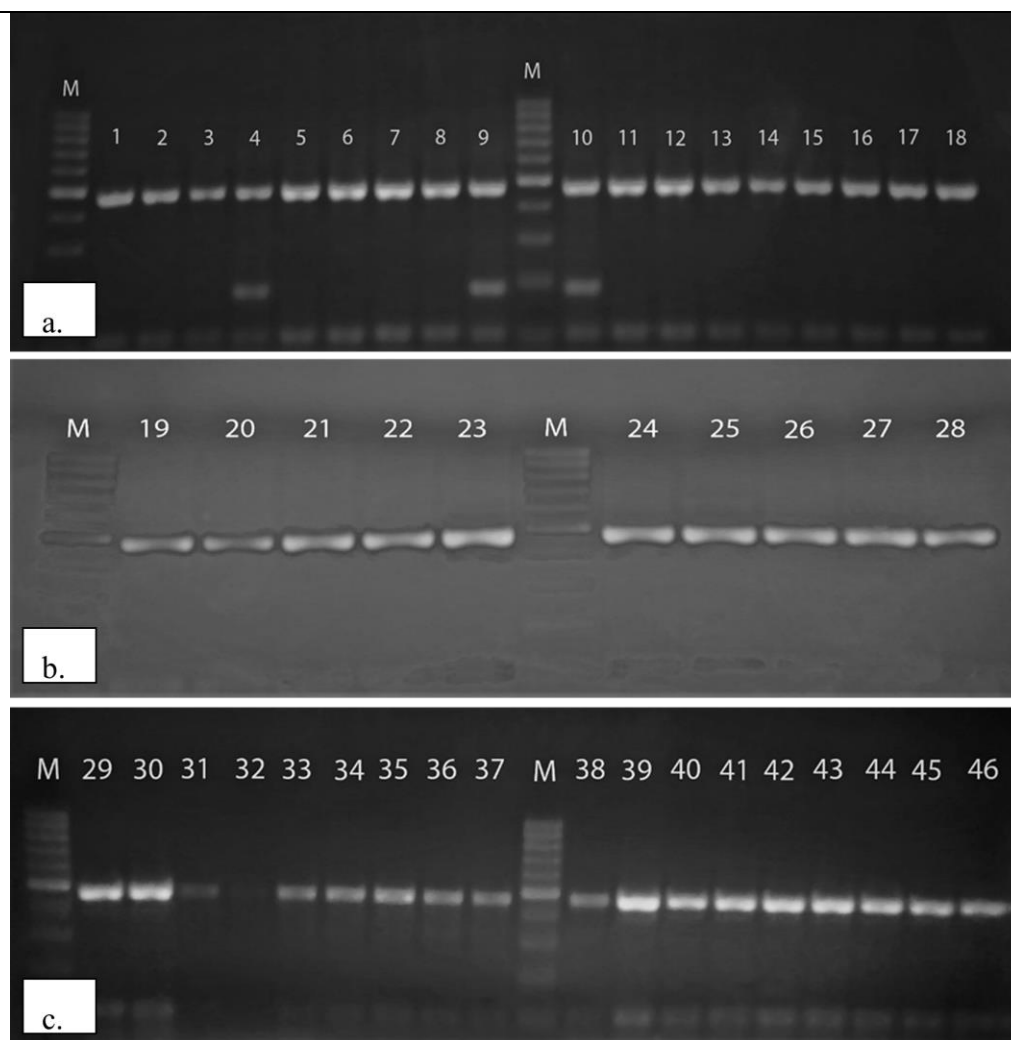


Figura 21: Digestión con la enzima de restricción *Dral.*; a. - c. 46 de los 110 productos de la PCR ADNmt de *A. mellifera* (foto Düttmann 2016; leyenda ver figura 22).

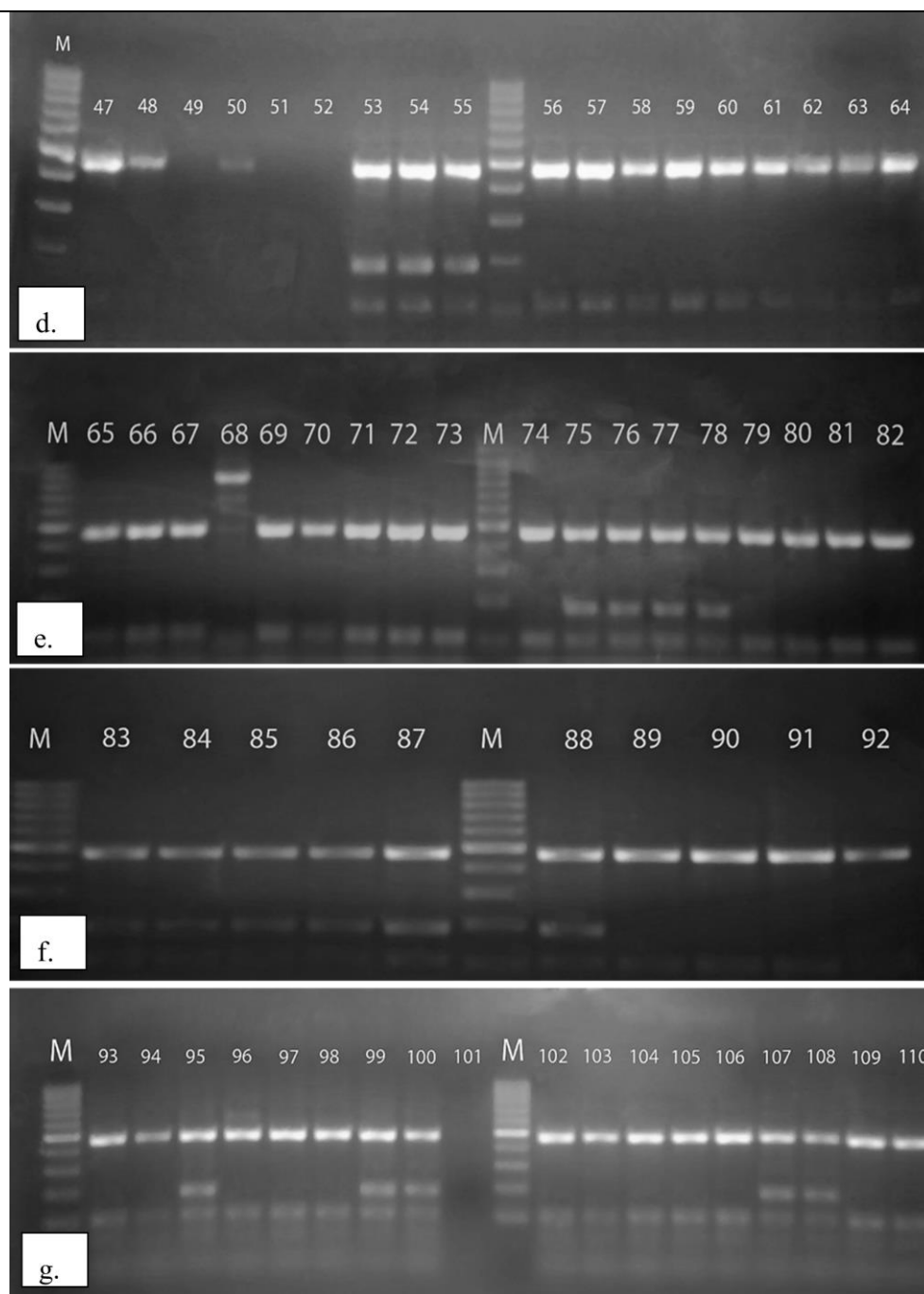
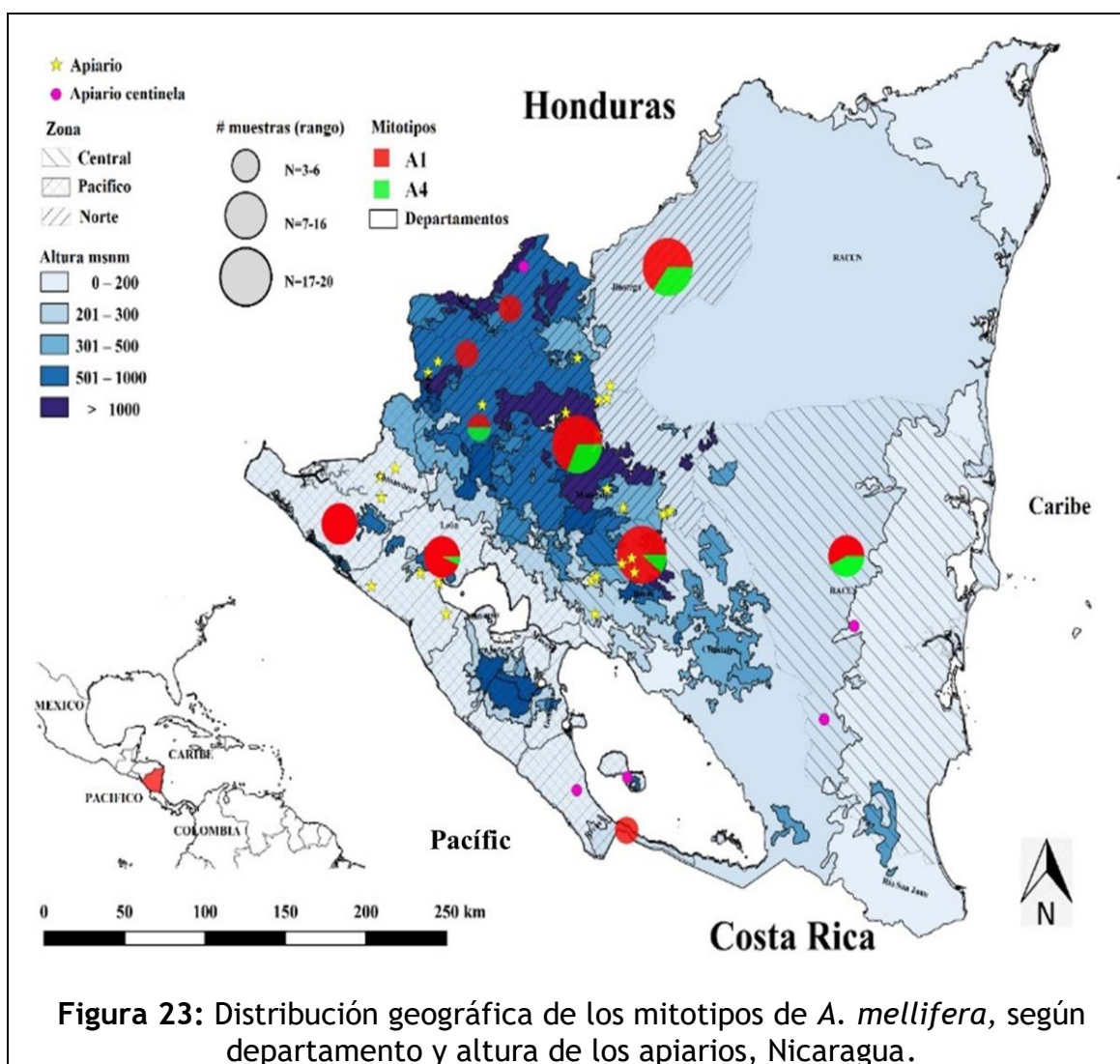


Figura 22: Digestión con la enzima de restricción *Dral*: d - g. 64 de los 110 productos de la PCR ADNmt de *A. mellifera*. Nota: ejemplos del patrón del mitotipo A1: 1, 2, 3, 19. 20, 21, 47, 48, 65, 66, 89, 90, 93, 94. Ejemplos del patrón del mitotipo A4: 4, 9, 10, 53, 54, 55, 75, 76, 77, 83, 84, 95, 99, 100. Mitotipo no identificado: 68; M: marcador (foto Düttmann 2016).



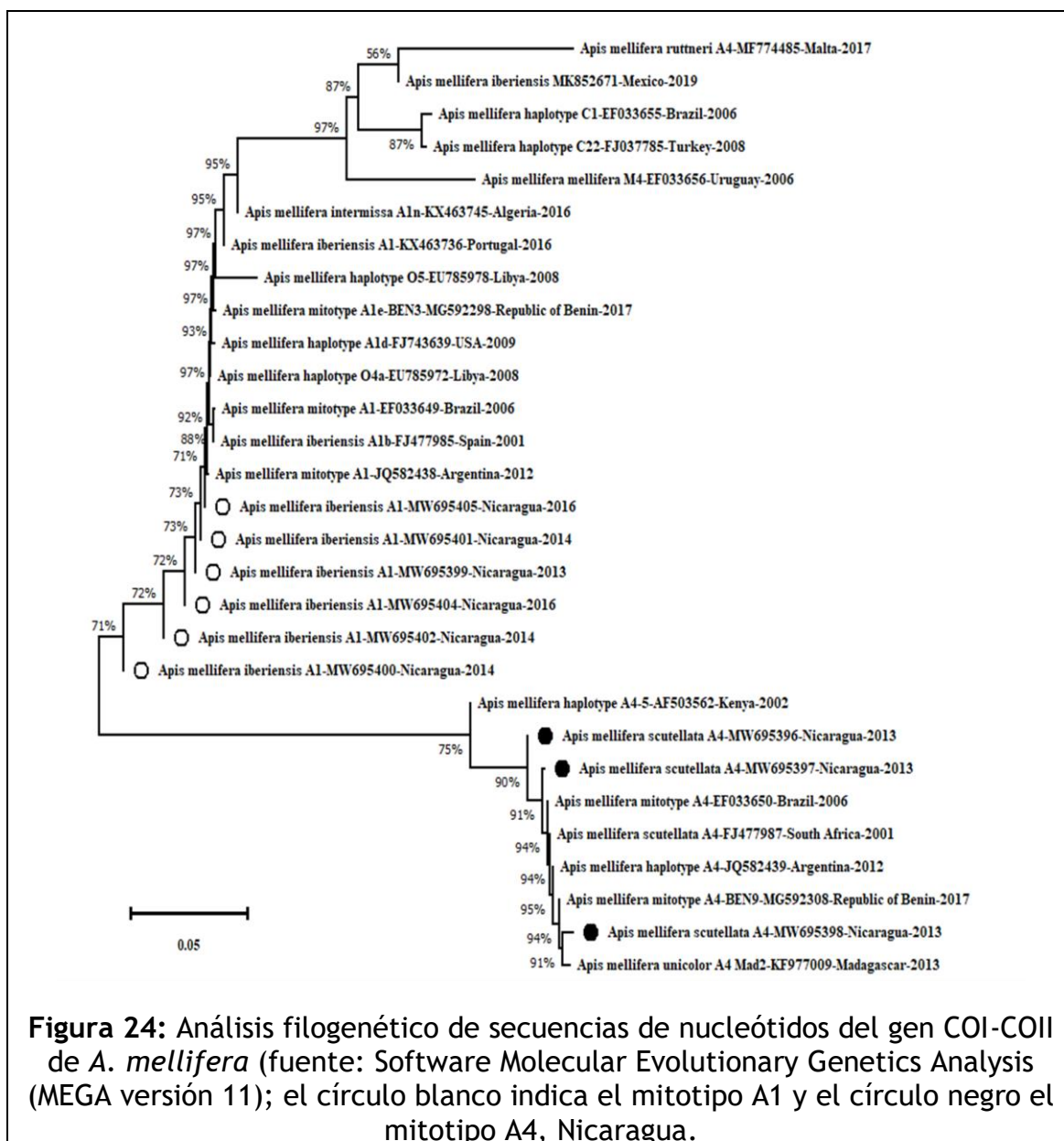
Para evaluar la asociación de los mitotipos con las características de las colmenas y su manejo, se incluyeron los resultados genéticos de las 96 abejas de la base de datos del estudio; se excluyeron los 14 mitotipos de las muestras de abejas cortesía de vigilancia epidemiológica del IPSA por no contar con la información completa (ver flujograma figura 9). El análisis reveló que no existía una diferencia significativa entre la longitud media de las alas anteriores y los mitotipos identificados (ANOVA, $p > 0.05$); el mitotipo A1 con una longitud media de las alas anteriores $\bar{x} = 8.75$ mm (DE = 0.18 mm) y A4 con $\bar{x} = 8.79$ mm (DE = 0.21 mm).

No se observó una diferencia significativa que podría relacionar los mitotipos con la actitud defensiva de las colmenas y la diversidad fenotípica (defensividad: $\chi^2_{4, 96} = 3.39$ $p > 0.05$; color abdominal: $\chi^2_{2, 96} = 2.68$ $p > 0.05$). De la misma forma, los mitotipos tampoco mostraron asociación con el manejo de las colmenas (origen de la colmena: $\chi^2_{6, 96} = 8.60$ $p > 0.05$; cambio de la reina: $\chi^2_{2, 96} = 0.80$ $p > 0.05$; origen de la reina: $\chi^2_{4, 96} = 3.11$ $p > 0.05$). El hallazgo sobresaliente fueron las tres colmenas donde se detectaron obreras con diferente ADNmt. El evento fue observado en una colmena en la zona Central y en dos en el Norte.

Análisis filogenético.

El árbol filogenético construido por el método de Máxima Verosimilitud basado en el análisis de inferencia de la región intergénica COI-COII, clasificó tres abejas del presente estudio como *A. mellifera scutellata* mitotipos A4 (MW695396, MW695397, MW695398); en el mismo grupo se encontraron secuencias de África (MG592308, FJ477987, KF977009, AF503562), Brasil (EF033650) y Argentina (JQ582439). Las secuencias de seis muestras fueron clasificadas como *A. mellifera iberiensis* mitotipos A1 (MW695399, MW695400, MW695401, MW695402, MW695404, MW695405) agrupados con muestras de África (KX463745, MG592298), Europa (KX463736, FJ477985) y América (EF033649, JQ39J2438, F587438). Las secuencias correspondientes a los mitotipos M4 (EF033656), C22 (FJ037785) y C1 (EF033655) fueron agrupados distantes de los mitotipos A4 y A1 encontrados en Nicaragua.

La historia evolutiva se infirió utilizando el método Maximum Likelihood y está basada en el modelo de las distancias de Tamura-Nei (Chen & Wang, 2022). En la figura 24 se trazó el árbol filogenético con longitudes de rama medidas por el número de sustituciones por sitio. La proporción de sitios, donde al menos una base inequívoca está presente en al menos una secuencia para cada clado descendiente, se mostró junto a cada nodo interno del árbol. El análisis involucró 29 secuencias de nucleótidos. Las posiciones de codón incluidas fueron 1. + 2. +3. +Sin codificación, para un total de 656 posiciones en el conjunto de los datos finales.



Las distancias evolutivas se calcularon utilizando el método de la distancia p (Chen & Wang, 2022) y se mostraron en las unidades del número de diferencias de base por sitio. La divergencia evolutiva entre las tres muestras de Nicaragua clasificadas como mitotipo A4 varió de 0.000 a 0.003 (similitud mayor a 99.7 %), igual resultado al obtenido con las secuencias de otros países con similitud mayor a 99.7 %; excepto un mitotipo A4 nicaragüense (MW695396) que era 100 % similar a las secuencias descritas en Sudáfrica, Brasil y Argentina (FJ477987, EF033650, JQ582439).

Tabla 15. Estimación de la divergencia evolutiva entre las secuencias (*A. mellifera*) determinados en Nicaragua y secuencias reportadas en el NBCI.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1 A4 MW695397 Nicaragua																		
2 A4 MW695398 Nicaragua	0.0 00																	
3 A4 MW695396 Nicaragua	0.00 3	0.00 3																
4 A4 MG592308 Benín	0.00 2	0.00 2	0.00 2															
5 A4 FJ477987 Sudáfrica	0.00 2	0.00 2	0.0 00	0.0 00														
6 A4 EF033650 Brasil	0.00 3	0.00 3	0.0 00	0.00 2	0.0 00													
7 A4 JQ582439 Argentina	0.00 3	0.00 3	0.0 00	0.00 2	0.0 00	0.0 00												
8 A1n KX463745 Argelia	0.19 9	0.21 5	0.19 6	0.21 2	0.21 1	0.21 2	0.21 4											
9 A1 MW695401 Nicaragua	0.11 5	0.11 5	0.11 0	0.11 4	0.11 0	0.11 0	0.11 0	0.00 6										
10 A1 MW695404 Nicaragua	0.11 6	0.11 6	0.10 7	0.11 1	0.10 7	0.10 7	0.10 7	0.00 4	0.00 2									
11 A1 MW695402 Nicaragua	0.11 6	0.11 6	0.10 7	0.11 1	0.10 7	0.10 7	0.10 7	0.00 4	0.00 2	0.0 00								
12 A1 MW695400 Nicaragua	0.11 6	0.11 6	0.10 7	0.11 1	0.10 7	0.10 7	0.10 7	0.00 4	0.00 2	0.0 00	0.0 00							
13 A1 MW695405 Nicaragua	0.11 8	0.11 8	0.10 8	0.11 2	0.10 8	0.10 8	0.10 8	0.00 4	0.00 2	0.0 00	0.0 00	0.0 00						
14 A1 MW695399 Nicaragua	0.11 9	0.11 9	0.11 0	0.11 4	0.11 0	0.11 0	0.11 0	0.00 4	0.00 2	0.0 00	0.0 00	0.0 00	0.0 00					
15 A1 EF033649 Brasil	0.19 3	0.20 9	0.19 0	0.20 6	0.20 5	0.20 6	0.20 7	0.00 3	0.00 4	0.00 2	0.00 2	0.00 2	0.00 2	0.00 2				
16 A1 JQ582438 Argentina	0.19 4	0.19 4	0.18 7	0.19 0	0.18 8	0.18 7	0.18 7	0.00 5	0.00 2	0.0 00	0.0 00	0.0 00	0.0 00	0.0 00	0.0 3			
17 A1e MG592298 Benín	0.19 6	0.21 3	0.19 0	0.20 9	0.20 7	0.20 6	0.20 8	0.00 5	0.00 4	0.0 00	0.0 00	0.0 00	0.0 00	0.00 2	0.00 5	0.00 3		
18 A1 KX463736 Portugal	0.19 7	0.21 3	0.19 3	0.21 0	0.20 9	0.21 0	0.21 2	0.00 2	0.00 4	0.00 2	0.00 2	0.00 2	0.00 2	0.00 2	0.00 2	0.00 3	0.00 3	
19 A1b FJ477985 España	0.16 7	0.16 7	0.16 3	0.16 3	0.16 2	0.16 3	0.16 3	0.00 2	0.00 4	0.00 2	0.00 2	0.00 2	0.00 2	0.00 2	0.00 0	0.00 2	0.00 3	0.00 0

Nota: divergencia entre mitotipos, A4 de Nicaragua y otros países, A1 de Nicaragua y otros países, A1 y A4 de Nicaragua.

La similitud entre las seis muestras de Nicaragua clasificadas como mitotipo A1 fue de al menos 99.8 %; cinco de estas muestras eran 100 % similares al mitotipo A1 descrito en Argentina (JQ582438), y cuatro eran 100 % similares a la secuencia de Benín (MG592298). Al relacionar los mitotipos A1 del sudoeste de Europa con las secuencias A1 de Nicaragua, la divergencia fue mayor (entre 0.002 y 0.004); aún era más divergente la comparación con la secuencia del Norte de África (entre 0.004 y 0.006). La muestra MW695396 (mitotipo A4) y la muestra MW695399 (mitotipo A1) fueron recolectadas de la misma colmena y presentaron una divergencia de 0.110.

En Tabla 15 se muestra el número de diferencias de bases por sitio entre las secuencias. Este análisis involucró 19 secuencias de nucleótidos. Todas las posiciones ambiguas se eliminaron para cada par de secuencias (opción de eliminación por pares). Hubo un total de 656 posiciones en el conjunto de datos final.

Discusión

El proceso de africanización de *A. mellifera* en el continente americano desde los años 60 del siglo pasado, inició en Nicaragua hace más de tres décadas. La abundante flora del país y una apicultura mayoritariamente rústica con poca intervención de los apicultores, ayudaron a las abejas melíferas con características africanas de reproducirse con facilidad, especialmente, cuando colonias de abejas silvestres formaban parte del colmenar manejado por los apicultores (Francoy et al., 2009; Guzmán-Novoa et al., 2020). Debido a la ventaja de apareamiento de los zánganos africanizados (Rinderer et al., 1986) y el período más corto de eclosión de las reinas africanizadas (Rinderer & Hellmich, 1991), es muy probable que las abejas africanizadas se encuentren en todos los apiarios de Nicaragua.

La tabla 13 muestra que existían diferencias significativas entre las zonas del estudio en cuanto a la defensividad, el origen de la colmena, la práctica del cambio de la reina y el origen de esta.

Los resultados reflejaron que las abejas en el Occidente eran dóciles, aunque en esta zona la captura de enjambres silvestres era la práctica más utilizada para reproducir las colmenas. En cambio, en la zona Norte predominó un CD más alto, aunque el método común era la división de colmenas con reemplazo de reinas. Pareciera que se reprodujeron las colonias más defensivas, lo que podría explicarse, en buena parte, por el interés de los apicultores en evitar el robo de sus colmenas, según el “consensus apicultorum” (Pérez Piñeiro, 2021) entre los apicultores de Matagalpa y Jinotega.

La captura de enjambres silvestres para multiplicar las colmenas es un posible factor de la heterogeneidad del color abdominal por el efecto probable de la poliandria en poblaciones de abejas sin control de fecundación. Además de la reproducción poliándrica, el manejo técnico del apicultor de multiplicar las colmenas contribuye a la diversidad de las colonias. El intercambio de panales de diferentes colmenas (introducción de panales con cría abierta y sellada) no sólo es una práctica utilizada en la división de colmenas, sino que también sirve para fortalecer las colmenas débiles.

En el Occidente, se reflejó el mayor porcentaje de heterogeneidad fenotípicamente visible, lo que coincide con la hipótesis de la captura de colonias y el no reemplazo de reinas. No obstante, las tres colmenas donde se encontraron dos obreras con diferente mitotipo eran de las zonas Central y Norte. Estos resultados subrayan la necesidad de seleccionar más de una abeja obrera por muestra para la identificación de los mitotipos, como sugieren Evans et al. (2013). La crianza de reinas que podría ser un control genético de las colonias, se practicó solo en la zona Central, por un corto período, pero la empresa quebró ante dificultades técnicas insalvables, además de no existir demanda de tales reinas por los apicultores.

La determinación del linaje A, combinado con el carácter morfométrico de la longitud media del ala anterior ($\bar{x}$ = 8.74 mm) indicaron un alto grado de africanización en las colonias de *A. mellifera* en Nicaragua, con base en los criterios de diversos autores (Rinderer et al., 1986; Franck et al., 2001; Zárate et al., 2022). Nicaragua tiene un clima tropical, incluso en lugares más altos, un factor que favorece encontrar abejas africanizadas en todo el país. El indicador morfométrico “longitud media del ala anterior” que indica africanización, no mostró variación a nivel nacional, sin diferencia significativa entre las zonas de estudio (Tabla 14), ni relacionado con la altura de ubicación de los apiarios, además de no existir asociación a características de las colmenas y a su manejo (Figura 8). En Benín, África, no se encontró correlación entre los caracteres morfométricos (principalmente la longitud de las alas y las patas) y la altitud de los apiarios, aunque describieron un gradiente positivo de sur a norte del país relacionado con el tamaño de las abejas. Además, afirmaron que no hubo diferencia entre las características morfométricas de los diferentes haplotipos (Amakpe et al., 2018), resultados similares a los del presente estudio en Nicaragua.

Se observó predominio del mitotipo A1 (80 %) y apenas 19 % presencia del A4. Contrario a los resultados de la morfometría, se presentó una diferencia significativa entre los mitotipos y las altitudes correspondientes a las diferentes zonas; se detectaron más abejas con el mitotipo A4 en la zona Norte con las mayores altitudes ($\bar{x}$ = 674.78 m) que en el Occidente y la zona

Central (Figura 10). De igual manera, se ha observado según Kraus et al. (2007) que el mitotipo A4 resultó más frecuente en altitudes mayores de Veracruz, México, y señalan que algo similar se reportó en abejas africanas de Pretoria, Sudáfrica, en altitudes de 1300 m (70 % del mitotipo A4 y 20 % del A1).

En Costa Rica con condiciones similares a las de Nicaragua, se encontró una mayor frecuencia del mitotipo A1 (55.9 %) que del mitotipo A4 (33.9 %) (Lobo, 1995). En Colombia, el 98.3 % de la población de abejas estudiadas presentaba mitotipos africanos, representados en 17 clases (A), con los mitotipos A1 y A4 como más frecuentes dentro de este linaje (Tibatá et al., 2018). En apiarios de Brasil y Uruguay, Collet et al. (2006) reportaron el predominio de los mitotipos A1 y A4; sin embargo, encontraron una mayor frecuencia del mitotipo A4 (68 %). Esta diferencia se puede atribuir al hecho de que, en general, el mitotipo A1 es más común en las regiones norteñas, tanto en África como en América Latina, mientras que el mitotipo A4 se ha observado con mayor frecuencia en Sudáfrica y América del Sur (Franck et al., 2001; Porrini et al., 2022).

Al norte de Nicaragua, en México, estudiaron la genética de las abejas melíferas en cinco regiones con importancia apícola con diferentes zonas climáticas. La investigación reveló colonias con mitotipos de los linajes A, C y M; pero, aun así, más del 50 % de las colonias presentaron abejas con mitotipos del linaje A, principalmente en regiones subtropicales y tropicales. Sin embargo, A1 fue también el mitotipo más frecuente en el estudio (Domínguez-Ayala et al., 2016). Asimismo, en Veracruz, México, con clima de sabana tropical, hallaron mitotipos de abejas de los linajes A, C y M, pero principalmente A1 y A4. En la parte baja del sitio de estudio tomaron muestras de colmenas establecidas a partir de enjambres capturados predominaron mitotipos A (67 %) y en menor proporción los europeos (33 %), mientras que en las zonas altas (hasta 2500 m) solamente tomaron muestras de colonias silvestres y encontraron a una población de abejas africanizadas en un 97 %. Según su discusión, el hallazgo se debe al hecho de que algunos apicultores en altitudes más bajas introdujeron constantemente reinas europeas, mientras que en altitudes más altas, donde no se realizó esa práctica, como era de esperar, las abejas africanizadas desplazaron a las abejas europeas (Kraus et al., 2007).

La baja diversidad de mitotipos del linaje A reportada en este estudio podría explicarse por la acción de la enzima de restricción *DraI*, que se sabe no identifica variaciones genéticas en el linaje A (Franck et al., 2001; Szalanski & Magnus, 2010; Tibatá et al., 2018) y además, todavía hay un mitotipo no identificado de la zona Norte.

La secuenciación de la región intergénica del COI-COI confirmó los resultados de los mitotipos identificados por digestión con la enzima de restricción Dral. Ambos mitotipos, A4 y A1, mostraron divergencia entre las muestras de Nicaragua. Tres abejas fueron clasificadas por secuenciación como *A. mellifera scutellata* mitotipo A4. El análisis filogenético indicó una similitud > 99.7 % con secuencias de África (Amakpe et al., 2018), Brasil (Collet et al., 2006) y Argentina (Agra et al., 2018), lo que refuerza los hallazgos de que este mitotipo se encuentra con mayor frecuencia en áreas tropicales y subtropicales (Collet et al., 2006).

De los seis mitotipos A1 de Nicaragua, cinco presentaron 100 % de similitud entre ellos, mientras que una muestra (MW695401) divergió (0.002). En este caso, la comparación de secuencias es útil para identificar variantes genéticas dentro del mismo mitotipo, lo que no se puede evidenciar mediante el patrón de digestión de *Dral* (Amakpe et al., 2018). Estas cinco secuencias fueron 100 % similares al mitotipo A1 de Argentina (Techer et al., 2017) y 4/5 con una secuencia A1 de Benín, África (Amakpe et al., 2018). Por otra parte, la similitud con muestras del sudoeste de Europa y Norte de África fue menor, 99.6 % y 99.4 %, respectivamente (Franck et al., 2001; Chávez-Galarza et al., 2017), lo que apunta contra la posibilidad de que los mitotipos A1 de Nicaragua pudieran provenir de abejas ibéricas introducidas por los colonos (Franck et al., 2001).

En la discusión que se ha sostenido en el tiempo sobre la población 'pre-africanizada', se habla, sobre todo, del mitotipo A1 como *A. mellifera iberiensis* de la Península Ibérica. Es muy significativo que, en muestras colectadas en Tamaulipas, México, antes de la llegada de las africanizadas en 1988, el 13 % de las abejas pertenecía al mitotipo A1 (Kraus et al., 2007), aproximadamente similar a lo reportado hoy en la población de abejas no africanizadas de Cuba (García et al., 2021). Sin embargo, estos autores consideran que, en Cuba, fue el arribo accidental en buques, balsas de vegetación o incluso importaciones subrepticias de reinas los que introdujeron abejas africanizadas. No obstante, resultaría muy difícil que apicultores profesionales realizaran tales importaciones desde países ya africanizados y con un menor nivel en su actividad apícola. En adición, no es congruente con la realidad que una introducción de tales abejas se manifieste solo en el ADNmt, en centros de crianza de reinas de gran parte de ese país, sin su expresión fenotípica en la longitud de las alas ni en la conducta defensiva (Pérez & Demedio, 2017), como ocurrió en todo el continente, incluido el Sur de los EE.UU. (Guzmán-Novoa et al., 2020; Mendoza et al., 2020; López-Incera et al., 2021).

Por otro lado, se ha señalado que los ‘Haplotipos Ancestrales’ serían mitotipos introducidos desde África a la Península Ibérica hace miles de años, como parte de la migración natural de *A. mellifera* (Chávez-Galarza et al., 2017). Numerosos estudios sobre las subespecies de la Península Ibérica proporcionan un conjunto de datos complejos sobre los patrones filo-geográficos de *A. mellifera* (Henriques et al., 2020), pero quedan muchas preguntas sobre el origen de los mitotipos del linaje A detectados en las Américas.

Una característica morfométrica del mitotipo A1 presente en *A. mellifera iberiensis* del sudoeste de Europa es el tamaño de las alas anteriores, que resultan más largas que las de este mismo mitotipo en Sudamérica y México (Masaquiza et al., 2019; Galataud et al., 2020). A pesar de tratarse del mismo mitotipo A1, al igual que el A4, en todos los estudios precedentes de abejas africanizadas y en los presentes resultados, resultan más pequeñas que las europeas y raramente sobrepasan los 9 mm. Al considerar que el proceso de sustitución acaecido en la América tropical partió de abejas de Sudáfrica y la desaparición paralela de los linajes europeos, es lógico suponer que los mitotipos A1 y A4 vinieron de allá y no son remanentes de las introducidas originalmente desde Europa. Sin embargo, solo la longitud de las alas delanteras no es totalmente confiable para discriminar subespecies definitivas y métodos más trabajosos como la morfometría geométrica y los marcadores de ADN nuclear, ofrecerían más información sobre los procesos evolutivos (Henriques et al., 2020).

Otro hallazgo importante de este estudio reveló que la muestra MW695396 (mitotipo A4) y la muestra MW695399 (mitotipo A1) fueron recolectadas de la misma colmena y presentaron una divergencia de 0.110. En teoría, todas las abejas obreras de una colonia deberían tener el mismo ADNmt, pero las prácticas de los apicultores, como intercambiar marcos de cámaras de cría, pueden contribuir a encontrar más de un mitotipo por colmena, sin descartar los nada raros vuelos equivocados conocidos como deriva. Eso significa que tomar muestras de una sola abeja obrera por colmena puede ser insuficiente para estimar la diversidad de mitotipos (Evans et al., 2013). Un proceder alternativo podría ser tomar pupas en lugar de abejas adultas.

Conclusiones

1. El diagnóstico morfológico, confirmado por la PCR y la secuenciación evidencian que el 100 % de las abejas estudiadas son africanizadas (linaje A) y pertenecen a los mitotipos A1 y A4.
2. El mitotipo A4 predominó en la zona más alta y fresca (Norte), en coincidencia con una mayor defensividad.
3. El fenotipo de colonias con patrón de color abdominal uniforme resultó más defensivo y mostró menores TIAs, probablemente por menor presencia de ADN nuclear de linajes europeos.

Diagnostico morfométrico y molecular de los ácaros *Varroa*

Introducción

Los ácaros ectoparásitos del género *Varroa* han sido considerados la principal plaga de las abejas (*A. mellifera*) desde su propagación desde su zona de origen en el Sudeste Asiático a nivel global durante los últimos 60 años (Traynor et al., 2020; Moro et al., 2021). Además del impacto en la salud de las abejas, existe una amenaza para la industria apícola, principalmente el comercio de productos derivados de la colmena, particularmente la miel, al igual que la pérdida económica causada por la falta de polinización y la consiguiente amenaza a la seguridad alimentaria. (Rosenkranz et al., 2010, Traynor et al., 2020). La relevancia del daño que puede causar el parásito en la colmena es una disminución de la población de abejas melíferas y por tanto una disminución de la producción de miel o incluso la pérdida de colmenas enteras (Rosenkranz et al., 2010; Le Conte et al., 2020). La capacidad reproductiva y por tanto las TIAs en las regiones tropicales de las Américas muestran diferentes niveles de impacto, en dependencia de factores como variaciones geo-climáticas y, en particular, la presencia de abejas africanizadas (Fuentes et al., 2022; Castilhos et al., 2023).

En Nicaragua no existe información sobre la morfología sistemática y la variabilidad genética del ectoparásito de las abejas melíferas, *V. destructor*. La presencia de este ácaro en las colmenas se reportó en el listado de la OIE (Oficina Internacional de las Epizootias) por primera vez en 1996 (OIE, 1996) por parte de la vigilancia epidemiológica del Ministerio de Agricultura y Forestal. Dos décadas después de su entrada al país, se determina una infestación generalizada a nivel nacional en los colmenares y en colonias silvestres (OMSA, 2023b).

Objetivo

Caracterizar biométrica- y genéticamente al ácaro *V. destructor* presente en Nicaragua.

Materiales y métodos

Para realizar el diagnóstico biométrico y genético del ácaro *V. destructor* se incluyeron muestras de 18 apiarios del presente estudio y el alcance del estudio se amplió con muestras proporcionadas por el IPSA (Instituto de Protección y Sanidad Animal) de colmenas provenientes de 16 apiarios centinelas de la vigilancia epidemiológica (Figura 25).

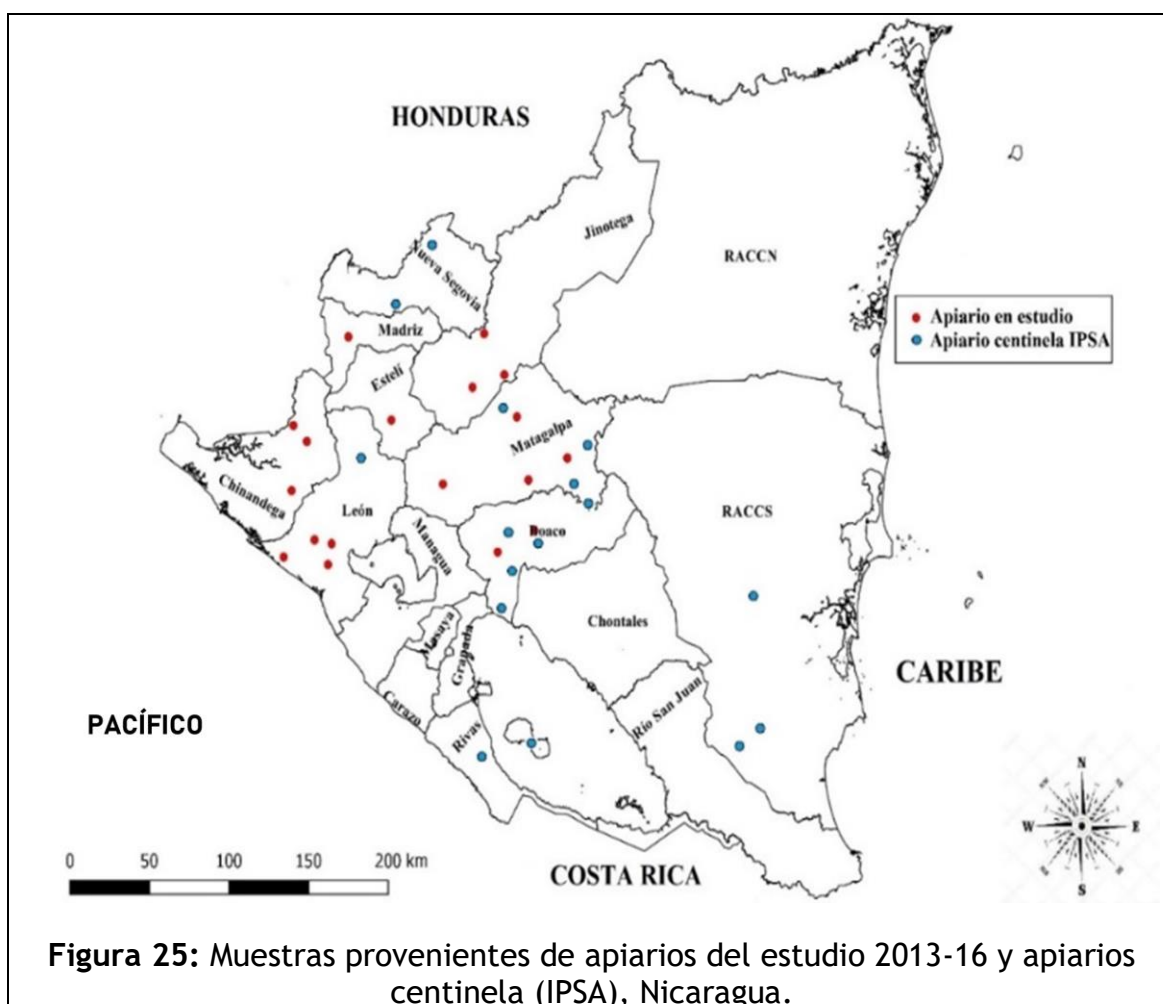


Figura 25: Muestras provenientes de apiarios del estudio 2013-16 y apiarios centinela (IPSA), Nicaragua.

El método de muestreo aplicado fue la prueba de frasco con alcohol (De Jong et al., 1982), modificada, con abejas tomadas de la cámara de cría para obtener hembras adultas del parásito. Al separar abejas y ácaros, los especímenes de los ácaros fueron guardados en alcohol al 95 % y congeladas hasta su posterior análisis.

Caracterización biométrica.

De los 713 especímenes recolectados en los 34 apiarios de estudio, se seleccionó un subconjunto de 204 hembras adultas de *V. destructor* para el diagnóstico morfométrico (seis por apiario). Los ácaros se aclararon con solución de KOH al 5 %, lavado con NaCl al 0.9 %, secados a temperatura ambiente y fijados con Bálsamo del Canadá entre porta y cubreobjetos. Al comprobar la idoneidad de las láminas preparadas para poder realizar las mediciones morfométricas, 153 especímenes fueron incluidos para determinar el ancho y largo del cuerpo. La medición se realizó con un microscopio Nikon Eclipse 55i/cámara digital Nikon DS-FA (Figura 26 a y b).

Caracterización genética.

De las muestras conservadas, se tomaron 120 ácaros hembras según las características morfométricas previamente determinadas e incluyendo los diferentes sitios geográficos, para formar 24 grupos representativos (pool/zona) de cinco especímenes cada uno (Figura 26 c). Los ácaros de cada pool se cortaron en pequeños trozos con bisturí y se colocaron en un vial de 2 ml, se añadieron 200 µl de agua libre de nucleasas y luego se maceraron en un mortero estéril hasta obtener una textura pastosa; después se añadieron 200 µl más de agua libre de nucleasas. De esta mezcla, se colocaron 200 µl en un vial nuevo y luego se sometieron al kit de extracción de ADN, DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Alemania), procediendo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Amplificación del ADNmt.

El haplotipo mitocondrial se asigna a uno de los dos tipos de ADNmt de *V. destructor*, determinado por la restricción del producto de la PCR de un fragmento del gen COI usando la enzima *SacI* (Anderson & Fuchs, 1998). Solignac et al. (2005) describieron los cebadores que se utilizaron en la PCR convencional del presente estudio para la amplificación de ADNmt: el cebador directo 5'-TACAAAGAGGGAAGAAGCAGCC-3' y además el cebador indirecto 5'-GCCCTATTCTTAATACATAGTGAAAATG-3'.

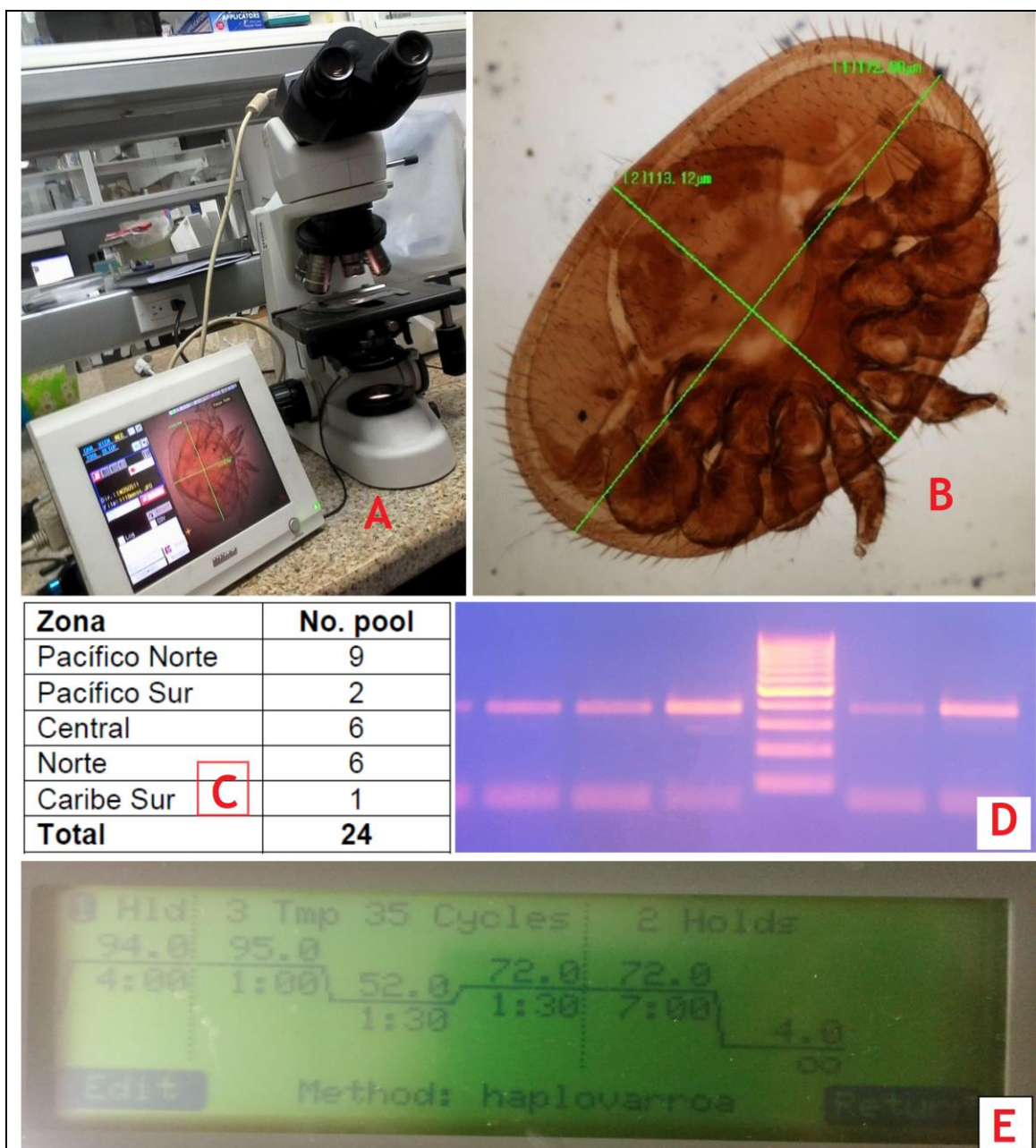


Figura 26: Diagnóstico *V. destructor*; a. mediciones morfométricas con microscopio, cámara digital y software; b. hembra *V. destructor* (ventral), mediciones ancho y largo del cuerpo; c. número de pool según zona; d. productos de la PCR de *V. destructor* e. Ciclo del Termociclador (PCR) para determinar los haplotipos de *V. destructor* (fotos Düttmann 2016).

Para proceder a la amplificación por la PCR se utilizó un volumen final de 50 µl que consta de 2 µl de cebador directo (10,000 nM), 2 µl de cebador indirecto (10,000 nM), 25 µl de Master Mix 2X (Promega, EE. UU.), 16 µl de agua libre de nucleasas y 5 µl de la muestra de ADN. El primer paso del programa de amplificación fue la desnaturalización a 94 °C durante 4 min, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por un minuto, la hibridación a 52 °C por un minuto y 30 s, extensión a 72 °C durante un minuto y 30 s, una extensión final a 72 °C durante 7 min y finalmente el almacenamiento a 4 °C. El control de calidad se realizó añadiendo un control negativo de agua libre de nucleasas a la extracción. La PCR se procesó en el Laboratorio de Diagnóstico Molecular del Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación (CEVEDI), Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinarias (ECAV), Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León (UNAN-León), utilizando el Termociclador 2720 Applied Biosystems (Figura 26 d y e).

Identificación del haplotipo.

Los haplotipos se asignaron mediante la restricción por *SacI* del producto de la PCR (376 pb); la mezcla para proceder con la digestión contenía 10 µl del producto de la PCR, 16 µl de agua libre de nucleasas, 10 µl de 10 X Buffer *SacI* y 3 µl de enzima *SacI* (20 U/µl, Thermo Científico, EE. UU.). La mezcla se incubó a 37 °C durante 1 h. Se realizó una separación por electroforesis (120 V por 30 min) en tampón de carga TAE, colocando 10 µl del producto de la digestión y 5 µl de marcador de peso molecular de 100 pb (Promega, EE. UU.) en gel de agarosa al 1.5 % con bromuro de etidio (0.5 mg/ml) y se visualizaron bajo luz ultravioleta (460 nm). Para el análisis se observa si se generan dos fragmentos (128/124 y 252/256 pb) que se considera haplotipo japonés y un solo fragmento como haplotipo coreano (Solignac et al., 2005). El ADN completo de la cepa no patógena de *Escherichia coli* Escherich ATCC 25922 añadido a *SacI*, se usó como control positivo para la digestión con la enzima *SacI*, mientras que en el control negativo no se aplicó ninguna enzima.

Secuenciación.

Dos pools de la PCR seleccionados por sus diferentes caracteres morfométricos y zonas de muestreo, fueron enviados al Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la Universidad de Costa Rica (UCR) y secuenciados en ambas direcciones con los mismos cebadores utilizados en la PCR convencional. Las secuencias obtenidas se enviaron al Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), donde asignaron los siguientes códigos de acceso MT328807 y MT328808. Se cargaron y se limpiaron las secuencias en el programa MEGA 11, luego se alinearon con el software ClustalW v.1.6.

La historia de la evolución se infirió utilizando el método de Neighbor-Joining (Chen & Wang, 2022) para comparar con otras secuencias del GenBank; el análisis se realizó utilizando el software MEGA 11 (Tamura et al., 2021). Además, las secuencias se compararon con otras secuencias de diferentes regiones a nivel mundial utilizando la base de datos NCBI BLAST (Mahdi et al., 2020).

Análisis estadístico.

Las variables continuas se evaluaron mediante la prueba de Shapiro-Wilk para determinar su distribución. Los resultados de los caracteres se sometieron al análisis estadístico comparando las medias para dos grupos paramétricos (prueba *t de Student*). Se realizó ANOVA con prueba post-hoc de Tukey de diferencia honestamente significativa (HSD) para diferentes características morfométricas y TIAs relacionadas con las zonas de muestreo.

Para la identificación de los morfotipos de *V. destructor* se aplicó un análisis de conglomerados jerárquicos según el método de Ward (Distancia euclidiana al cuadrado); los conglomerados (morfotipos) se consideraron diferentes si presentaban valores > 5 (Combinación de clúster de distancia re-escalada); las distancias representadas en el dendrograma fueron reescaladas en una escala estandarizada a 25 puntos. Se aplicó la prueba exacta de Fisher para comparar la frecuencia de morfotipos entre 10 departamentos del muestreo en el país, y considerado estadísticamente significativo en $\alpha = 0.05$. La gestión y el análisis de datos se realizaron con el software estadístico SPSS (Statistical Package for Social Science versión 2021).

Resultados

Ancho y largo del cuerpo.

La medición morfométrica del cuerpo de *V. destructor* encontrada en colmenas de Nicaragua reveló una media del ancho de $\bar{x} = 1699.1 \mu\text{m}$ (DE = $60.2 \mu\text{m}$) y del largo de $\bar{x} = 1161.1 \mu\text{m}$ (DE = $34.9 \mu\text{m}$). La relación ancho-largo fue de 1.46, resaltando la típica forma transversalmente elipsoidal del cuerpo del ácaro, más ancho que largo (Tabla 16).

Tabla 16. Caracteres morfométricos de *V. destructor* (ancho y largo del cuerpo), Nicaragua

Carácter morfométrico	N	$\bar{x}$ μm	Intervalo de confianza 95 %		DE μm
			Inferior	Superior	
Ancho del cuerpo	153	1699.12	1689.58	1708.65	60.17
Largo del cuerpo	153	1161.14	1155.61	1166.68	34.93

N: número de especímenes, $\bar{x}$: media, **DE:** desviación estándar

Los grupos taxonómicos definidos por Anderson & Trueman (2000), asignan a los ácaros con un ancho del cuerpo $\bar{x}$ = 1708.9 μm (DE = 41.2 μm) y largo de $\bar{x}$ = 1167.3 μm (DE = 26.8 μm) a la especie *V. destructor*, medidas similares a las de Nicaragua.

En Nicaragua, se encontró una diferencia significativa en el tamaño del cuerpo de *V. destructor* durante las dos épocas del año ($p < 0.01$), pero no entre las zonas de estudio ($p > 0.05$) (Tabla 17).

La estación seca corresponde a la temporada de mayor floración y por ende al crecimiento de las colmenas debido a la abundancia de néctar y polen reflejado por una población fuerte con obreras y zánganos. Durante este período, los ácaros parásitos son significativo más grandes que en la época lluviosa en términos de ancho y largo (Tabla 17).

Morfotipos.

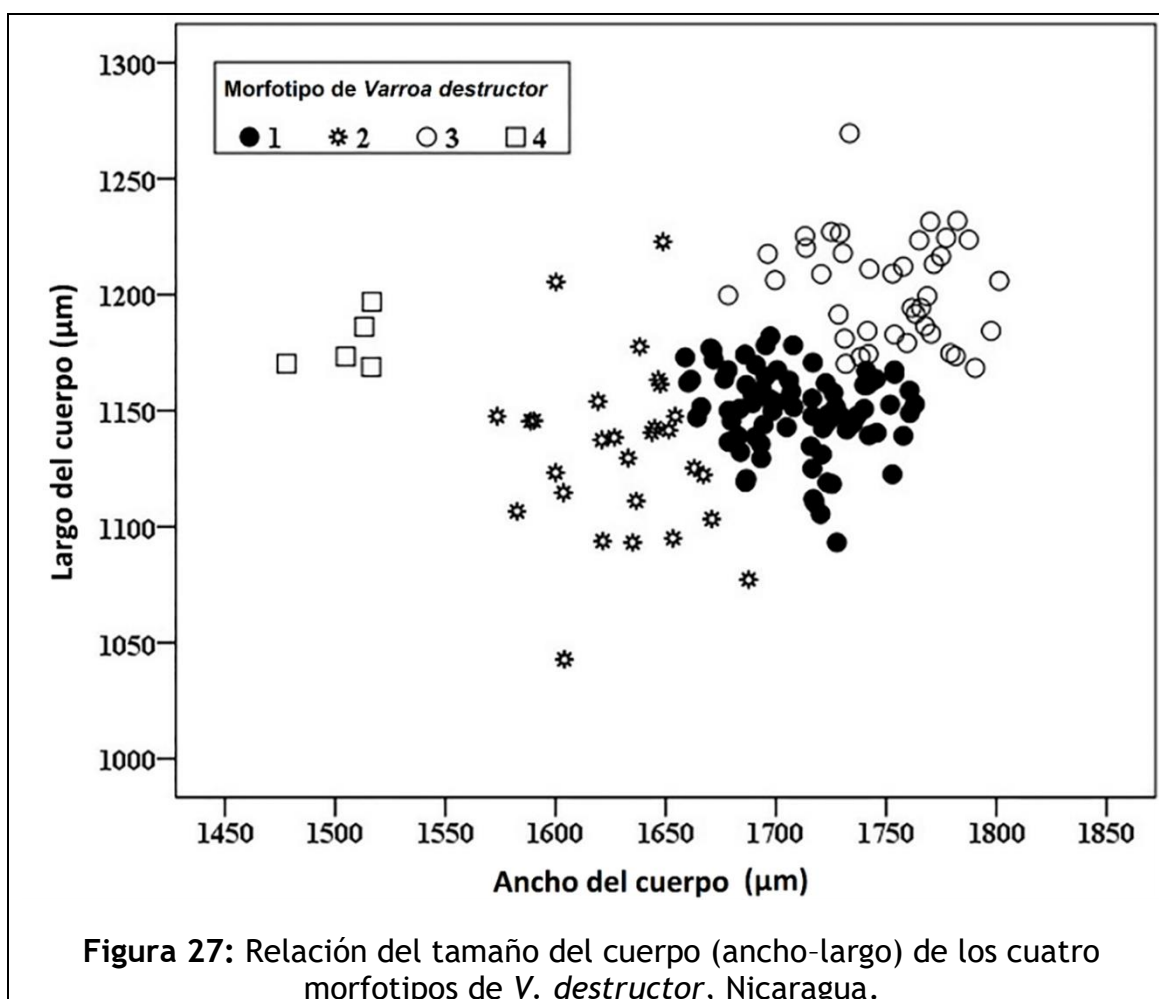
A través del análisis de conglomerados jerárquicos se clasificaron cuatro grupos según el ancho del cuerpo, la longitud del cuerpo y la relación ancho/largo del ácaro *V. destructor*. El análisis de correlación entre el ancho y el largo del cuerpo separó claramente cuatro morfotipos de *V. destructor* (Figura 27).

Tabla 17. Comparación de caracteres morfométricos de *V. destructor* según zona y época del año, Nicaragua.

	Categoría	N	Ancho (µm)	DE µm	F	p	Largo (µm)	DE µm	F	p
Zona	Pacífico Norte	45	1693.24	58.43			1153.87	32.71		
	Pacífico Sur	10	1726.48	48.97			1178.69	37.80		
	Central	32	1704.59	46.16	0.724	0.57	1158.62	23.47	1.609	0.17
	Norte	56	1696.66	71.76			1162.83	40.74		
	Caribe Sur	10	1694.41	45.51			1174.95	32.26		
Época	seca	74	1716.10	48.39			1170.69	34.10		
	lluviosa	79	1683.21	65.83	12.259	0.01	1152.20	33.49	11.435	0.01

N: número de especímenes, DE: desviación estándar, F: valor estadístico, p: significación $p < 0.05$

Los 153 especímenes evaluados se clasificaron de la siguiente manera: 81 ácaros se identificaron como morfotipo 1, morfotipo 2 con 28 especímenes y 39 para el morfotipo 3 y cinco ácaros fueron identificados como morfotipo 4. El morfotipo 3 mostraba las dimensiones mayores: ancho ($1751.1 \pm 29.2 \mu\text{m}$) y largo ($1202.8 \pm 22.5 \mu\text{m}$), mientras que el morfotipo 1 tuvo la relación cuerpo ancho-largo más grande (1.49 ± 0.04). Se observaron diferencias significativas entre los morfotipos identificados relacionado a los tres parámetros: el ancho y el largo del cuerpo, así como la relación entre ambas variables (Tabla 18).

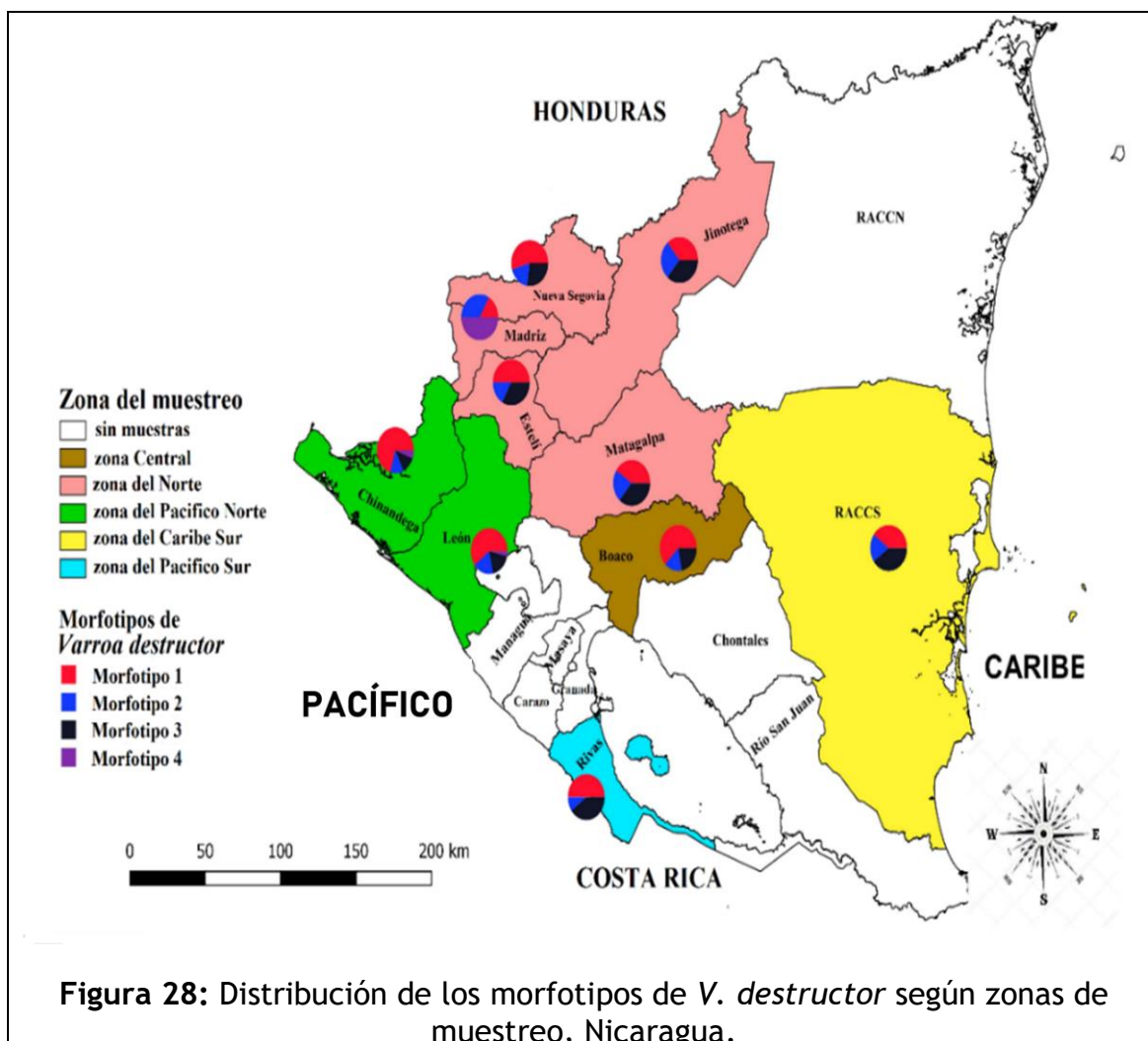


La distribución de morfotipos por departamento (Figura 28) no presentó diferencias significativas (Prueba exacta de Fisher: $p = 0.193$), ni la distribución de los morfotipos por zonas de muestreo ($p = 0.475$).

Tabla 18. Parámetros morfométricos de los cuatro morfotipos de *V. destructor*, Nicaragua.

Parámetro <i>V. destructor</i>	ANOVA Sig.	F	Morfotipo (I)	N	Media (μm)	Contraste Morfotipo (J)	Diferencia Media (I-J)	Sig. HSD de Tukey
Ancho del cuerpo AC (μm)	< 0.001	184.51	1	81	1709.73	2	79.28	< 0.001
						3	-41.41	
						4	203.95	
			2	28	1630.45	1	-79.28	< 0.001
						3	-120.69	
						4	124.67	
			3	39	1751.14	1	41.41	< 0.001
						2	120.69	
						4	245.37	
			4	5	1505.78	1	-203.95	< 0.001
						2	-124.67	
						3	-245.37	
Largo del cuerpo LC (μm)	< 0.001	61.47	1	81	1149.87	2	17.4	< 0.01
						3	-52.93	< 0.001
						4	-29.22	< 0.05
			2	28	1132.49	1	-17.39	< 0.01
						3	-70.31	< 0.001
						4	-46.61	< 0.001
			3	39	1202.8	1	52.93	< 0.001
						2	70.31	< 0.001
						4	23.71	0.153
			4	5	1179.1	1	29.22	< 0.05
						2	46.61	< 0.001
						3	-23.71	0.153
Ratio AC/LC	< 0.001	47.08	1	81	1.49	2	0.05	< 0.001
						3	0.03	< 0.01
						4	0.21	< 0.001
			2	28	1.44	1	-0.05	< 0.001
						3	-0.01	0.492
						4	0.16	< 0.001
			3	39	1.46	1	-0.03	< 0.01
						2	0.01	0.492
						4	0.19	< 0.001
			4	5	1.28	1	-0.21	< 0.001
						2	-0.16	
						3	-0.18	

DE: desviación estándar, F: Fisher-Snedecor, (I): morfotipo, (J): morfotipo para contrastar, (I-J): diferencia de la media, HSD: prueba de significación honesta de Tukey



Mientras, al comparar la distribución de los morfotipos entre las dos épocas al año, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$), destacando que los morfotipos 1 y 2 tienen mayor presencia durante la lluviosa, el morfotipo 3 predomina en la temporada seca, mientras que el morfotipo 4 solo se encontró en la época lluviosa (Tabla 19).

Tabla 19. Distribución de los cuatro morfotipos de *V. destructor* según departamento, zona y época del año, Nicaragua.

Variable	Categoría	Morfotipo				valor p Fisher
		1	2	3	4	
Departamento	Boaco	20	5	7	0	0.193
	Chinandega	12	2	2	1	
	Estelí	3	1	2	0	
	Jinotega	4	3	4	0	
	León	17	5	5	1	
	Madriz	1	2	0	3	
	Matagalpa	9	5	8	0	
	Nueva Segovia	6	2	3	0	
	RACCS	4	2	4	0	
	Rivas	5	1	4	0	
Zona	Pacífico Norte	29	7	7	2	0.475
	Pacífico Sur	5	1	4	0	
	Central	20	5	7	0	
	Norte	23	13	17	3	
	Caribe Sur	4	2	4	0	
Época	seca	35	11	28	0	0.002
	húmeda	46	17	11	5	

Valor p de Fisher significancia $p < 0.05$

Determinación del haplotipo.

En el análisis genético para determinar los haplotipos de *V. destructor*, no se observó digestión de la enzima de restricción *SacI* en ninguno de los productos de la PCR. En cada uno de los 24 pools evaluados se presentó solamente una banda (376 pb), un resultado que indicó la presencia exclusiva del haplotipo coreano (K) de *V. destructor* (Figura 29).

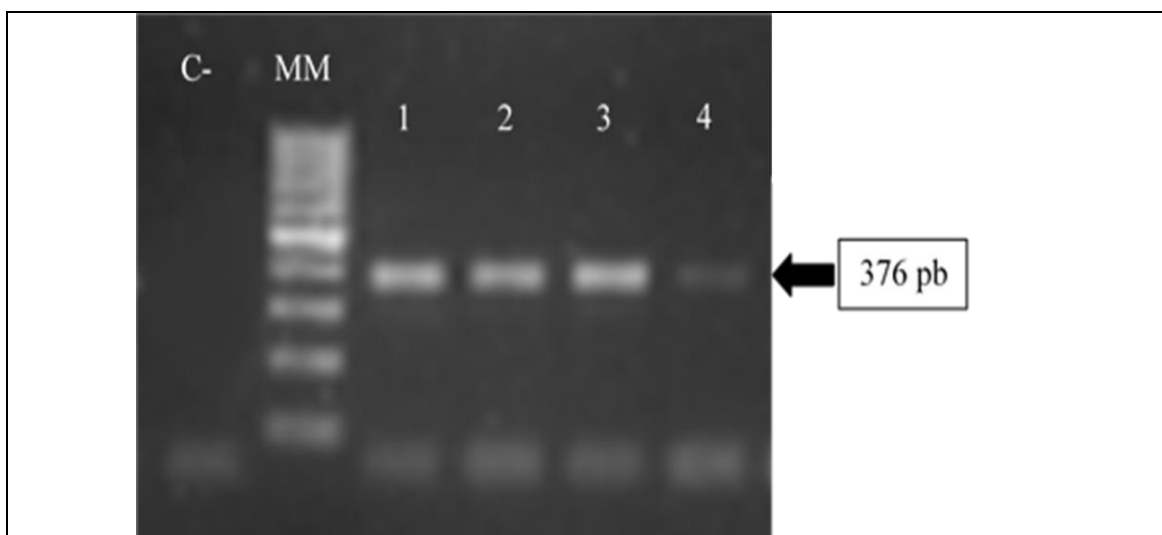


Figura 29: Electroforesis (PCR) para determinar los haplotipos de *V. destructor*, Nicaragua. Nota: C-: control negativo; MM: marcador molecular (100 pb); 1, 2, 3 y 4: cuatro pools de *Varroa*.

Secuenciación.

Este resultado se confirmó a través de la secuenciación, donde no se observó la secuencia de corte 5'-GAG CTC-3' por *SacI* (Tabla 20).

Las secuencias del estudio alineadas en el programa BLAST demostraron una similitud del 100 % con más de 100 secuencias registradas, al comparar un segmento de 355 pb del gen COI.

Análisis filogenético.

Las secuencias de nucleótidos de un fragmento del gen COI (192 pb) provenientes de dos pools con ácaros *V. destructor* del presente estudio (números de acceso del NCBI MT328807 y MT328808) mostraron una similitud de 100 % con el haplotipo coreano (Corea del Sur número de acceso NCBI AF106899) (Anderson & Trueman, 2000). Con un haplotipo japonés (MN551179.1) descrito en China en 2019 existía una similitud de 99.5 % (Li et al., 2019); 99.8 % de similitud con un haplotipo japonés (AF106897.1) proveniente de Japón (Anderson & Trueman, 2000), y 97.3 % de similitud con *V. jacobsoni* (AF106907) (Anderson & Trueman, 2000) (Figura 30).

Tabla 20. Alineación de secuencias COI de dos grupos de *V. destructor* en Nicaragua comparadas con las secuencias reportadas en el NBI.

Ubicación en el alineamiento		1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8
HM641261.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2016-India	T	G	T	A	T	G	G	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
KJ507741.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2014-Saudi Arabia	T	G	T	A	T	G	G	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
KU196784.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2016-Brazil	T	G	T	A	T	G	G	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
KU196785.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2016-Brazil	T	G	T	A	T	G	G	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
KY380055.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2017-Brazil	T	G	T	A	T	G	G	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
MK482687.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2019-Iraq	T	G	T	A	T	G	G	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
AF106899.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2000-Corea del Sur (K)	T	G	T	A	T	G	G	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
MT328807.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2017-Nicaragua (K)	T	G	T	A	T	G	G	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
MT328808.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2017-Nicaragua (K)	T	G	T	A	T	G	G	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
MN551179.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2019-China (J)	T	G	T	A	T	G	A	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
AF106897.1	<i>V. destructor</i> (COI)-2000-Japón (J)	T	G	T	A	T	G	A	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T
AF106907.1	<i>V. jacobsoni</i> (COI)-2000-Malaysia, Borneo	T	G	T	A	T	G	A	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T

(K): haplotipo coreano, (J): haplotipo japonés; secuencia de restricción de la enzima SacI en amarillo

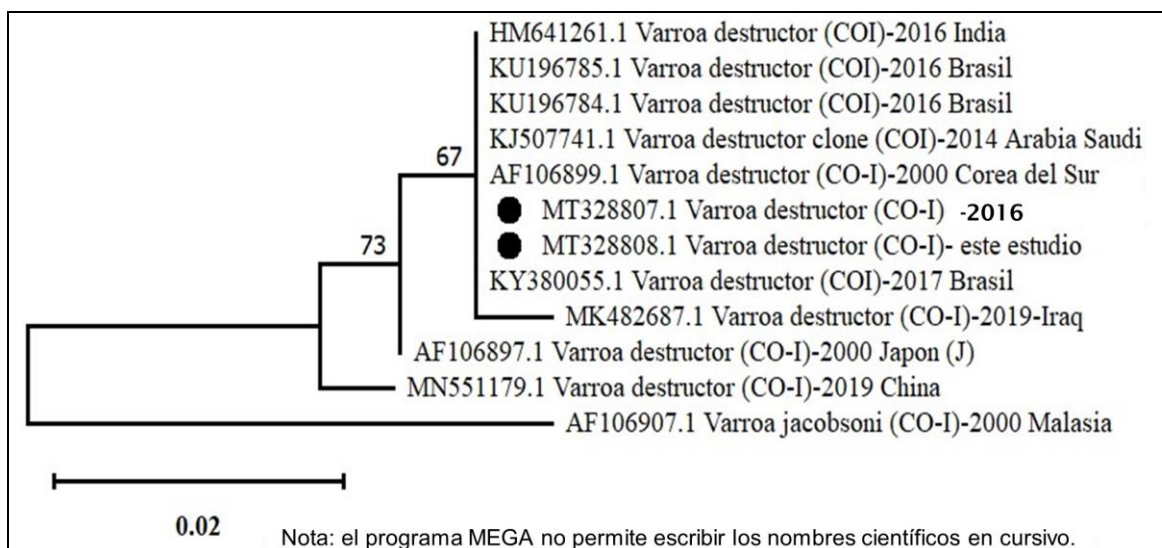


Figura 30: Análisis filogenético de secuencias de nucleótidos del gen COI de haplotipos de *V. destructor* (Fuente: Software Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA versión 11), ● : el círculo negro indica el haplotipo del estudio, Nicaragua 2016).

La historia evolutiva se infirió utilizando el método de Máxima Verosimilitud y el modelo Tamura-Nei. Se muestra el árbol con la probabilidad logarítmica más alta (-320.79). Junto a las ramas, se muestra el porcentaje de árboles que indica el grupo de taxones asociados. Los árboles iniciales para la búsqueda heurística se obtuvieron automáticamente aplicando los algoritmos Neighbor-Join y BioNJ a una matriz de distancias por pares estimadas utilizando el modelo Tamura-Nei y la topología con un valor de probabilidad logarítmica superior. El árbol está dibujado a escala y las longitudes de las ramas se miden en función del número de sustituciones por sitio. Este análisis involucró 12 secuencias de nucleótidos. Hubo un total de 192 posiciones en el conjunto de datos final.

Discusión

La varroosis se convirtió en una amenaza grave en algunas regiones del mundo, pero no en todas donde se reporta la presencia del ectoparásito. Al considerar las características intrínsecas del parásito, se planteó la hipótesis que existe un conjunto de especies del parásito con una alta especificidad de hospedero, lo que explica los diversos efectos en las colmenas en diferentes regiones (Delfinado-Baker & Houck, 1989). En las últimas cinco décadas, con base en la observación de las diferencias en el comportamiento de los ácaros y en los grados de severidad de la infestación de las colonias, se estudiaron los caracteres morfométricos de *Varroa* spp. para obtener una mejor comprensión de su biología, sistemática y variación geográfica.

El hallazgo de diferentes biotipos en relación con zonas geográficas y abejas hospederas específicas fue descrito como la plasticidad morfológica de *Varroa* spp. (Delfinado-Baker & Houck, 1989). Luego, el gran avance con el estudio publicado por Anderson y Trueman (2000), donde clasificaron *Varroa* en diferentes especies por sus caracteres morfométricos y genéticos. En las últimas dos décadas, los estudios morfométricos de *V. destructor* en las regiones neotropicales han descrito variación en la plasticidad morfométrica de los ácaros (Anderson & Trueman, 2000; Maggi et al., 2009; Giménez Martínez et al., 2017; Loeza-Concha et al., 2018).

En 2000, Anderson & Trueman describieron que ningún carácter morfológico de *V. destructor*, excepto el tamaño del cuerpo, distinguen a los ácaros pertenecientes a uno de los dos principales grupos genéticamente distintos de ácaros (J y K). En Asia, las mediciones de *V. destructor* alcanzaron un ancho corporal medio de $\bar{x} = 1708.9 \mu\text{m}$ (DE = $41.2 \mu\text{m}$) y una longitud del cuerpo medio de $\bar{x} = 1167.3 \mu\text{m}$ (DE = $26.8 \mu\text{m}$), similar a los hallazgos en Nicaragua, $\bar{x} = 1699.12 \mu\text{m}$ (DE = $60.17 \mu\text{m}$) y $\bar{x} = 1161.14 \mu\text{m}$ (DE = $34.93 \mu\text{m}$), respectivamente (Tabla 16).

Sin embargo, el morfotipo 3 aún mostró valores más altos en el tamaño del cuerpo: $\bar{x} = 1\,751.14\ \mu\text{m}$ (DE = 29.18 μm) y $\bar{x} = 1202.80\ \mu\text{m}$ (DE = 22.46 μm) (Tabla 18). Aunque no existía una diferencia significativa en las zonas de muestreo, se encontró una alta diversidad con representación de los diferentes morfotipos en todas las zonas, excepto el morfotipo 4, que solo estuvo presente con cinco especímenes, tres en la zona Norte y dos en el Occidente (Tabla 19).

Una posible explicación de la amplia distribución de los diversos morfotipos de *V. destructor* en Nicaragua es la trashumancia anual entre diferentes zonas climáticas. Debido a cambios en la floración de las plantas más visitadas, de importancia para la apicultura local, los apicultores se desplazan a mayor distancia durante la trashumancia, lo que conduce a un contacto más estrecho entre las colonias de abejas de diferentes regiones, lo que forma una nueva entrada en la cadena de transmisión. Los apicultores de la zona Central trasladan sus abejas desde la región de mayor altura (233 m) en la temporada lluviosa a la región más baja (145 m), donde se ubican las colmenas al finalizar las lluvias. Debido a la enorme capacidad de floración de esta zona, varios apicultores del Occidente y Norte trasladan también sus colmenas a la zona Central. Se realiza menos actividad de trashumancia entre las zonas Norte y de Occidente. Además, un corredor biológico se extiende a lo largo de Nicaragua, donde se puede observar una migración constante de colonias de abejas silvestres similar a la zona del Pacífico de Costa Rica, cerca de la frontera con Nicaragua (Lobo, 1995). Las colonias silvestres son una posible fuente de infestación para los apiarios, debido a la práctica de muchos apicultores, que capturan colonias silvestres para incrementar su inventario (ver capítulo origen de la colmena).

En Argentina, se identificaron tres morfotipos en 12 regiones en un estudio con correlaciones morfométricas entre poblaciones coexistentes de *V. destructor* y *A. mellifera* (p. ej., las abejas más grandes podrían soportar ácaros más grandes) (Maggi et al., 2009). Los autores también discutieron si las condiciones locales y actuales, referidas a las condiciones climáticas, podrían interferir en los caracteres morfométricos y encontraron que los tres morfotipos estaban presentes en todas las ubicaciones geográficas, aunque aclararon que los efectos latitudinales probablemente no fueron significativos (Maggi et al., 2012b). Más bien, los resultados de la región tropical de Nicaragua con un clima diferente al de la región oriental de los Andes (Argentina), coincidió con los mismos tamaños de los ácaros.

Otra hipótesis discutida en Argentina (Maggi et al., 2009, 2011, 2012a), se refiere a la presión de selección sobre *V. destructor* por el tratamiento con acaricidas, que influyó en la aparición de diferentes morfotipos, lo que no califica para Nicaragua, porque su nivel de utilización de acaricidas es muy bajo, sin un programa de control estatal, de manera que la compra y aplicación del tratamiento están en manos de cada apicultor. A menudo, el tratamiento se realiza solamente en colmenas gravemente infestadas y no en todo el apiario. Se utilizan principalmente métodos de tratamiento orgánico como el ácido oxálico. En relación a esto, en México se observó un efecto en la plasticidad morfométrica posterior al uso del timol, una reducción del tamaño corporal a los 28 días post tratamiento (Loeza-Concha et al., 2018).

Se asegura que, la plasticidad en poblaciones de insectos enfrentados a heterogeneidad ambiental como la alternancia de estaciones, conducen a la producción de distintos fenotipos estacionales y aunque este criterio se refiere a insectos, la fisiología reproductiva es similar en las especies del ácaro *Varroa*: ciclos de vida relativamente cortos que permiten múltiples generaciones en un año y la exposición a condiciones estacionales diferentes entre estas generaciones. Los factores ambientales pueden inducir cambios fenotípicos asociados a distintas estrategias de supervivencia y/o reproducción, vinculadas a las respectivas condiciones estacionales (Rodrigues & Beldade, 2020).

Respecto a la plasticidad estacional en las especies de *V. destructor*, estudios en Ucrania durante las últimas tres décadas, encontraron diferencias significativas en los caracteres morfométricos en muestras tomadas en el verano y en el invierno. Generalmente las hembras de *V. destructor* resultaron más pequeñas y alargadas durante el verano, mientras en el invierno sus cuerpos fueron más aplanados y con patas más largas. Los autores distinguieron dos morfotipos de *V. destructor*, verano e invierno, relacionados con la variación estacional y explicaron que los ácaros en el invierno se adaptan mejor para pasar la temporada encima de las abejas adultas, y los de verano se adaptaron para introducirse en las celdas y reproducirse (Maggi et al., 2009; Yevstafieva et al., 2020; Vilarem et al., 2021).

En Nicaragua, región Neotropical, la relación de las medidas del tamaño del cuerpo (ancho y largo) resultó mayor en la temporada de abundancia alimentaria para las abejas (noviembre - mayo) y más pequeños durante la estación lluviosa, de escasez alimentaria (junio - octubre). Las colonias no invernán como en las zonas con bajas temperaturas y la fase reproductiva de las abejas se mantiene durante todo el año, aunque con menor actividad durante la época lluviosa.

Una hipótesis probable para el cambio de la plasticidad en la población de *V. destructor* en Nicaragua se relaciona con la mayor actividad de acicalamiento de la abeja durante la temporada de lluvia, porque en muchas ocasiones las abejas salen menos de las colmenas y se acicalan con mayor intensidad, por lo que un cuerpo más pequeño es ventajoso para escapar del auto- y alo-acicalamiento. Por último, un efecto microambiental tan probable como el tipo de celda en que se crían los ácaros no ha sido antes expuesto ni evaluado. Es un hecho que en la época de abundancia alimentaria existe una mayor cantidad de celdas de zánganos y la medición de estos parásitos criados en ambos tipos de celdas pudiera ofrecer una explicación más simple y objetiva.

En el análisis molecular para determinar el o los haplotipos del ácaro presentes en Nicaragua, al evaluar las secuencias del gen COI no se presentó la secuencia 5'-GAGCTC-3', el punto de corte para la enzima de restricción *SacI*, lo que indica que en este país se encuentra el haplotipo coreano. Se han realizados varios estudios con marcadores de ADNmt para identificar haplotipos de *V. destructor* que infestan *A. mellifera*; sin embargo, se ha confirmado que solamente el haplotipo K y el J se pueden reproducir con éxito en las colonias de esta abeja (Anderson & Trueman, 2000). El haplotipo K se ha extendido por todo el mundo en colonias de *A. mellifera*, mientras que el J tiene una distribución más restringida y solo se ha reportado en Japón, Tailandia y América del Norte y del Sur (Maggi et al., 2012a; Muntaabski et al., 2020), aunque está en proceso de desaparición, sustituido por el K, incluso en Japón (Ogihara et al., 2020).

La secuenciación confirmó la presencia del haplotipo coreano en Nicaragua. El análisis filogenético de las secuencias COI de *V. destructor* de Nicaragua reveló 100 % similitud con las secuencias de haplotipos coreanos aislados de India, Brasil, Corea del Sur y Arabia Saudita (Anderson & Trueman, 2000). Referente al haplotipo japonés proveniente de China (Li et al., 2019), el haplotipo nicaragüense mostró menor similitud, no obstante se logró demostrar aún un alto grado de relación 99.5 %. Se describió que la variación del gen COI dentro de la misma especie de *V. destructor* es inferior al 2 %, aun en diferentes haplotipos (Anderson & Trueman, 2000). Por lo tanto, se recomienda el uso del marcador del gen COI en combinación con otros marcadores que tienen un mayor polimorfismo, como la NADH-deshidrogenasa. Esta combinación podría ser útil para identificar subhaplotipos que pueden estar asociados con los morfotipos de *V. destructor*, condiciones ambientales que inciden y así como con los caracteres genéticos de *A. mellifera* (Muntaabski et al., 2020), pero no debe obviarse la probable influencia de la abundancia relativa de las celdas de zánganos, que coincide con el incremento de morfotipos de mayor tamaño.

Conclusión

Todos los ácaros, estudiados por PCR y secuenciación, pertenecen al haplotipo K de *V. destructor*, y por sus dimensiones se agruparon en cuatro morfotipos, con claro predominio del más grande en la época de abundancia alimentaria. Sin referencias anteriores, es probable que se relacione con la mayor cantidad de cría de zánganos en esta época.

Índices de infestación por *Varroa destructor*

Introducción

Una vez caracterizado el animal susceptible, el agente etiológico y los factores de manejo y ambientales que pueden interactuar, el resultado, que hace visible o no el estado de equilibrio, se puede representar con los índices de infestación del parásito y, en un sentido más amplio, el estado de salud individual y colectivo de las colmenas. Considerado aquí en su acepción gerencial (Verde, 2014), el estado de salud comprende como indicador final la productividad de las colmenas, asumida como una media poblacional, ante la carencia de registros individuales por parte de los apicultores.

Como norma, la generalidad de la literatura consultada aporta conocimientos sobre alguno o algunos de los vértices de la tríada epidemiológica, con preponderancia en la caracterización del hospedero (Szalanski & Magnus, 2010; Wallberg et al., 2014; Tibatá et al., 2018; Calfee et al., 2020; Zárate et al., 2022) y del ácaro (Navajas et al., 2010; Dietemann et al., 2013; Clark et al., 2018; Li et al., 2019; Pinto et al., 2022), y énfasis en los perfiles genéticos y biológicos de ambos. Esto podría explicar, al menos en parte, el contraste entre la abundancia y profundidad de los estudios genético-moleculares y la excepcionalidad en los proyectos fructíferos de mejoramiento genético, a escala que se perciba un resultado significativo en el desempeño bioproductivo y sanitario de las colmenas de algún país, con muy pocas excepciones (APICUBA, 2021; García et al., 2021).

Objetivo

Evaluar los índices de infestación por *V. destructor* en relación con las características de las colmenas, su manejo y las variables geo-climáticas en tres regiones de Nicaragua.

Materiales y métodos

Para calcular la TIA en las abejas adultas, se tomaron un total de 150 muestras de las colmenas seleccionadas según lo establecido en Materiales y Métodos Generales, capítulo Tamaño de la muestra y Selección de la muestra. Cada muestra contenía entre 250 y 300 especímenes de abejas adultas en alcohol al 95 %.

Para el diagnóstico de varroosis se utilizó la siguiente técnica:

1. La determinación de la TIA se realizó mediante la prueba del frasco (De Jong et al., 1982), modificado con alcohol en lugar de jabón. En frascos debidamente identificados se recolectaron las ~ 250 abejas de tres diferentes marcos de la cámara de cría. En el laboratorio se agitó manualmente el frasco para que los ácaros se desprendieran de las abejas. Después se vertió el contenido (alcohol y especímenes a evaluar) de cada frasco en una bandeja blanca para realizar por separado el conteo de las abejas y los ácaros. Las abejas fueron retornadas a los frascos con el alcohol renovado (95 %) y llevadas a congelación (-20 °C). Al finalizar el conteo de los ácaros, fueron succionados con una pipeta y colocados con alcohol al 95 % en un vial plástico de 5 ml e identificados con código por muestra para conservarlos a -20 °C.

El porcentaje de la TIA, se calculó a través de la relación porcentual entre el número de ácaros y el número de abejas:

$$TIA\% = \frac{\text{\# ácaros adultos}}{\text{\# abejas}} \times 100$$

Para determinar la interacción de los factores que inciden en la varroosis, se evaluó la asociación de la TIA con las características del hospedero (*A. mellifera*) y del parásito (*V. destructor*), así como las condiciones geoclimáticas y las actividades del manejo apícola a nivel de apiario y colmena. Las variables de categoría se relacionaron con la prueba de Kruskal-Wallis con la TIA y las variables numéricas con la correlación rho de Spearman.

Evaluación de la interacción.

- Para relacionar la TIA con las características de las abejas melíferas, se evaluó si existía una asociación entre el porcentaje de la infestación y la uniformidad fenotípica, la defensividad, la morfometría de la longitud del ala anterior derecha, el grado de africanización, los mitotipos, el CD y el CH.
- Para evaluar la asociación de la TIA con las características de *V. destructor*, se correlacionaron los resultados de la morfometría (ratio ancho/largo corporal y morfotipos) con la TIA. Los resultados de la genética del parásito no proporcionaron condiciones para realizar análisis estadístico, porque solamente un haplotipo fue determinado.
- Entre las características geo-climáticas de los sitios del estudio, se evaluó una probable asociación de los estratos geo-climáticos (categórica: zona de estudio), altura de la ubicación de los apiarios (cuantitativo y cualitativo) y las dos estaciones del año (categórica).
- Se evaluaron las actividades del manejo de las colmenas para determinar si existe un vínculo entre estas y la TIA. El manejo apícola fue evaluado 1) a nivel del apiario: condiciones (categóricas) como la ubicación en sol y sombra, alimentación artificial y la práctica de trashumancia 2) a nivel de colmena, el método de multiplicar la colmena, el estado de los panales, la práctica del cambio de reina y la aplicación de tratamiento contra varroosis.

Resultados

Tasa de infestación por *V. destructor*.

Todos los apiarios en estudio mostraron presencia de *V. destructor* (Focalidad = 100 %) y 128 colmenas de 150 resultaron positivas (Prevalencia = 85.3 %). La TIA general en las 150 colmenas alcanzó un valor medio de $\bar{X} = 2.93 \pm 2.99$ % (DE), con un rango entre 0 y 13.54 %. Debido a los valores extremos, la prueba de Kolmogorow-Smirnoff para la TIA indicó que los datos no tenían una distribución normal ($p < 0.01$), por tanto, la descripción de la tendencia central se presentó aplicando la mediana ME = 1.99 % (rango intercuartílico Q_1 0.77 % - Q_3 4.11 %). Las medianas de la TIA para cada apiario se presentan en la tabla 21.

Tabla 21. Mediana de la tasa de infestación por apiario.

Apiario	ME	# Colmenas	Departamento	Zona
1	2.04	9	León	Occidente
2	1.29	9	León	
3	1.68	1	León	
4	7.01	10	León	
5	3.80	10	León	
6	0.83	10	Chinandega	
7	5.20	10	Chinandega	
8	0.71	10	Chinandega	
9	3.05	5	Boaco	Centro
10	1.73	5	Boaco	
11	0.70	10	Boaco	
12	1.30	10	Boaco	
13	1.15	5	Boaco	
14	1.43	5	Boaco	
15	3.88	6	Somoto	Norte
16	10.13	2	Somoto	
17	0.00	3	Matagalpa	
18	0.00	3	Matagalpa	
19	1.19	3	Matagalpa	
20	1.23	3	Matagalpa	
21	2.50	3	Matagalpa	
22	4.41	3	Jinotega	
23	6.12	3	Jinotega	
24	3.37	3	Jinotega	
25	5.93	3	Jinotega	
26	5.06	3	Jinotega	
27	0.83	3	Estelí	

Dado que los valores de la TIA no presentaron distribución normal, se aplicaron las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y rho de Spearman para el posterior análisis estadístico de las variables seleccionadas para relacionarlas con la TIA.

Interacción TIA con las características de las abejas.

Se encontró una diferencia significativa de la TIA respecto al fenotipo (color uniforme o variado) y aunque ambos son valores bajos, la media menor correspondió a las colmenas con abejas de color uniforme (Tabla 22).

Tabla 22. Correspondencia entre el fenotipo color abdominal, la TIA y la defensividad de las colonias (*A. mellifera*), Nicaragua.

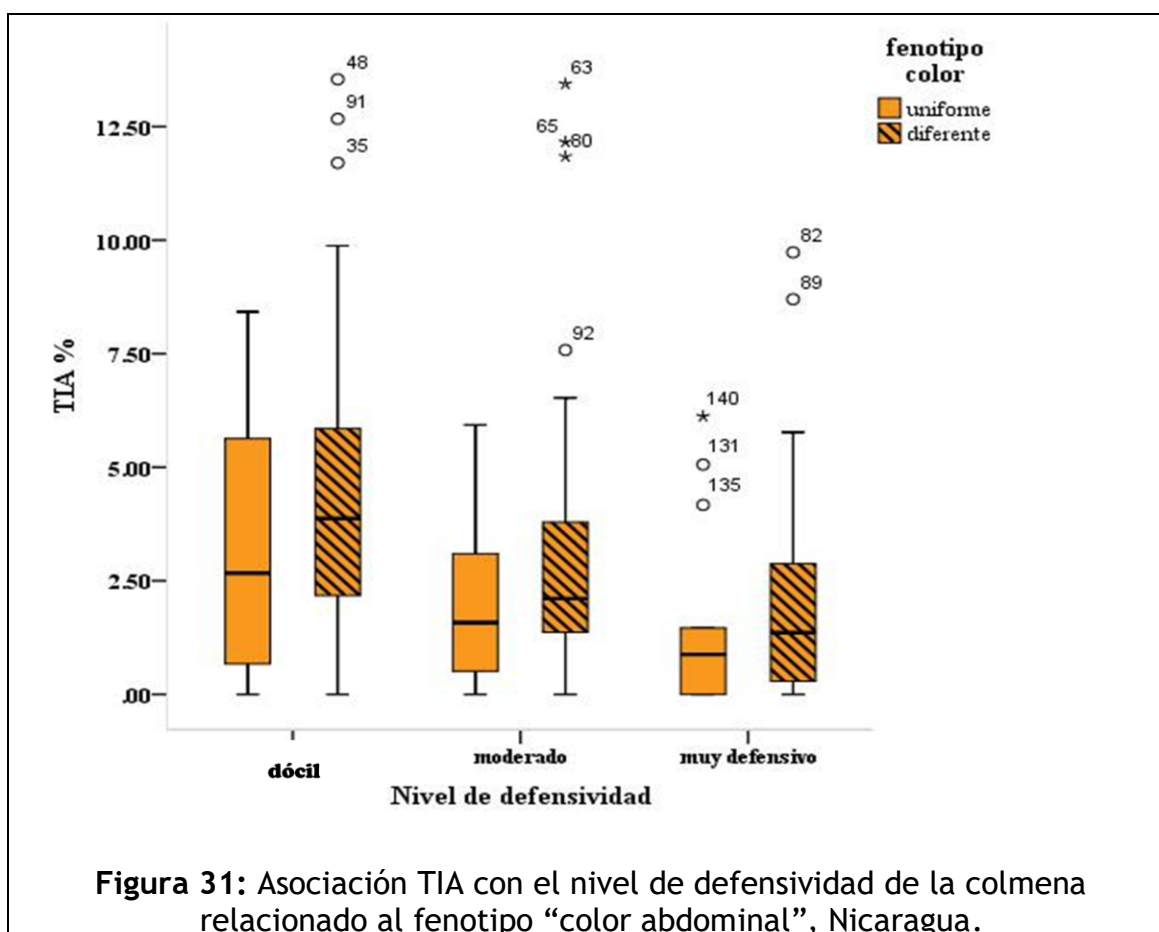
Color abdominal	n	TIA ME	Defensividad de las colonias según fenotipo %		
			Dócil	Moderada	Muy defensiva
uniforme	58	1.41	15.5	62.1	22.4
variado	92	2.58	35.9	44.6	19.6

ME: mediana; Kruskal-Wallis: $H = 5.911$; $p < 0.05$

De igual manera existió una asociación entre TIA y la defensividad de la colmena (Kruskal-Wallis $H = 11.215$, $p < 0.01$) que mostró una TIA mayor dentro del grupo de abejas dóciles (ME = 3.76) y la menor TIA fue observada en las colmenas muy defensivas (ME = 1.15). En el análisis estratificado la TIA es menor en las colmenas muy defensivas con color abdominal uniforme (Figura 31).

La tabla 23 indica que el CH y los mitotipos no mostraron una diferencia significativa en el porcentaje de la TIA, aunque las colmenas con un excelente CH presentaron la TIA aparentemente más baja.

Además, ninguna variable numérica mostró asociación con la TIA. La característica morfométrica medida por la longitud del ala anterior derecha en 146 colmenas no tuvo asociación con la TIA (Coeficiente de correlación rho de Spearman $r_s = 0.077$, $p > 0.05$), tampoco el grado de africanización (evaluado según el método de Rinderer et al., 1986) con la TIA, (Coeficiente de correlación rho de Spearman $r_s = -0.059$, $p > 0.05$).



Interacción TIA con las características de los ácaros.

Los factores intrínsecos del parásito para evaluar la interacción en la triada epidemiológica se limitan en las características morfométricas, porque solamente se presentó un haplotipo en el estudio. Se mostró que no hubo una correlación entre la característica morfométrica de *V. destructor* relación ancho/largo corporal de 153 ácaros *V. destructor* y la TIA (Coeficiente de correlación rho de Spearman $r_s = 0.065$, $p > 0.05$), ni una asociación entre los cuatro morfotipos de *V. destructor* y la TIA (Kruskal-Wallis 2.046, $p > 0.05$).

Tabla 23. Relación TIA con características de las abejas (*A. mellifera*) en el estudio, Nicaragua.

Variable	Categoría	Colmenas	TIA ME ¹	H ²	gl ³	p ⁴	n ⁵
Comportamiento higiénico	bueno	16	3.80	4.762	3	0.190	70
	moderado	8	3.10				
	malo	6	2.90				
	excelente	40	1.97				
Mitotipo	A4	58	3.74	1.188	1	0.276	96
	A1	92	2.00				

¹ Mediana, ² Kruskal-Wallis *H* test, valor del Chi-cuadrado, ³ Grados de libertad, ⁴ Significancia $p < 0.05$; ⁵número de muestras

La TIA no presentó diferencias en las dos épocas estudiadas, verano e invierno ($p > 0.05$), sin embargo, la distribución de los morfotipos entre las dos épocas del año mostró una diferencia significativa ($p < 0.01$), con los morfotipos grandes el 1 (mayor índice corporal) y el 3 (más ancho y más largo) que predominan en la temporada seca del verano con mayor cantidad de cría de abejas (Figura 32).

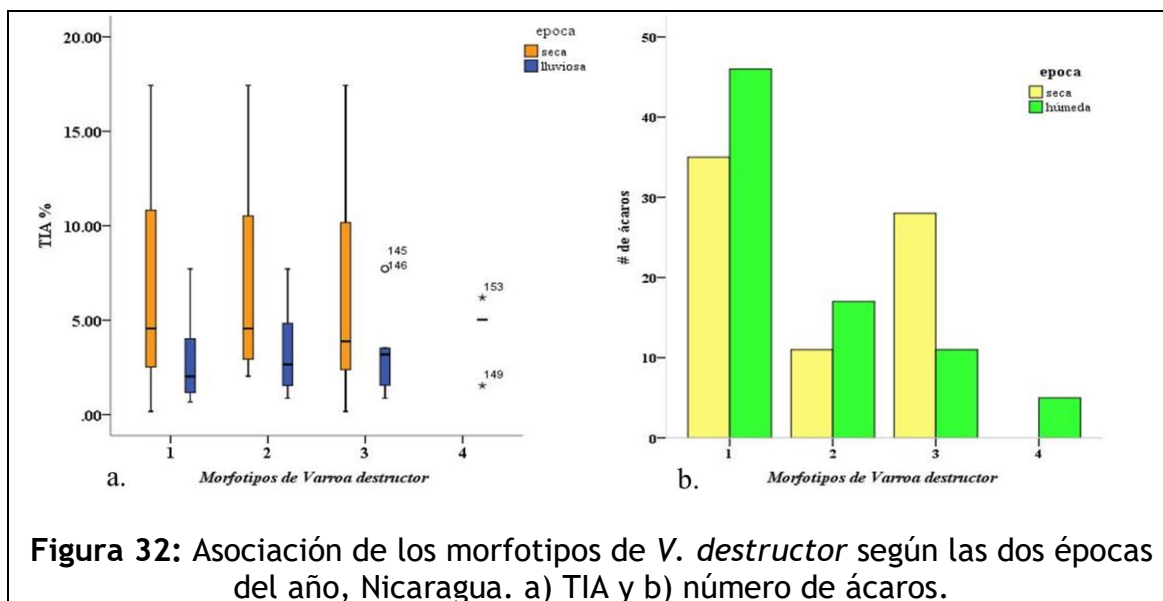


Figura 32: Asociación de los morfotipos de *V. destructor* según las dos épocas del año, Nicaragua. a) TIA y b) número de ácaros.

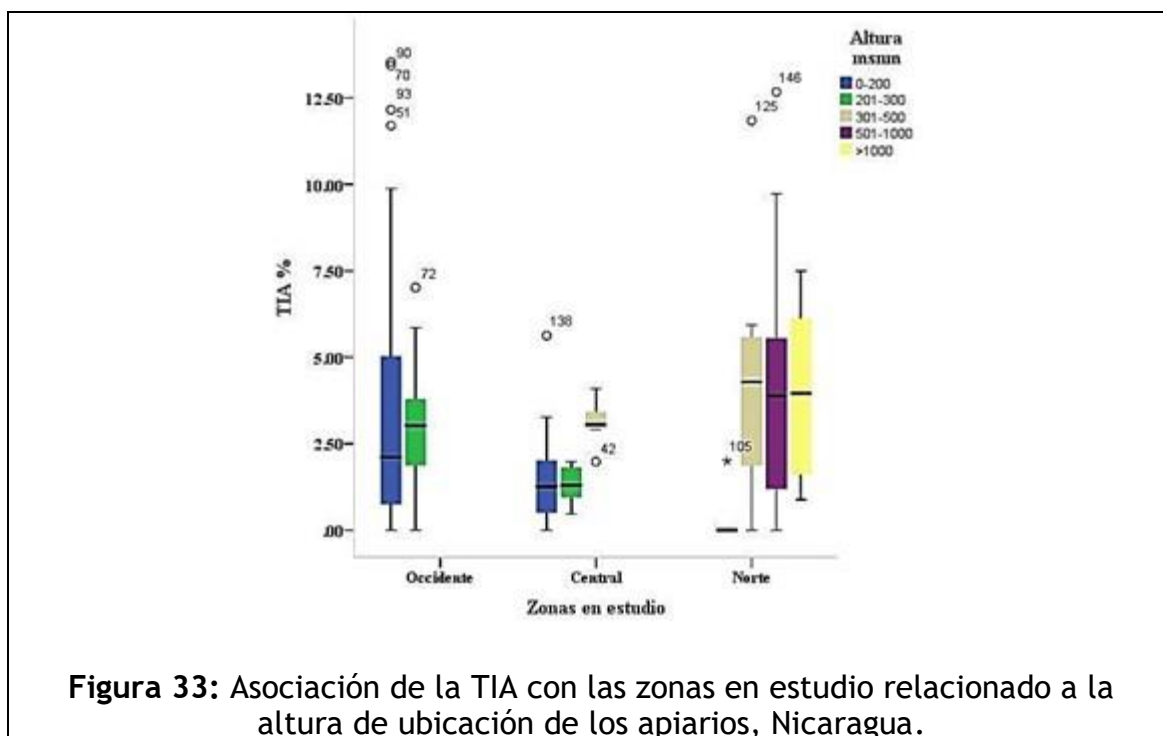
Interacción TIA con condiciones geo-climáticas.

Es significativa la relación entre la TIA y los estratos geo-climáticos determinados por las tres zonas estudiadas (Kruskal-Wallis $H = 7.542$, $p < 0.05$), como la relación de la altitud de ubicación de los apiarios con la TIA (coeficiente de correlación rho de Spearman $r_s = 0.176$, $p < 0.05$), mientras que no hubo asociación con la época del año. La zona Norte presentó la TIA más alta, donde se encuentran los apiarios a una mayor altura (Tabla 24 y Figura 33).

Tabla 24. Relación TIA con condiciones geo-climáticas en el estudio, Nicaragua.

Variable	Categoría	Colm.	ME ¹	H ²	gl ³	p ⁴
Estrato geo-climático (zona)	Norte	41	3.37	7.524	2	0.023
	Occidente	69	2.52			
	Central	40	1.46			
Altura (clases)	0 - 200	75	1.66	11.068	4	0.026
	201 - 300	35	1.89			
	301 - 500	17	3.42			
	501 - 1000	17	3.89			
	> 1000	6	3.96			
Época del año	seca	74	2.49	1.284	1	0.257
	húmeda	76	1.80			

¹ Mediana, ² Kruskal-Wallis H test, valor del Chi-cuadrado, ³ Grados de libertad, ⁴ Significancia $p < 0.05$, Colm.: colmenas



Interacción TIA y las condiciones del manejo.

A nivel del manejo de los apiarios ninguna actividad o condición pertinente mostró asociación con la TIA (Tabla 25).

Tabla 25. Relación TIA con del manejo de los 27 apiarios del estudio, Nicaragua.

Variable	Categoría	Apiarios	ME ¹	H ²	gl ³	p ⁴
Emplazamiento	sombra	7	3.18	3.718	2	0.156
	semi-sombra	16	2.66			
	sol	4	1.17			
Alimentación energética	sí	19	2.25	1.492	1	0.222
	no	8	1.17			
Trashumancia	no	9	3.09	0.677	1	0.411
	sí	18	2.11			

¹ Mediana, ² Kruskal-Wallis H test, valor del Chi-cuadrado, ³ Grados de libertad, ⁴ Significancia p < 0.05

La distancia entre los apiarios no está asociada al nivel de la TIA (Coeficiente de correlación rho de Spearman $r_s = -0.061$, $p > 0.05$). A nivel del manejo de las colmenas, la única variable que mostró asociación con la TIA fue el uso del tratamiento Anti-*Varroa*, con efecto protector en cuanto aplicado durante los últimos seis meses (Tabla 26 y Figura 34).

Tabla 26. Relación TIA con el manejo de las 150 colmenas en el estudio, Nicaragua.

Variable	Categoría	Colm.	ME ¹	H ²	gl ³	p ⁴
Multiplicación de las colmenas	capturadas	33	2.74	5.985	3	0.112
	divididas	70	2.48			
	compradas	27	1.69			
	criadas	20	1.25			
Estado de panales	viejo	38	2.65	3.805	2	0.149
	regular	42	2.09			
	bueno	70	1.60			
Cambio de reina	si	87	2.00	0.017	1	0.897
	no	63	1.98			
Tratamiento Anti- <i>Varroa</i>	no	55	3.94	27.213	1	0.000
	si	95	1.43			
Protección de la colmena	sin protección	71	4.00	43.082	1	0.000
	tratada < 6 meses	79	1.24			

¹Mediana, ²Kruskal-Wallis H test, valor del Chi-cuadrado, ³Grados de libertad,

⁴Significancia $p < 0.05$ Colm.: colmenas

Al analizar el probable efecto del tratamiento Anti-*Varroa*, en el que todos utilizaron ácido oxálico, se observó que solamente los apicultores de la zona Central aplicaron esta medida sanitaria a todas sus colmenas, con el resultado de una diferencia significativa ($\chi^2_{2, 150} = 53.803$, $p < 0.01$) entre las TIAs, según zona y tratamiento aplicado.

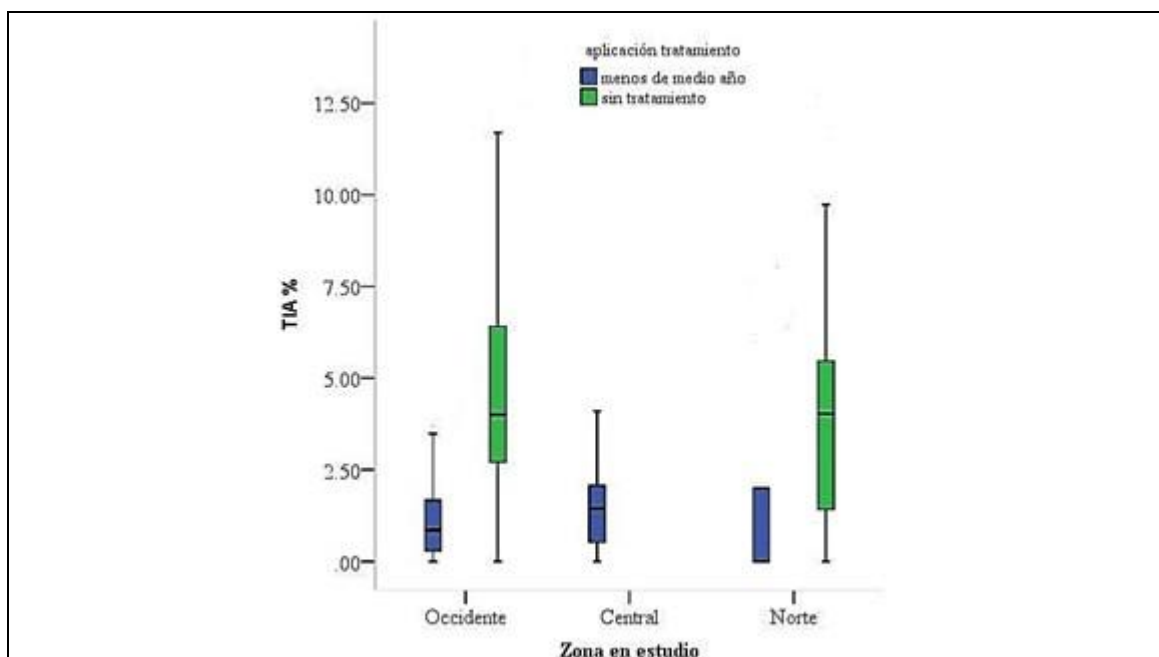


Figura 34: Asociación entre la TIA y la aplicación del tratamiento Anti-Varroa según zona, Nicaragua.

Discusión

Después de 20 años del primer reporte del ácaro en Nicaragua (OIE, 1996), la focalidad determinada alcanzó el 100 % de los apiarios estudiados, tal como se ha observado en numerosos países (Sanabria et al., 2015; Maggi et al., 2016; APICUBA, 2021; Tibatá et al., 2021; Castilhos et al., 2023) y más aún, al considerar la elevadísima capacidad de enjambrazón de la abeja africanizada (Calderón et al., 2019; Guzmán-Novoa et al., 2020), presente desde 10 años antes que *V. destructor* en todo el país (Swezey, 1986). El siguiente indicador, importante, pero de relativa certeza, la prevalencia, se elevó a 85.3 % de las colmenas estudiadas. Si se compara con otros valores en el área americana africanizada (Tapia-González et al., 2019; Pinto et al., 2022), este se encuentra en su entorno, pero oscila habitualmente entre lugares y a lo largo del tiempo. Esta variabilidad refleja la naturaleza del indicador y se ve afectado, además, por la moderada sensibilidad del método, habida cuenta que desde hace años se observó que, en las áreas invadidas por el parásito, pronto todas las colmenas están parasitadas, pero cuando el índice es muy bajo, se asume como valor cero, a sabiendas o no de que se incluyen falsos negativos.

Menores que la media reportada para el país por el IPSA 2009-2016 de 4.4 % (Henry Osejo, MSc., médico veterinario, responsable del área apícola del IPSA, Instituto de Protección y Sanidad Animal, Managua, Nicaragua, 2023, comunicación personal), la TIA media de las colmenas en estudio arrojó 2.99 %, con diferencias entre las tres zonas. Aunque se sabe que la dinámica de infestación puede variar entre temporadas, disponibilidad de alimentos e incluso en regiones pequeñas (Guichard et al., 2020; van Alphen & Fernhout, 2020; Castilhos et al., 2023), parece clara la influencia reductora de la aplicación del ácido oxálico a las colmenas de la región Central, hasta seis meses antes. Este producto, aceptado en los requisitos de la apicultura orgánica, mantiene su vigencia y es utilizado en numerosos países (Bongiorni & Ciolli, 2019; Invernizzi et al., 2022). De los resultados de la encuesta se deduce que los apicultores no aplicaron este producto para evitar la pérdida de colmenas, sino para lograr mayores rendimientos.

Aseguran varios autores (Le Conte et al., 2020; Mondet et al., 2020; Castilhos et al., 2023), que la capacidad reproductiva y la TIA de *V. destructor* en la América tropical muestran diferentes niveles de impacto, en dependencia de factores extrínsecos como las variaciones geográficas, las condiciones climáticas y, en particular, la presencia de colonias de abejas africanizadas; en los escenarios estudiados no parecen significativos. Según criterios establecidos (Moreira et al., 2017; Guzmán-Novoa et al., 2020; Pinto et al., 2022), las TIAs presentes resultan muy bajas, al considerar que, en algunos países africanizados, los niveles “peligrosos” se establecen próximos o por encima del 10 %. Las TIAs medias de Nicaragua, con un limitado nivel de tratamientos con ácido oxálico una vez por año en apenas la mitad de las colmenas, clasificaría como una población resistente (Locke, 2016b).

La influencia del alto grado de africanización de las abejas locales se refleja en su excelente CH, ya que casi 60 % de las colmenas evaluadas realizaron 100 % de limpieza en 24 h. Sin embargo, la variabilidad, tanto de las TIAs como del CH se manifestó entre colmenas, lo que permite disponer de un fondo genético de notable valor. Ya Seltzer et al. (2022a, 2022b) obtuvieron avances notables en el desarrollo de colmenas no africanizadas con altos estándares en estos rasgos.

La asociación específica hospedero-parásito podría ser la razón principal de las bajas TIAs (Martin et al., 2020; Fuentes et al., 2022), y más aún, de la capacidad de sobrevivir a la alta TIA y reducir la tasa nuevamente sin ningún manejo de control de los apicultores (Locke, 2016a; Jack & Ellis, 2021). En la situación de estudio, la disyuntiva de las colmenas no es sobrevivir a los altos grados de parasitación a pesar del modestísimo o negativo accionar de los apicultores, sino que aun así logran mantener un bajo nivel de parasitismo.

Aunque el haplotipo coreano se conoce como más virulento, debido a su mayor potencial reproductivo (Beaurepaire et al., 2019; Lin et al., 2021), en las colonias africanizadas, su presencia no se correlaciona necesariamente con una TIA creciente (Pinto et al., 2022).

La identificación de los haplotipos es de interés para la sanidad apícola, ya que *V. destructor* haplotipo K, representa la principal plaga en las abejas y destruye millones de colmenas comerciales (Maggi et al., 2012a). Aunque en Nicaragua está presente este haplotipo, causante de daños severos en las colmenas de todo el mundo (Giacobino et al., 2018; Dietemann et al., 2019), el presente estudio confirma el hallazgo que en colonias africanizadas la asociación hospedero-parásito ha demostrado un equilibrio con una expresión de menor grado de daño comparado con colonias de abejas europeas (Guichard et al., 2020; Mondet et al., 2020; Jack & Ellis, 2021). Aunque la asociación hospedero-parásito solo ha existido poco más de dos décadas, resulta evidente que ha evolucionado un mecanismo de tolerancia para mantener las colonias de abejas en coexistencia con el ácaro *V. destructor*.

Ninguna variable numérica mostró asociación con la TIA. Las características morfométricas de las abejas medida por la longitud del ala anterior derecha en 146 colmenas no tuvo asociación con la TIA, al igual que el grado de africanización según Rinderer et al. (1986). La razón de esta aparente incongruencia podría ser el hecho de que estamos ante una población totalmente africanizada y las diferencias en estas características probablemente se deban a la diversidad natural de esta población más que a una expresión fenotípica de los restos europeos.

Conclusiones

La interacción del parásito *V. destructor* haplotipo K con la abeja melífera africanizada de las zonas de estudio, se expresó con bajas tasas medias de infestación, sin que se observaran manifestaciones clínicas de otras enfermedades.

Dentro de sus bajos valores, las tasas de infestación resultaron menores en las colmenas más higiénicas y defensivas.

No se apreció influencia de la alimentación suplementaria ni de la trashumancia sobre las TIAs.

Las colmenas que recibieron tratamiento con ácido oxálico en algún momento de los seis meses anteriores, mostraron menores tasas de infestación.

Todo indica que la modesta productividad de esta apicultura está determinada por deficientes prácticas de manejo, encabezadas por la no renovación oportuna de reinas y cámaras de cría, unidas a un crecimiento vertical que rara vez sobrepasa los dos cuerpos.

DISCUSION

La abeja melífera, objeto del estudio, es una especie ganadera diferente a otros ganados principalmente por las siguientes razones: no padece de enfermedades transmisibles al ser humano, no hay la necesidad de cultivar su alimentación y sobre todo contribuye a un balance positivo de la salud ambiental debido a su función polinizadora de cultivos agrícolas y flora silvestre. Este servicio ecosistémico que proporciona la abeja melífera a las sociedades humanas radica en garantizar gran parte de la seguridad alimentaria y en la conservación de la biodiversidad de la flora silvestre y de los cultivos agrícolas (Rader et al., 2020; van der Sluijs, 2020).

El Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB), ratificado en la Cumbre para la Tierra en 1992 de Naciones Unidas, cubre la diversidad biológica a todos los niveles: ecosistemas, especies, recursos genéticos y la biotecnología, y afirma que el mundo está enfrentando un proceso de extinción masiva de especies, importantes para la supervivencia de la humanidad (Zazzarini, 2022). Entre las especies amenazadas se encuentra la abeja melífera, que juega un papel central en la salud ambiental y por tanto en el concepto de “Una Salud” o “Salud Global”, introducido a principios de los años 2000, el cual afirma que la salud humana y la sanidad animal son interdependientes y que están vinculadas a los ecosistemas en los cuales coexisten (OMSA, 2023c).

Una de las amenazas que afecta al bienestar de las abejas son las enfermedades entre las que destaca el ácaro parásito *V. destructor* cuya presencia en las últimas décadas ha afectado gravemente a las industrias de la apicultura y la polinización (Traynor et al., 2020). La introducción y rápida expansión de *V. destructor* en el continente americano parecieran haber soslayado los principios de la coevolución y el equilibrio resultante (Thompson, 2005; Buckingham & Ashby, 2022). Como parte del proceso, en Nicaragua esto se ha evidenciado a través del registro histórico (Sandoval González, 2018) y los presentes resultados, con bajas TIAs en las poblaciones de abejas melíferas africanizadas sin que exista programa de selección ni de control integrado.

En contraste, los linajes europeos de *A. mellifera*, nunca expuestos al contacto con el ácaro, manifestaron una relativamente baja eficacia para controlar su reproducción y como resultado, se han producido eventos epidemiológicos complejos y graves, con muertes de colmenas, en ocasiones masivas, y la necesidad de tratamientos.

En Cuba, con abejas de origen europeo (García et al., 2021; Masaquiza et al., 2021), se observó (Demedio et al., 2002), que tras el reporte del ácaro en 1996, se produjo una situación epidemiológica grave, que exigió la aplicación de acaricidas en el Occidente-Centro del país durante varias campañas, pero la instrumentación del sistema de control integrado, que incluyó un programa nacional de mejoramiento genético (MINAG, 2002; MINAG 2014; García et al., 2021) hoy en día ha logrado que, sin la utilización de medicamentos de ningún tipo, se obtenga una alta productividad por colmena con tasas medias de infestación que no han superado 4.5 % durante años (APICUBA, 2016 - 2021). Sin embargo, los linajes presentes en Europa y los de origen europeo en Norte y Sudamérica no han logrado algo similar, a pesar de convivir con el ácaro por más tiempo (Maggi et al., 2016; Tapia-González et al., 2019; Kulhanek et al., 2021; Pinto et al., 2022); esto se podría atribuir a efectos combinados de diversos factores, entre ellos, la invernada, la presencia de otros patógenos relacionados y, al menos en parte, a la ausencia de programas nacionales de selección masal y el acomodo al uso generalizado de varroicidas.

En este punto es pertinente una reflexión: si como se sabe, la abeja africanizada se expandió desde el Sur y se reportó establecida en Nicaragua en 1984 (Swezey, 1986), difícilmente pudo haber traído consigo el ácaro y que este permaneciera sin ser observado hasta 12 años después. Por otra parte, tras aquella oleada inicial de africanización que partió de Brasil en 1957, el primer reporte de *V. destructor* en Sudamérica no se produjo hasta 1971, en Paraguay (Invernizzi et al., 2022), presuntamente introducida con paquetes de abejas donados por Japón (De Jong et al., 1982), y desde allí solo pudo venir entonces el haplotipo J (Navajas et al., 2010). Se sospecha que, apicultores de Centroamérica, a su regreso de Norteamérica, introdujeron reinas ligústicas o carniolas ocultamente. Como se ha comprobado, en Nicaragua ese material genético no ha dejado huella alguna detectable como linaje C, pero sí pudo haber vehiculizado al haplotipo K de *V. destructor*, presente en aquella región desde hacía tiempo (Guzman & Rinderer, 1999).

Es significativo que, si bien los llamados híbridos africanizados tampoco coevolucionaron con este parásito, seguramente, al sobrevivir a otros retos medioambientales y sanitarios, fortalecieron mecanismos defensivos naturales que los colocaron en mejores condiciones para contrarrestar al ácaro y otros agentes etiológicos (Guzmán-Novoa et al., 2011; Guzmán-Novoa et al., 2020). En tanto, los linajes europeos, seleccionados primero por un medio ambiente que les exigía almacenar grandes cantidades de alimentos para la invernada y más tarde, sometidos por siglos a procesos de selección en busca de mayor productividad, sufrieron paralelamente el debilitamiento de tales mecanismos defensivos y es probable que, de otros aún desconocidos, que han resultado en un desequilibrio ante el nuevo desafío biológico.

Los presentes resultados muestran que, en las condiciones ambientales de las tres regiones de ubicación de las colmenas, tras el rápido proceso de expansión de las abejas con comportamiento africanizado, hoy el proceso es total y tanto la morfometría alar como el diagnóstico molecular evidenciaron la ausencia de linajes europeos. A pesar de ello, la adaptación de los apicultores de entonces al nuevo y mucho más defensivo ganado apícola permitió que la actividad soportara con relativo éxito el posterior golpe de la varroosis, reportada en 1996, y se recuperara su nivel tradicional, con algo más de 30,000 colonias y una productividad media alrededor de 25 kg/colmena (JICA, 2012; Mena, 2016).

Con más de un 30 % de su apicultura considerada aunque no acreditada como ecológica (Mena, 2016) y la inexistencia de programas de mejoramiento genético, la única medida que los apicultores declararon aplicar contra el ácaro *V. destructor* en algo más del 50 % de las colmenas fue el tratamiento con ácido oxálico en jarabe. En diferentes formulaciones, este producto mantiene su vigencia como alternativa orgánica para reducir las TIAs (Bongiorni & Ciolli, 2019; Invernizzi et al., 2022) y a pesar de la carencia de registros productivos que permitan evaluar su impacto sobre la productividad de las colonias, se puede inferir un efecto a partir de la reducción significativa de la TIA en las colmenas tratadas. La reducción de la tasa media de alrededor de 4 % en abejas adultas de colmenas no tratadas a poco más de 1.2 % en las tratadas, debe considerarse, sobre todo, una atenuación cuantitativa de la acción patógena mecánica-irritativa sobre las obreras en un 70 %, para las colmenas tratadas. La cuantía en que este efecto pudiera repercutir en la productividad es trabajo futuro, no solo para Nicaragua, con independencia del lugar y tipo de abeja.

La creencia durante mucho tiempo, de que las abejas de linajes europeos en la isla brasileña Fernando de Noronha, a 350 km del continente, podía considerarse una población resistente a la varroosis (De Mattos et al., 2016) ofreció una experiencia aleccionadora cuando se determinó que allí solo existía el haplotipo J de *V. destructor* (Locke, 2016a; Pinto et al., 2022), menos virulento que el K (Anderson & Trueman, 2000), extendido por la Sudamérica continental. También durante muchos años se atribuyó a los apicultores paraguayos haber introducido el ácaro al traer paquetes de abejas desde Japón. Sin embargo, diversas importaciones posteriores de otros orígenes introdujeron el haplotipo K, que ya ha sustituido al J en casi toda Sudamérica (Pinto et al., 2022), e incluso en el propio Japón (Ogihara et al., 2020). Estos hechos reafirman el valor de la caracterización de todos los factores involucrados, tal como se hizo en el presente estudio. Existe total evidencia de que el resultado de la interacción estudiada animal susceptible - agente etiológico - ambiente, mediado por las acciones de los apicultores en las condiciones concretas y expresado en los índices de infestación, se obtuvo con base en la identificación fidedigna de sus componentes.

Las TIAs medias no debieron mostrar diferencias entre las tres regiones geo-climáticas estudiadas, si solo dependieran de la uniformidad genética comprobada en la población hospedera y del parásito, con total coherencia entre los diagnósticos morfológico y molecular de la presencia exclusiva del linaje A (africanizado) de las abejas y del haplotipo K (coreano) de *V. destructor*. Al contrario de lo ocurrido en países con políticas genéticas que han intentado mantener colmenas manejadas más dóciles con base en la importación de reinas de linajes europeos, Nicaragua ha sido un campo sin obstáculos para la expansión de la abeja africanizada que, procedente del Sur, avanzó a través de Mesoamérica y México hasta donde se lo permitieron las bajas temperaturas invernales en los EE. UU. (Guzmán-Novoa et al., 2020).

Al considerar los contrastes térmicos entre las zonas geo-climáticas, la zona Norte, más alta y fresca, debía presentar los valores de infestación similares (Calle & Portes, 2015; Tapia-González et al., 2019), o más altos (Pinto et al., 2022; Castilhos et al., 2023). En efecto, fue esta zona la de mayor TIA (3.62 %). Hasta aquí, todo en orden, pero mientras en la zona Central la TIA apenas alcanzó 1.62 %, en Occidente fue de 3.29 %. Afortunadamente, el registro del accionar humano brindó la explicación a la supuesta incongruencia al observarse que, el 100 % de las colmenas del Centro recibieron tratamiento con ácido oxálico menos de seis meses atrás, en tanto solo 43.5 % en Occidente y en el Norte apenas el 22 % de las colmenas. Este resultado se corresponde con la TIA media general de 4 % en las no tratadas contra 1.24 % de las tratadas.

Con relativa frecuencia han aparecido trabajos en que se analizan indicadores que reflejan las relaciones parásito-hospedero y se omite la influencia probable de factores antrópicos.

Prácticas ya tradicionales de manejo, como la captura de enjambres migratorios, debería haber conducido a la selección de otras características, sobre todo, un más alto CD. Sin embargo, las colonias de este origen mostraron valores de defensividad menores que los de las colmenas originadas por multiplicación, a partir de las manejadas. No es posible tampoco atribuir esa diferencia conductual al accionar selectivo individual de los apicultores sobre las colonias establecidas, porque además de no existir programa alguno, al favorecer los cambios de reinas con material procedente de las colmenas más productivas no se hubiese favorecido un incremento de la defensividad. Se ha demostrado (Esquivel Rojas et al., 2015; Contreras-Ramírez et al., 2016; Uribe-Rubio et al., 2003), que las colmenas más defensivas no son más productivas que las dóciles, a pesar de cierto “consensus apicultorum” que afirmaba lo contrario.

La captura de enjambres para formar nuevas colmenas se realiza también en Costa Rica, y Calderón et al. (2019), en coincidencia con Martínez Puc et al. (2011), en México, y sin determinar el estatus racial, en colonias establecidas a partir de enjambres migratorios hasta un mes antes, determinaron prevalencia y TIA que consideraron bajas, en contraposición a las colmenas manejadas, en las que fueron considerablemente mayores. Obviamente, en esas nuevas colmenas de reciente fundación, el limitado número de ácaros foréticos iniciales se redujo aún más durante su migración debido a la acción de las altas temperaturas y la radiación solar. Ya Aguirre et al., (2007), en Baja California Sur, México, observaron que grandes enjambres migrantes posados en árboles y expuestos a tales condiciones, redujeron en cinco días la prevalencia muestral de 89 % a 10 % y la TIA desde 1.39 % hasta 0.34 %. Contrario a lo anterior, en los presentes resultados, los enjambres establecidos desde mayor tiempo antes, no mostraron esa diferencia, debido con seguridad al restablecimiento de las nuevas cámaras de cría y del proceso reproductivo de los ácaros, de manera que, su TIA media no mostró diferencia con las no capturadas, tal como se ha reportado por otros autores (Moreira et al., 2017; Tapia-González et al., 2019; Fanelli & Tizzani, 2020).

La no renovación sistemática de la cámara de cría, si bien no influyó en los índices de infestación por el ácaro, se sabe perjudica el desempeño productivo de las colmenas (Verde, 2014).

Tampoco se justifica la colocación de las colmenas a pleno sol, aunque se manifieste cierta tendencia a ocasionar reducción de la TIA por incremento de la caída de ácaros, ya que el estrés térmico de la colonia y el gasto energético para la termorregulación, con seguridad repercuten negativamente en su productividad.

Un análisis comparativo de las respectivas triadas y el accionar de los apicultores en Nicaragua y Cuba, a partir de los resultados obtenidos en esta tesis y la información disponible, puede asumirse como un aporte notable al conocimiento y a la actividad apícola en ambos países, extensible a otros de la región. Con un año apícola coincidente en épocas de cosecha y escasez, mientras acá la africanización ha sido un hecho desalentador desde 1984 (Swezey, 1986), la Isla ha trabajado con abejas dóciles de origen europeo (Díaz Millán, 1981; Pérez & Demedio, 2017). Más tarde, ambas apiculturas recibieron el golpe de la varroosis en 1996 (Demedio et al., 2002; OIE, 1996); pero si las africanizadas lo soportaron con relativa eficacia y escasa intervención de los apicultores, en Cuba morían miles de colonias silvestres y manejadas, lo que requirió, primero, medidas terapéuticas y en paralelo, implementar el sistema de control integrado (Verde, 2014); como parte de este sistema y con objetivos no solo sanitarios, se instauró un programa nacional de mejoramiento genético (MINAG, 2002; MINAG 2014). Todo esto habría sido muy difícil sin la existencia del ordenamiento territorial de la actividad y la utilización de las herramientas epidemiológicas, ya adecuadas para la especie desde la década anterior (Verde, 2014).

Al día de hoy, Nicaragua cuenta con alrededor de 50,000 colmenas manejadas por 1550 apicultores, mayoritariamente pequeños (más del 70% tienen menos que 20 colmenas), con baja profesionalización y sin centros de crianza de abejas reinas. Según los presentes resultados, existen evidencias morfológicas, conductuales y moleculares de amplia africanización, altos valores de CH medio y bajas TIAs por *V. destructor* haplotipo K, en tanto alrededor de la mitad de las colmenas reciben tratamiento anual con ácido oxálico.

La productividad media de miel registrada oscila entre 15 y 30 kg/colmena (OEC, 2023; MVD. Henry Osejo, MSc., médico Veterinario. Responsable del área Apícola del IPSA, Instituto de Protección y Sanidad Animal, Managua, Nicaragua, 2023, comunicación personal), considerado bajo, menos debido a factores genéticos o ambientales que a insuficiencias en el manejo, una de cuyas debilidades fundamentales ha sido el pobre crecimiento vertical, con menos del 2 % de las colmenas a tres cuerpos y dificultades para aprovechar otras zonas productivas, a causa de dificultades de acceso o negativa de los dueños de la tierra al emplazamiento de apiarios.

A lo anterior se suma un incremento notable del robo y daño a las colmenas, e insuficiencia de elementos de madera y láminas de cera (Düttmann, 2016a, 2016b).

Cuba, por su parte, cuenta con algo más de 220,000 colmenas manejadas por unos 1900 apicultores, en su mayoría profesionalizados y obtiene una productividad media por colmena entre 45 y 50 kg, sin aplicar tratamientos. Las colmenas a tres o más cuerpos superan el 60 %, con limitaciones materiales diversas para poder alcanzar el proyectado 75 %. Solo la imposibilidad de acceso limita la explotación de nuevas áreas. Las evidencias morfológicas, conductuales y moleculares han confirmado la existencia de abejas de origen europeo que expresan altos índices de CH, y presencia del haplotipo K de *V. destructor*, con bajas TIAs (Rodríguez et al., 2020; APICUBA, 2021; García et al., 2021).

Con los antecedentes documentados y los presentes resultados, existen suficientes elementos de juicio para arribar a una conclusión general que sintetice la respuesta al objetivo propuesto. Las recomendaciones se derivan con particular nitidez, sobre todo, a partir del contraste entre una apicultura, la cubana, en que el factor humano ha tenido que mejorar al hospedero y aplicar un arsenal de medidas de lucha contra el agente etiológico para lograr resultados productivos de nivel mundial, y la nicaragüense, cuyas fortalezas fundamentales se han derivado de las capacidades defensivas del hospedero, de manera que le han permitido mantener favorables indicadores epidemiológicos, a la vez que desaprovecha considerables reservas productivas debido al deficiente manejo zootécnico y pobre trabajo de mejoramiento genético.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las colmenas estudiadas, todas africanizadas, mostraron bajos índices de infestación por *V. destructor* haplotipo K, ausencia de signos clínicos de otras enfermedades y porcentajes de mansedumbre y alto comportamiento higiénico que indican adaptación a las condiciones locales, y claras posibilidades de mejoramiento genético, con diferencias menores entre las tres regiones.

Como parte de nuestras conclusiones, hacemos las recomendaciones siguientes:

Desarrollar un programa de mejoramiento genético que, con base en las poblaciones locales de abejas africanizadas, seleccione las colmenas más dóciles, higiénicas y productivas, con los menores índices de infestación por *V. destructor*.

Promover la capacitación de los apicultores y fomentar su profesionalización, a fin de instrumentar de inmediato buenas prácticas de manejo, en especial la renovación oportuna de reinas y panales, y un crecimiento vertical superior en época de cosecha.

Realizar un estudio molecular del ADN nuclear para determinar el perfil genético paterno en las poblaciones de *A. mellifera* de Nicaragua.

Realizar un estudio experimental para evaluar la eficacia y pertinencia de diferentes tratamientos orgánicos Anti-*Varroa*.

Realizar un estudio longitudinal para determinar el impacto del manejo técnico y de la varroosis en la producción apícola.

Caracterizar y evaluar el desempeño de los enjambres capturados.

Determinar si existe influencia del tipo de celda de cría sobre las dimensiones de los ácaros en la conformación de los morfotipos.

Realizar un estudio longitudinal para determinar los efectos climáticos en la producción apícola en la zona estudiada.

Realizar un análisis de riesgo como base para una matriz para perfilar la gestión de un Programa de Manejo Integrado: “*Modelo Varroa*” como estrategia integral.

Generar la iniciativa para una gestión integral entre entidades estatales, gremios de apicultores y universidades para abordar problemas de sanidad y producción apícola a través de los resultados obtenidos.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo se hace en conjunto, ya sea física o mentalmente, y una buena cooperación conduce a un resultado de calidad. Mi labor científica en la realización de esta tesis doctoral estuvo acompañada de muchas personas, a las que quiero expresar mi más profundo agradecimiento.

A mi tutor y amigo Jorge, por animarme a realizar este trabajo.

A mis amigos y amigas en Cuba, especialmente Yola y Yoli.

A las y los apicultores de Nicaragua, en especial a mi amiga Aida, su amistad fue también el inicio de mi trabajo con las abejas.

A mi colega y amigo Byron, quien comparte mi entusiasmo por la investigación.

A mis colegas y amigos, Jessica, William, Gladys y Daymara; y estudiantes que han trabajado conmigo.

A Sergio (Panamá) y Matías (Argentina) por la cooperación internacional.

A las personas que me respaldaron en casa, María, Jhony y mi hijo Alyosha.

A mi padre Franz y Marijke por apoyarme siempre.

A mi maestro Frank, un veterinario que se preocupó primero por la vida y luego por el dinero.

No olvidaré a todas las personas que no mencionaré, pero que fueron importantes para hacer posible este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agra, M.N., Conte, C.A., Corva, P.M., Cladera, J.L., Lanzavecchia, S.B. & Palacio, M.A. (2018). Molecular characterization of *Apis mellifera* colonies from Argentina: Genotypic admixture associated with ecoclimatic regions and apicultural activities. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 166(9), 724-738. <https://doi.org/10.1111/eea.12719>

Aguirre, J.L., Demedio, J. & Roque, E. (2007). Efficacy of new and re-used once Apistan strips in Baja California Sur, Mexico. *Revista de Salud Animal*, 29(2), 123-127.

Akimov, I.A., Benedyk, S.V. & Zaloznaya, L.M. (2004). Complex Analysis of Morphological Characters of Gamasid Mite *Varroa destructor* (Parasitiformes, Varroidae). *Vestnik zoologii*, 38(5): 57-66, 2004.

Akratanakul, P. (1975). Biology and systematics of bee mites of the family Varroidae (Acari: Mesostigmata). Thesis Master of Science in Entomology. Oregon State University.

Alebachew, G.W. (2018). Economic Value of Pollination Service of Agricultural Crops in Ethiopia: Biological Pollinators. *Journal of Apicultural Science*, 62(2), 265-273.

Alpatov, W.W. (1929). Biometrical Studies on Variation and Races of the Honey Bee (*Apis mellifera* L.). *The Quarterly Review of Biology*, 4(1), 1-58. <https://doi.org/10.1086/394322>

Álvarez Lazo, J.C. (2018). Evaluación de la conducta higiénica de *Apis mellifera* y su relación del nivel infestación de *Varroa destructor* en la zona centro de Ecuador. Bachelor Tesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/10392>

Amakpe, F., De Smet, L., Brunain, M., Jacobs, F.J., Sinsin, B. & de Graaf, D.C. (2018). Characterization of Native Honey Bee Subspecies in Republic of Benin Using Morphometric and Genetic Tools. *Journal of Apicultural Science*. <https://doi.org/10.2478/jas-2018-0006>

Anderson, D.L. (2000). Variation in the parasitic bee mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 31(2), 281-292. <https://doi.org/10.1051/apido:2000122>

Anderson, D.L. & Fuchs, S. (1998). Two genetically distinct populations of *Varroa jacobsoni* with contrasting reproductive abilities on *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research, 37(2), 69-78. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100957>

Anderson, D.L. & Trueman, J.W.H. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. Experimental & Applied Acarology, 24(3), 165-189. <https://doi.org/10.1023/A:1006456720416>

APICUBA (2016). Informes de balance de trabajo. Empresa Apícola Cubana. Grupo Empresarial Agroforestal. Ministerio de la Agricultura, Cuba.

APICUBA (2017). Informes de balance de trabajo. Empresa Apícola Cubana. Grupo Empresarial Agroforestal. Ministerio de la Agricultura, Cuba.

APICUBA (2018). Informes de balance de trabajo. Empresa Apícola Cubana. Grupo Empresarial Agroforestal. Ministerio de la Agricultura, Cuba.

APICUBA (2019). Informes de balance de trabajo. Empresa Apícola Cubana. Grupo Empresarial Agroforestal. Ministerio de la Agricultura, Cuba.

APICUBA (2020). Informes de balance de trabajo. Empresa Apícola Cubana. Grupo Empresarial Agroforestal. Ministerio de la Agricultura, Cuba.

APICUBA (2021). Informes de balance de trabajo. Empresa Apícola Cubana. Grupo Empresarial Agroforestal. Ministerio de la Agricultura, Cuba.

Araneda D.X., Pérez N.R., Castillo R.C. & Medina M.L. (2008). Evaluación del comportamiento higiénico de *Apis mellifera* L. en relación al nivel de infestación de *Varroa destructor* Anderson & Trueman. Idesia (Arica), 26(2), 59-67. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292008000200008>

Arias Lagos, L.S. (2019). Evaluación y selección del comportamiento higiénico, defensividad y métodos de cría de reinas (*Apis mellifera*) en el Pacífico Central de Costa Rica. Tesis para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Heredia. Costa Rica. <https://repositorio.una.ac.cr/handle/11056/18329>

Arriaga-Jiménez, A. & González-Vanegas, P.A. (2019). Occurrence of the honey bee (*Apis mellifera* L.) in the Sea of Cortés southern islands: A pathway to invasion or transient visitors? BiolInvasions Records, 8. <https://doi.org/10.3391/bir.2019.8.4.05>

Ashmead, W.H. (1904). Remarks on honey bees. Proceedings of the Entomological Society of Washington. Revista académica.

Balvino-Olvera, F.J., Lobo, J.A., Aguilar-Aguilar, M.J., Ruiz-Guzmán, G., González-Rodríguez, A., Ruiz-Mercado, I., Ghilardi, A. del Coro Arizmendi, M. & Quesada, M. (2023). Long-term spatiotemporal patterns in the number of colonies and honey production in Mexico. *Scientific Reports*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25469-8>

Beaurepaire, A.L., Moro, A., Mondet, F., Le Conte, Y., Neumann, P. & Locke, B. (2019). Population genetics of ectoparasitic mites suggest arms race with honeybee hosts. *Scientific Reports*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47801-5>

Beaurepaire, A., Piot, N., Doublet, V., Antunez, K., Campbell, E., Chantawannakul, P., Chejanovsky, N., Gajda, A., Heerman, M., Panziera, D., Smagghe, G., Yañez, O., de Miranda, J.R. & Dalmon, A. (2020). Diversity and Global Distribution of Viruses of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. *Insects*, 11(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/insects11040239>

Best, A. & Ashby, B. (2023). How do fluctuating ecological dynamics impact the evolution of hosts and parasites? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 378(1873). <https://doi.org/10.1098/rstb.2022.0006>

Bierzzychudek, A. (1979). Historia de la apicultura Argentina. Buenos Aires, editado por Héctor J. Mattone. Libro pp. 163, Argentina.

Bongiorni, S. & Ciolli, L.J. (2019). Análisis de la eficacia acaricida del ácido oxálico en el control de *Varroa destructor* en colmenas de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) en un colmenar de la localidad de Chascomús, provincia de Buenos Aires. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Argentina. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/83620>

Buckingham, L.J. & Ashby, B. (2022). Coevolutionary theory of hosts and parasites. *Journal of Evolutionary Biology*, 35(2), 205-224. <https://doi.org/10.1111/jeb.13981>

Calderón, R.A., Padilla, S. & Ramírez, M. (2019). Preliminary study on the presence of bee diseases in swarms of Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in different areas of Costa Rica. *Revista Ciencias Veterinarias*, 37(1), 13-25.

Calfee, E., Agra, M.N., Palacio, M.A., Ramírez, S.R. & Coop, G. (2020). Selection and hybridization shaped the rapid spread of African honey bee ancestry in the Americas. *PLOS Genetics*, 16(10), e1009038. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009038>

Calle, S.R. & Portes, J.C. (2015). Establecimiento de la base genética para el desarrollo de programas de mejoramiento en *Apis mellifera* de tres departamentos de Colombia, a partir de la identificación de parentales con características sanitarias superiores. Tesis doctoral, Universidad de Cundinamarca Facultad de Ciencias Agropecuarias Programa de Zootécnica Fusagasuga, Colombia. <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/handle/20.500.12558/1233>

Campos García, M., Leyva Morales, C., Ferráez Puc, M. & Sánchez Bolívar, Y. (2018). El mercado internacional de la miel de abeja y la competitividad de México. *Revista de economía*, 35(90), 87-123.

Carpenter, M.H. & Harpur, B.A. (2021). Genetic past, present, and future of the honey bee (*Apis mellifera*) in the United States of America. *Apidologie*, 52(1), 63-79. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00836-4>

Castilhos, D., Polesso, A.M., da Silva, A.C.F., dos Santos, A.B., de Carvalho Lopes, A.T., de Oliveira Filho, A.A., da Cunha, A.F.S., Puker, A., Matioli, A.L., Campos, A.A.S., de Moraes, A.L., Modro, A.F.H., Neto, A.A.S., de Souza Moreira Pires, A., Biasi, C., Peixoto, C.M., da Cruz Mercês, C., de Carvalho, C.A.L., da Silva Paiva, C., ... de Medeiros, V.F. (2023). *Varroa destructor* infestation levels in Africanized honey bee colonies in Brazil from 1977 when first detected to 2020. *Apidologie*, 54(1), 5. <https://doi.org/10.1007/s13592-022-00984-9>

Chávez-Galarza, J., Garnery, L., Henriques, D., Neves, C.J., Loucif-Ayad, W., Jonhston, J.S. & Pinto, M.A. (2017). Mitochondrial DNA variation of *Apis mellifera iberiensis*: Further insights from a large-scale study using sequence data of the tRNA^{Leu}-cox2 intergenic region. *Apidologie*, 48(4), 533-544. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0498-2>

Chen, W. & Wang, H. (2022). Phylogenetic Tree Selection by Testing Substitution Number in Clade. *Diversity*, 14(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/d14070543>

Cheruiyot, S.K., Lattorff, H.M.G., Kahuthia-Gathu, R., Mbugi, J.P. & Muli, E. (2018). *Varroa*-specific hygienic behavior of *Apis mellifera scutellata* in Kenya. *Apidologie*, 49(4), 439-449. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0570-6>

Clark, N.J., Clegg, S.M., Sam, K., Goulding, W., Koane, B. & Wells, K. (2018). Climate, host phylogeny and the connectivity of host communities govern regional parasite assembly. *Diversity and Distributions*, 24(1), 13-23. <https://doi.org/10.1111/ddi.12661>

Collet, T., Ferreira, K.M., Arias, M.C., Soares, A.E.E. & Del Lama, M.A. (2006). Genetic structure of Africanized honeybee populations (*Apis mellifera* L.) from Brazil and Uruguay viewed through mitochondrial DNA COI-COI patterns. *Heredity*, 97(5), Article 5. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800875>

Contreras-Ramírez, D.N., Pérez León, M.I., Payro de la Cruz, E., Rodríguez Ortiz, G., Castañeda Hidalgo, E. & Gómez Ugalde, R.M. (2016). Comportamiento defensivo, sanitario y producción de ecotipos de *Apis mellifera* L. en Tabasco, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(8), 1867-1877.

Crane, E. (1999). *The World History of Beekeeping and Honey Hunting*. Taylor & Francis, London: Routledge (1999). Libro pp. 720.

Cridland, J.M., Tsutsui, N.D. & Ramírez, S.R. (2017). The Complex Demographic History and Evolutionary Origin of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. *Genome Biology and Evolution*, 9(2), 457-472. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx009>

Cunningham, S.A., Crane, M.J., Evans, M.J., Hingee, K.L. & Lindenmayer, D.B. (2022). Density of invasive western honey bee (*Apis mellifera*) colonies in fragmented woodlands indicates potential for large impacts on native species. *Scientific Reports*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07635-0>

Cuypers, J.C. (2018). Resistance mechanisms towards the ectoparasitic mite *Varroa destructor* in two naturally-surviving honey bee populations (*Apis mellifera*) from Scandinavia. Master thesis, Norwegian University of Life Sciences, Ås, Norway. <https://nmbu.brage.unit.no/nmbu-xmlui/handle/11250/2565356>

Daly, H.V., Hoelmer, K., Norman, P. & Allen, T. (1982). Computer-Assisted Measurement and Identification of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 75(6), 591-594. <https://doi.org/10.1093/aesa/75.6.591>

Das, A., Sau, S., Pandit, M.K. & Saha, K. (2018). A review on: Importance of pollinators in fruit and vegetable production and their collateral jeopardy from agro-chemicals. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6(4): 1586-1591.

De Guzman, L.I. & Delfinado-Baker, M. (1996). A new species of *Varroa* (Acari: Varroidae) associated with *Apis koschevnikovi* (Apidae: Hymenoptera) in Borneo. *International Journal of Acarology*, 22(1), 23-27. <https://doi.org/10.1080/01647959608684077>

De Guzman, L.I., Rinderer, T.E. & Stelzer, J.A. (1997). DNA Evidence of the Origin of *Varroa jacobsoni* Oudemans in the Americas. *Biochemical Genetics*, 35(9), 327-335. <https://doi.org/10.1023/A:1021821821728>

De Guzman, L.I. & Rinderer, T.E. (1999). Identification and comparison of *Varroa* species infesting honey bees. *Apidologie*, 30(2-3), 85-95. <https://doi.org/10.1051/apido:19990201>

De Jong, D., Morse, R.A. & Eickwort, G.C. (1982). Mite Pests of Honey Bees. *Annual Review of Entomology*, 27(1), 229-252. <https://doi.org/10.1146/annur.ev.en.27.010182.001305>

De Mattos, I.M., De Jong, D. & Soares, A.E.E. (2016). Island population of European honey bees in Northeastern Brazil that have survived *Varroa* infestations for over 30 years. *Apidologie*, 47(6), 818-827. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0439-5>

De Mattos, I.M., Soares, A.E.E. & Tarpy, D.R. (2017). Effects of synthetic acaricides on honey bee grooming behavior against the parasitic *Varroa destructor* mite. *Apidologie*, 48(4), 483-494. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0491-9>

DeGrandi-Hoffman, G., R.Tarpy, D. & Schneider, S.S. (2003). Patriline composition of worker populations in honeybee (*Apis mellifera*) colonies headed by queens inseminated with semen from African and European drones. *Apidologie*, 34(2), 111-120. <https://doi.org/10.1051/apido:2003007>

Delfinado, M.D. & Baker, E.W. (1974). Varroidae, A New Family of Mites on Honey Bees (Mesostigmata: Acarina). *Journal of the Washington Academy of Sciences*, 64(1), 4-10.

Delfinado-Baker, M. & Houck, M.A. (1989). Geographic variation in *Varroa jacobsoni* (Acari, Varroidae): Application of multivariate morphometric techniques. *Apidologie*, 20(4), 345-358. <https://doi.org/10.1051/apido:19890407>

Demedio, J., Sanabria, J.L., Roque, E., Peñate, I. & Cartas, J.O. (2002). Reporte del ácaro parásito *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) en colmenas (*Apis mellifera* L.) de una zona de la provincia de La Habana. Revista de Producción Animal, 14(1), Article 1. <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/3202>

Dietemann, V., Beaurepaire, A., Page, P., Yañez, O., Buawangpong, N., Chantawannakul, P. & Neumann, P. (2019). Population genetics of ectoparasitic mites *Varroa* spp. in Eastern and Western honey bees. Parasitology, 146(11), 1429-1439. <https://doi.org/10.1017/S003118201900091X>

Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S.J., Anderson, D.L., Locke, B., Delaplane, K.S., Wauquiez, Q., Tannahill, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P. & Ellis, J.D. (2013). Standard methods for *Varroa* research. Journal of Apicultural Research, 52(1), 1-54. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.09>

Dirección General de Meteorología INETER (2005). Índice Confort Climático Anual. https://webserver2.ineter.gob.ni/mapas/Nicaragua/clima/atlas/Indice%20de%20Confort/Indice_Confort_Climatico_Anual.jpg, Nicaragua.

Dogantzis, K.A., Tiwari, T., Conflitti, I.M., Dey, A., Patch, H.M., Muli, E.M., Garnery, L., Whitfield, C.W., Stolle, E., Alqarni, A.S., Allsopp, M.H. & Zayed, A. (2021). Thrice out of Asia and the adaptive radiation of the western honey bee. Science Advances, 7(49), eabj2151. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abj2151>

Domínguez-Ayala, R., Moo-Valle, H., May-Itzá, W. de J., Medina-Peralta, S. & Quezada-Euán, J.J.G. (2016). Stock composition of northern neotropical honey bees: Mitotype and morphotype diversity in Mexico (Hymenoptera: Apidae). Apidologie 47(5) 642-652. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0414-6>

Donzé, G. & Guerin, P.M. (1997). Time-activity budgets and space structuring by the different life stages of *Varroa jacobsoni* in capped brood of the honey bee, *Apis mellifera*. Journal of Insect Behavior, 10(3), 371-393. <https://doi.org/10.1007/BF02765605>

Dupraw, E.J. (1965). Non-Linnean Taxonomy and the Systematics of Honeybees. Systematic Zoology, 14(1), 1-24. <https://doi.org/10.2307/2411899>

Düttmann, C. (2016a). Consultoría “PROADAPT Nicaragua construyendo resiliencia climática en los sectores del cacao fino y la miel”. Ingemann, Christian Aid, CENTRO Humboldt, FOMIN, BID. 68 p, Nicaragua.

Düttmann, C. (2016b). Consultoría “Dinamización de la Cadena de Valor de la Producción y Exportación de Miel en Nicaragua”, UCA Tierra Nueva - Fundación de Solidaridad Internacional de Finlandia. 103 p, Nicaragua.

Ellis, J.D. & Ellis, A. (2009). African Honey Bee, Africanized Honey Bee, Killer Bee, *Apis mellifera scutellata* Lepelletier (Insecta: Hymenoptera: Apidae): EENY 429/IN790, rev. 11/2009. *EDIS*, 2009(2).

Engel, M.S. (1999). The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*). *Journal of Hymenoptera Research*, 8, 165-196.

Engel, M.S. (2005). Family-Group Names for Bees (Hymenoptera: Apoidea). *American Museum Novitates*, 2005(3476), 1-33. [https://doi.org/10.1206/0003-0082\(2005\)476\[0001:FNFBHA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1206/0003-0082(2005)476[0001:FNFBHA]2.0.CO;2)

Esquivel Rojas, S., Macías-Macías, J.O., Tapia-González, J.M., Contreras-Escareño, F., León Mantecón, M.J. de & Silva-Contreras, A. (2015). Selección de abejas (*Apis mellifera* L) con baja defensividad y su relación con el ambiente en Jalisco, México. *Abanico veterinario*, 5(1), 44-50.

Evans, J.D. & Chen, Y.J. (2021). Colony Collapse Disorder and Honey Bee Health. In *Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner* (pp. 229-234). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119583417.ch19>

Evans, J.D. & Lopez, D.L. (2002). Complete Mitochondrial DNA Sequence of the Important Honey Bee Pest, *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Experimental & Applied Acarology*, 27(1), 69-78. <https://doi.org/10.1023/A:1021574306010>

Evans, J.D., Schwarz, R.S., Chen, Y.P., Budge, G., Cornman, R.S., De la Rua, P., de Miranda, J.R., Foret, S., Foster, L., Gauthier, L., Genersch, E., Gisder, S., Jarosch, A., Kucharski, R., Lopez, D., Lun, C.M., Moritz, R.F.A., Maleszka, R., Muñoz, I. & Pinto, M.A. (2013). Standard methods for molecular research in *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-54. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.11>

Fanelli, A. & Tizzani, P. (2020). Spatial and temporal analysis of varroosis from 2005 to 2018. *Research in Veterinary Science*, 131, 215-221. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.017>

Franck, P., Garnery, L., Loiseau, A., Oldroyd, B.P., Hepburn, H.R., Solignac, M. & Cornuet, J.-M. (2001). Genetic diversity of the honeybee in Africa: Microsatellite and mitochondrial data. *Heredity*, 86(4), Article 4. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00842.x>

Francoy, T.M., Wittmann, D., Drauschke, M., Müller, S., Steinhage, V., Bezerra-Laure, M.A.F., Jong, D.D. & Gonçalves, L.S. (2008). Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: Two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39(5), 488-494. <https://doi.org/10.1051/apido:2008028>

Francoy, T.M., Wittmann, D., Steinhage, V., Drauschke, M., Muller, S., Cunha, D.R., Nascimento, A.M., Figueiredo, V.L.C., Simoes, Z.L.P., De Jong, D., Arias, M.C. & Goncalves, L.S. (2009). Morphometric and genetic changes in a population of *Apis mellifera* after 34 years of Africanization. *Genetics and Molecular Research*, 8(2), 709-717. <https://doi.org/10.4238/vol8-2kerr019>

Fuentes, G., Iglesias, A., Mitton, G., Ramos, F., Brasesco, C. & Maggi, M. (2022). *Varroa destructor* en Latinoamérica: Una introducción a la biología, ecología y control en la región. *Eunk*, 1(2), 12-29. <https://doi.org/10.52559/eunk.v1i2.30>

Galataud, J., Delatte, H., Techer, M.A., Simiand, C., Sookar, P., Reynaud, B. & Clémencet, J. (2020). When European meets African honeybees (*Apis mellifera* L.) in the tropics: Morphological changes related to genetics in Mauritius Island (South-West Indian Ocean). *PLOS ONE*, 15(11), e0242053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242053>

Galindo-Cardona, A., Scannapieco, A.C., Russo, R., Escalante, K., Geria, M., Lepori, N., Ayup, M.M., Muntaabski, I., Liendo, M.C., Landi, L., Giray, T. & Monmany-Garzia, A.C. (2020). *Varroa destructor* Parasitism and Genetic Variability at Honey Bee (*Apis mellifera*) Drone Congregation Areas and Their Associations with Environmental Variables in Argentina. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fevo.2020.590345>

García, C.A.Y., Luis, A.R., Pérez Piñeiro, A., Pérez Morfi, A., Invernizzi, C. & Tomasco, I.H. (2021). Cuban honey bees: Significant differentiation from European honey bees in incomplete isolation. *Journal of Apicultural Research*, 60(3), 375-384. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1841460>

Garnery, L., Cornuet, J.-M. & Solignac, M. (1992). Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Molecular Ecology*, 1(3), 145-154. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1992.tb00170.x>

Garnery, L., Franck, P., Baudry, E., Vautrin, D., Cornuet, J.-M. & Solignac, M. (1998). Genetic diversity of the west European honey bee (*Apis mellifera mellifera* and *A. m. iberica*). I. Mitochondrial DNA. *Genetics Selection Evolution*, 30(suppl. 1), S31.

Garnery, L., Solignac, M., Celebrano, G. & Cornuet, J.-M. (1993). A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. *Experientia*, 49(11), 1016-1021. <https://doi.org/10.1007/BF02125651>

Gebremedhn, H., Amssalu, B., Smet, L.D. & Graaf, D.C. de (2019). Factors restraining the population growth of *Varroa destructor* in Ethiopian honey bees (*Apis mellifera simensis*). *PLOS ONE*, 14(9), e0223236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223236>

Gençer, H.V. & Kahya, Y. (2020). Sperm competition in honey bees (*Apis mellifera* L.): The role of body size dimorphism in drones. *Apidologie*, 51(1), 1-17. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00699-4>

Giacobino, A., Pacini, A., Molineri, A., Rodríguez, G., Crisanti, P., Bulacio Cagnolo, N., Merke, J., Orellano, E., Bertozzi, E., Pietronave, H. & Signorini, M. (2018). Potential associations between the mite *Varroa destructor* and other stressors in honeybee colonies (*Apis mellifera* L.) in temperate and subtropical climate from Argentina. *Preventive Veterinary Medicine*, 159, 143-152. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.09.011>

Giménez Martínez, P., Mendoza, Y., Invenizzi, C., Fuselli, S., Alonso Salces, R., Fernández Iriarte, P. & Maggi, M. (2017). Morphometric correlation between *Apis mellifera* morphotypes (Hymenoptera) and *Varroa destructor* (Acari) from Uruguay. *Journal of Apicultural Research*, 56(2), 122-129. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1287998>

Goetze, G.K.L. (1964). Die Honigbiene in natürlicher und künstlicher Zuchtauslese. Paul Parey Verlag, Hamburg, Alemania, Libro.

Gonzalez, V.H., Amith, J.D. & Stein, T.J. (2018). Nesting ecology and the cultural importance of stingless bees to speakers of Yolojóchtli Mixtec, an endangered language in Guerrero, Mexico. *Apidologie*, 49(5), 625-636. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0590-2>

Gramacho, K.P. & Gonçalves, L.S. (2009). Comparative study of the hygienic behavior of Carniolan and Africanized honey bees directed towards grouped versus isolated dead brood cells. *Genet. Mol. Res.* 8(2), 744-750.

Guerra, J., Issa, M.R., Carneiro, F., Strapazzon, R. & Moretto, G. (2010). RAPD identification of *Varroa destructor* genotypes in Brazil and other regions of the Americas. *Genetics and molecular research: GMR*, 9, 303-308. <https://doi.org/10.4238/vol9-1gmr696>

Guichard, M., Dietemann, V., Neuditschko, M. & Dainat, B. (2020). Advances and perspectives in selecting resistance traits against the parasitic mite *Varroa destructor* in honey bees. *Genetics Selection Evolution*, 52(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s12711-020-00591-1>

Guzmán-Novoa, E., Benítez, A.C., Montaña, L.G.E. & Novoa, G.G. (2011). Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México. *Veterinaria México*, 42(2), 149-178.

Guzmán-Novoa, E., Hunt, G.J., Page, R.E. Jr., Uribe-Rubio, J.L., Prieto-Merlos, D. & Becerra-Guzmán, F. (2005). Paternal Effects on the Defensive Behavior of Honeybees. *Journal of Heredity*, 96(4), 376-380. <https://doi.org/10.1093/jhered/esi038>

Guzmán-Novoa, E., Morfin, N., De la Mora, A., Macías-Macías, J.O., Tapia-González, J.M., Contreras-Escareño, F., Medina-Flores, C.A., Correa-Benítez, A. & Quezada-Euán, J.J.G. (2020). The Process and Outcome of the Africanization of Honey Bees in Mexico: Lessons and Future Directions. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8.

<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fevo.2020.608091>

Guzmán-Novoa, E., Prieto-Merlos, D., Uribe-Rubio, J.L. & Hunt, G.J. (2003). Relative reliability of four field assays to test defensive behaviour of honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Apicultural Research*, 42(3), 42-46. <https://doi.org/10.1080/00218839.2003.11101088>

Hall, H.G. & Smith, D.R. (1991). Distinguishing African and European honeybee matrilineages using amplified mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(10), 4548-4552. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.10.4548>

Hamiduzzaman, M. Md., Emsen, B., Hunt, G.J., Subramanyam, S., Williams, C.E., Tsuruda, J.M. & Guzmán-Novoa, E. (2017). Differential Gene Expression Associated with Honey Bee Grooming Behavior in Response to *Varroa* Mites. *Behavior Genetics*, 47(3), 335-344. <https://doi.org/10.1007/s10519-017-9834-6>

Han, F., Wallberg, A. & Webster, M.T. (2012). From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate? *Ecology and Evolution*, 2(8), 1949-1957. <https://doi.org/10.1002/ece3.312>

Henriques, D., Chávez-Galarza, J. S.G., Teixeira, J., Ferreira, H. J., Neves, C., Francoy, T.M. & Pinto, M.A. (2020). Wing Geometric Morphometrics of Workers and Drones and Single Nucleotide Polymorphisms Provide Similar Genetic Structure in the Iberian Honey Bee (*Apis mellifera iberiensis*). *Insects*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/insects11020089>

Hristov, P., Shumkova, R., Palova, N. & Neov, B. (2020). Factors Associated with Honey Bee Colony Losses: A Mini-Review. *Veterinary Sciences*, 7(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/vetsci7040166>

Hung, K.-L.J., Kingston, J.M., Albrecht, M., Holway, D.A. & Kohn, J.R. (2018). The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1870), 20172140. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.2140>

Hunt, G.J., Amdam, G.V., Schlipalius, D., Emore, C., Sardesai, N., Williams, C.E., Rueppell, O., Guzmán-Novoa, E., Arechavaleta-Velasco, M., Chandra, S., Fondrk, M.K., Beye, M. & Page, R.E. (2007). Behavioral genomics of honeybee foraging and nest defense. *Naturwissenschaften*, 94(4), 247-267. <https://doi.org/10.1007/s00114-006-0183-1>

Ihle, K.E., de Guzman, L.I. & Danka, R.G. (2022). Social Apoptosis in *Varroa* Mite Resistant Western Honey Bees (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Science*, 22(1), 13. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieab087>

Ilyasov, R.A., Lee, M., Takahashi, J., Kwon, H.W. & Nikolenko, A.G. (2020). A revision of subspecies structure of western honey bee *Apis mellifera*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3615-3621. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.001>

Invernizzi, C., Antúnez, K., Arredondo, D., Branchiccela, B., Castelli, L., Juri, P., Mendoza, Y., Nogueira, E., Salvarrey, S. & Santos, E. (2022). Situación sanitaria de las abejas melíferas en Uruguay: Novedades de la última década. *Veterinaria (Montevideo)*, 58(217). <https://doi.org/10.29155/vet.58.217.4>

Invernizzi, C., Zefferino, I., Santos, E., Sánchez, L. & Mendoza, Y. (2015). Multilevel assessment of grooming behavior against *Varroa destructor* in Italian and Africanized honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 54(4), 321-327. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1159055>

Jack, C.J. & Ellis, J.D. (2021). Integrated Pest Management Control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), the Most Damaging Pest of (*Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)) Colonies. *Journal of Insect Science*, 21(5), 6. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieab058>

Jaime Lorén, J.M. de (2007). Miel y cera de las abejas europeas en las misiones franciscanas de nueva España y Méjico. Aproximación a un problema. 38th International Congress for the History of Pharmacy, Sevilla, España. <https://idus.us.es/handle/11441/39977>

JICA (2012). Estudio de Miel de Abeja en el Mercado Japonés. Agencia de Cooperación Internacional del Japón, Oficina Nicaragua.

Jones, B.M., Rao, V.D., Gernat, T., Jagla, T., Cash-Ahmed, A.C., Rubin, B.E., Comi, T.J., Bhogale, S., Husain, S.S., Blatti, C., Middendorf, M., Sinha, S., Chandrasekaran, S. & Robinson, G.E. (2020). Individual differences in honey bee behavior enabled by plasticity in brain gene regulatory networks. *eLife*, 9, e62850. <https://doi.org/10.7554/eLife.62850>

Kefuss, J., Vanpoucke, J., Bolt, M. & Kefuss, C. (2015). Selection for resistance to *Varroa destructor* under commercial beekeeping conditions. *Journal of Apicultural Research*, 54(5), 563-576. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1160709>

Kerr, W.E. (1967). The history of the introduction of African bees in Brazil. *South African Bee J.*, 39, 33-35.

Khalifa, S.A.M., Elshafiey, E.H., Shetaia, A.A., El-Wahed, A.A.A., Algethami, A.F., Musharraf, S.G., Al Ajmi, M.F., Zhao, C., Masry, S.H.D., Abdel-Daim, M.M., Halabi, M.F., Kai, G., Al Naggar, Y., Bishr, M., Diab, M.A.M. & El-Seedi, H.R. (2021). Overview of Bee Pollination and its Economic Value for Crop Production. *Insects*, 12(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/insects12080688>

Koeniger, N. (1975). Neue Aspekte der Phylogenie innerhalb der Gattung *Apis*. *Apidologie*, 7 (4), 10.

Kraus, F.B., Franck, P. & Vandame, R. (2007). Asymmetric introgression of African genes in honeybee populations (*Apis mellifera* L.) in Central Mexico. *Heredity*, 99(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800988>

Kulhanek, K., Steinhauer, N., Wilkes, J., Wilson, M., Spivak, M., Sagili, R.R., Tarpy, D.R., McDermott, E., Garavito, A., Rennich, K. & vanEngelsdorp, D. (2021). Survey-derived best management practices for backyard beekeepers improve colony health and reduce mortality. *PLOS ONE*, 16(1), e0245490. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245490>

Kumawat, P. (2021). Harnessing chemical ecology to address agricultural pest and pollinator: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5.

Lapidge, K.L., Oldroyd, B.P. & Spivak, M. (2002). Seven suggestive quantitative trait loci influence hygienic behavior of honey bees. *Naturwissenschaften*, 89(12), 565-568. <https://doi.org/10.1007/s00114-002-0371-6>

Larsen, A., Reynaldi, F.J. & Guzmán-Novoa, E. (2019). Bases del sistema inmune de la abeja melífera (*Apis mellifera*). Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 10(3), 705-728. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i3.4785>

Le Conte, Y., Meixner, M.D., Brandt, A., Carreck, N.L., Costa, C., Mondet, F. & Büchler, R. (2020). Geographical Distribution and Selection of European Honey Bees Resistant to *Varroa destructor*. *Insects*, 11(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/insects11120873>

Leclercq, G., Francis, F., Gengler, N. & Blacquièrre, T. (2018a). Bioassays to Quantify Hygienic Behavior in Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Colonies: A Review. *Journal of Apicultural Research*, 57(5), 663-673. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494916>

Leclercq, G., Gengler, N. & Francis, F. (2018b). How human reshaped diversity in honey bees (*Apis mellifera* L.): A review. *Entomologie faunistique - Faunistic Entomology*. Vol. 71. <https://doi.org/10.25518/2030-6318.4050>

Leclercq, G., Pannebakker, B., Gengler, N., Nguyen, B.K. & Francis, F. (2017). Drawbacks and benefits of hygienic behavior in honey bees (*Apis mellifera* L.): A review. *Journal of Apicultural Research*, 56(4), 366-375. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1327938>

Li, A.Y., Cook, S.C., Sonenshine, D.E., Posada-Florez, F., Noble, N.I.I., Mowery, J., Gulbranson, C.J. & Bauchan, G.R. (2019). Insights into the feeding behaviors and biomechanics of *Varroa destructor* mites on honey bee pupae using electropenetography and histology. *Journal of Insect Physiology*, 119, 103950. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.103950>

Li, W., Wang, C., Huang, Z.Y., Chen, Y. & Han, R. (2019). Reproduction of Distinct *Varroa destructor* Genotypes on Honey Bee Worker Brood. *Insects*, 10(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/insects10110372>

Lin, Z., Page, P., Li, L., Qin, Y., Zhang, Y., Hu, F., Neumann, P., Zheng, H. & Dietemann, V. (2016). Go East for Better Honey Bee Health: *Apis cerana* is faster at Hygienic Behavior than *A. mellifera*. *PLOS ONE*, 11(9), e0162647. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162647>

Lin, Z., Wang, S., Neumann, P., Chen, G., Page, P., Li, L., Hu, F., Zheng, H. & Dietemann, V. (2021). Population genetics and host specificity of *Varroa destructor* mites infesting eastern and western honeybees. *Journal of Pest Science*, 94(4), 1487-1504. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01322-7>

Lobo, J.A. (1995). Morphometric isozymic and mitochondrial variability of Africanized honeybees in Costa Rica. *Heredity*, 75(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/hdy.1995.116>

Lobo, J.A. (2000). Highly polymorphic DNA markers in an Africanized honey bee population in Costa Rica. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 317-322. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572000000200013>

Locke, B. (2016a). Inheritance of reduced *Varroa* mite reproductive success in reciprocal crosses of mite-resistant and mite-susceptible honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 47(4), 583-588. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0403-9>

Locke, B. (2016b). Natural *Varroa* mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations. *Apidologie*, 47(3), 467-482. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0412-8>

Loeza-Concha, H., Domínguez-Rebolledo, Á., Escalera-Valente, F., Avila-Ramos, F. & Carmona-Gasca, C. (2018). Morphometric identification of *Varroa destructor* and its plasticity by the exposure to thymol. *Abanico Veterinario*, 8(2), 98-107.

López-Incera, A., Nouvian, M., Ried, K., Müller, T. & Briegel, H.J. (2021). Honeybee communication during collective defence is shaped by predation. *BMC Biology*, 19(1), 106. <https://doi.org/10.1186/s12915-021-01028-x>

Maggi, M.D., Ruffinengo, S.R., Mendoza, Y., Ojeda, P., Ramallo, G., Floris, I. & Eguaras, M.J. (2011). Susceptibility of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) to synthetic acaricides in Uruguay: *Varroa* mites' potential to develop acaricide resistance. *Parasitology Research*, 108(4), 815-821. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2122-5>

Maggi, M.D., Sardella, N.H., Ruffinengo, S.R. & Eguaras, M.J. (2009). Morphotypes of *Varroa destructor* collected in *Apis mellifera* colonies from different geographic locations of Argentina. *Parasitology Research*, 105(6), 1629. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1605-8>

Maggi, M., Medici, S., Quintana, S., Ruffinengo, S., Marcángeli, J., Gimenez Martinez, P., Fuselli, S. & Eguaras, M. (2012a). Genetic structure of *Varroa destructor* populations infesting *Apis mellifera* colonies in Argentina. *Experimental and Applied Acarology*, 56(4), 309-318. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9526-0>

Maggi, M., Peralta, L., Ruffinengo, S., Fuselli, S. & Eguaras, M. (2012b). Body size variability of *Varroa destructor* and its role in acaricide tolerance. *Parasitology Research*, 110(6), 2333-2340. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2768-7>

Maggi, M., Tourn, E., Negri, P., Szawarski, N., Marconi, A., Gallez, L., Medici, S., Ruffinengo, S., Brasesco, C., De Feudis, L., Quintana, S., Sammataro, D. & Eguaras, M. (2016). A new formulation of oxalic acid for *Varroa destructor* control applied in *Apis mellifera* colonies in the presence of brood. *Apidologie*, 47(4), 596-605. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0405-7>

Mahdi, M.S., Ali, M.B. & AL-abedy, A.N. (2020). Genetic variability of the Mite *Varroa destructor* Isolated from Honey Bees in Iraq and Some Middle Eastern Countries. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 14(1), 1029-1035. <https://doi.org/10.37506/ijfmt.v14i1.190>

Marche, M.G., Satta, A., Floris, I., Pusceddu, M., Buffa, F. & Ruiu, L. (2019). Quantitative variation in the core bacterial community associated with honey bees from *Varroa*-infested colonies. *Journal of Apicultural Research*, 58(3), 444-454. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1589669>

Margarita, O., Osnat, M. & Abraham, H. (2020). Choosing the best: Honeybee workers can assess reproductive quality of the queen through pheromonal signalling in simultaneous choice assays. *Apidologie*, 51(3), 291-306. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00712-w>

Martin, S.J., Hawkins, G.P., Brettell, L.E., Reece, N., Correia-Oliveira, M.E. & Allsopp, M.H. (2020). *Varroa destructor* reproduction and cell re-capping in mite-resistant *Apis mellifera* populations. *Apidologie*, 51(3), 369-381. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00721-9>

Martínez Puc, J.F., Medina Medina, L.A. & Catzín Ventura, G.A. (2011). Frecuencia de *Varroa destructor*, *Nosema apis* y *Acarapis woodi* en colonias manejadas y enjambres silvestres de abejas (*Apis mellifera*) en Mérida, Yucatán, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 2(1), 25-38.

Masaquiza, D., Rodríguez, L., Díaz Monroy, B., Guanoluisa, M. & Yucailla, V. (2019). Variaciones morfométricas y conductuales de la abeja melífera (*Apis mellifera*) en diferentes pisos altitudinales en la serranía ecuatoriana. *Revista Iberoamericana Ambiente & Sustentabilidad*, 2, 25-32. <https://doi.org/10.46380/rias.v2i1.35>

Masaquiza, D., Vargas, J., Ortiz, N., Salazar, R., Curbelo, L., Pérez, A. & Arenal, A. (2021). Hygienic Behavior of *Apis mellifera* and its Relationship with *Varroa destructor* Infestation and Honey Production in the Central Highlands of Ecuador. *Insects*, 12(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/insects12110966>

Mascena Peixoto, C., Correia-Oliveira, M.E., Silva, F. de L., de Oliveira Ramos, C.E.C. & Carvalho, C.A.L. de (2021). *Varroa destructor* in *Apis mellifera* colonies in Brazil. *Journal of Apicultural Research*, 0(0), 1-7. <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1960746>

Medina-Flores, C.A., Esquivel-Marín, N.H., López-Carlos, M., Medina-Cuellar, S.E. & Aguilera-Soto, J.I. (2018). Estimación de la pérdida de colonias de abejas melíferas en el altiplano y el norte de México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 5(14), 365-371. <https://doi.org/10.19136/era.a5n14.1459>

Meixner, M.D., Leta, M.A., Koeniger, N. & Fuchs, S. (2011). The honey bees of Ethiopia represent a new subspecies of *Apis mellifera*—*Apis mellifera simensis* n. ssp. *Apidologie*, 42(3), 425-437. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0007-y>

Meixner, M.D., Pinto, M.A., Bouga, M., Kryger, P., Ivanova, E. & Fuchs, S. (2013). Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-28. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.05>

Mena, D.M. (2016). Plan de negocios para la producción y comercialización de miel en Nicaragua. Tesis para optar al grado de Magíster en Gestión y Dirección de Empresas. Universidad de Chile. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/138264>

Mendoza, Y., Gramajo, E., Invernizzi, C. & Tomasco, I.H. (2020). Mitochondrial haplotype analyses of the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) collected from honeybees *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) in Uruguay. *Systematic and Applied Acarology*, 25(8), 1526-1529. <https://doi.org/10.11158/saa.25.8.14>

MINAG (2002). Programa de mejoramiento genético de la abeja *Apis mellifera* L. con abejas localmente adaptadas al ácaro *Varroa destructor*. Ministerio de la Agricultura de Cuba, Estación Experimental Apícola (EEAPI). 8 p. Cuba.

MINAG (2014). Programa de mejoramiento genético de la abeja *Apis mellifera* L. con abejas localmente adaptadas al ácaro *Varroa destructor*. Ministerio de la Agricultura de Cuba, Centro de Investigaciones Apícolas (CIAPI). 22 p. Cuba.

Momot, J.P. & Rothenbuhler, W.C. (1971). Behaviour Genetics of Nest Cleaning in Honeybees. VI. Interactions of Age and Genotype of Bees, and Nectar Flow. *Journal of Apicultural Research*, 10(1), 11-21. <https://doi.org/10.1080/00218839.1971.11099665>

Mondet, F., Beaufrepaire, A., McAfee, A., Locke, B., Alaux, C., Blanchard, S., Danka, B. & Le Conte, Y. (2020). Honey bee survival mechanisms against the parasite *Varroa destructor*: A systematic review of phenotypic and genomic research efforts. *International Journal for Parasitology*, 50(6), 433-447. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.03.005>

Moreira, S., Queiroz, G., Castro, H., Souza, E., Pereira, D. & Holanda Neto, J.P. de (2017). Infestação do ácaro *Varroa destructor* em colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) no Semiárido potiguar, Nordeste do Brasil. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 12, 143-149. <https://doi.org/10.18378/rvads.v12i1.4845>

Moretto, G., Guerra, J.C., Kalvelage, H. & Espíndola, E. (2004). Maternal influence on the acceptance of virgin queens introduced into Africanized honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Genet. Mol. Res.*, 3(3), 441-445.

Morfin, N., Espinosa-Montaña, L.G. & Guzmán-Novoa, E. (2020). A direct assay to assess self-grooming behavior in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 51(5), 892-897. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00769-y>

Moritz, R.F.A. (1988). A Reevaluation of the Two-Locus Model for Hygienic Behavior in Honeybees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Heredity*, 79(4), 257-262. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a110506>

Moritz, R.F.A., Cornuet, J.M., Kryger, P., Garnery, L. & Hepburn, H.R. (1994). Mitochondrial DNA variability in South African honeybees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 25(2), 169-178. <https://doi.org/10.1051/apido:19940205>

Moro, A., Blacquièrre, T., Dahle, B., Dietemann, V., Le Conte, Y., Locke, B., Neumann, P. & Beaufrepaire, A. (2021). Adaptive population structure shifts in invasive parasitic mites, *Varroa destructor*. *Ecology and Evolution*, 11(11), 5937-5949. <https://doi.org/10.1002/ece3.7272>

Muntaabski, I., Russo, R.M., Liendo, M.C., Palacio, M.A., Cladera, J.L., Lanzavecchia, S.B. & Scannapieco, A.C. (2020). Genetic variation and heteroplasmy of *Varroa destructor* inferred from ND4 mtDNA sequences. *Parasitology Research*, 119(2), 411-421. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06591-5>

Nates-Parra, G. (2011). Genética del comportamiento: Abejas como modelo. *Acta Biológica Colombiana*, 16(3), 213-230.

Navajas, M., Anderson, D.L., de Guzman, L.I., Huang, Z.Y., Clement, J., Zhou, T. & Le Conte, Y. (2010). New Asian types of *Varroa destructor*: A potential new threat for world apiculture. *Apidologie*, 41(2), 181-193. <https://doi.org/10.1051/apido/2009068>

Navajas, M., Conte, Y.L., Solignac, M., Cros-Arteil, S. & Cornuet, J.-M. (2002). The Complete Sequence of the Mitochondrial Genome of the Honeybee Ectoparasite Mite *Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata). *Molecular Biology and Evolution*, 19(12), 2313-2317. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004055>

Netschitailo, O., Raub, S., Kaftanoglu, O. & Beye, M. (2022). Sexual diversification of splicing regulation during embryonic development in honeybees (*Apis mellifera*), A haplodiploid system. *Insect Molecular Biology*, 31(2), 170-176. <https://doi.org/10.1111/imb.12748>

Noël, A., Le Conte, Y. & Mondet, F. (2020). *Varroa destructor*: How does it harm *Apis mellifera* honey bees and what can be done about it? *Emerging Topics in Life Sciences*, 4(1), 45-57. <https://doi.org/10.1042/ETLS20190125>

Ocaña, L., Pérez, A., Fernández, T. & Demedio, J. (2021). Parámetros biométricos de zánganos neonatos de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.) y factores que los afectan en colmenas de Mayabeque, Cuba. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 55(2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2079-34802021000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=en

OECD (2023). Honey, Product Trade, Exporters and Importers. The Observatory of Economic Complexity. OECD. <https://oec.world/en/profile/hs/honey>

Ogihara, M.H., Yoshiyama, M., Morimoto, N. & Kimura, K. (2020). Dominant honeybee colony infestation by *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) K haplotype in Japan. *Applied Entomology and Zoology*, 55(2), 189-197. <https://doi.org/10.1007/s13355-020-00667-w>

OIE (1996). Código Terrestre de la Oficina Internacional de las Epizootias. <https://www.oie.int/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/>

OMSA (2023b). Código Terrestre, Organización Mundial de Sanidad Animal. <https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/>

OMSA (2023a). Enfermedades de las abejas. Organización Mundial de Sanidad Animal. <https://www.woah.org/es/enfermedad/enfermedades-de-las-abejas/>

OMSA (2023c). Una sola salud. Organización Mundial de Sanidad Animal. <https://www.woah.org/es/que-hacemos/iniciativas-mundiales/una-sola-salud/>

Oudemans, A.C. (1904b). Acarologische Aantekeningen XIII. Entomologische berichten No.19, 169. Nederlandse Entomologische Vereniging. Amsterdam. <http://archive.org/details/entomologischebe1190105nede>

Oudemans, A.C. (1904a). On a new genus and species of Parasitic Acari. Notes from the Leyden Museum, 24(4), 216-222.

Paolillo, G., Petrini, A., Casiraghi, E., Iorio, M.G.D., Biffani, S., Pagnacco, G., Minozzi, G. & Valentini, G. (2022). Automated image analysis to assess hygienic behaviour of honeybees. PLOS ONE, 17(1), e0263183. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263183>

Pérez, A. & Demedio, J. (2017). Estatus racial e índices de infestación de colmenas (*Apis mellifera* L.) por *Varroa destructor* (Anderson y Trueman) en Mayabeque, Cuba. Cuban Journal of Agricultural Science, 51(2), 217-224.

Pérez Hernández, A. & Poveda, J. (2014). Evaluación de la conducta higiénica en colmenas de abejas *Apis mellifera* L. por el método del pinchado con dos instrumentos. Revista de Salud Animal, 36(3), 170-177.

Pérez Piñeiro, A. (2021). Especies melíferas para la intensificación sustentable de la producción de miel en Cuba: *Ipomoea triloba* L. y *Turbina corymbosa* (L.). Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. La Habana: Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt”. 140 p.

Perrin, J., Boukadiri, A., Boyard, P., Soubelet, J.-B. & Mazoit, J.X. (2020). Hygienic behavior in honey bees and prediction of *Varroa* non-reproduction in single-drone inseminated (SDI) colonies. Journal of Apicultural Research, 59(2), 185-192. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1673550>

Pinto, F.A., Teixeira, E.W., Cestaro, L.G., Martins, M.F., Alves, M.L.T.M.F. & Message, D. (2022). *Varroa destructor* in Africanized honey bees in Brazil: Genetic and reproductive profile. Sociobiology, 69(1), Article 1. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v69i1.7340>

Popovska Stojanov, D., Dimitrov, L., Danihlík, J., Uzunov, A., Golubovski, M., Andonov, S. & Brodschneider, R. (2021). Direct Economic Impact Assessment of Winter Honeybee Colony Losses in Three European Countries. *Agriculture*, 11(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/agriculture11050398>

Porrini, L.P., Quintana, S., Brasesco, C., Maggi, M.D., Porrini, M.P., Garrido, M.P., Fernández Iriarte, P.J. & Eguaras, M.J. (2022). Current genetic diversity of managed and commercially produced *Apis mellifera* colonies in Argentina inferred by wing geometric morphometrics and COI-COI mtDNA locus. *Apidologie*, 53(5), 61. <https://doi.org/10.1007/s13592-022-00970-1>

Poveda Hernández, J.P. (2020). Comparativo bibliográfico de la importancia de los polinizadores del género *Apis* para la generación de servicios ecosistémicos (captación de carbono), con base en resultados de la trashumancia en los cultivos comerciales. Bachelor Thesis, Fundación Universidad de América, Colombia. <https://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/8478>

Rader, R., Cunningham, S.A., Howlett, B.G. & Inouye, D.W. (2020). Non-Bee Insects as Visitors and Pollinators of Crops: Biology, Ecology, and Management. *Annual Review of Entomology*, 65(1), 391-407. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025055>

Ramsey, S.D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J.D., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J.M., Ellis, J.D., Hawthorne, D. & vanEngelsdorp, D. (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(5), 1792-1801. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818371116>

Rangel, J., Shepherd, T F., Gonzalez, A.N., Hillhouse, A., Konganti, K. & Ing, N.H. (2021). Transcriptomic analysis of the honey bee (*Apis mellifera*) queen spermathecae reveals genes that may be involved in sperm storage after mating. *PLOS ONE*, 16(1), e0244648. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244648>

Rebelo, A.R., Fagundes, J.M.G., Digiampietri, L.A., Franco, T.M. & Biscaro, H.H. (2021). A fully automatic classification of bee species from wing images. *Apidologie*, 52(6), 1060-1074. <https://doi.org/10.1007/s13592-021-00887-1>

Requier, F. (2019). Honey Bees in Latin America. En *Phylogenetics of Bees* (pp. 206-221). CRC Press.

Requier, F. & Leonhardt, S.D. (2020). Beyond flowers: Including non-floral resources in bee conservation schemes. *Journal of Insect Conservation*, 24(1), 5-16. <https://doi.org/10.1007/s10841-019-00206-1>

Rinderer, T.E., Harris, J.W., Hunt, G.J. & Guzman, L.I. de (2010). Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America. *Apidologie*, 41(3), 409-424. <https://doi.org/10.1051/apido/2010015>

Rinderer, T.E. & Hellmich, R.L. (1991). The Processes of Africanization. In *The African honey bee* (pp. 95-117). CRC Press.

Rinderer, T.E., Oldroyd, B.P. & Sheppard, W.S. (1993). Africanized Bees in the U.S. *Scientific American*, 269(6), 84-90.

Rinderer, T.E., Sylvester, H.A., Brown, M.A., Villa, J.D., Pesante, D., Collins, A.M., Spencer, R., Kleinpeter, S. & Lancaster, V. (1986). Field and simplified techniques for identifying Africanized and European Honey Bees. *Apidologie*, 17(1), 33-48. <https://doi.org/10.1051/apido:19860104>

Rodrigues, Y.K. & Beldade, P. (2020). Thermal Plasticity in Insects' Response to Climate Change and to Multifactorial Environments. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fevo.2020.00271>

Rodríguez, A., Yadró, C.A., Pérez, A., Invernizzi, C. & Tomasco, I. (2020). Characterization of Mites in Cuba Using Mitochondrial and Nuclear Markers. *Journal of Apicultural Science*, 64(2), 335-343. <https://doi.org/10.2478/jas-2020-0022>

Rosenkranz, P., Aumeier, P. & Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, S96-S119. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>

Roth, M.A., Wilson, J.M., Tignor, K.R. & Gross, A.D. (2020). Biology and Management of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies. *Journal of Integrated Pest Management*, 11(1), 1. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmz036>

Rothenhuhler, W.C. (1964a). Behavior Genetics of Nest Cleaning in Honey Bees. IV. Responses of F1 and Backcross Generations to Disease-Killed Brood. *American Zoologist*, 4(2), 111-123.

Rothenbuhler, W.C. (1964b). Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. I. Responses of four inbred lines to disease-killed brood. *Animal Behaviour*, 12(4), 578-583. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(64\)90082-X](https://doi.org/10.1016/0003-3472(64)90082-X)

Ruttner, F. (2013). *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer Science & Business Media. Libro.

Ruttner, F., Tassencourt, L. & Louveaux, J. (1978). Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. I. Material and Methods. *Apidologie*, 9(4), 363-381. <https://doi.org/10.1051/apido:19780408>

Salamanca Grosso, G., Osorio Tangarife, M.P. & Rodríguez Arias, N. (2012). Presencia e incidencia forética de *Varroa destructor* A. (Mesostigma: Varroidae) en colonias de abejas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), en Colombia. *Zootecnia Trop.*, 30(2): 183-195. 2012. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692012000200007

Sanabria, J.L., Demedio, J., Pérez, T., Peñate, I., Rodríguez, D. & Lóriga, W. (2015). Índices de infestación por *Varroa destructor* en colmenas sin medidas de control. *Revista de Salud Animal*, 37(2), 118-124.

Sandoval González, E. (2018). Situación zoonosanitaria de los niveles de infestación de varroosis en *Apis mellifera* en Nicaragua 2009 - 2015. Tesis para optar al título de Magister Scientiae en Medicina Preventiva Veterinaria. UNAN-León, Nicaragua. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/7455>

Schafaschek, T.P., Hickel, E.R., Oliveira, C.A.L. de & Toledo, V. de A.A. de (2019). Infestation and Reproduction of *Varroa destructor* Anderson and Trueman and Hygienic Behavior in Colonies of *Apis mellifera* L. (Africanized Honeybee) with Queens of Different Genetic Origins. *Sociobiology*, 66(3), Article 3. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v66i3.3444>

Schmid-Hempel, P. (2011). *Evolutionary Parasitology: The Integrated Study of Infections, Immunology, Ecology, and Genetics*. Oxford University Press. Libro.

Schneider, S., DeGrandi-Hoffman, G. & Smith, D.R. (2004). The African honey bee: Factors contributing to a successful biological invasion. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), 351-376.

Schneider, S., Leamy, L.J., Lewis, L.A. & DeGrandi-Hoffman, G. (2003). The influence of hybridization between African and European honeybees, *Apis mellifera*, on asymmetries in wing size and shape. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 57(10), 2350-2364. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00247.x>

Seltzer, R., Kahanov, P., Kamer, Y., Hetzroni, A., Bieńkowska, M., Hefetz, A. & Soroker, V. (2022a). The payoffs and tradeoffs of hygienic behavior: A five-year field study on a local population of honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 61(4), 492-501. <https://doi.org/10.1080/00218839.2022.2048947>

Seltzer, R., Kamer, Y., Kahanov, P., Splitt, A., Bieńkowska, M., Hefetz, A. & Soroker, V. (2022b). Breeding for hygienic behavior in honey bees (*Apis mellifera*): A strong paternal effect. *Journal of Apicultural Research*, 62(3), 1-10. <https://doi.org/10.1080/00218839.2022.2140927>

Sieber, K.R., Dorman, T., Newell, N. & Yan, H. (2021). (Epi)Genetic Mechanisms Underlying the Evolutionary Success of Eusocial Insects. *Insects*, 12(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/insects12060498>

Silva, F.L. da, Grassi Sella, M.L., Francoy, T.M. & Costa, A.H.R. (2015). Evaluating classification and feature selection techniques for honeybee subspecies identification using wing images. *Computers and Electronics in Agriculture*, 114, 68-77. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2015.03.012>

Simone-Finstrom, M. & Tarpy, D.R. (2018). Honey Bee Queens Do Not Count Mates to Assess their Mating Success. *Journal of Insect Behavior*, 31(2), 200-209. <https://doi.org/10.1007/s10905-018-9671-3>

Solignac, M., Cornuet, J., Vautrin, D., Le Conte, Y., Anderson, D., Evans, J., Cros-Arteil, S. & Navajas, M. (2005). The invasive Korea and Japan types of *Varroa destructor*, ectoparasitic mites of the Western honeybee (*Apis mellifera*), are two partly isolated clones. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1561), 411-419. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2853>

Sosenski, P. & Domínguez, C.A. (2018). El valor de la polinización y los riesgos que enfrenta como servicio ecosistémico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 89(3). <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.3.2168>

Spivak, M. & Danka, R.G. (2021). Perspectives on hygienic behavior in *Apis mellifera* and other social insects. *Apidologie*, 52(1), 1-16. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00784-z>

Spivak, M., Reuter, G., Lee, K. & Ranum, B. (2009). The future of the MN hygienic stock of bees is in good hands! *American Bee Journal*, 149(10), 965-967.

Swezey, S.L. (1986). Africanized honey bees arrive in Nicaragua. *American Bee Journal (USA)*, 283-287.

Szalanski, A.L. & Magnus, R.M. (2010). Mitochondrial DNA characterization of Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) populations from the USA. *Journal of Apicultural Research*, 49(2), 177-185. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.2.06>

Tamura, K., Stecher, G. & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

Tapia-González, J.M., Alcazar-Oceguera, G., Macías-Macías, J.O., Contreras-Escareño, F., Tapia-Rivera, J.C., Petukhova, T. & Guzmán-Novoa, E. (2019). Varroosis en abejas melíferas en diferentes condiciones ambientales y regionales de Jalisco, México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 6(17), 243-251. <https://doi.org/10.19136/era.a6n17.2018>

Techer, M.A., Clémencet, J., Simiand, C., Preaduth, S., Azali, H.A., Reynaud, B. & Hélène, D. (2017). Large-scale mitochondrial DNA analysis of native honey bee *Apis mellifera* populations reveals a new African subgroup private to the South West Indian Ocean islands. *BMC Genetics*, 18(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0520-8>

Techer, M.A., Rane, R.V., Grau, M.L., Roberts, J.M.K., Sullivan, S.T., Liachko, I., Childers, A.K., Evans, J.D. & Mikheyev, A. S. (2019). Divergent evolutionary trajectories following speciation in two ectoparasitic honey bee mites. *Communications Biology*, 2(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0606-0>

Thompson, J.N. (2005). Coevolution: The Geographic Mosaic of Coevolutionary Arms Races. *Current Biology*, 15(24), R992-R994. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.11.046>

Thompson, V.C. (1964). Behaviour Genetics of Nest Cleaning in Honeybees. III. Effect of Age of Bees of a Resistant Line on Their Response to Disease-Killed Brood. *Journal of Apicultural Research*, 3(1), 25-30. <https://doi.org/10.1080/00218839.1964.11100078>

Tibatá, V.M., Arias, E., Corona, M., Ariza Botero, F., Figueroa-Ramírez, J. & Junca, H. (2018). Determination of the Africanized mitotypes in populations of honey bees (*Apis mellifera* L.) of Colombia. *Journal of Apicultural Research*, 57(2), 219-227. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1409065>

Tibatá, V.M., Sanchez, A., Palmer-Young, E., Junca, H., Solarte, V.M., Madella, S., Ariza, F., Figueroa, J. & Corona, M. (2021). Africanized honey bees in Colombia exhibit high prevalence but low level of infestation of *Varroa* mites and low prevalence of pathogenic viruses. *PLOS ONE*, 16(5), e0244906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244906>

Tihelka, E., Cai, C., Pisani, D. & Donoghue, P.C.J. (2020). Mitochondrial genomes illuminate the evolutionary history of the Western honey bee (*Apis mellifera*). *Scientific Reports*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71393-0>

Toth, A.L. & Zayed, A. (2021). The honey bee genome—What has it been good for? *Apidologie* 52(1) 45-62. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00829-3>

Traynor, K.S., Mondet, F., de Miranda, J.R., Techer, M., Kowallik, V., Oddie, M.A.Y., Chantawannakul, P. & McAfee, A. (2020). *Varroa destructor*: A Complex Parasite, Crippling Honey Bees Worldwide. *Trends in Parasitology*, 36(7), 592-606. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.04.004>

Trump, R.F., Thompson, V.C. & Rothenbuhler, W.C. (1967). Behaviour Genetics of Nest Cleaning in Honeybees V. Effect of Previous Experience and Composition of Mixed Colonies on Response to Disease-Killed Brood. *Journal of Apicultural Research*, 6(3), 127-131. <https://doi.org/10.1080/00218839.1967.11100172>

University of Göttingen (2021). More support needed for pollination services in agriculture. *Science Daily*. <https://www.sciencedaily.com/releases/2021/09/210923132607.htm>

Uribe-Rubio, J.L., Novoa, E.G., Hunt, G.J., Benítez, A.C. & Rubio, J.A.Z. (2003). The effect of africanization on honey production, defensive behavior and size of honeybees (*Apis mellifera* L.) in the Mexican high plateau. *Veterinaria México*, 34(1), 47-59.

van Alphen, J.J.M. & Fernhout, B.J. (2020). Natural selection, selective breeding, and the evolution of resistance of honeybees (*Apis mellifera*) against *Varroa*. Zoological Letters 6(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s40851-020-00158-4>

van der Sluijs, J.P. (2020). Insect decline, an emerging global environmental risk. Current Opinion in Environmental Sustainability, 46, 39-42. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2020.08.012>

Verde, M.M. (2014). Apicultura y seguridad alimentaria. Revista Cubana de Ciencias Agrícola, 48(1), Article 1. <http://cjasience.com/index.php/RCCA/article/view/442>

Vilarem, C., Piou, V., Vogelweith, F. & Vétillard, A. (2021). *Varroa destructor* from the Laboratory to the Field: Control, Biocontrol and IPM Perspectives-A Review. Insects, 12(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/insects12090800>

Wallberg, A., Han, F., Wellhagen, G., Dahle, B., Kawata, M., Haddad, N., Simões, Z.L.P., Allsopp, M.H., Kandemir, I., De la Rúa, P., Pirk, C.W. & Webster, M.T. (2014). A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera*. Nature Genetics, 46(10), Article 10. <https://doi.org/10.1038/ng.3077>

Warrit, N. & Lekprayoon, C. (2011). Asian Honeybee Mites. En H. R. Hepburn & S. E. Radloff (Eds.), Honeybees of Asia (pp. 347-368). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-16422-4_16

Whitfield, C.W., Behura, S.K., Berlocher, S.H., Clark, A.G., Johnston, J.S., Sheppard, W.S., Smith, D.R., Suarez, A.V., Weaver, D. & Tsutsui, N.D. (2006). Thrice Out of Africa: Ancient and Recent Expansions of the Honey Bee, *Apis mellifera*. Science, 314(5799), 642-645. <https://doi.org/10.1126/science.1132772>

Wilfert, L., Long, G., Leggett, H.C., Schmid-Hempel, P., Butlin, R., Martin, S.J.M. & Boots, M. (2016). Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. Science, 351(6273), 594-597. <https://doi.org/10.1126/science.aac9976>

Yañez, O., Piot, N., Dalmon, A., de Miranda, J.R., Chantawannakul, P., Panziera, D., Amiri, E., Smagghe, G., Schroeder, D. & Chejanovsky, N. (2020). Bee Viruses: Routes of Infection in Hymenoptera. Frontiers in Microbiology, 11. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2020.00943>

Yevstafieva, V., Zaloznaya L.M., Nazarenko, O.S., Melnychuk V. & Sobol'ta A.G. (2020). Morphological variation of *Varroa destructor* (Parasitiformes, Varroidae) in different seasons. Biosystems Diversity, 28(1), Article 1.

Zárate, D., Lima, T.G., Poole, J.D., Calfee, E., Burton, R.S. & Kohn, J.R. (2022). Admixture in Africanized honey bees (*Apis mellifera*) from Panamá to San Diego, California (U.S.A.). Ecology and Evolution, 12(2), e8580. <https://doi.org/10.1002/ece3.8580>

Zayed, A. & Whitfield, C.W. (2008). A genome-wide signature of positive selection in ancient and recent invasive expansions of the honey bee *Apis mellifera*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 105(9), 3421-3426. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800107105>

Zazzarini, S.B. (2022). Perspectivas en las negociaciones internacionales sobre biodiversidad: los avances del Grupo de Trabajo de Composición Abierta sobre el Marco Mundial de la Diversidad Biológica posterior a 2020. Anuario en Relaciones Internacionales del IRI, 2022.



Christiane Düttmann
Investigadora independiente

León - Nicaragua

Cel./Whatsapp: +505 82575894

E-Mail: christianeduettmann@gmail.com

Medica Veterinaria con Doctorado en Ciencias Veterinarias, Maestría en Epidemiología y Diplomado en Apicultura Tropical.

Docente (1999-2019) e investigadora principal en el área de Apicultura Tropical (desde 2004) y Sanidad Animal en la UNAN-León, Nicaragua (Universidad Nacional Autónoma de León).

Formación Académica

Medicina Veterinaria, Freie Universität, Berlín, Alemania; Maestría en Epidemiología, UNAN-León y Universidad de Umea, Suecia (2008); Diplomado en Apicultura Tropical con Énfasis en Formación de Formadores, UNAN-León (2011); Doctorado en Ciencias Veterinarias, Epidemiología Apícola con la Universidad Agraria de la Habana UNAH, Cuba (2024).

Experiencia Docente

Catedrática Pregrado en Apicultura tropical, Bioestadística, Metodología de Investigación, Epidemiología y Salud Pública Veterinaria.

Catedrática Postgrado en Maestría en Medicina Preventiva con mención en Sanidad Animal: Epidemiología e higiene; Diplomado en Apicultura Tropical: Sanidad Apícola (Coordinadora); Modulo Salud Pública: Aportes de Ciencias Veterinarias a la Salud Pública; Modulo Epidemiología del Campo: Control de Brotes.

Formación Continua para jóvenes apicultores en el Occidente, MEFCCA; apicultores en Nicaragua (IPSA e INATEC); profesionales y técnicos veterinarios del IPSA para el área apícola.

Experiencia Investigativa

Principal línea de investigación: Sanidad y Genética Apícola; Exposición de temas apícolas en congresos nacionales e internacionales. Investigadora en temas de Zoonosis: específicamente Leptospirosis, Cisticercosis, Brucelosis, Rickettsiosis (exposición en congresos nacionales e internacionales, ferias, talleres y cursos).

Tutora de tesis de graduación y postgrado (diplomado y maestría) de 60 tesis en diferentes áreas de medicina veterinaria, 25 con temas apícola y 10 publicaciones científicas.

Coordinadora de 2 Proyectos de Sanidad Apícola en Nicaragua con MAG FOR, INTA, financiado por: INTA-FIDA-FAT y con MAG FOR, financiado por: FUNICA-FAT, Cuenta Reto del Milenio y 2 Proyectos de Leptospirosis con MAG FOR y MINSA financiado por OPS.

4 consultorías dirigidas y ejecutadas con temas en el área apícola.

La Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) es una publicación del Museo Entomológico de León, aperiódica, con numeración consecutiva. Publica trabajos de investigación originales e inéditos, síntesis o ensayos, notas científicas y revisiones de libros que traten sobre cualquier aspecto de la Entomología, Acarología y Aracnología. No tiene límites de extensión de páginas y puede incluir cuantas ilustraciones sean necesarias para el entendimiento más fácil del trabajo.

The Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) is a journal published by the Entomological Museum of Leon, in consecutive numeration, but not periodical. RNE publishes original research, monographs, and taxonomic revisions, of any length. RNE publishes original scientific research, review articles, and book reviews on all matters of Entomology, Acarology and Arachnology. Color illustrations are welcome as a better way to understand the publication.

Todo manuscrito para RNE debe enviarse en versión electrónica a:
(*Manuscripts must be submitted in electronic version to RNE editor*):

Dr. Jean Michel Maes (Editor General, RNE)
Museo Entomológico de León / Morpho Residency
De la Hielera CELSA, media cuadra arriba
21000 León, NICARAGUA
Teléfono (505) 7791-2686
jmmaes@yahoo.com

Costos de publicación y sobretiros.

La publicación de un artículo es completamente gratis.

Los autores recibirán una versión pdf de su publicación para distribución.

