

APIS MELLIFERA EN EL ALTIPLANO CENTRAL DEL ECUADOR:

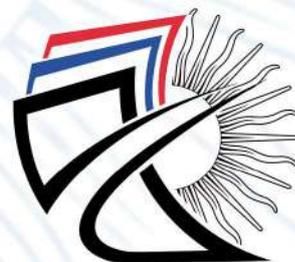
Africanización, Varroa destructor, caracteres conductuales y producción melífera

Diego Armando Masaquiza Moposita

Edwin Roberto Naranjo Silva

Manuel Patricio Paredes Orozco

Ramón Gonzalo Aragadvay Yungán



PUERTO MADERO
EDITORIAL

2da Edición
2023



puertomaderoeditorial.com.ar



La Plata - Argentina

**Apis mellifera en el altiplano
central del Ecuador:
africanización, Varroa destructor,
caracteres conductuales y
producción melífera**



**Apis mellifera en el altiplano
central del Ecuador:
africanización, Varroa destructor,
caracteres conductuales y
producción melífera**

AUTORES:

Diego Armando Masaquiza Moposita
Edwin Roberto Naranjo Silva
Manuel Patricio Paredes Orozco
Ramón Gonzalo Aragadvay Yungán



Apis mellifera en el altiplano central del Ecuador : africanización, Varroa destructor, caracteres conductuales y producción melífera / Diego Armando Masaquisa ... [et al.] ; editado por Juan Carlos Santillán Lima ; Daniela Margoth Caichug Rivera ; Gloria Elena Estrada Cely. - 2a ed revisada. - La Plata : Puerto Madero Editorial Académica, 2023.
Libro digital, PDF/A

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-82816-5-0

1. Zootecnia. I. Masaquisa, Diego Armando. II. Santillán Lima, Juan Carlos, ed. III. Caichug Rivera, Daniela Margoth, ed. IV. Estrada Cely, Gloria Elena, ed.
CDD 636.0098



Licencia Creative Commons:

Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0)



Primera Edición, Enero 2023

**APIS MELLIFERA EN EL ALTIPLANO CENTRAL DEL ECUADOR:
africanización, Varroa destructor, caracteres conductuales y producción
melífera**

ISBN: 978-987-82816-5-0

Editado por:

Sello editorial: ©Puerto Madero Editorial Académica
N° de Alta: 933832

Editorial: © Puerto Madero Editorial Académica

CUIL: 20630333971

Calle 45 N491 entre 4 y 5

Dirección de Publicaciones Científicas Puerto Madero Editorial

Académica

La Plata, Buenos Aires, Argentina

Teléfono: +54 9 221 314 5902

+54 9 221 531 5142

Código Postal: AR1900

Este libro se sometió a arbitraje bajo el sistema de doble ciego (peer review)

Corrección y diseño:

Puerto Madero Editorial Académica

Diseñador Gráfico: José Luis Santillán Lima

Diseño, Montaje y Producción Editorial:

Puerto Madero Editorial Académica

Diseñador Gráfico: Santillán Lima, José Luis

Director del equipo editorial: Santillán Lima, Juan Carlos

Editor:

Estrada Cely, Gloria Elena

Santillán Lima, Juan Carlos

Caichug Rivera, Daniela Margoth

Hecho en Argentina

Made in Argentina

AUTORES:

Diego Armando Masaquiza Moposita

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo - Sede Orellana. Facultad de Ciencias Pecuarias, Carrera de Zootecnia, Francisco de Orellana - Ecuador

dmasaquiza@esPOCH.edu.ec

 <https://orcid.org/0000-0001-5176-8261>

Edwin Roberto Naranjo Silva

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Administración de Empresas, Riobamba - Ecuador

edwin.naranjo@esPOCH.edu.ec

 <https://orcid.org/0000-0002-2067-1085>

Manuel Patricio Paredes Orozco

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo - Sede Morona Santiago. Facultad de Ciencias Pecuarias – Carrera de Zootecnia, Macas - Ecuador

patricio.paredes@esPOCH.edu.ec

 <https://orcid.org/0000-0002-9532-9866>

Ramón Gonzalo Aragadvay Yungán

Universidad Técnica de Ambato. Carrera de Medicina Veterinaria, Ambato – Ecuador

rg.aragadvay@UTA.edu.ec

 <https://orcid.org/0000-0002-7794-7775>

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	XIII
ÍNDICE DE TABLAS	XV
GLOSARIO DE SIGLAS Y ABREVIATURAS.....	XVII
PRÓLOGO.....	XIX
INTRODUCCIÓN	XXI
CAPÍTULO I.....	2
ASPECTOS GENERALES: ORIGEN, EVOLUCIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LA <i>APIS MELLIFERA</i>, ANTECEDENTES DE LA EXPLOTACIÓN, INTRODUCCIÓN DE <i>APIS MELLIFERA</i> EN ECUADOR, SITUACIÓN ACTUAL DE LA APICULTURA EN EL MUNDO Y EN ECUADOR	2
1.1 Origen, evolución y distribución de la abeja (<i>Apis mellifera</i>)	2
1.2 Antecedentes de la explotación de <i>Apis mellifera</i>	8
1.3 Introducción de <i>Apis mellifera</i> en América	11
1.4 Situación actual de la apicultura en el mundo	11
CAPÍTULO 2.	42
AFRICANIZACIÓN DE LA ABEJA MELÍFERA Y TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS SUBESPECIES (MORFOMETRÍA Y ANÁLISIS MOLECULARES).....	42
2.1 Africanización de la abeja melífera	42
2.2 Identificación de las subespecies de <i>Apis mellifera</i>	44
2.3 Técnicas morfométricas.....	45
2.4 Técnicas moleculares.....	56
CAPÍTULO 3.	62
VARROASIS, CICLO BIOLÓGICO, FACTORES QUE INFLUYEN EN LAS TASAS DE INFESTACIÓN, IMPACTO AMBIENTAL Y MECANISMOS DE DEFENSA DE LA ABEJA MELÍFERA.....	62
3.1 Varroasis	62
3.2 Ciclo Biológico de <i>Varroa destructor</i>	65
3.3 Factores que influyen en la tasa de infestación.....	69
3.4 Impacto ambiental causado por <i>Varroa destructor</i>	69
3.5 Mecanismos biológicos o estrategias de defensa de la abeja melífera	71
3.5.1 Acicalamiento.....	72
3.5.2 El comportamiento higiénico.....	73
3.5.3 La supresión del éxito reproductivo del ácaro varroa en las celdas de cría	75
3.5.4 Características de resistencia de <i>Apis mellifera</i> a <i>Varroa destructor</i>	75
3.5.5 Comportamiento Defensivo (CD)	76

CAPÍTULO 4.....	63
COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO Y DEFENSIVO DE <i>APIS MELLIFERA</i> Y SU RELACIÓN CON LAS TASAS DE INFESTACIÓN POR <i>VARROA DESTRUCTOR</i> Y LA PRODUCCIÓN DE MIEL EN DIFERENTES PISOS ALTITUDINALES EN EL ALTIPLANO CENTRAL DEL ECUADOR	63
4.1 Evaluación del comportamiento higiénico en colonias de <i>Apis mellifera</i> en el altiplano central del Ecuador	71
4.2 Evaluación del comportamiento defensivo de colonias de <i>Apis mellifera</i> en el altiplano central del Ecuador	75
4.3 Determinación de las Tasas de Infestación.....	77
4.4 Evaluación de la producción de miel.....	79
4.5 Relación entre las variables: comportamiento higiénico y defensivo con las tasas de infestación y producción de miel	80
4.6 Discusión General y Conclusiones	86
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
DIEGO ARMANDO MASAQUIZA MOPOSITA.....	123
EDWIN ROBERTO NARANJO SILVA	124
MANUEL PATRICIO PAREDES OROZCO	125
RAMÓN GONZALO ARAGADVAY YUNGÁN	126

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Escena de la recolección de miel en las Cuevas de la Araña en Bicorp.	2
Figura 2. Hipótesis propuestas para el origen de <i>Apis mellifera</i>	5
Figura 3. Mapa con la distribución geográfica de las 31 subespecies de <i>Apis mellifera</i> ...	6
Figura 4. Escena de recolección de miel en el Cingle de L'Ermita.	9
Figura 5. Evolución del valor de las exportaciones mundiales de miel por países (millones de dólares FOB).	12
Figura 6. Evolución del valor de las importaciones mundiales de miel por países (millones de dólares CIF).	12
Figura 7 . Dispersión de la abeja africanizada en las Américas.	43
Figura 8. Ilustración de las medidas utilizadas en el análisis del ala mediante la técnica de morfometría tradicional, donde a y b representan las distancias desde la vena cubital, FL representa la longitud del ala y FB es la anchura.	47
Figura 9. Ilustración de los 11 ángulos utilizados en el análisis del ala mediante la técnica tradicional de morfometría.	47
Figura 10. Localización de puntos de referencia ubicados en las intersecciones venales del ala delantera izquierda.	50
Figura 11. Puntos ubicados en la célula radial del ala para procesos de identificación, en abejas melíferas.	53
Figura 12. Pasos que incluye la superposición de Procustes.	54
Figura 13. Esquema del ADN mitocondrial de <i>Apis mellifera</i>	58
Figura 14. <i>Varroa</i> genéticamente inestable, se hibrida y alterna entre <i>Apis cerana</i> y <i>Apis mellifera</i>	62
Figura 15. Infestación por <i>Varroa destructor</i> en cría de <i>Apis mellifera</i>	64
Figura 16. Dinámica del virus-vector.	64
Figura 17. Preferencia alimentaria de la varroa en una abeja adulta.	64
Figura 18. Hembra vista dorsal (A) y macho vista frontal (B) adultos de <i>Varroa destructor</i> , ácaro que parasita a la abeja doméstica (<i>Apis mellifera</i>).	65
Figura 19. Sincronización del ciclo de desarrollo de <i>Varroa destructor</i> con el de <i>Apis mellifera</i>	67
Figura 20. <i>Varroa destructor</i> en fase forética en <i>Apis mellifera</i>	68
Figura 21. Diferentes patrones de daños en ácaros <i>Varroa destructor</i>	72
Figura 22. (A) Comportamiento higiénico de las abejas, y (B) comportamiento higiénico sensible a varroa.	73
Figura 23. Relación entre los rasgos de resistencia de las abejas melíferas.	76
Figura 24. Respuestas conductuales de las abejas melíferas a diferentes amenazas.	77
Figura 25. Estrategias de la investigación.	67
Figura 28. Evaluación del comportamiento defensivo.	69
Figura 29. Procedimiento para determinar las tasas de infestación de muestras de abejas melíferas.	69

Figura 30. Comportamiento higiénico en cada período de evaluación de colonias por los diferentes pisos altitudinales del altiplano central del Ecuador.....	74
Figura 31. Infestación por <i>Varroa destructor</i> en cada período de evaluación y en distintos pisos altitudinales del altiplano central del Ecuador.....	78
Figura 32. Infestación por <i>Varroa destructor</i> en relación con el comportamiento higiénico (bajo - medio - alto), en cada período de evaluación en el altiplano central del Ecuador.	82
Figura 33. Asociación del número de agujones y la africanización de <i>Apis mellifera</i> ..	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características específicas de las especies de <i>Apis</i>	3
Tabla 2. Resumen de las subespecies de <i>Apis mellifera</i> ordenadas según las áreas geográficas brutas de Ruttner (1988).....	7
Tabla 3. Explotaciones apícolas catastradas a nivel nacional en el año 2014.	14
Tabla 4. Número de apicultores y colmenas registradas en diferentes provincias del Ecuador.....	15
Tabla 5. Investigaciones recientes en biología molecular usadas para identificar el origen materno de abejas melíferas.....	56
Tabla 6. Evaluaciones de la defensividad a nivel de colonia.	78
Tabla 7. Localización geográfica de los apiarios en el altiplano central del Ecuador.....	65
Tabla 8. Evaluación del comportamiento higiénico promedio de <i>Apis mellifera</i> en distintos pisos altitudinales del altiplano central del Ecuador.	72
Tabla 9. Colonias infestadas por <i>Varroa destructor</i> antes, durante y después de la producción en el altiplano central del Ecuador.	77
Tabla 10. Producción de miel en distintos pisos altitudinales en el altiplano central del Ecuador.....	80

GLOSARIO DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
A	Apiario
<i>A. m.</i>	<i>Apis mellifera</i>
AAF	Abejas africanizadas
CIF	Cost Insurance and Freight”, o “costo, seguro y flete”
FOB	“Free on Board”, o “libre a bordo”
AVC	Análisis de Variables Canónicas
COI	Citocromo oxidasa I
COII	Citocromo oxidasa II
Cyt b	Citocromo b
ND2	Subunidad 2 de deshidrogenasa
CH	Comportamiento Higiénico
CHT	Comportamiento Higiénico total
CD	Comportamiento defensivo
TIA	Tasas de infestación en abejas adultas
CO	Citocromo Oxidasa
DS	Desviación estándar
P	Probabilidad
r	Correlación
SNK	Student Newman Keuls

PRÓLOGO

La reducción de las poblaciones de polinizadores a nivel mundial es una realidad, es una acuciante preocupación para científicos e investigadores, debido a que muchas especies de plantas dependen del proceso de polinización para la producción de frutos y semillas.

Se calcula que la tercera parte de los alimentos humanos son polinizados por insectos, en particular por las abejas, aproximadamente de las 100 especies de cultivos que proporcionan el casi 90 % de la comida mundial, más del 70 % se polinizan gracias a las abejas. En el caso de frutas particulares, la producción de semillas disminuye en más del 90 % al desaparecer estas especies polinizadoras.

Se tiene reportes de pérdidas de la biodiversidad de insectos en países Latinoamericanos y nuestro país no está exento de este fenómeno; existe poca información relacionada a esta situación; sin embargo estos insectos son muy susceptibles a pesticidas, insecticidas y otros productos químicos que son usados en el campo, además la expansión de la tala sin respetar los límites de las zonas agrícolas son un factor predominante para fomentar la desaparición de estos insectos.

Frente a estas amenazas se debe acelerar la catalogación de la biodiversidad en zonas poco estudiadas para conocer el potencial y el estado de sus poblaciones, de esta manera establecer medidas de conservación efectivas. La información reducida acerca de la biodiversidad de abejas, la elevada convergencia morfológica y la existencia de numerosas barreras geográficas a lo largo de su distribución, sugieren la existencia de numerosas especies.

Se ve la necesidad de la intervención de la investigación científica para contribuir con estudios taxonómicos de la biodiversidad, el cual supone un cuello de botella para la descripción e identificación de especies, fenómeno que se magnifica en zonas hiperdiversas. Sin embargo, es de mucha importancia indicar que la biodiversidad existente en ciertas zonas del país son aún desconocidas; en estos lugares hay presencia de bosques vírgenes donde no se tiene documentado ciertas especies existentes de flora y fauna. Por ello se requiere de nuevas iniciativas de trabajo, bajo un escenario de pérdida rápida de

biodiversidad, la utilización de técnicas como la morfometría geométrica en los últimos años ganaron gran realce en el ámbito investigativo.

De la misma manera, es necesario fomentar la producción de abejas de una manera conservacionista como parte integrante de un modelo de agricultura sustentable basados en la combinación de conocimientos tradicionales y científicos, complementados con el uso de especies locales y con tecnologías ecológicamente adecuadas. Todo ello se enfoca desde un proceso de transición agroecológica, con una marcada trans-disciplinariedad a lo largo de todo el proceso.

La mayoría de productores carecen de conocimientos sobre la actividad que realizan las abejas en las especies vegetales, la variedad de una a otra, los beneficios de la polinización al medio ambiente y la reducción de la población de abejas debido al uso indiscriminado de productos químicos que alteran el ecosistema, disminuyendo la producción de alimentos y atentando a la seguridad alimentaria de los pueblos.

En la actualidad la presencia de plagas y enfermedades son uno de los factores más importantes para la reducción de abejas, así tenemos al ácaro *Varroa destructor*, factor predisponente para el ingreso de enfermedades, su repercusión en la colmena es de alta relevancia, causando daños desde las crías hasta el insecto adulto, lo que provoca reducción de su ciclo de vida y población en la colmena, igualmente se indica que porcentajes altos del ácaro tienden afectar la producción y en casos extremos a eliminar la colmena.

La necesidad de buscar alternativas contra estos problemas conllevaron a realizar investigaciones para poder seleccionar colonias con defensividad baja, comportamientos higiénicos altos que le admitan obtener tolerancia ante plagas y enfermedades; aquí se denota la importancia de alcanzar una abeja resistente mediante procesos de selección, enfocándose en aspectos sanitarios que permitan a la colmena defenderse por sí misma y esto se traduzca a producciones significativas que hagan de la apicultura una actividad más atractiva para el productor.

INTRODUCCIÓN

El libro tiene como base un estudio de campo realizado en la zona centro del país, la propuesta de la investigación fue realizar evaluaciones del comportamiento defensivo e higiénico, tasas de infestación por *Varroa destructor* y producción melífera en distintas altitudes del altiplano ecuatoriano, como un pilar primordial para los futuros estudios y planes de mejoramiento genético de la abeja melífera.

La actividad apícola es considerada de gran importancia para la seguridad alimentaria de muchos países, donde el crecimiento demográfico mundial impone optimizar la producción alimentaria para cubrir los requerimientos crecientes de los pueblos (Sánchez et al., 2013; Villa 1988). Las abejas son esenciales para el equilibrio de los ecosistemas y desempeñan una función fundamental que contribuyen a la reproducción y dispersión de la mayoría de las especies de plantas, muchas de las cuales son económicamente importantes; su acción fue desarrollada a través de un proceso coevolutivo complejo durante los últimos 100 millones de años (Cardinal y Danforth 2013).

La abeja melífera (*A. mellifera*) es un insecto que tiene un papel relevante en los ecosistemas naturales y agrícola (FAO 2016), debido a su función protagónica en la polinización de cultivos que forman parte de la cadena trófica del hombre, aun ante la modernización e intensificación de la agricultura a escala mundial (Verde et al., 2013) y sin descartar su importancia económica debido al valor que generan sus productos (Valdés 2013).

En los últimos años se observa una disminución significativa de las poblaciones de abejas en todo el mundo que, se estima, alcanza un 30 % (Tirado *et al.*, 2013). Esta problemática causa alarma general entre científicos y criadores. Las causas de la denominada “crisis de los polinizadores” o “crisis de la polinización”.

Según Pantoja et al., (2014) se debe a la introducción de especies que compiten o son portadoras de parásitos nuevos para los polinizadores nativos, la presencia de algunas plantas invasivas que modifican la composición florística a nivel regional, la deforestación, el uso intensivo e indiscriminado de agroquímicos; el cambio climático (González-Varo et al., 2013); el síndrome de despoblamiento de colmenas (Yániz et al., 2016); la proliferación de parásitos y agentes patógenos (Wagoner et al., 2013); el uso indiscriminado de insecticidas y plaguicidas (Van der Sluijs et al., 2013); los efectos de

la infestación de *Varroa destructor* (Coelho et al., 2015b); la aparición de *Nosema ceranae* (Cepero 2016) y los efectos sinérgicos de estos factores, han despertado la atención de muchos investigadores, realizándose estudios dirigidos a la caracterización, explotación tecnológica y el uso sustentable de la especie (Muli et al., 2014).

Por otro lado, la demanda de alto rendimiento económico y productivo por parte de las explotaciones apícolas, combinada con características de comportamiento deseables, implicaron cambios considerables causados por la cría sistemática de abejas, que provoca una marcada disminución de la variabilidad genética de la especie, ya que los apicultores de todo el mundo prefieren el mismo tipo de abeja: mansa, trabajadora y saludable. Como consecuencia, el patrón de distribución geográfica original de la especie se está disolviendo debido a importaciones masivas de abejas, el comercio de reinas y el traslado de colonias, implican un peligro para las subespecies y ecotipos regionales, con una tendencia creciente hacia la uniformidad de las poblaciones (Meixner et al., 2013).

Pérez (2014) reporta que en el hemisferio occidental no existía la abeja melífera y fueron los españoles quienes la introdujeron durante el proceso de colonización, de manera que los aborígenes solamente conocían las abejas sin aguijón, los abejorros y otras especies silvestres. En Centro y Sudamérica, se manejaron colonias de *Scaptotrigona mexicana* en Chiapas y Veracruz, de *Melipona beechei* en la península de Yucatán, Centroamérica y el archipiélago cubano y de *Melipona compressipes* y *Melipona scutellaris* en Sudamérica (Jaramillo et al., 1992; Quiroz, 1998).

En el Ecuador las primeras colmenas de la abeja mielera europea (*Apis mellifera ligustica*) se introdujeron en el año 1870, traídas por religiosos desde Francia hacia Cuenca; estas abejas se criaron y explotaron inicialmente en los conventos religiosos, de esta provincia se distribuyeron a otras ciudades del país. Las colmenas se criaban en cajones rústicos de doce bastidores. *A. m. ligustica* se encuentra actualmente naturalizada y se distribuye por las tres regiones continentales del Ecuador, en competencia con la entomofauna nativa por los recursos florales (Hogue y Hogue 1993).

En el altiplano ecuatoriano no existen registros de ingreso de otras subespecies de *A. mellifera*, sin embargo, en el intento de mejorar las características de las abejas, apicultores señalan la importación de reinas de ascendencia europea; además, Acosta (2018) en un análisis genético de ADN mitocondrial en tres provincias de la zona norte del país, informó la presencia de haplotipos europeos y africanizados. Los hallazgos se

realizaron en altitudes inferiores a los 3000 m.s.n.m. pero hasta el momento no existen determinaciones vía paterna en abejas del altiplano que cuantifiquen la introgresión de genes africanos.

El proceso de cruzamiento de la abeja europea con abejas de origen africano, conocido por africanización de la abeja europea, da por resultado colonias con elevada conducta defensiva y tendencia a la enjambrazón (Guzmán-Novoa et al., 2004); asimismo, Arechavaleta-Velasco et al., (2011) afirman que estos morfotipos pueden mostrar características positivas diferentes a las de las abejas europeas, como una mayor tolerancia a parásitos y enfermedades (Medina-Flores et al., 2014), que se relaciona con bajas tasas de infestación y mayor potencial productivo (Pinto et al., 2012).

En la actualidad la estrategia de lucha contra *V. destructor* se apoya en la obtención de poblaciones resistentes. En este sentido, los programas de mejoramiento conciben la selección a largo plazo, para lo cual existen bases en la heredabilidad de características fenotípicas, genotípicas y conductuales, complementadas con técnicas moleculares (Rodríguez et al., 2010).

A nivel de Latinoamérica no se encontraron estudios sobre el CH y sus relaciones con las TIA y la producción melífera en alturas superiores a los 2 000 m.s.n.m. En estas condiciones específicas, las mutaciones, la selección natural y el hombre favorecen adaptaciones que provocan variaciones en las características morfológicas, fisiológicas y de comportamiento de las abejas, dando lugar a distintos ecotipos adaptados a una región en particular, los cuales son imprescindibles conocer con fines de conservación y mejoramiento.

Este libro se divide en cuatro capítulos, tres de los cuales son introductorios y el cuarto es donde se explica de forma detallada el estudio de caso:

El CAPÍTULO 1, trata sobre aspectos del origen, evolución y distribución de la abeja, antecedentes de la explotación de *Apis mellifera*, introducción en el continente Americano y la situación actual de la apicultura en el mundo.

En el CAPÍTULO 2, se explica el proceso de Africanización de la abeja melífera, identificación de las subespecies, técnicas morfométricas y técnicas moleculares para identificación de *Apis mellifera*.

En el CAPÍTULO 3, se aborda la Varroasis, ciclo biológico del ácaro, factores que influyen en las tasas de infestación, impacto ambiental, métodos utilizados para el control de *Varroa destructor* y mecanismos de defensa de la abeja melífera.

El estudio de caso se muestra en el CAPÍTULO 4, donde se evaluó las tasas de infestación de *Varroa destructor*, mecanismos de defensa de la abeja melífera, producción de miel y la relación de estas variables con la altitud de la zona centro del país (Tungurahua y Chimborazo). Finalmente las referencias bibliográficas consultadas para el desarrollo de este texto de investigación bajo el título Bibliografía.

Este libro está orientado a estudiantes de pregrado y postgrado como también a productores, con anhelos que se convierta en un libro de referencia para la investigación y la realidad en el área de la apicultura.

Los autores

CAPÍTULO 1

Aspectos generales: origen, evolución y distribución de la *Apis mellifera*, situación actual de la apicultura en el mundo y en Ecuador

CAPÍTULO I.

ASPECTOS GENERALES: ORIGEN, EVOLUCIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LA *Apis mellifera*, ANTECEDENTES DE LA EXPLOTACIÓN, INTRODUCCIÓN DE *Apis mellifera* EN ECUADOR, SITUACIÓN ACTUAL DE LA APICULTURA EN EL MUNDO Y EN ECUADOR

1.1 Origen, evolución y distribución de la abeja (*Apis mellifera*)

La clase Insecta del orden *Himenoptera*, evolucionó en el periodo Jurásico muy ligado a la coevolución de plantas con flores, en donde el proceso de reproducción dependía de los insectos (Carpana 2004). Crane (1975) refiere que los hombres primitivos obtuvieron miel de los nidos de las abejas en árboles huecos o grietas en las rocas, como se evidencia en las pinturas rupestres realizadas en cuevas del oeste de España, datan de alrededor del 7000 a.c (Figura 1).

De las tres subfamilias que conformaron la familia *Apidae* (*Meliponinae*, *Bombinae* y *Apinae*), la *Apinae* alcanzó las mejores adaptaciones, lo que permite que sean más cosmopolitas (Verde 2014).

Figura 1. Escena de la recolección de miel en las Cuevas de la Araña en Bicorp.



Fuente: Martorell y Martínez (2022)

Las abejas melíferas pertenecen al Reino *Animalia*, que incluye más de 100000 especies diversas (Combey et al., 2018). En el género *Apis* se conocen diez especies debidamente documentadas (Combey et al., 2018; Cridland et al., 2017), de acuerdo con Raffiudin y Crozier (2007) pertenecen a tres grupos: abejas que anidan en las cavidades

(*Apis mellifera*, *Apis cerana*, *Apis koschevnikovi*, *Apis nuluensis*), abejas gigantes (*Apis dorsata*, *Apis laboriosa*, *Apis binghami*, *Apis nigrocincta*) y abejas enanas (*Apis florea*, *Apis andreniformis*).

Las más importantes son *Apis dorsata*, *Apis florea*, *Apis cerana* y *Apis mellifera* (Tabla 1), entre ellas, *Apis mellifera* es la más estudiada, debido a su gran variabilidad genética, amplia distribución geográfica e importancia económica (Kandemir et al., 2009), luego de la separación de su pariente cercano *Apis cerana* hace aproximadamente entre 6 y 25 millones de años atrás (Ramírez et al., 2010), se diversificó en seis linajes evolutivos (A; M; Y; O; C y Z), alcanzando su rango de distribución actual en Europa, África, Asia Occidental y Central (Alburaki et al., 2013; Chen et al., 2016; Cridland et al., 2017; Eimanifar, Brooks, et al., 2018; Franck et al., 2000; Ruttner 1988a; Wallberg et al., 2014; Whitfield et al., 2006).

Tabla 1. Características específicas de las especies de *Apis*.

Característica	<i>A. florea</i>	<i>A. dorsata</i>	<i>A. laboriosa</i>	<i>A. cerana</i>	<i>A. mellifera</i>
Longitud del ala delantera (mm)	6 - 6.9	12.5 - 13.5	14.2 - 14.8	7.27 - 9.02	7.64 - 9.7
Índice cubital	2.8 - 3.7	6.1 - 9.8		3.1 - 5.1	1.65 - 2.95
Tomenta	Tergito 3 – 6	3 – 6	3 - 6	3 - 6	3 - 5
Ala trasera: extensión de la vena radial	Variable	Presente	Presente	Presente	Ausencia
Melitina: secuencia de aminoácidos (desviación del tipo mellifera)	5 aminoácidos modificados	3 aminoácidos modificados		0	0
Zángano					
Endofalo	1 par de cornua, bulbo un tubo fino	4 pares de cornua muy larga y delgada; bulbo corto		1 par de cornua, otras 3 sin placas de quitina	1 par de cornua, 3 con placas de quitina
Basitarso	Incisión profunda con pelo plumoso + espinas	Almohadilla gruesa de pelo robusto y ramificado		Almohadilla fina de pelo plumoso	Como la <i>Apis cerana</i>
Comportamiento					
Tapado de celdas de zánganos	Sólido	Sólido		Perforado	Sólido

Nido	Un panal que rodea una rama para formar una "pista de baile".	Un solo panal de gran tamaño fijado en la parte inferior de una rama o roca, unido al nervio central	Como la <i>Apis dorsata</i>	Varios panales en la cavidad, fijados con el nervio central	Como la <i>Apis cerana</i>
Comunicación	Danza orientada al sol en una plataforma abierta al cielo	Danza orientada al sol sobre peine vertical abierto al cielo		Danza orientada al sol en peine vertical en cavidad	Como la <i>Apis cerana</i>
Distribución	Simpátrica	Simpátrica		Simpátrica	Alopátrica
Fuente: (Ruttner 1988a)					

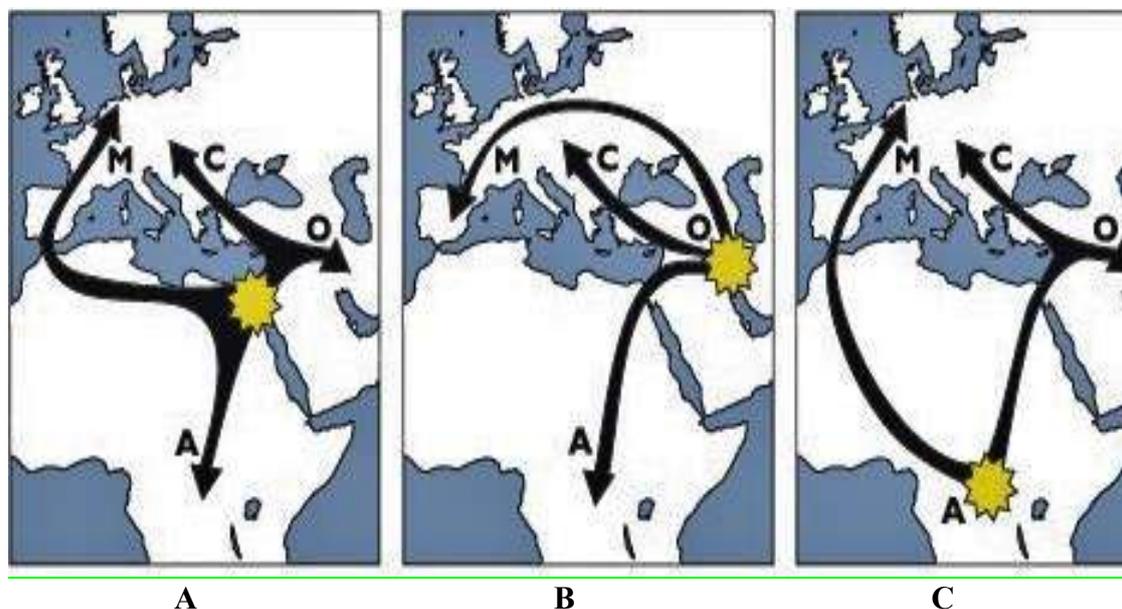
En cuanto al origen de *Apis mellifera*, el primer escenario de los linajes evolutivos fue propuesto por Ruttner (1988a) quien apoyándose en los caracteres morfológicos afirmó que el origen de los linajes estaba en Oriente Medio o en el Noreste de África, desde donde Europa fue colonizada a través de dos rutas: del oeste y noroeste de África hacia la Península Ibérica y desde Oriente Medio hacia los Balcanes. Esta teoría coincide con los análisis moleculares de 1136 polimorfismos de un nucleótido (SNPs) de Whitfield et al., (2006), posteriormente reanalizados por Han et al., (2012) que mediante diferentes parámetros genéticos consideran que el origen de *Apis mellifera* ocurrió probablemente en Asia, cerca de donde se encuentran actualmente otras especies de *Apis* (Figura 2A).

Asimismo, Garnery et al., (1992), apoyados en análisis de ADN mitocondrial, proponen un origen de Oriente Medio, pero a diferencia de Ruttner (1988) no argumentan una colonización de Europa a través de la ruta occidental y la migración por del Estrecho de Gibraltar, sino que uno de los grupos filogenéticos A y C en lugar de M. El reciente descubrimiento de la nueva subespecie *Apis mellifera sinisxinyuan* en las montañas de Tian Shan, plantea interrogantes sobre el origen del linaje M, al sugerir una colonización de Europa a través de Asia, que sustentan el escenario propuesto por Garnery (1992) y que aparece en la Figura 2B.

Estudios realizados por Whitfield et al., (2006) con base en 1136 SNPs derivados del genoma nuclear, apoyan un origen de la abeja melífera en África, sin embargo, el linaje A da origen al linaje M, que se expandió más tarde a través de Occidente, así mismo el linaje C colonizó Europa mientras que el O se extendió hacia Asia (Figura 2C). En las pesquisas más recientes de Cridland et al., (2017) se combinaron conjuntos de datos del

genoma completo generados por Harpur et al., (2014) y Wallberg et al., (2014) y agregaron otros genomas completos, para comprender la historia evolutiva de esta especie.

Figura 2. Hipótesis propuestas para el origen de *Apis mellifera*.



(A) Ruttner (1988) y Han et al. (2012); (B) Garnery et al. (1992); (C) Whitfield et al (2006).

Los resultados destacan un posible origen de la abeja melífera en Oriente Medio o en el noreste de África (Cridland et al., 2017), que apoyan la hipótesis anterior de Ruttner (1988), y también los análisis moleculares de Han et al., (2012) y Wallberg et al., (2014). Sin embargo, en lugar de una antigua división entre los linajes A y O, Cridland et al., (2017) propusieron que los linajes M, C y O se originan en el continente africano y además el linaje A e Y como el principio de las ramificaciones.

Charistos et al., (2014) acotan que también es frecuente el uso del calificativo que da categoría de subespecie localizada en un país determinado o región, tales como *Apis mellifera ligustica* (abeja amarilla o italiana), *Apis mellifera carnica* (abeja carniola), *Apis mellifera caucasica* (abeja gris o del Cáucaso) y *Apis mellifera mellifera* (abeja negra o alemana), entre otras (Figura 3).

Tabla 2. Resumen de las subespecies de *Apis mellifera* ordenadas según las áreas geográficas brutas de Ruttner (1988).

Mediterráneo occidental	Irano - Ponto - Caspio Mediterráneo Oriental / Asia Central	Mediterráneo Central - Europa del Sureste	África - Arabia
<i>A. m. iberiensis</i>	<i>A. m. adami</i>	<i>A. m. carnica</i>	<i>A. m. adansonii</i>
<i>A. m. intermissa</i>	<i>A. m. anatoliaca</i>	<i>A. m. carpatica</i>	<i>A. m. bandasii</i>
<i>A. m. major</i>	<i>A. m. caucasia</i>	<i>A. m. cecropia</i>	<i>A. m. capensis</i>
<i>A. m. mellifera</i>	<i>A. m. cypria</i>	<i>A. m. ligustica</i>	<i>A. m. lamarckii</i>
<i>A. m. ruttneri</i>	<i>A. m. meda</i>	<i>A. m. macedonica</i>	<i>A. m. litorea</i>
<i>A. m. sahariensis</i>	<i>A. m. pomonella</i>	<i>A. m. siciliana</i>	<i>A. m. monticola</i>
	<i>A. m. remipes</i>	<i>A. m. sicula</i>	<i>A. m. jemenitica</i>
	<i>A. m. armeniaca</i>		<i>A. m. nubica</i>
	<i>A. m. sossimai</i>		<i>A. m. scutellata</i>
	<i>A. m. syriaca</i>		<i>A. m. simensis</i>
	<i>A. m. syriaca</i>		<i>A. m. sudanensis</i>
			<i>A. m. sudanensis</i>
			<i>A. m. woyigambella</i>

Fuente: Alqarni et al., (2011)

Dichas agrupaciones se diferencian entre sí, por sus características morfométricas (coloración, tamaño, pilosidad y patrón de venación alar) y por el nivel molecular, así como también en sus patrones de conducta y dinámicas poblacionales (De la Rúa et al., 2009).

Byatt et al., (2016) y Jaffe et al., (2010) plantean que el área de distribución nativa ocupada por *Apis mellifera*, se extendió a todo el mundo para apoyar la polinización y la producción de miel.

Esta clasificación fue apoyada por estudios de ADN mitocondrial que revelaron una quinta rama evolutiva linaje Y, con las poblaciones de *Apis mellifera jemenitica* en Etiopia (Franck et al., 2001). Además, se ha añadido un nuevo linaje independiente, recientemente descrito: el Z que incluye las poblaciones de *Apis mellifera syriaca*

(Alburaki et al., 2013). A nivel molecular estos linajes son genéticamente divergentes basados en marcadores nucleares y el ADN mitocondrial (Péntek-Zakar et al., 2015).

La formación de los linajes evolutivos están determinados principalmente por las variaciones climáticas y botánicas, como resultado de los periodos glaciares y post-glaciares (Miguel et al., 2016). Meixner et al., (2013) indican que el linaje A incluye las subespecies africanas *A. m. intermissa* y *A. m. sahariensis* en el Norte; *A. m. lamarckii*, *A. m. simensis*; *A. m. adansonii* en el oeste y centro; *A. m. scutellata* en el centro y sur; *A. m. capensis* en el Sur, *A. m. monticola* en la región montañosa del sudeste de África; *A. m. litorea* en el sureste de África y finalmente *A. m. unicolor* que es endémica de Madagascar.

El linaje M está formado por las subespecies de Europa Occidental que incluye *A. m. mellifera* y *A. m. iberiensis* (Kandemir et al., 2011), el linaje C formado por las subespecies de Europa Oriental entre ellas *A. m. ligustica* y *A. m. carnica*, el linaje O que abarca a las subespecies de Oriente Próximo (Charistos et al., 2014; De la Rúa et al., 2013; Pinto et al., 2013; Wallberg et al., 2014), el linaje Z de medio Oriente (Alburaki et al., 2013), con un sub-linaje de A incrustado en este último y el Y que incluye a la subespecie *A. m. jemenitica* de Etiopía (Meixner et al., 2013).

La *A. mellifera* es la única especie de abejas melíferas que evolucionó en Europa y África por efectos ambientales y de aislamiento geográfico (Ruttner 1988b). Según el origen geográfico se identifican morfológicamente 29 subespecies de *A. mellifera* (Abizanda 2018; Francoy et al., 2008; Francoy et al., 2011; Francoy et al., 2006; Koka y Kandemir 2013; Yániz et al., 2016), antes de llegar a América (Galindo 2013), morfológica y genéticamente (Wallberg et al., 2014) consiguen la mayor distribución en el mundo, con ecotipos de clima tropical y templado.

1.2 Antecedentes de la explotación de *Apis mellifera*

El arte parietal mesolítico muestra escenas de recolección de miel (Figura 4), donde existen recolectores con los métodos que usaban para la extracción, y aparecen así las primeras representaciones de abejas en la historia, y evidencias de este arte encontrado (Escribano et al., 2014), que datan de la aparición de abejas en los años 6 000 a.C (Hernández 2013). En la antigüedad la función que cumplía la abeja aún no ha sido esclarecida completamente, sin embargo, se sabe que tiene un significado mítico y

religioso, la miel no era un producto de fácil obtención al igual que la cera, por lo que llegaron a ser sustancias muy preciadas y de admiración por diversas civilizaciones como alimento exquisito y elemento de purificación (Ulloa et al., 2010).

Figura 4. Escena de recolección de miel en el Cingle de L'Ermita.



Fuente: Escribano et al., (2014)

Meixner et al., (2013) apuntan que la cultura avanzó y la gente aprendió a colocar las colmenas (nidos) dentro de cavidades, en recipientes de cerámica, forraje o madera (como troncos de árboles). Independientemente de las diversas hipótesis que se puedan esgrimir sobre su origen, la abeja ha sido un insecto también ligado a la evolución del hombre (Gruber et al., 2013), esta especie ha sido introducida por humanos en todos los continentes, con excepción de la Antártida y utilizado intensamente en la producción de miel y polinización en todo el mundo.

Las primeras referencias de la apicultura se pueden encontrar en regiones como Natal (África del Sur), Zimbawe y la India, así como en las antiguas civilizaciones egipcia, griega, romana y en el imperio de Carlomagno (Bravo et al., 1989). El hallazgo

de papiros que datan del año 2400 a.C evidencia la realización de prácticas apícolas durante el período predinástico de Egipto, en ellas se pueden observar a los egipcios trasladando colmenas por medio de embarcaciones a través del río Nilo y la fabricación de colmenas de arcilla en forma tubular para explotar los enjambres de manera artificial.

Una serie de figuras y gráficos encontrados en las tumbas de varios faraones representan el uso del humo y la práctica de la extracción de la miel y la cera sin necesidad de recurrir a la matanza de la colonia completa. En la Grecia Antigua, Aristóteles describe en el libro V de su obra *Historia Animalium* la libación del néctar, la organización de los nidos de las abejas y su estructura social, además, comenta acerca del empleo de algo similar a un panal móvil fabricado con listones para guiar las construcciones de cera de las abejas (Cepero 2016).

En el período romano la miel era muy valorada y muchos autores escribieron obras muy interesantes sobre la descripción de los hábitos y la cría de las abejas; la mejora de las técnicas permitió producir abundantes cosechas de miel y potenció la aparición de nuevas aplicaciones, como la conservación de frutas, la producción de bebidas alcohólicas como el hidromiel, la elaboración de aceites aromáticos y el tratamiento de heridas o envenenamientos (Sepúlveda Gil 1980).

Tras la decadencia del Imperio Romano la actividad apícola sufrió una disminución que se acentuó en el siglo XVI con el descubrimiento del azúcar de caña primero y el de la remolacha más tarde. A pesar de la competencia con los nuevos edulcorantes, la apicultura se mantuvo en algunos conventos debido a sus aplicaciones farmacéuticas, cosméticas, culinarias y nutritivas de la miel (Voorhies et al., 1933).

De acuerdo con Cobb (2000) la apicultura volvió a resurgir debido a los hallazgos de Luís Méndez de Torres en el año 1586, al considerar a la abeja reina como la hembra encargada de la puesta de los huevos. A este se sumaron en el siglo XVII, los descubrimientos de Jan Swammerdam acerca de la anatomía y el crecimiento de las larvas y las ninfas, el aporte de jalea real a las larvas de reina, la metamorfosis y muda de las larvas y la organización de la colonia.

Esta serie de revelaciones supuso un aumento en el conocimiento biológico de los insectos, tanto a nivel individual y como colonia, que condujo a numerosos avances técnicos, en los siglos sucesivos, como el desarrollo de los panales móviles por Lorenzo Langstroth en 1851; los moldes para láminas de cera por Johannes Mehring en 1857; un

rudimentario aparato para extraer la miel por Von Hruschha en 1865; el primer ahumador por Moses Quimby en 1870 y la colmena tipo Layens por Georges de Layens en 1874, todos estos progresos contribuyeron a la transformación de una apicultura tradicional en técnica, la cual hoy está considerada como una actividad zootécnica (Cepero 2016).

1.3 Introducción de *Apis mellifera* en América

La abeja melífera ingreso con los colonizadores europeos en el siglo XVI, estos introdujeron la abeja melífera (*A. mellifera*) al continente americano (Labougle y Zozaya 1986). En Latinoamérica se tienen datos sobre el proceso de dispersión de *A. mellifera* con la presencia en América del Norte en 1622 (Engel et al., 2009), Cuba 1763, Brasil y Chile 1839 (Nogueira-Neto 1972). En Ecuador las primeras colmenas que se introdujeron fueron del ecotipo de abeja mielera europea *A. m. ligustica* (Hidalgo y Mena 2003).

En la segunda mitad del siglo XX, en la mayor parte del continente americano ocurrió un fenómeno de invasión biológica conocido como africanización (Kerr 1967). El fenómeno (García et al., 2013) se debió al escape en el año 1957 de abejas africanas (*Apis mellifera scutellata*) de un apiario experimental en Brasil. Winston (1992) señaló que los enjambres se establecieron de manera silvestre, se reprodujeron y se cruzaron con la población local de abejas de razas europeas (Nogueira-Neto 1964). Este proceso generó poblaciones con genotipos híbridos denominadas abejas africanizadas (Sanford 2006); estos enjambres híbridos rápidamente se propagaron hacia el norte y sur a través de los trópicos americanos.

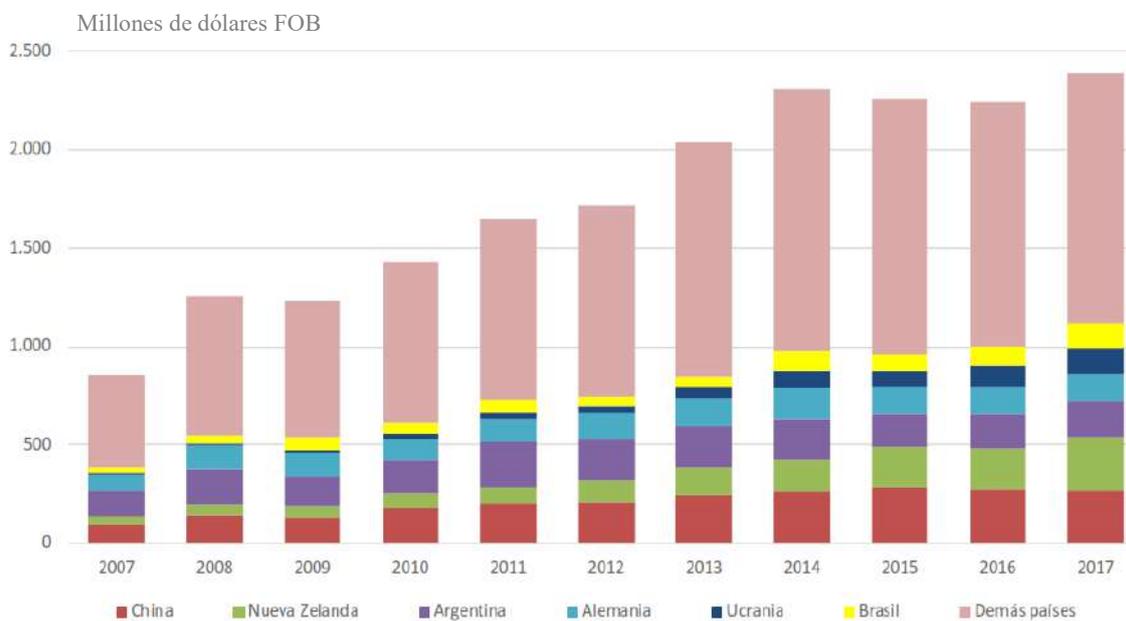
1.4 Situación actual de la apicultura en el mundo

La apicultura es una actividad que se extendió a todos los países del mundo, gracias a su gran adaptabilidad en diferentes pisos climáticos, pudiéndose ejercer preferentemente desde los 80 m.s.n.m. hasta altitudes superiores a los 3000 m.s.n.m. (Granda Ojeda 2017).

La producción mundial de miel natural tuvo un crecimiento del 52,4 % en el periodo 1990 - 2016 (FAO 2018). En los últimos 17 años se presentó un incremento de las exportaciones internacionales en aproximadamente 334 mil toneladas, a una tasa promedio anual de alrededor del 12 % (Sanchez et al., 2018). En el año 2017, China y

Nueva Zelanda (Figura 5) fueron los países con mayores exportaciones a nivel mundial, con 22,8 % (540 millones de dólares) del total, según Barrera (2018).

Figura 5. Evolución del valor de las exportaciones mundiales de miel por países (millones de dólares FOB).

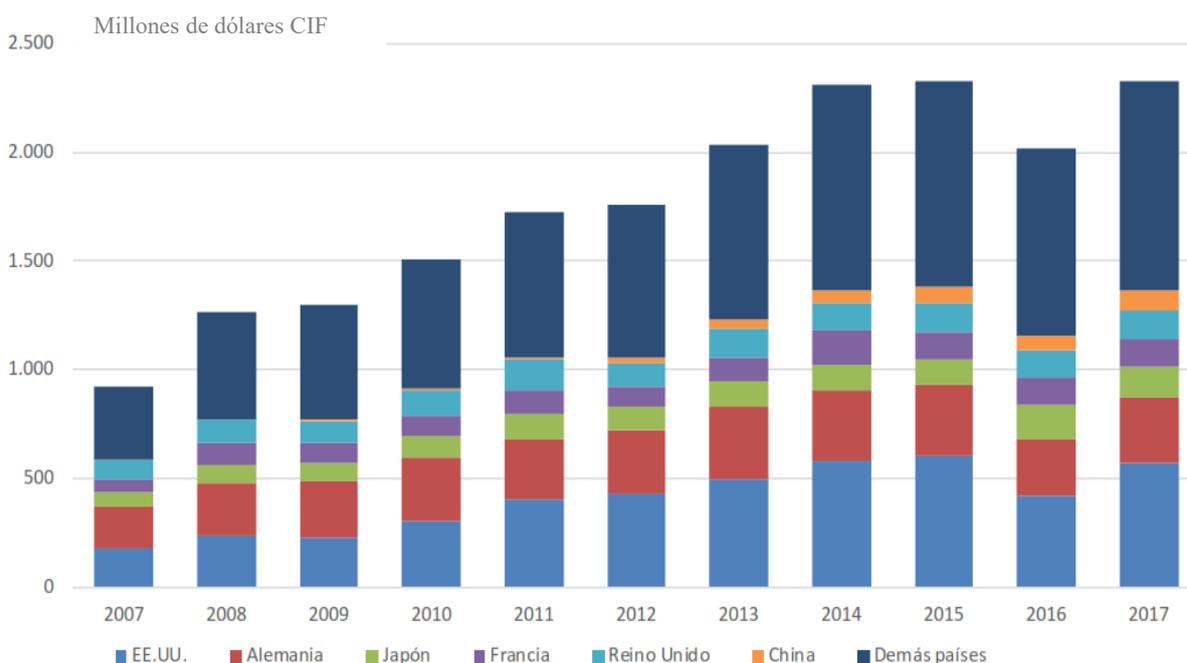


Fuente: Trademap (<https://www.trademap.org>). FOB: “Free on Board”, o “libre a bordo”.

Argentina tuvo un crecimiento que representó el 7,7 % (183 millones de dólares) de la producción mundial y de la misma forma Brasil un 4 %, seguidos por Uruguay y Chile. Otros países como Alemania y Ucrania ganan importante posición como productores en los últimos años (MGAP 2018).

Las importaciones de miel tuvieron un alza del 15 %, donde el primer importador fue Estados Unidos, en los últimos años adquirió alrededor del 27 % de la miel comercializada (Sanchez et al., 2018). En segundo lugar Alemania con 301 millones de dólares CIF (12,9 %), seguido por Japón 143 millones; Francia 131 millones; Reino Unido y China con 130 y 91 millones respectivamente (Barrera 2018), de acuerdo a lo reflejado en la Figura 6.

Figura 6. Evolución del valor de las importaciones mundiales de miel por países (millones de dólares CIF).



Fuente: Trademap (<https://www.trademap.org>). CIF: Cost Insurance and Freight”, o “costo, seguro y flete”

Los precios de exportación a nivel mundial tuvieron un promedio de 3,39 dólares por kg en el 2017. Sin embargo, la miel de china fue solo 2,09 dólares/kg. Por otra parte, la miel de países como Nueva Zelanda tiene valores superiores de exportación 27,82 dólares por kg con una alta diferenciación por su producto (Barrera 2018).

- **Escenario actual de la apicultura en Ecuador**

En la zona centro del Ecuador más del 46,3 % de los apicultores son campesinos que hacen de la apicultura una actividad secundaria, donde participan pequeños y medianos productores con menos de 50 colmenas (Masaquiza et al., 2017). La mayor parte de la apicultura presenta un reto ante una explotación tradicional de miel, polen y colmenas; limitándose a expandir su explotación a partir de productos como la jalea, propóleos, apitoxina y servicios de polinización. La dependencia de la floración para su alimentación convierte a las abejas, así como los demás polinizadores, en animales muy sensibles al cambio del paisaje (Grassi y Gonçalves 2009).

Está establecido que, en los últimos años, la apicultura nacional adquirió mayor realce por la iniciativa del Ministerio de Agricultura y Ganadería, que reactivó el Programa Apícola (PRONAPIS) para fomentar la expansión de la producción artesanal

doméstica. Sin embargo, con estos esfuerzos la actividad conlleva problemáticas como incipiente manejo de registros de producción, bajos ingresos económicos y altos gastos, producción empírica, etc.

Según AGROCALIDAD (2016) en el año 2014 a nivel nacional fueron catastradas 902 explotaciones apícolas, con un total de 12188 colmenas, en donde el 46 % estuvieron distribuidas en colmenas de dos pisos, 27 % en colmenas de un piso, 14 % en colmenas de tres pisos, 8 de núcleos, 3 % de babeis núcleos y el 2 % de otros tipo de colmenas así como se observa en la Tabla 3.

Tabla 3. Explotaciones apícolas catastradas a nivel nacional en el año 2014.

Provincia	Total explotaciones		Total de apiarios							
	Total apiarios	Total colmenas	Menos de 10		11 a 50		51 a 150		Más de 151	
			# Apiarios	Total colmenas	# apiarios	Total colmenas	# apiarios	Total colmenas	# apiarios	Total colmenas
Azuay	57	494	42	267	15	227	0	0	0	0
Bolívar	25	119	22	64	3	55	0	0	0	0
Cañar	38	115	36	79	2	36	0	0	0	0
Carchi	40	974	19	96	18	382	2	126	1	370
Chimborazo	55	267	50	136	5	131	1	83	0	0
Cotopaxi	21	224	16	71	4	70	0	0	0	0
El Oro	18	220	10	34	8	186	0	0	0	0
Esmeraldas	6	87	5	23	0	0	1	64	0	0
Guayas	13	957	3	18	4	136	3	202	3	601
Imbabura	74	1025	46	290	25	494	3	241	0	0
Loja	183	2146	146	423	31	668	2	170	4	885
Los Ríos	23	449	16	75	6	174	0	0	1	200
Manabí	124	1418	96	341	24	513	3	260	1	304
Morona Santiago	5	141	3	16	1	25	1	100	0	0
Napo	7	18	7	18	0	0	0	0	0	0
Orellana	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0
Pastaza	14	74	11	25	3	49	0	0	0	0
Pichincha	108	2778	56	236	45	967	3	250	4	1325

Santa Elena	24	184	19	101	5	83	0	0	0	0
Sucumbios	5	16	5	16	0	0	0	0	0	0
Tsáchilas	10	86	7	33	3	53	0	0	0	0
Tungurahua	19	180	14	81	5	99	0	0	0	0
Zamora Chinchipe	31	214	24	111	7	103	0	0	0	0
Total Nacional	902	12188	655	2556	214	4451	19	1496	14	3685

Fuente: Agrocalidad 2016

De la misma manera el MAGAP (2017) informa que la producción promedio de miel en Ecuador en el 2014 fue de 10,2 kg por colmena en el año; así mismo para el 2017 esta actividad benefició a 1760 apicultores y la mayoría de productores y colmenas se concentraron en el norte del país (Tabla 4).

Tabla 4. Número de apicultores y colmenas registradas en diferentes provincias del Ecuador.

Provincia	Apicultores	Colmenas
Loja	325	2429
Manabí	146	1820
Santa Elena	144	828
Azuay	118	854
Chimborazo	114	1190

Fuente: MAG (2018)

Hay que tener en cuenta que los efectos de la pérdida y fragmentación de *hábitats* sobre las abejas está altamente condicionado por impactos locales y presenta una gran heterogeneidad espacial (Torné-Noguera et al., 2014). La pérdida y fragmentación de *hábitats* es la amenaza más importante a la que se enfrentan en la actualidad tanto los polinizadores silvestres como los domésticos.

Es así que, en los últimos años, el país presenta procesos de deforestación de las principales especies melíferas en particular del Eucalipto (*Eucaliptus sp.*) especie más

utilizada por los apicultores para la producción de miel en la región de la Sierra ecuatoriana (Masaquiza et al., 2017).

Además, en el territorio ecuatoriano la varroa es considerada el parásito más dañino para las abejas y podría acabar con la apicultura de no ser combatida con eficiencia (García 2007). En el año 2015 se desarrolló el primer estudio de vigilancia epidemiológica en todo el territorio nacional y se determinó que la Varroasis está presente en todo el país, con una prevalencia nacional del 20 % de las colmenas (AGROCALIDAD 2016).

CAPÍTULO 2

Africanización de la abeja melífera y técnicas para la
identificación de las subespecies (morfometría y análisis
moleculares)

CAPÍTULO 2.

AFRICANIZACIÓN DE LA ABEJA MELÍFERA Y TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS SUBESPECIES (MORFOMETRÍA Y ANÁLISIS MOLECULARES)

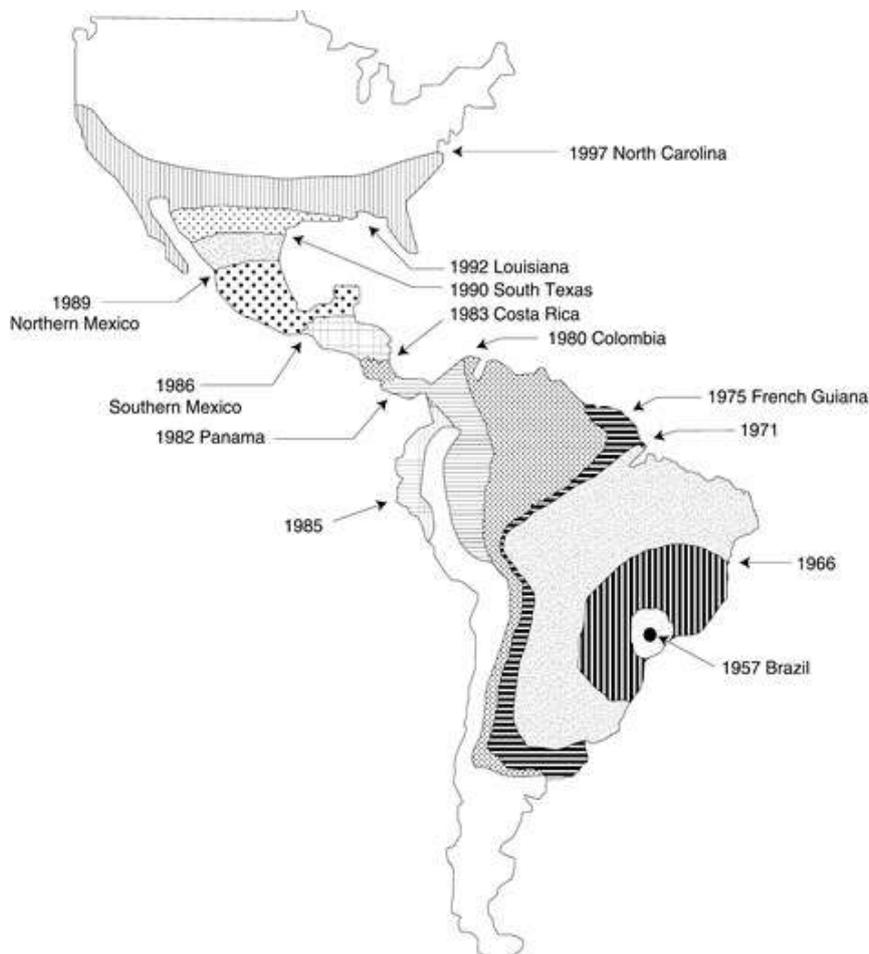
2.1 Africanización de la abeja melífera

La introducción de *A. m. scutellata* en América del Sur comenzó como un proyecto de cría para aumentar la producción de miel de abejas europeas en el clima tropical de la cuenca amazónica. La idea era crear una “súper abeja”, un híbrido entre subespecies europeas y africanas con buen temperamento y hábitos de búsqueda (Wallberg et al., 2014; Whitfield et al., 2006). *A. m. scutellata*, es endémica de África Oriental y Sudáfrica, desde bosques de grandes altitudes hasta regiones tropicales (Darger 2013). El proceso de africanización comenzó en 1956, una subespecie africana (*Apis mellifera scutellata*) comenzó a extenderse en el continente americano desde el sur de Brasil, en un esfuerzo por establecer poblaciones de abejas melíferas mejor adaptadas a las condiciones tropicales (Scott Schneider et al., 2004).

Después de la huida accidental de 26 reinas africanas y zánganos del programa de mejoramiento (Kerr 1967), los cuales se cruzaron con la población existente (Winston 1992) y debido a factores como la plasticidad genética y adaptabilidad de la abeja (Sousa et al., 2016), también la amplia distribución geográfica y variabilidad medioambiental en el continente americano, permiten procesos de micro-evolución de híbridos (Nunes et al., 2012).

Actualmente, las abejas africanizadas están presentes desde el norte de Argentina hasta el sur y centro de los Estados Unidos (Szalanski y Tripodi 2015) y ocupan un rango aproximado de 20 millones de km² (Figura 7). Su alta capacidad colonizadora constituye una de las invasiones biológicas más rápidas y de las que se tenga conocimiento (Branchiccela et al., 2014; Medina-Flores et al., 2015).

Figura 7 . Dispersión de la abeja africanizada en las Américas.



Fuente: Winston (1992)

Estas abejas híbridas africanizadas se extendieron y continúan expandiéndose (Jarnevich et al., 2014). Es así que la africanización avanzó a México en 1985; Texas en 1990 y California en 1994 (Lazaneo 2002). Los primeros enjambres de abejas africanas arribaron a Ecuador en la década de los 70 (Graciano 2018).

Este acontecimiento tuvo gran impacto sobre los ecosistemas naturales y la actividad apícola en el continente debido al marcado comportamiento defensivo de los híbridos africanizados (Tibatá et al., 2017). El proceso de africanización involucra tanto el flujo genético materno como paterno entre las abejas europeas y africanas y se considera una de las invasiones biológicas más espectaculares del último siglo (Pinto et al., 2004).

Las abejas africanizadas se caracterizan por su elevado CD y migratorio (Medina-Flores et al., 2015). Durante las floraciones con alto flujo de néctar, las colonias frecuentemente enjambran debido al espacio restringido de sus cavidades, o si hay un suministro de néctar bajo, migran a regiones con mejores recursos (Rinderer et al., 1987).

Contrariamente a cómo se manejan otras ganaderías, la especie apícola presenta particularidades biológicas (Granadillo 2009), que no permiten un control estricto de las colonias involucradas en el proceso reproductivo, porque la fecundación de la reina es libre y esta puede acoplarse con más de 10 machos (zánganos) provenientes de diversas colonias manejadas y silvestres, en un radio superior a cinco kilómetros (Pérez Hernández 2014).

Por otra parte, el proceso de enjambrazón natural provoca un sistemático e incontrolable desplazamiento de colonias hacia y desde cualquier rumbo (Villa 2004). A pesar de que morfológicamente las abejas de origen europeo y las africanizadas son muy parecidas, su comportamiento es bastante diferente.

Dentro de las características se encuentran el pecoreo, comportamiento defensivo, producción de zánganos y proceso reproductivo, reemplazo de reinas europeas por reinas africanizadas, enjambrazón y abandono de colmena (Porrini 2016).

Se sabe que las variaciones ambientales como temperatura y precipitaciones influyen en el grado de africanización de las poblaciones de abejas, siendo las condiciones tropicales las más favorables para la introgresión de genes africanos (Medina-Flores et al., 2014), hasta hace algunos años se creía que las temperaturas frías limitan su progreso en los climas templados, con un tamaño de abejas más pequeñas que las europeas, no obstante se ha reportado la presencia de morfotipos africanizados en alturas superiores a 3274 m.s.n.m. (Masaquiza et al., 2019).

Sin embargo, no todo lo referente a estos ecotipos de abejas es malo, pues las abejas reinas son prolíferas, presentan alta resistencia al ataque de enfermedades, son más higiénicas y mayor productivas (Contreras et al., 2016).

2.2 Identificación de las subespecies de *Apis mellifera*

Desde la antigüedad varios métodos se emplean para la identificación y clasificación de *A. mellifera* (Alpatov 1929; Ruttner 1988b). La necesidad de identificar los híbridos de *A. mellifera*, producto de los entrecruzamientos entre las distintas

subespecies continúa perfeccionándose con métodos específicos como el Sistema Rápido de Identificación de Abejas Africanizadas (FABIS), para la identificación preliminar de las presuntas abejas africanizadas (Sylvester y Rinderer 1987).

Ruttner (1988a) puntualiza que las técnicas utilizadas en los estudios sobre *Apis mellifera* se pueden dividir en morfométricas y moleculares. Inicialmente el único método para describir la diversidad de las abejas fue la morfometría tradicional (MT) denominada morfometría clásica.

Las técnicas morfométricas fueron muy utilizadas para casos oficiales donde es necesario declarar la africanización de las abejas se utiliza el Sistema Universal para Detectar la Identificación de Africanización (USDA-ID) (Sanford 2006), sin embargo estas técnicas necesitan una alta cantidad de partes montadas de cada espécimen.

De la misma manera el Sistema Automático de Identificación de Abejas (ABIS) realiza un análisis que compara las gráficas de ala-vena con una imagen digital de la parte anterior de la muestra, tiene una confiabilidad del 98.05 % entre especies y del 94 % entre las subespecies de abejas melíferas (Francoy et al., 2008).

Métodos más precisos apoyan las clasificaciones, entre estos tenemos los bioquímicos: isoenzimas y aloenzimas (Ivanova et al., 2012; Nunamaker y Wilson 1982); marcadores moleculares de ADN nuclear (Charistos et al., 2014); ADN mitocondrial (De la Rúa et al., 1999; Pinto et al., 2013; Szalanski y Tripodi 2015); microsatélites (Cánovas et al., 2011; Garnery et al., 1998; Rangel et al., 2016), hidrocarburos cuticulares (Oyerinde et al., 2017), en los últimos años, el uso de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) también surge como una herramienta (Chávez-Galarza et al., 2015)

La morfometría geométrica es un enfoque relativamente reciente, en los últimos años tiene gran realce debido a su precisión de análisis (Kandemir et al., 2011) para la discriminación entre especies, subespecies e híbridos.

2.3 Técnicas morfométricas

El concepto de taxonomía apícola lo introdujo DuPraw (1965) y fue elaborado por Ruttner et al., (1978). Las primeras clasificaciones sub específicas se basaron en atributos geográficos y conductuales según su distribución (Ruttner 1988b; Ruttner et al., 1978). Con la aparición de la morfometría, los métodos de diagnóstico se emplean en múltiples

mediciones de muchos individuos; en variaciones físicas y estructurales, los que son distintivos universales para una población, género, especie o subespecie (Darger 2013).

En la actualidad la diferenciación de subespecies se sustenta en características morfométricas (Kandemir et al., 2011; Kono y Kohn 2015; Sousa et al., 2016), las cuales muestran cambios graduales entre rangos, principalmente entre subespecies que a menudo solo difieren ligeramente en los valores medios (Abizanda 2018; Francoy et al., 2008; Francoy et al., 2011; Francoy et al., 2006; Koka y Kandemir 2013; Yániz et al., 2016). Los métodos morfométricos de diagnóstico se basan en variaciones físicas y estructurales que son universalmente distintivas para una población, género, especie o subespecie (Darger 2013).

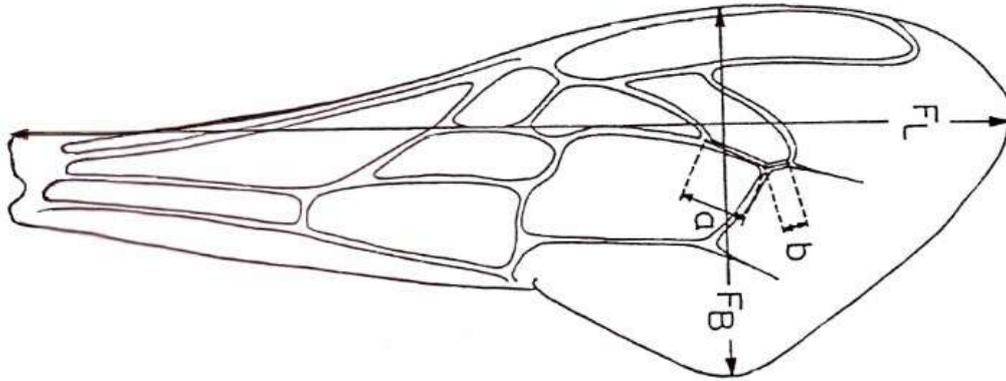
El análisis de las formas de los organismos y las estructuras biológicas han sido de interés científico durante siglos. Esto es comprensible puesto que la forma es uno de los aspectos más visibles del fenotipo de un organismo y proporciona un vínculo directo entre genotipo y ambiente (Klingenberg 2010). En el área de la biología el estudio de la variación morfológica se basó, fundamentalmente, en el empleo de métodos cuantitativos que pretenden caracterizar el tamaño y la forma de los organismos: las llamadas técnicas morfométricas (Torcida y Perez 2012).

En los últimos años la diferenciación de subespecies se basan en características morfométricas (Kandemir et al., 2011; Kono y Kohn 2015; Sousa et al., 2016), estas muestran cambios graduales entre rangos, principalmente entre subespecies que a menudo solo difieren ligeramente en los valores medios (Abizanda 2018; Francoy et al., 2008; Francoy et al., 2011; Francoy et al., 2006; Koka y Kandemir 2013; Yániz et al., 2016).

- ***Morfometría tradicional***

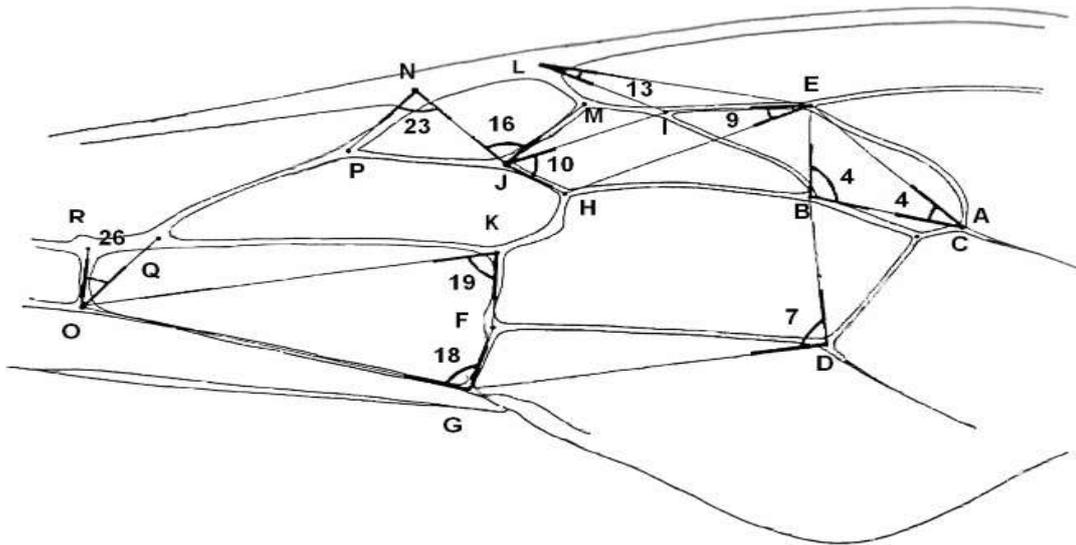
La morfometría clásica o tradicional alcanzó gran desarrollo en la segunda mitad del siglo XX por la creciente disponibilidad de computadoras y programas para análisis estadísticos multivariados. La morfometría tradicional fue utilizada para identificar y clasificar *A. mellifera* (Daly et al., 1982; Ruttner 1988b). Rohlf y Marcus (1993) señalan que se empleó el estudio de la varianza y covarianza de medidas de distancia, entre pares de puntos (Figura 8), generalmente longitud y anchura de estructuras, además de proporciones y ángulos (Figura 9).

Figura 8. Ilustración de las medidas utilizadas en el análisis del ala mediante la técnica de morfometría tradicional, donde a y b representan las distancias desde la vena cubital, FL representa la longitud del ala y FB es la anchura.



Fuente: Ruttner (1988)

Figura 9. Ilustración de los 11 ángulos utilizados en el análisis del ala mediante la técnica tradicional de morfometría.



Fuente: Ruttner (1988)

Las características morfométricas de las abejas se emplean, por otra parte, para la identificación de razas o subespecies geográficas; entre las primeras técnicas de clasificación morfométrica se encuentran las de Cochlov en 1916 citado por Ruttner

(1988b), quien comparó la longitud de la probóscide entre seis razas geográficas diferentes de *A. mellifera*.

En el campo de la apicultura la morfometría se desarrolló tras la introducción del concepto de taxonomía numérica de la abeja melífera por DuPraw en los años 1964 y 1965 (Meixner et al., 2013), que fue el primero en utilizar un conjunto de características cuantitativas para la venación de alas (Charistos et al., 2014). La morfometría clásica incluía caracteres alares como del cuerpo que proporcionaron una comprensión sustancial y buena discriminación entre las subespecies y poblaciones de abejas (Diniz et al., 2000; Kandemir et al., 2000).

Los datos obtenidos en estudios de morfometría clásica son de excelente calidad y se emplean para la identificación de abejas africanizadas (híbridos entre la subespecie africana *Apis mellifera scutellata* con otras de *Apis mellifera*); sin embargo, estos datos no son adecuados para inferir relaciones filogenéticas entre subespecies (Miguel et al., 2011) y aunque es eficiente, la clasificación con tales características es muy lenta (Silva 2015).

En 1978, Daly y Balling aplicaron con éxito un método para diferenciar las abejas africanizadas y europeas en América del Sur (Charistos et al., 2014). Daly et al., (1982) comenzaron a utilizar mediciones digitales para investigar la morfometría de *Apis mellifera* y reducir significativamente el tiempo necesario para medir, almacenar y analizar los datos.

El inicio de las mediciones digitales surgió como un método mejorado del anterior, el cual llevó al desarrollo del software Fast Africanized Bee Identification System (FABIS) o Sistema de Rápida Identificación de Abejas Africanizadas, para la identificación preliminar en el campo; este método utiliza 25 medidas morfométricas de cinco partes de cada abeja montadas en bálsamo e introducidas manualmente en un programa informático. Aunque tiene una buena precisión, requiere personal especializado, varias horas de preparación y análisis por cada muestra (Sylvester y Rinderer 1987).

En la búsqueda de optimizar el método se emplearon 10 caracteres de los descritos por Ruttner en 1988 (Meixner et al., 2013). Sin embargo la eficiencia de esta clasificación es basada en caracteres relevantes que eviten información errónea (Silva et al., 2015). Los métodos morfométricos clásicos fueron empleados para caracterizar subespecies en Cuba

(Pérez 2014); Fontanillas et al., (2007) evaluaron 26 medidas morfológicas en *Apis mellifera iberica* y *primorsky*, correspondientes a la longitud y anchura de las alas anteriores y posteriores; longitud y anchura de las coxas de los tres pares de patas; longitud de trocánter, fémur, tibia y tarso de los tres pares de patas y anchura de la cabeza y longitud de las antenas.

Estas limitaciones y la continua reducción de los costos de la tecnología de biología molecular, convirtieron a los sistemas de reconocimiento de ADN en una alternativa más atractiva que la morfometría (Francoy et al., 2008). A pesar de esto, los métodos morfométricos se siguieron desarrollando y avanzando (Ángel-Beamonte et al., 2018).

- ***Morfometría geométrica***

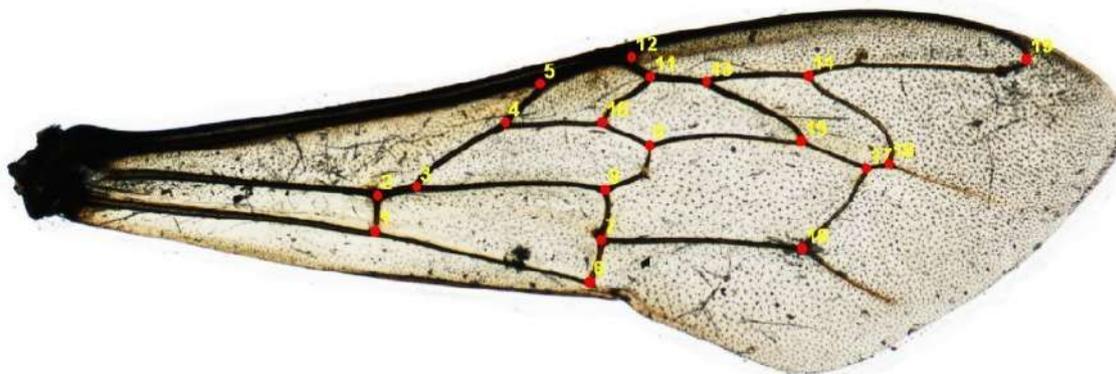
A finales del siglo XX se afianzó el enfoque cuantitativo que hoy denominamos morfometría geométrica o síntesis morfométrica (Muli et al., 2014) que ha sido descrita como la fusión empírica de la geometría con la biología (Bookstein 1982) debido a que analiza la forma de los organismos o de alguna de sus estructuras, considera el espacio geométrico y emplea métodos estadísticos multivariados. La identificación morfológica es más precisa y reproducible, al aprovechar la nueva técnica computacional (Adams et al., 2004).

Este método se basa en las coordenadas cartesianas de puntos anatómicos de referencia (PAR) ubicados en las intersecciones de las venas del ala, también denominados hitos, puntos homólogos o *landmarks* (Figura 10), los cuales son específicos y se localizan de acuerdo con algún criterio (homología, cobertura de la forma y coplanaridad) sobre una estructura biológica o una imagen de ella y cuyo propósito es extraer información de la geometría de una forma biológica para propósitos comparativos particulares (Torcida y Perez 2012).

Los avances fundamentales de la morfometría geométrica sobre los enfoques tradicionales incluyen: la forma en que la diferencia entre las formas puede ser medida (empleando la distancia de Procrustes); la explicación de las propiedades del espacio de forma multidimensional, definido por este coeficiente de distancia; el desarrollo de métodos estadísticos especializados para el estudio de la forma y el desarrollo de nuevas

técnicas para la producción y representación de los resultados (Bookstein 1991; Meixner et al., 2013; Mendes et al., 2007; Rohlf y Corti 2000).

Figura 10. Localización de puntos de referencia ubicados en las intersecciones venales del ala delantera izquierda.



La morfometría geométrica provee un conjunto de técnicas analíticas muy poderosas para cuantificar la variación morfológica, a partir de un conjunto de mediciones los análisis permiten obtener nuevas variables que describen la conformación de una estructura biológica, la cual es libre de la variación no biológica (relacionada con la escala, la posición y la orientación de la estructura morfológica en el espacio) y resulta de la historia evolutiva particular del conjunto de organismos que la comparten (Jaramillo 2011)

Este mismo autor estima que el análisis cuantitativo de la variación fenotípica y sus relaciones con la variación genética y ambiental, ayuda a entender su naturaleza y la acción de los factores (genéticos y ambientales) que alteran su distribución. Los factores biológicos son el producto de procesos micro y macro-evolutivos que interactúan con el ambiente.

El tamaño y la conformación morfológica resultan de la interacción entre los efectos maternos y la calidad de vida durante el desarrollo, con las combinaciones genotípicas heredadas en un marco genético dado por la historia evolutiva (Porrini 2016). Toro Ibacache et al., (2010) indican que el análisis morfométrico geométrico consta de tres etapas fundamentales: obtención de los datos primarios, las variables de la forma y el análisis estadístico y las partes del cuerpo más utilizadas se pueden dividir en cuatro

categorías principales: caracteres de tamaño corporal, patrones de coloración, características de venación de ala (ángulos y distancias definidas por los puntos de intersección de las venas) y particularidades de pilosidad.

Las alas son consideradas como la parte morfológica más confiable para la identificación de insectos, y en consecuencia la evaluación de su estructura ha sido recomendada para la identificación de subespecies de abejas melíferas (Buescu et al., 2018; Ferreira 2017; Santoso et al., 2018). Actualmente se sabe que las venaciones de las alas de las abejas melíferas desempeñan una función crucial durante el vuelo, especialmente las venas de los bordes, ya que contribuyen a la estabilidad del ala (Combes y Daniel 2003). Existen varios factores que pueden afectar el desarrollo normal del patrón de venación alar, y por consiguiente, la estructura del ala de la abeja mellífera (Abou-Shaara 2013).

Los factores ambientales, como las condiciones climáticas, principalmente la temperatura y la humedad, pueden potencialmente dar forma a los patrones de constitución del ala (Bonatti et al., 2014; Debat et al., 2003; Liu et al., 2016; Perrard et al., 2014; Pitchers et al., 2013). En ese sentido Zhu et al., (2018) argumentan que la exposición a bajas temperaturas durante la etapa de desarrollo larval puede conducir a una venación incompleta del ala o a la aparición de venas supernumerarias.

Por su parte, Mattu y Verma (1984) y Moretti et al., (2018) exponen que las diferentes épocas del año afectan la estructura de los individuos. Asimismo Orjuela Parrado (2018) expresa que existe una relación clinal positiva entre la altitud y las estructuras relacionadas con el vuelo de la abeja, a mayor altitud mayor tamaño del ala. Alfalah et al., (2012) informan que la edad y la calidad de los panales impactan directamente la composición del ala de abejas obreras, debido a la reducción del diámetro de la celda.

- ***Justificación del empleo del método de morfometría geométrica***

Desde su desarrollo ha mostrado tener mejores poderes descriptivo y estadístico que la morfometría tradicional (Abou-Shaara 2013; Francoy et al., 2008; Kandemir et al., 2011; Koka y Kandemir 2013; Rafie 2014; Tofilski 2008) además de un enfoque que relativamente proporciona una descripción de la forma mediante el uso de puntos de referencias (Santana et al., 2014). Este método ha demostrado su utilidad en la

caracterización e identificación de subespecies y linajes (Abizanda 2018; Francoy et al., 2008; Francoy et al., 2011; Francoy et al., 2006; Koka y Kandemir 2013; Yániz et al., 2016); en el estudio del proceso de africanización de las poblaciones americanas (Francoy et al., 2009; Moretti et al., 2018; Souza et al., 2016) o incluso, en análisis más exigentes de heredabilidad y asimetría de ala individual (Miguel et al., 2011) así como en determinar diferencias morfológicas a nivel de líneas de cría de abejas seleccionadas (Rašić et al., 2015) y la identificación de nuevas especies de abejas utilizando las venas alares de registros fósiles (De Meulemeester et al., 2012; Wappler et al., 2012).

También se aplicó al evaluar la biodiversidad y taxonomía de las diferentes subespecies (Barour y Baylac 2016; Francoy et al., 2011; Kandemir et al., 2011) y para determinar las relaciones existentes entre las causas y consecuencias de la variación en la adaptabilidad de los individuos a su hábitat natural (Lawing y Polly 2010).

Oleksa y Tofilski (2015) aseguran que en la actualidad la morfometría geométrica es la herramienta más utilizada para la identificación de subespecies y demostró ser, incluso más efectiva, en la identificación que los marcadores moleculares RAPDs. Los datos de estudios de morfometría geométrica han sido comparados con los resultados moleculares y han aportado información similar (Ferreira 2017; Miguel et al., 2011; Oleksa y Tofilski 2015).

Los altos rangos de clasificación obtenidos con morfometría geométrica (Barour et al., 2011; Barour y Baylac 2016; Kandemir et al., 2011; Kekeçoğlu 2018; Koka y Kandemir 2013; Moretti et al., 2018) indican que el análisis del patrón de venación alar aporta suficiente información y puede ser utilizado para distinguir entre distintos grupos de abejas (Buescu et al., 2018; Meixner et al., 2013; Santoso et al., 2018). Además, se considera un método eficiente, rápido, confiable y se necesitan bajos costos para su ejecución (Abizanda 2018; Buescu et al., 2018; Francoy et al., 2008; Meixner et al., 2013; Santoso et al., 2018).

La morfometría geométrica fue un método altamente efectivo para discriminar en Europa 24 subespecies conocidas (Kandemir et al., 2011); de la misma manera se indicó que la MG proporciona similar discriminación que los microsatélites (Oleksa y Tofilski 2015).

La morfometría geométrica sobre los enfoques tradicionales tiene beneficios entre los que se puede indicar: la forma en que se puede medir la diferencia entre las formas

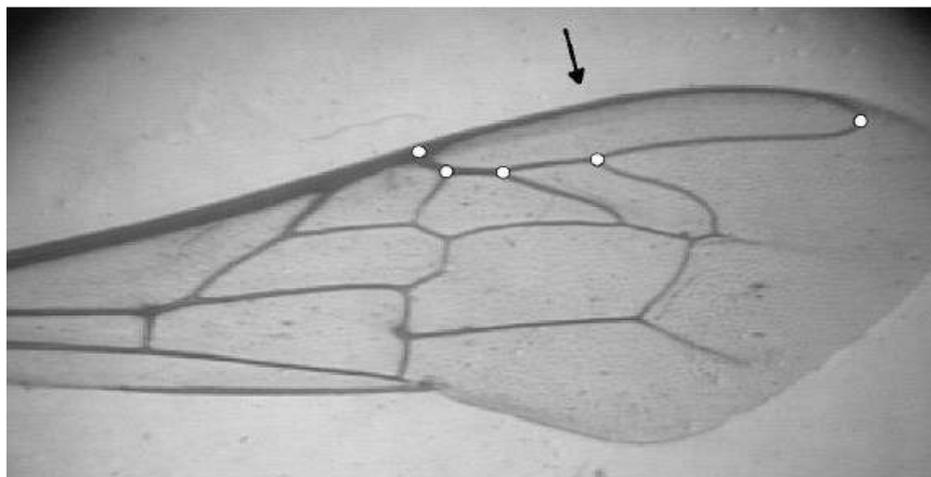
(Rohlf 2000); la elucidación de las propiedades del espacio de forma multidimensional definido por este coeficiente de distancia, el desarrollo de métodos estadísticos especializados para estudiar la forma y el desarrollo de nuevas técnicas para la representación gráfica de los resultados (Mendes et al., 2007). Por su parte Charistos et al., (2014) señala que, uno de los principales beneficios es la alta precisión en la clasificación ya que las alas anteriores llevan suficiente información para distinguir los grupos de abejas que se examinan.

Estos análisis permiten optimización en el tiempo debido a la reducción del número de individuos en comparación con otras técnicas, es así que es recomendable 15 individuos y con un mínimo de 10 (Kandemir et al., 2011; Meixner et al., 2013; Sousa et al., 2016); sin embargo Francoy et al., (2006) y (Francoy et al., 2008) mencionan que se puede reducir a cinco individuos para rasgos más estables como la venación de las alas y con alta consistencia entre el ala y la información molecular.

- ***Procesamiento y análisis estadístico***

Se realizaron varios intentos para simplificar la determinación morfológica, como es el caso de Francoy et al., (2006) quienes redujeron el número de caracteres y la utilización de la célula radial de ala (Figura 11), o emplear un programa informático automatizado diseñado específicamente para las mediciones morfométricas (Ángel-Beamonte et al., 2018; Baylac et al., 2008; Nawrocka et al., 2018; Tofilski 2004, 2008).

Figura 11. Puntos ubicados en la célula radial del ala para procesos de identificación, en abejas melíferas.



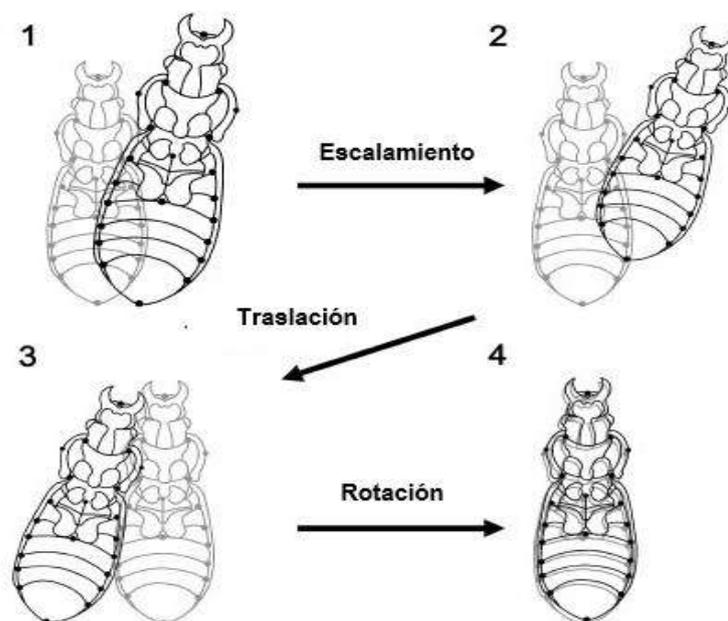
Para el análisis estadístico, los paquetes de software más utilizados han sido tpsDig (Rohlf y Bookstein 2003), DrawWing (Tofilski 2004), ApiClass (Baylac et al., 2008), Morpheus (Slice 2002), NTSYS (Rohlf 1990), MORPHOJ (Klingenberg 2011), el WingMarks (Ángel-Beamonte et al., 2018) y el Identifly (Nawrocka et al., 2018).

La información que describe la forma en estudio puede ser analizada de diversas maneras: análisis exploratorios, de componentes principales (CP), de variables canónicas (AVC), de deformación relativa, análisis multivariado de varianza (MANOVA), regresiones multivariadas y pruebas no paramétricas (Slice 2007; Zelditch 2004), para el caso de *Apis mellifera*, mediante un análisis de variables canónicas se pueden agrupar individuos de cada una de las subespecies, para luego analizar y clasificar muestras desconocidas en base a los patrones de variación de las alas (Porrini 2016).

Para obtener información que describe las formas en estudio, se realizan una serie de procedimientos geométricos y estadísticos basados en la definición misma de la forma (Bookstein 1996; Kendall y Stuart 1977). Buscando minimizar las diferencias referentes a tamaño, posición y rotación, la manera más común entre especímenes corresponde al método Generalizado de Mínimos Cuadrados, *General Least Squares* (GLS) o Análisis Generalizado de Procrustes (AGP), donde se utilizan las coordenadas cartesianas de los PAR para obtener variables de tamaño y formas, y posteriormente, analizarlas mediante el empleo de técnicas estadísticas multivariadas (Torcida y Perez 2012).

El objetivo es determinar si representaciones alternativas de los mismos “n” puntos, exhiben diferentes relaciones internas entre ellos; en primer lugar las muestras se centran, normalizan a unidades de tamaño centrado y rotan interactivamente para minimizar la suma de distancias al cuadrado entre cada ubicación y su promedio de muestra (Meixner et al., 2013) tal como se aprecia en la Figura 12 y eliminar la variación en tamaño, posición y orientación de los datos sobre las coordenadas del punto de referencia (Klingenberg 2011).

Figura 12. Pasos que incluye la superposición de Procrustes.



(1) digitalización de los puntos anatómicos de referencia (2) escalamiento a un mismo tamaño de centroide, (3) traslación a un centroide común, y (4) rotación para minimizar la suma de distancias cuadradas entre los PAR correspondientes.

Fuente: (Klingenberg 2011)

- ***Programas informáticos empleados***

En el análisis morfométrico geométrico de la venación de las alas, un programa de uso frecuente es tpsDig (Rohlf y Bookstein 2003), que requiere el trazado manual de todas las intersecciones de las venas. La principal ventaja de este software es su flexibilidad (Ángel-Beamonte et al., 2018).

El software MorphoJ combina la superposición de Procrustes con una amplia gama de métodos para el análisis de formas en diferentes contextos biológicos, ofrece un entorno integrado y fácil de utilizar para análisis multivariados estándares, como componentes principales, análisis discriminante y regresión multivariada, así como aplicaciones especializadas que incluyen filogenia, genética cuantitativa y análisis de modularidad en datos de formas (Klingenberg 2011). Este programa es el normalmente utilizado tras obtener las coordenadas de las uniones venosas (Charistos et al., 2014; Francis et al., 2014; Kekeçoğlu 2018; Moretti et al., 2018; Rašić et al., 2015; Yániz et al., 2016).

2.4 Técnicas moleculares

Los análisis moleculares son herramientas precisas para el estudio de la diversidad genética en comparación con las técnicas morfométricas. Es así que existen híbridos que son fenotípicamente similares y presentan dificultad para identificarlos (Szalanski y Magnus 2010), por lo que es necesario la transición a los análisis moleculares (Achou et al., 2015). En los últimos 35 años, se informó la identificación y distribución de los distintos linajes de *A. mellifera* (Wallberg et al., 2014) sobre la base de marcadores nucleares y mitocondriales (Tabla 5).

Tabla 5. Investigaciones recientes en biología molecular usadas para identificar el origen materno de abejas melíferas.

Análisis	Genes	Subespecie	Autor
Análisis de restricción de polimorfismos	ARNtleu – COII, Cyt b, rRNA – COI, COI	<i>Apis mellifera</i>	Wu et al., (2017)
Análisis de restricción de polimorfismos y secuenciación	ARNtleu - COII	<i>Apis mellifera</i>	Branchiccela et al., (2014)
Secuenciación	ADNmt	<i>A. m. scutellata</i> <i>A. m. capensis</i>	Eimanifar, Kimball, et al., (2018)
Secuenciación	COI - COII	<i>Apis mellifera</i>	Magnus y Szalanski (2010)
Secuenciación	COI - COII; ND2	<i>A. m. unicolor</i>	Techer et al., (2017)
Análisis de restricción de polimorfismos	COI - COII	<i>Apis mellifera</i>	Kelomey et al., (2017)
Análisis de restricción de polimorfismos	COI - COII	<i>A. m. intermissa</i> <i>A. m. sahariensis</i>	Achou et al., (2015)
PCR – RFLP	Cyt b	<i>A. m. scutellata</i>	Mortensen y Ellis (2015)
Secuenciación	ARNtleu - COII	<i>Apis mellifera</i>	Szalanski y Magnus (2010)
Secuenciación	COI - COII	<i>Apis mellifera</i>	Techer et al., (2015)
Secuenciación	ARNtleu - COII	<i>A. m. iberiensis</i>	Chávez-Galarza et al., (2017)
Secuenciación	ADNmt - Cyt-b	<i>Apis mellifera</i>	Szalanski y Tripodi (2015)

El estudio del polimorfismo enzimático surgió en las décadas de los 60 y los 70, aplicándose a la caracterización de innumerables especies (Ivanova et al., 2007; Ivanova et al., 2010) con la introducción de las tecnologías del ADN se logran avances significativos, estos marcadores moleculares comienzan a desarrollarse a finales de los años 70 (hibridación ADN-ADN, análisis de restricción RFLP y empleo de ADNmt y ADN *fingerprinting*) y para los 80 se introduce la reacción en cadena de la polimerasa

(PCR) lo que impulsa al desarrollo de los marcadores moleculares (RAPDs; STR o microsatelites y AFLPs) y posteriormente otros más complejos (Kamrani et al., 2012; Shivashankar et al., 2013).

El análisis de ADN Mitocondrial, son una herramienta que se utilizaba con frecuencia para separar los linajes en las poblaciones de abejas melíferas (Rortais et al., 2011). Este es un marcador molecular que permite rastrear el origen y la estructura genética de las abejas melíferas. El ADN mitocondrial es una pequeña molécula circular con 16 000 pares de bases que es transmitido intacta por la reina a su descendencia: obreras y zánganos (Meixner et al., 2013).

Por lo que el estudio de un individuo es suficiente para conocer su origen, debido a que esta molécula circular no varía por recombinación y se trasmite sin alteración a la descendencia, salvo que haya mutaciones puntuales (De la Rúa et al., 1999). Los marcadores de ADNmt se emplean para abordar cuestiones demográficas y evolutivas en la abeja *A. mellifera* (Papachristoforou et al., 2013).

El genoma mitocondrial se caracteriza por su contenido conservado de genes, alto nivel de sustituciones de nucleótidos y por proporcionar un marcador uniparental (Péntek-Zakar et al., 2015). El cromosoma mitocondrial de *A. mellifera* (Figura 13) contiene 13 genes codificantes de proteínas, dos genes ribosomales, 22 ARN transferentes y una región rica en A + T, es conservativo en cuanto a la posición de los mismos (Crozier y Crozier 1993).

La subespecie *A. mellifera* contiene regiones con tasas evolutivas variables (Papachristoforou et al., 2013), la que puede ser usada para analizar el grado de parentesco de especies y subespecies (De la Rúa et al., 1999).

Actualmente los análisis de ADN mitocondrial de la región intergénica COI – COII son empleados para caracterizar subespecies de *A. mellifera* en todo el mundo; así tenemos en Colombia, Tibatá et al., (2018), Branchiccela et al., (2014) en Uruguay, Szalanski y Tripodi (2015) en E.U.A.; Papachristoforou et al., (2013) en Turquía; Franck et al., (2001) en África, Chapman et al., (2008) en Australia y en Taiwan, Wu et al., (2017).

Sheppard y Smith (2000) indican que con el ADNmt la identificación de abejas africanizadas es relativamente fácil, porque una sola abeja en cualquier condición puede

representar el linaje de una colonia. La región intergénica COI-COII es ampliamente utilizada como herramienta para detectar y rastrear la importación progresiva de reinas de abejas melíferas (Muñoz et al., 2014), para análisis filogeográficos en áreas nativas (De la Rúa et al., 2006) y la identificación y comprensión de áreas de contacto secundarias (Chávez-Galarza et al., 2015).

Figura 13. Esquema del ADN mitocondrial de *Apis mellifera*



Fuente: Crozier y Crozier (1993).

Las técnicas que emplean la secuenciación de ADN de nueva generación incluyen los marcadores polimórficos de un solo nucleótido (SNPs), lo que ha permitido esclarecer la historia evolutiva de los grupos, corroborar el origen de las especies, definir linajes evolutivos y subespecies, identificar hibridación entre subespecies y determinar la estructura genética de las poblaciones (Cridland et al., 2017; Wallberg et al., 2014) así como el impacto que tienen sobre ellas la políticas apícolas y el manejo humano (Meixner et al., 2013).

Esta técnica se utilizó para indicar una marcada diferenciación entre todas las ramas descritas en 1988 por Ruttner (Wallberg et al., 2014; Whitfield et al., 2006). Con

esta estrategia (Miguel et al., 2010) las poblaciones del norte de África pudieron agruparse cerca del resto de sus homólogas africanas y lejos de las europeas occidentales.

En estudios de identificación de subespecies es recomendable utilizar análisis de ADN mitocondrial para rastrear el origen materno de las colonias y la contribución genética paterna; los rasgos morfométricos son buenos indicadores de la introgresión nuclear (Kono y Kohn 2015).

Las abejas africanizadas presentan una gran variabilidad genética debido al carácter híbrido (Collet et al., 2006), también conocidas por la alta productividad (Tibatá et al., 2018) y tolerancia contra patógenos y parásitos tales como *Varroa destructor* (Pinto et al., 2012; Pinto et al., 2011). Esta variabilidad genética de las abejas africanizadas es un potencial para buscar poblaciones con comportamientos superiores. En este sentido, el nivel de africanización puede tener implicaciones en la adaptabilidad, aptitud biológica, comportamiento, polinización y producción de miel de *A. mellifera* (Hamiduzzaman et al., 2015; Mendoza et al., 2014).

CAPÍTULO 3

Varroasis, ciclo biológico, factores que influyen en las tasas de infestación, impacto ambiental y mecanismos de defensa de la abeja melífera

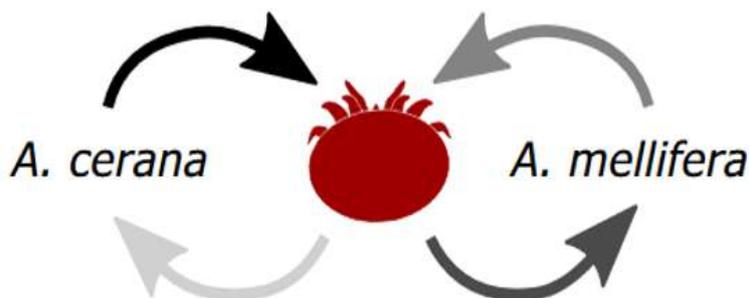
CAPÍTULO 3.

VARROASIS, CICLO BIOLÓGICO, FACTORES QUE INFLUYEN EN LAS TASAS DE INFESTACIÓN, IMPACTO AMBIENTAL Y MECANISMOS DE DEFENSA DE LA ABEJA MELÍFERA

3.1 Varroasis

Anderson y Trueman (2000) señalan que es una parasitosis causada por el ácaro *V. destructor*, el ácaro invadió las colonias de *A. mellifera* fuera de su rango de huéspedes nativos en el sudeste asiático (Figura 14), donde originalmente estaba restringido solo a su huésped natural *Apis cerana* (Nazzi y Le Conte 2016). Es considerado el agente etiológico más importante en los colmenares por el daño que causa y su amplia distribución mundial (Roberts et al., 2015), además afecta los indicadores productivos (Khongphinitbunjong et al., 2016).

Figura 14. Varroa genéticamente inestable, se hibrida y alterna entre *Apis cerana* y *Apis mellifera*.



Fuente: Traynor et al., (2020)

La importancia de las pérdidas tanto en poblaciones silvestres como manejadas (Kielmanowicz et al., 2015; Smith et al., 2014) en Europa y América del Norte por parte del acaro atrajeron la atención de muchas investigaciones (Steinhauer et al., 2018). Actualmente es considerado como uno de los factores más influyentes en el síndrome de despoblamiento de colmenas (Forfert et al., 2015; Lightbody et al., 2016; Nazzi y Le Conte 2016; Smart et al., 2016; Steinhauer et al., 2018; van Der Zee et al., 2015).

Edward Jacobson lo describió por primera vez hace más de 100 años, en *A. cerana* en Java (Indonesia) lo calificó como *Varroa jacobsoni* por Oudemans en 1904

(Dietemann et al., 2013). Calderón et al., (2014) indica que en la abeja *A. cerana*, el ácaro no causa daños graves debido a que solo se reproduce en celdas de cría de zángano, pero en *A. mellifera* lo hace tanto en celdas de zángano como de obreras. Se conoce la existencia de dos haplogrupos capaces de infectar a las abejas melíferas denominados coreano (K1) y japonés (J1), en base al lugar donde se describieron (Locke 2016b).

Mediante estudios moleculares se demostró que las abejas europeas estaban parasitadas por otra especie de ácaro distinta a la especie descrita por Oudemans en 1904 y recibió el nombre de *V. destructor* (Rodríguez 2016). En 1958 el ácaro fue detectado en Rusia y Japón, en 1960 en China y de 1967 a 1982 se encontró en Europa y norte de África. El ingreso a Sudamérica se informó en 1971 cuando Paraguay importó desde Japón abejas reinas y su corte infestadas con el parásito (Salamanca et al., 2012) a Brasil en 1972 (Padilla y Flores 2011).

Cuando el tegumento de las abejas es dañado por los ácaros se convierten en susceptibles al desarrollo de enfermedades bacterianas, fúngicas, virales (Kuster et al., 2014) entre otras, debido al desequilibrio que produce en el sistema inmunológico ya que las respuestas inmunitarias de las abejas se reducen por causa de los ácaros (Abbo et al., 2017), lo que afecta a las abejas melíferas física y fisiológicamente (Annoscia et al., 2015).

Este parásito se alimenta de la hemolinfa de las pupas en desarrollo y causa modificaciones morfofuncionales (Genersch y Aubert 2010); después que la fundadora emerge de las celdas junto con la descendencia femenina madura, continúan alimentándose de la abeja melífera adulta (Figura 15).

La varroa transmite virus a las pupas y a los adultos de las abejas melíferas (Figura 16), sin embargo existen muchas otras vías de transmisión del virus, como la transmisión sexual y vertical a través de los huevos y el esperma, o la transmisión horizontal oral y fecal a través de la alimentación, la limpieza de las celdas, el canibalismo, la transmisión por contacto entre adultos y las interacciones ecológicas con el entorno y otros insectos (Traynor et al., 2020).

De la misma manera Ramsey et al., (2019) al examinar abejas obreras en los nidos de cría de colonias diferentes, identificaron que *V. destructor* muestra una preferencia constante por la parte inferior del metasoma de las abejas hospedadoras adultas, una zona en la que predomina el tejido corporal graso justo debajo de la cutícula (Figura 17).

Figura 15. Infestación por *Varroa destructor* en cría de *Apis mellifera*.



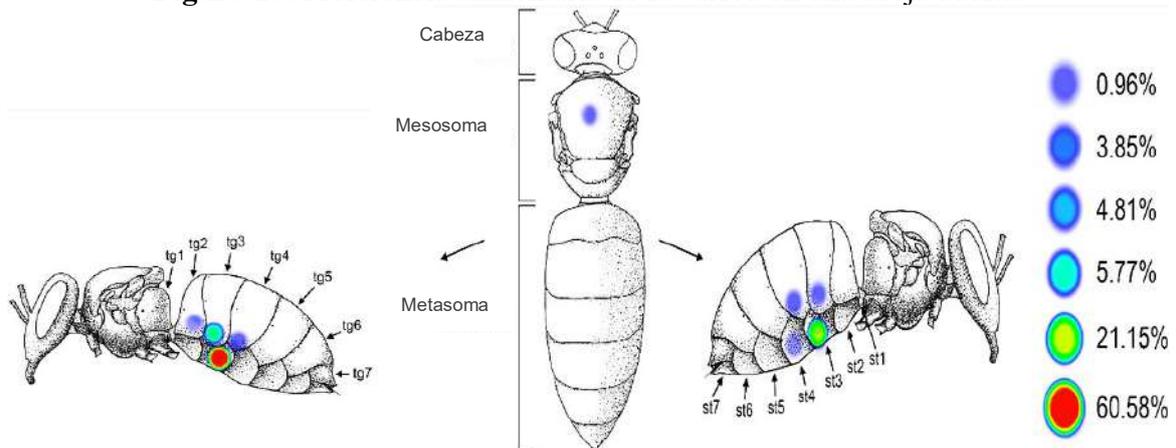
Figura 16. Dinámica del virus-vector.



La varroa es también un vector muy eficaz de los virus de las abejas melíferas que provoca modificaciones.

Fuente: Traynor et al., (2020)

Figura 17. Preferencia alimentaria de la varroa en una abeja adulta.



Vista lateral (izquierda)

Vista dorsal

Vista lateral (derecha)

Los distintos colores muestran la intensidad de preferencia.

Fuente: Ramsey et al., (2019).

De acuerdo con Froylán et al., (2011) la infestación se caracteriza por reducción en el peso de las abejas que emergen, disminución del tiempo de vida de las abejas, deformaciones de las alas, patas, tórax, abdomen y reducción del volumen de las glándulas hipofaríngeas de las abejas adultas

3.2 Ciclo Biológico de *Varroa destructor*

El ciclo de vida del ácaro está estrechamente ajustado y altamente dependiente del ciclo de vida de la abeja, presenta aspectos morfológicos que demuestran su alta adaptación al parasitismo. La forma esférica aplanada y la situación de las extremidades en la mitad anterior favorecen una mejor sujeción en el hospedero (Mondet et al., 2014).

Cepero (2016) acota que existe un marcado dimorfismo sexual (haplodiploidía) entre los ácaros, las hembras son diploides y los machos son haploides. El tamaño adulto del ácaro hembra es de 1,0 a 1,2 mm de largo y de 1,5 a 1,6 mm de ancho (Figura 18A); fácilmente visible para el ojo (cutícula esclerótica marrón rojizo), aplanado, de forma ovalada y tiene ocho patas (Rosenkranz et al., 2010).

Figura 18. Hembra vista dorsal (A) y macho vista frontal (B) adultos de *Varroa destructor*, ácaro que parasita a la abeja doméstica (*Apis mellifera*).

A

B



Fuente: San Martín (2010)

La maduración de los espermatozoides ocurre en las espermatecas del aparato reproductor femenino; los órganos sensoriales benefician algunos extractos químicos de la cutícula de las larvas y de su alimento, estimulan la ovoposición y atracción de los ácaros (Dietemann et al., 2013).

Cassian et al., (2014) informan que el tamaño adulto del ácaro varroa macho es relativamente pequeño en comparación a la hembra; 0,7 mm de largo por 0,7 mm de ancho, pálido o de color marrón claro (Figura 18B); generalmente presente solo en crías operculadas, antes de morir copulan con una hembra adulta dentro de la celda de cría.

En las colonias de insectos sociales los procesos de reconocimiento se basan en la expresión y percepción de compuestos químicos específicos, ésteres de ácidos grasos (Cappa et al., 2016) y predominantemente hidrocarburos cuticulares (HC).

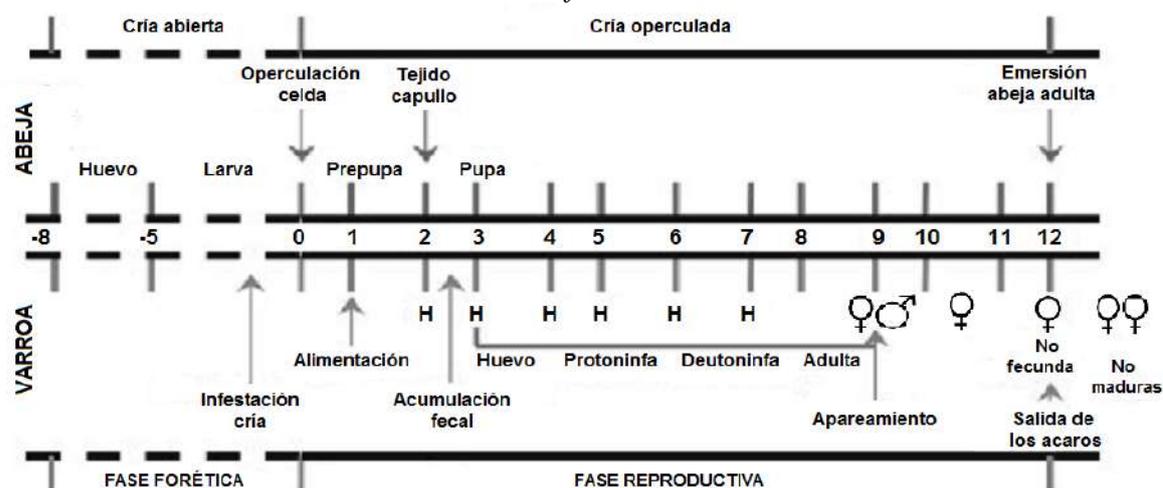
Estos últimos cubren la superficie corporal de cada individuo y sirven como señales para comunicarse entre los diferentes miembros de la colonia, por lo que, si la presencia del parásito afecta a los HC de su hospedero, los nidos sanos pueden usar dicha alteración cuticular inducida por parásitos como una señal para detectar individuos parasitados (Nazzi y Le Conte 2016). El ácaro emplea señales químicas de su hospedero para promover su reproducción dentro de una colonia y su transmisión entre colmenas, utiliza los HC del hospedero para encontrar el estadio larvario más adecuado para infestar (Pernal et al., 2005).

El sistema altamente adaptativo (Cervo et al., 2014; Knight 2014; Xie et al., 2016) es la estrategia que permite al ácaro optimizar su búsqueda para encontrar la larva más indicada, infestar y seleccionar el portador adecuado durante su fase forética. Cappa et al., (2016) comunican que el ácaro también muestra un mimetismo químico con respecto al perfil químico del hospedero con los HC del parásito, parecen ser cualitativamente similares a los de su hospedero. El ciclo biológico del ácaro se compone de dos fases: forética (externa), y reproductiva (interna) tal como se aprecia en la Figura 19 (Beaurepaire, Ellis, et al., 2019).

Nazzi y Le Conte (2016) aseguran que la etapa forética es el período de tiempo en que una hembra fecundada está sobre las abejas adultas o zánganos, con una duración de 7-8 días hasta varios meses, en dependencia, principalmente, de la presencia o ausencia de cría en los panales.

La etapa reproductiva se inicia cuando una o varias hembras fecundadas entran en la celda de obrera o zángano antes de ser operculada (Cepero 2016); se oculta en el fondo y es sumergida en el alimento larval (Pérez 2014). Los factores que provocan que varroa se instale en las celdas, se cree puedan depender de componentes químicos de naturaleza hormonal, propia de las larvas, que inciden en la penetración del ácaro al interior de la celda (Salamanca et al., 2012).

Figura 19. Sincronización del ciclo de desarrollo de *Varroa destructor* con el de *Apis mellifera*.



Entre las dos líneas al centro se indica el número de días, el día 0 corresponde a la operculación de la celda. En la parte superior se presenta el desarrollo de la abeja. En la parte inferior, el desarrollo de varroa. H = puesta de los huevos.

Fuente: Adaptado de Vandame (2001).

Esta infestación interfiere con el desarrollo de la cutícula del hospedero, lo que afecta el perfil de HC de abejas obreras emergentes que se desarrollan junto con el parásito (McDonnell et al., 2013). Además, (Cappa et al., 2016) la varroa causa alteraciones en el perfil de los HC en las abejas adultas durante su fase forética (Figura 20), tales modificaciones consisten en un incremento de componentes con ramas metiladas, las que son percibidas por abejas adultas específicas.

Una varroa fundadora puede producir un promedio de tres crías en la larva de obrera de *A. mellifera* que generalmente depende del genotipo de las abejas melíferas (Khongphinitbunjong et al., 2014). La primera ovoposición ocurre entre 60 y 70 horas después de operculada la celda; los siguientes huevos se colocan con intervalos de 30 horas entre ellos (Calderón et al., 2014). Del primer huevo emerge un macho haploide y

del resto hembras; los machos alcanzan la madurez sexual antes que las hembras y se localizan en el lugar de acumulación fecal hasta que la primera hembra llegue al estado adulto (Rosenkranz et al., 2010).

Figura 20. *Varroa destructor* en fase forética en *Apis mellifera*.



El ácaro pasará por varias fases de desarrollo: huevo, larva, pre-pupa, pupa y adulto joven; el tiempo de desarrollo es de aproximadamente 5,8 y 6,6 días para los ácaros hembras y machos respectivamente (Beaurepaire, Sann, et al., 2019). Las formas inmaduras del ácaro no pueden perforar la superficie del cuerpo de la pupa de la abeja para succionar su hemolinfa. Por lo que utilizan “una zona de alimentación” que consiste en un único orificio localizado en la parte ventral del quinto segmento de la cutícula de la pupa, perforado por la hembra fundadora. Esto provoca la organización de los ácaros para alimentarse por turnos dentro de la celdilla (Garrido-Bailón 2012).

La reproducción únicamente puede producirse en el interior de la celda de cría y por ello los machos comienzan a aparearse tan pronto como se desarrolle la primera hembra (Cepero 2016). Por lo tanto, (Ardestani 2015) la duración de la etapa posterior al operculado de la cría y la mortalidad de la descendencia de los ácaros en estas celdas son factores que pueden influir potencialmente en el éxito reproductivo de los ácaros fundadores.

Harbo y Harris (1999b) argumentan que los ácaros se consideran no reproductivos cuando mueren en la celda sin reproducirse, no producen descendencia, producen solo descendencia masculina o producen descendencia que no alcanza la madurez antes de que la pupa de abeja en desarrollo nazca como adulto.

3.3 Factores que influyen en la tasa de infestación

La tasa de invasión del ácaro a la cría todavía es en gran parte desconocida, sin embargo, el conocimiento de las tasas de invasión es muy valioso en las simulaciones de crecimiento de la población de *V. destructor*, y por lo tanto, podría ser incluido en los programas de selección de las abejas para la resistencia a los ácaros (Vaziritabar et al., 2016).

Varios son los factores que pueden influir en la tasa de infestación; se describe que la abeja melífera europea es dos veces más atractiva para *V. destructor* que la africanizada (Coelho et al., 2015a). Estas son más resistentes a ciertas enfermedades debido a factores como el CH que es cuatro veces mayor que las europeas; técnicas de manejo y ubicación regional que incluyen no solo las condiciones de temperatura y humedad, sino también el uso de la tierra, la carga de pesticidas o la disponibilidad de recursos (Giacobino et al., 2014).

Los híbridos africanizados son más eficientes en el acicalamiento, tienen una menor susceptibilidad a la invasión (Medina-Flores et al., 2014) y reproducción de otros patógenos (Bahreini y Currie 2015). Por su parte, Vaziritabar et al., (2016) indicaron que las condiciones ambientales intervienen en el desarrollo de la población de ácaros; sin embargo, es más probable que esto solo se observe a través del efecto indirecto de factores ambientales que regulan las cantidades de cría de abejas o la actividad de ciertos comportamientos de defensa del anfitrión.

3.4 Impacto ambiental causado por *Varroa destructor*

Las abejas melíferas constituyen una preocupación especial, desde el punto de vista del impacto ambiental, ya que polinizan el 40% de los principales cultivos alimentarios. La población de abejas, de quienes dependen muchas hortalizas, frutales y aromáticas, se está diezmando en el mundo (Marini et al., 2017). Además, la apicultura

es una industria importante en la salud ambiental mundial, que se encuentra en constante cambio (Muñoz y Cumbal 2022), de ahí la importancia de la investigación, proyectos y avances que aporten a la mejoría de estas prácticas que conllevan a avalar la salud y bienestar de las abejas que tienen un papel ecológico muy importante al garantizar la seguridad alimentaria en el planeta.

La situación actual de la apicultura se encuentra bastante condicionada por la presencia del acaro varroa, este parásito ha sido el causante de muchas pérdidas económicas en el rubro. Los agentes patógenos de las abejas *Apis mellifera* causan grandes pérdidas económicas, con fuertes consecuencias en el medio ambiente a través de la interrupción de la polinización realizada por las abejas; de esta manera tenemos que en los Estados Unidos de América son responsables de originar casi 3 billones de dólares en frutas y vegetales producidas anualmente (Pantoja et al., 2014).

Las poblaciones de apifauna nativa y de *Apis mellifera* se ponen en riesgo debido a los efectos producidos por la deforestación, el monocultivo, la expansión de la frontera agrícola, el cambio climático y el uso desmedido de agroquímicos (Tirado et al., 2013). El monocultivo se traduce para las abejas en un desierto verde, un lugar con falta de biodiversidad vegetal, donde no hay alimento para los polinizadores, ni sitios de nidificación y refugio. De esta manera Anido (2013) indica que en Argentina, Brasil, Paraguay, Bolivia y Uruguay, hay 50 millones de hectáreas con soja transgénica, un desierto del tamaño de España, en contra de la actividad de estos insectos.

Mediante diferentes métodos y principios activos, los apicultores buscan mantener bajos los niveles de varroa en sus colmenas, algunos métodos utilizados son la selección hacia líneas genéticas más higiénicas, otras medidas profilácticas, medicamentosas, entre otras (FAO 2016). Igualmente, la mayoría de agroquímicos aplicados en la agricultura son tóxicos para los polinizadores, las abejas visitan varios cultivos en donde se aplicaron agroquímicos con un resultado devastador; ya que disminuyen su capacidad forrajera, en particular la eficiencia en la recolección de polen, lo que se traduce en una pérdida del número de obreras y de la productividad global de la colonia (Gill et al., 2012).

Internacionalmente el control químico es el método más empleado, pero puede conducir al desarrollo de ácaros resistentes a los acaricidas, elevar los costos de producción, causar efectos tóxicos en las abejas y el hombre y además de contaminar los productos de la colmena, lo que dificulta su comercialización (Giacobino et al., 2014),

entre estos tenemos residualidad en la cera y miel, lo cual impacta drásticamente la inocuidad y la calidad de diversos productos derivados de la colmena (Bogdanov 2006), consecuentemente afectando a la salud del consumidor.

La tendencia estratégica actual de lucha, es la integración de todos los medios, incluida la obtención de abejas resistentes, en procesos de selección a más largo plazo, para lo cual existen bases en la heredabilidad de características fenotípicas, genotípicas y conductuales, complementadas con técnicas moleculares (Rodríguez et al., 2010).

Otra de las estrategias alternativas contra *V. destructor* es el desarrollo de productos derivados de plantas, como son los extractos, aceites esenciales; compuestos de origen natural seleccionados en función de sus antecedentes como potenciales quimioterápicos o también la búsqueda de sustancias antiparasitarias con espectros de actividad de moléculas utilizadas en el ámbito de la medicina humana y veterinaria, con la finalidad de seleccionar agentes farmacológicos capaces de interferir los mecanismos esenciales para la vida de estos vectores.

Estos productos representan una alternativa para el control de plagas, principalmente ovicidas y antialimenticias, las cuales no generan efectos adversos en otras especies (Benelli et al., 2018). Además, Aydin et al., (2007) señalan que son una elección de tratamiento altamente efectivo contra plagas resistentes a insecticidas sintéticos.

3.5 Mecanismos biológicos o estrategias de defensa de la abeja melífera

Algunas poblaciones de *A. mellifera* muestran mecanismos que permiten coexistir con el ácaro durante períodos más largos sin requerir ningún tratamiento acaricida en la colmena (Strauss et al., 2016). Estos mecanismos colectivos de defensa natural coadyuvan a reducir la prevalencia de enfermedades infecciosas y mantener bajos índices de infestación de ectoparásitos como el ácaro varroa.

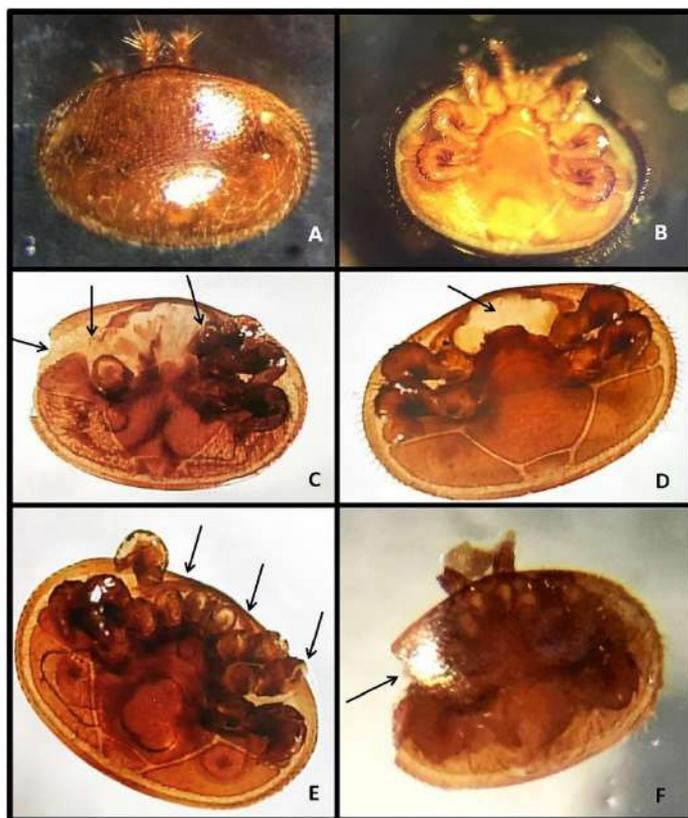
Los mecanismos más útiles para los Programas de Selección son: el CH, la baja atractividad de la cría, la supresión de la reproducción del ácaro y la sensibilidad higiénica a varroa, aunque existen otros de más difícil evaluación e incierta heredabilidad (Verde et al., 2013). Los comportamientos de defensa de las abejas son muy variables entre las especies y la cuantificación del rasgo depende exactamente de los métodos utilizados.

3.5.1 Acicalamiento

Araneda et al., (2010) asegura que uno de los mecanismos defensivos es conocido como acicalamiento; este mecanismo se inicia a través de señales que emiten las obreras para acicalarse, dura varios segundos y es una danza vibratoria de todo el cuerpo, el cual estimula a otras obreras a acicalar a la abeja danzarina (Traynor et al., 2020).

Las abejas acicaladoras utilizan sus mandíbulas y patas delanteras para eliminar con fuerza a los ácaros de las abejas adultas (Hamiduzzaman et al., 2017), mordiénolas, dañándolas y quitándoselas de encima (Figura 21), existen dos tipos de acicalamiento, auto acicalamiento y acicalamiento grupal, que incluye la participación de varias compañeras de la colonia que actúan en colaboración (Pritchard 2016).

Figura 21. Diferentes patrones de daños en ácaros *Varroa destructor*.



Las flechas indican las lesiones en el cuerpo, patas y quelíceros del ácaro. (A - B) Vistas dorsal y ventral de ácaros no dañados, (C) escudo dorsal dañado + gnatósoma dañado, y ausencia de

patas + quelíceros, (D - E) ausencia de patas + quelíceros, (F) escudo dorsal dañado + gnatosoma dañado.

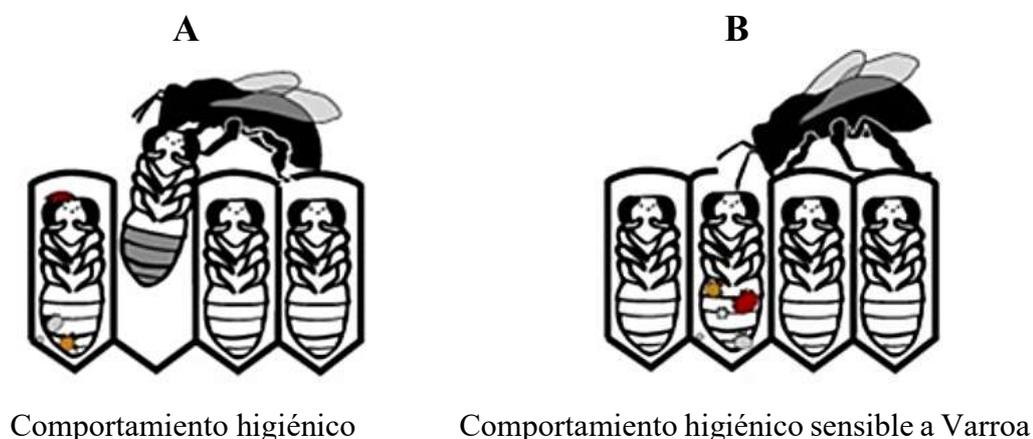
Fuente:(Russo et al., 2020)

3.5.2 El comportamiento higiénico

Es un rasgo genético heredable y suficientemente alto (>0,5) para ser tomado en cuenta en los programas de crianza de *A. mellifera* para mejorar la vitalidad de las estirpes (Lin et al., 2016). El CH en la abeja melífera (*A. mellifera*) es la habilidad (mayor sensibilidad olfatoria para discriminar entre crías normales y anormales a una baja intensidad de estímulo) que tienen las obreras para detectar (Oddie et al., 2018), desopercular y remover crías enfermas (muertas o parasitadas) del interior de las celdas de un panal (Figura A.) desde la cámara de cría hacia el exterior de la colonia (Akinwande et al., 2014; Rothenbuhler 1964a; Vaziritabar et al., 2016).

El CH permite interrumpir el ciclo de algunas enfermedades tales como: Loque americano (Rothenbuhler 1964b) y Ascosferosis (Gilliam et al., 1988). Además, las abejas higiénicas detectan y remueven pupas infestadas con el ácaro *V. destructor*. De igual manera Traynor et al., (2020) identificaron abejas que manifiestan un comportamiento higiénico sensible a varroa que eliminan eficientemente pupas infectadas con virus de la parálisis aguda de las abejas (Figura 22A-B).

Figura 22. (A) Comportamiento higiénico de las abejas, y (B) comportamiento higiénico sensible a varroa.



Fuente: Traynor et al., (2020)

La velocidad con la que una colonia elimina la cría muerta se correlaciona con su capacidad de eliminar el brote enfermo y del parásito (Akinwande et al., 2014). Sin embargo, la remoción de la cría infestada de ácaros no incluye necesariamente la muerte del ácaro y la mayoría de los ácaros escapan durante el proceso de remoción (Vaziritabar et al., 2016), por lo que resulta en una interrupción del ciclo reproductivo del ácaro que en última instancia podría retrasar el crecimiento de la población de ácaros en la colonia.

Arathi et al., (2000) aseveran que el CH se realiza predominantemente por obreras de mediana edad que aún no pecorean y el 18 % de las abejas en la colonia están realmente involucradas en la tarea en un momento dado. El CH según Rothenbuhler (1964b) es controlado por dos genes recesivos independientes: uno responsable de desopercular la cría enferma (gen *u*) y el otro responsable de remover la cría enferma fuera del nido de cría (gen *r*); la homocigosis permite que las abejas sean higiénicas (Pereira et al., 2013).

Este comportamiento es uno de los principales mecanismos que confiere resistencia a la abeja melífera contra los parásitos y patógenos (Spivak y Downey 1998). Arechavaleta-Velasco et al., (2011), con marcadores moleculares tipo RAPD, mostraron siete loci de rasgos cuantitativos (QTL) que influyen sobre la expresión de dicho rasgo conductual a nivel de colmena.

Sin embargo, todavía existen preguntas sin responder relacionadas con la higienización, las que incluyen la influencia de factores extrínsecos, tales como la condición de la colonia, alimento disponible, tipo de panal (Pereira et al., 2013). Además, la expresión del CH puede estar influida por factores como el requerimientos de espacio de la colonia, estructura, composición de la edad de las obreras, factores medioambientales, técnicas de manejo apícola (Büchler et al., 2013; Delaplane et al., 2013), proporción y edad de las abejas que realizan tareas higiénicas, la entrada de néctar y polen colectados por las obreras así como la fortaleza de la colonia. De esta manera, algunos autores indican que el factor más importante es su componente genético (Medina-Flores et al., 2014).

El CH se evalúa mediante varios métodos, entre ellos la remoción de la cría artificialmente infestada con *V. destructor* (Vaziritabar et al., 2016). Congelamiento con nitrógeno líquido de una sección del panal con cría operculada (Spivak y Reuter 1998), mediante el sacrificio de la cría por punción con una aguja o alfiler (Gramacho 1999; Newton y Ostasiewski 1986). Este último método es recomendado en Europa como

estándar en programas de selección ya que muestra una correlación significativa con la eliminación de las crías infestadas de varroa.

Puede estandarizarse y es fácil de manejar por los apicultores (Büchler et al., 2013); además la punción es el más eficiente, pues el fluido corporal que se derrama constituye el estímulo que induce la desoperculación y remoción de la cría.

3.5.3 La supresión del éxito reproductivo del ácaro varroa en las celdas de cría

Las poblaciones de *A. mellifera* cuentan con otro mecanismo que se considera crucial en la resistencia adaptativa (Rinderer et al., 2010), este mecanismo es altamente heredable y se traduce en baja fertilidad, fecundidad y éxito reproductivo de los ácaros, explica la resistencia de poblaciones de abejas en ciertas partes del mundo.

Así tenemos: la *A. m. scutellata* en Sudáfrica (Strauss et al., 2016), abejas africanizadas en Brasil (Giacobino et al., 2014) y además, poblaciones de abejas europeas antiguas: en la isla de Fernando de Noronha, en el noreste de Brasil la *Apis mellifera ligustica*; la abeja rusa de la región de Primorsky (Rinderer et al., 2001), en la región de Gotland - Suecia (Locke 2016a) y poblaciones de abejas melíferas noruegas (Oddie et al., 2017).

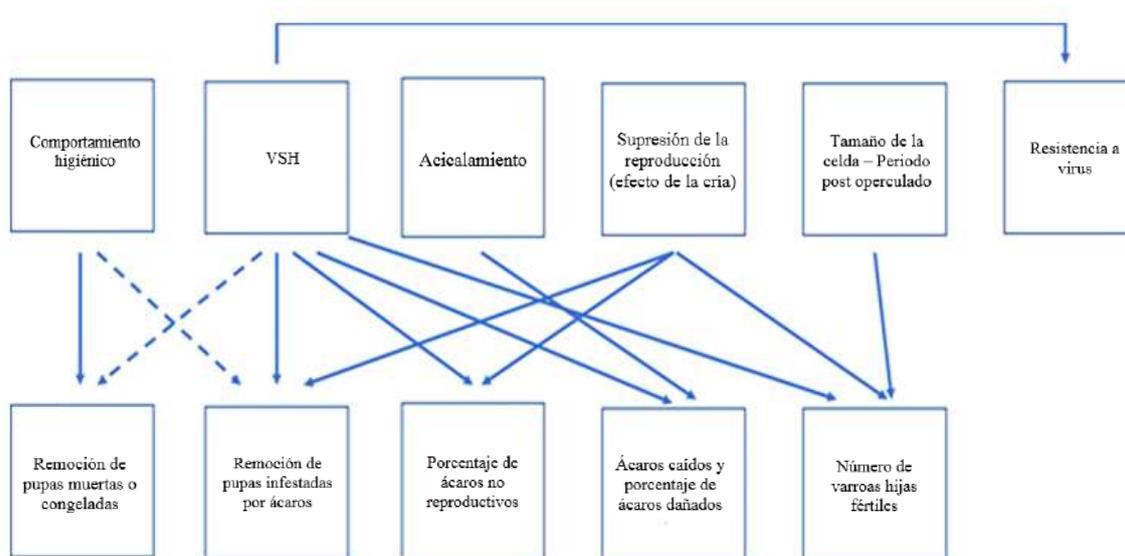
3.5.4 Características de resistencia de *Apis mellifera* a *Varroa destructor*

Guzman-Novoa et al., (2012) acotan que la abeja *Apis cerana* posee rasgos que le confieren resistencia contra el acaro varroa, de la misma manera estos también están presentes en las poblaciones europeas de *Apis mellifera*, aunque en baja frecuencia, entre estos tenemos el desoperculado de las celdillas infectadas por varroa y la posterior eliminación de las pupas parasitadas, así como el auto- y allo-grooming. Así mismo, otro rasgo que confiere resistencia contra Varroa es el "efecto cría"; este es un mecanismo para la supresión de la reproducción de los ácaros, el cual actúa mediante cambios en la señal química emitida por una larva obrera en desarrollo que, si no se altera, sería utilizada por los ácaros Varroa como señal para iniciar la reproducción (Mondet et al., 2016).

Van Alphen y Fernhout (2020) analizaron las pruebas de los rasgos que confieren o se cree que confieren resistencia, demostrando que estos rasgos de resistencia particular a veces también podrían ser producidas por uno de los otros rasgos (Figura 23), en donde

la selección natural ha producido resistencia contra varroa en *A. mellifera* en África, Europa y América.

Figura 23. Relación entre los rasgos de resistencia de las abejas melíferas



Fuente: van Alphen y Fernhout (2020)

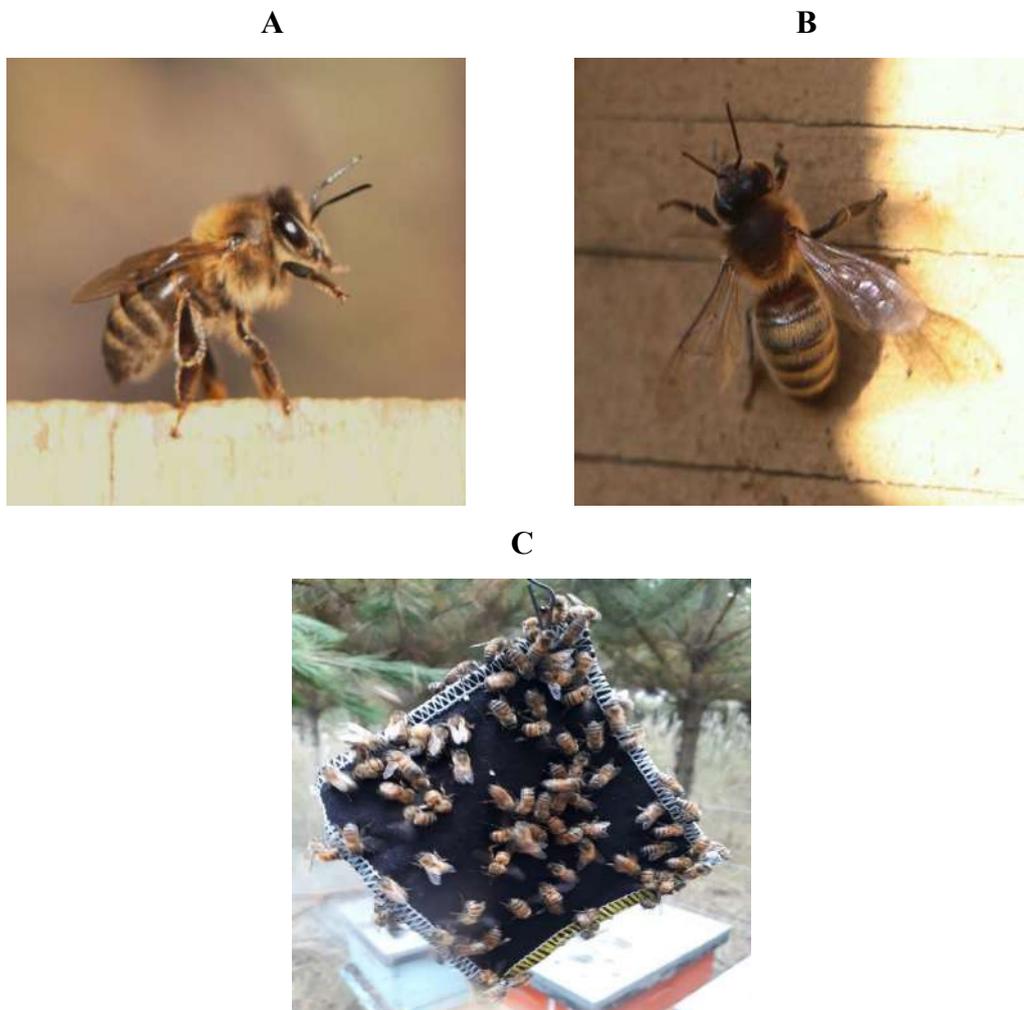
3.5.5 Comportamiento Defensivo (CD)

El CD de la colonia es otro comportamiento bien conocido en abejas melíferas, consiste en reconocer y alertar a la colmena de la presencia de predadores, para establecer un comportamiento anti-predador (Nouvian et al., 2016). Las abejas suelen hacer la guardia durante el periodo de transición de las tareas internas a la búsqueda de alimento; las guardianes se ven comúnmente sentados en la entrada de la colmena en una postura característica, con las patas delanteras fuera del suelo y las antenas apuntando hacia delante (Figura 24A), o, cuando están muy alborotados, con las mandíbulas abiertas y las alas separadas del cuerpo (Figura 24B), listos para volar hacia cualquier intruso (Paxton et al., 1994); de la misma manera los guardianes reclutan compañeros de nido para picar a los grandes intrusos (Figura 24 C).

Sin embargo, el CD no es favorable para los apicultores, pero colonias muy dóciles pueden fácilmente ser víctimas de enemigos naturales como avispas, aves o mamíferos (Uzunov et al., 2014). Esquivel et al., (2015), consideran que este comportamiento es una variable altamente heredable, por lo que esta característica se convierte en punto de interés

en el mejoramiento genético de las abejas y es de gran utilidad en programas de selección de colonias para mejorar la conducta de defensa.

Figura 24. Respuestas conductuales de las abejas melíferas a diferentes amenazas.



(A) Guardia en la postura característica, con las patas delanteras fuera del suelo y las antenas apuntando hacia delante. (B) Abeja alertada, lista para volar hacia el intruso (Nouvian et al., 2016). Abejas atacando a bandera de gamuza utilizada como señuelo durante la evaluación de la defensividad (C).

Hay una variedad de factores que influyen en el CD de las abejas melíferas: la cantidad de recursos disponibles para la colonia (Nouvian et al., 2016), la presencia o ausencia de una reina tiene un fuerte efecto en el CD de las abejas. Sin una reina, todas

las abejas se convierten en generalistas y participan en la defensa del nido (Naeger et al., 2013).

Los factores que causan tal variabilidad del CD en los fenotipos de abeja melífera incluyen interacciones sociales (Hunt et al., 2003), ubicación, condiciones climáticas (Breed et al., 2004), tamaño de la colonia (Collins y Kubasek 1982), reloj circadiano endógeno (Troen et al., 2008), la estación y hora del día, endogamia de la reina y las obreras, los efectos maternos (Bienefeld y Pirchner 1990), rasgos cuantitativos loci y efectos de dominancia paterno (Guzmán-Novoa et al., 2005) así como subjetividad del observador (Boch y Rothenbuhler 1974).

Para la evaluación del CD existen ensayos que miden la agresividad (Kastberger et al., 2009) y determinan la influencia de factores genéticos y ambientales en la agresividad. Sin embargo, varios parámetros de comportamiento no pueden medirse fácilmente y generalmente se evalúan de una forma subjetiva.

Una forma es la de registrar el número de picaduras dejadas en un objeto agitado frente a una entrada de colmena o sobre una abierta (Collins y Kubasek 1982). Esta es una herramienta para descifrar la secuencia de eventos y los desencadenantes que inducen el CD de las abejas melíferas (Vaziritabar et al., 2016). De la misma manera existen otras metodologías para evaluar el comportamiento defensivo, las cuales se explican a continuación en la Tabla 6:

Tabla 6. Evaluaciones de la defensividad a nivel de colonia.

Confinamiento de abejas	Perturbación Previa	Objetivo	Mediciones	Descrito por primera vez
Colmena Entera (Campo)	Ninguna	Bola en movimiento a la entrada de la colmena	Número de aguijones en los guantes	Free, 1961; Stort, 1974
			Número de aguijones en la bola	
			Tiempo antes de la primera picadura	
			Tiempo antes de la ferocidad	
			Distancia de persecución	
	Ladrillo tirado en la colmena	Bandera de gamuza ondeada en la entrada de colmena	Número de picaduras	Villa, 1988
			Tiempo antes de la primera picadura	
			Número de picaduras	Giray et al.,2000
Tiempo antes de la primera picadura				

		Prueba del temperamento para abejas	Números de golpes	Guzman-Novoa et al.,1999
			Tiempo antes de los golpes	
	Bocanada de aire		Números de golpes	Spangler et al.,1990
	Apertura de la colmena	La bandera de gamuza pasada por encima de los marcos superiores	Número de picaduras	Delaplane y Harbo,1987
	Apertura de la colmena + feromona de alarma		Número de picaduras	Moritz et al., 1987
	Feromona(s) de alarma	Ninguna	Número de abejas reclutadas	Breed y Rogers, 1991
		Bola frente a la entrada de la colmena	Número de picaduras	Moritz et al., 1985
	Alarma de feromona(s) + tiro del mármol	Bandera de gamuza ondeada en la entrada de colmena	Número de abejas reclutadas	Collins y Kubasek, 1982;
			Tiempo antes del reclutamiento	
			Número de picaduras	Collins y Rinderer, 1985;
Tiempo antes de la primera picadura				
Apertura de la colmena + manipulación de los cuadros de cría + humo	Ninguna	Clasificaciones de la tendencia a correr, volar, golpear y estimatizar	Guzman-Novoa et al., 2003	
Caja transparente en la entrada de la colmena	Ninguna	Bandera de gamuza en movimiento	Número de picaduras	Guzman-Novoa et al., 2003
			Tiempo antes de la primera picadura	
Jaulas (Laboratorio de pruebas)	Olores	Ninguna	Agitación de las abejas jóvenes	Collings y Blum, 1982
	Ninguna	Abeja viva en movimiento	Frecuencia de los ataques	Lecomte, 1951
	Alarma de feromona(s)	Ninguna	Tasa Metabólica	Moritz et al., 1985

Fuente: adaptado de Nouvian et al., (2016)

CAPÍTULO 4

Comportamiento higiénico y defensivo de *Apis mellifera* y su relación con las tasas de infestación por *Varroa destructor* y la producción de miel en diferentes pisos altitudinales en el altiplano central del Ecuador

CAPÍTULO 4.

COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO Y DEFENSIVO DE *Apis mellifera* Y SU RELACIÓN CON LAS TASAS DE INFESTACIÓN POR *Varroa destructor* Y LA PRODUCCIÓN DE MIEL EN DIFERENTES PISOS ALTITUDINALES EN EL ALTIPLANO CENTRAL DEL ECUADOR

La colonia de abejas melíferas es una sociedad compleja que tiene una amplia gama de comportamientos para protegerse de los depredadores y enfermedades y para permitir su reproducción y supervivencia (Winston 1987). Algunos de estos comportamientos son importantes para los intereses de los apicultores y, por lo tanto, son reconocidos en los programas de selección y reproducción.

Masaquiza (2017) expresa que la actividad apícola en el país presenta ciertas particularidades en comparación con otras producciones zootécnicas, resultando difícil controlar el proceso natural de apareamiento debido al peculiar comportamiento reproductivo de *Apis mellifera*, donde la fecundación de las reinas es libre y esta puede acoplarse con más de 10 machos (zánganos) provenientes de diversas colonias manejadas y silvestres, en un radio superior a cinco kilómetros (Granadillo, 2009), por lo que para realizar procesos de mejoramiento genético es preciso disponer de poblaciones genéticamente aisladas (Padilla *et al.*, 2001).

En los últimos años la presencia del ácaro *V. destructor* puede considerarse la principal amenaza para la apicultura mundial (Smart *et al.*, 2016; Steinhauer *et al.*, 2018; van Der Zee *et al.*, 2015). El parásito provoca una importante pérdida de colmenas anualmente y reduce la producción de miel y demás productos de las colonias (Khongphinitbunjong *et al.*, 2016).

En la actualidad se desarrollan otras formas de lucha frente al parásito, basadas en la habilidad de las abejas para desarrollar sus propios mecanismos defensivos de supervivencia. Entre ellos se encuentra el CH (Danka *et al.*, 2013), que en varios estudios se comprobó que permite mantener TIA a niveles viables con el desarrollo y producción de las colonias (Medina-Flores *et al.*, 2011).

La abeja africana y sus híbridos presentan rasgos conductuales que le permiten coexistir con parásitos y enfermedades (Strauss *et al.*, 2013). Tal es el caso del CH, en

algunos casos superiores a las abejas europeas (Chemurot et al., 2016). Otro tipo de comportamiento bien conocido en las abejas melíferas es el defensivo que consiste en el reconocimiento de los depredadores, alertar a los compañeros de nido y promulgar el comportamiento antipredador (Breed et al., 2004). Los apicultores identifican por mucho tiempo este comportamiento y con la implementación estrategias de reproducción para reducir su expresión, en oposición a la selección natural (Poklukar 1999).

Por lo tanto, es necesario conocer la proporción de colonias altamente higiénicas en las distintas zonas en estudio para, contrarrestar los efectos de los patógenos, mediante la implementación de programas de mejoramiento genético que seleccionen por este carácter, ello podría contribuir a incrementar el estado de salud y la producción de miel.

Al mismo tiempo, se debe buscar mantener colonias con un CD óptimo desde el punto de vista de la apicultura y mantener la demanda de una selección artificial continua, al menos hasta que se produzca la fijación de este rasgo.

Las mutaciones y la selección natural propician adaptaciones a condiciones muy diferentes, lo que moldeó y originó variación en sus características morfológicas, fisiológicas y de comportamiento, dando lugar a distintas subespecies o ecotipos de abejas; es decir, abejas adaptadas a una región ecológica en particular (Ruttner, 1988).

Recientemente, en el altiplano central del Ecuador se identificaron poblaciones con diferente grado de introgresión de genes africanizados a nivel de piso altitudinal, en alturas superiores a los 2 600 m.s.n.m. Su CH y CD pueden variar entre las colonias y ser distinto al de otras regiones, si se considera el efecto de la altitud, que impone condiciones ambientales y de aislamiento específicas. También se informa que ciertas colonias logran sobrevivir a infestaciones por el ácaro sin tratamiento químico, lo que se atribuye en parte a la expresión de un alto CH (Seeley et al., 2015).

En este sentido es necesario determinar el comportamiento higiénico y defensivo de *Apis mellifera* y relacionarla con las tasas de infestación por *V. destructor* y los rendimientos productivos de miel en diferentes pisos altitudinales en el altiplano central del Ecuador.

- ***Materiales y Métodos***

El territorio donde se desarrolló el estudio presenta la particularidad de estar atravesado de norte a sur por el sistema montañoso de la cordillera de Los Andes, clasificándose al clima de la zona centro del Ecuador como templado semi-húmedo a húmedo en la zona interandina; cálido y seco en los valles interandinos y frío de alta montaña en los páramos, sobre los 3 400 metros sobre el nivel del mar. La temperatura está ligada a la altura; entre los 1 500 y 3 000 m.s.n.m. los valores promedio varían entre 8 y 20 °C, con un gradiente de temperatura de menos 5 °C por cada 1 000 m de altura (Ron et al., 2019).

La altitud también influye en la cantidad de lluvia que precipita porque el aire frío tiene poca capacidad de retener humedad, por lo que en las zonas altas ocurren pocas precipitaciones. Sin embargo hay dos estaciones definidas: húmeda o invierno (octubre a mayo) y seca o verano (junio a septiembre). El promedio de las precipitaciones varía entre 800 y 1 500 mm/año (Ron et al., 2019).

- ***Ubicación y descripción***

Los muestreos se llevaron a cabo entre marzo y septiembre de 2017; se estudiaron 15 apiarios con un total de 75 colmenas en las provincias Tungurahua y Chimborazo (Tabla 7).

Tabla 7. Localización geográfica de los apiarios en el altiplano central del Ecuador.

Apiario	Provincia	Latitud	Longitud	Elevación (m.s.n.m.)
A1	Tungurahua	1°16'06"S	78°34'50"W	2 607
A2	Tungurahua	1°22'09"S	78°36'19"W	2 879
A3	Tungurahua	1°18'16"S	78°39'16"W	2 936
A4	Tungurahua	1°19'02"S	78°39'16"W	3 047
A5	Tungurahua	1°35'17.37"S	78°46'05.25"W	3 279
A6	Tungurahua	1°33'11.2"S	78°42'32.4"W	3 168
A7	Chimborazo	1°41'45.57"S	78°45'16.46"W	2 939

A8	Chimborazo	1°39'26.17"S	78°34'38.49"W	2 727
A9	Chimborazo	1°42'46.63"S	78°39'50.33"W	2 967
A10	Chimborazo	1°35'11"S	78°45'09"W	3 205
A11	Chimborazo	1°35'18"S	78°46'03"W	3 262
A12	Chimborazo	1°41'34"S	78°40'11"W	2 834
A13	Chimborazo	1°35'46.75"S	78°39'51.45"W	2 870
A14	Chimborazo	1°43'46.5"S	78°36'47.6"W	2 616
A15	Chimborazo	1°46'40.91"S	78°35'10.99"W	2 863

Fuente: Localización por GPS (*Global Positioning System*)

A partir de la caracterización de apicultores (Masaquiza et al., 2017) se consideraron criterios de inclusión y exclusión con el fin de localizar los apiarios que cumplieran con los requisitos para ingresar a la investigación.

Criterios de inclusión:

- Apiarios con colmenas Langstroth
- Buena fortaleza de las colonias seleccionadas (siete peines cubiertos con abejas que contenían un promedio de tres peines de cría) de acuerdo con Vaziritabar et al., (2016).
- Producción de miel por colmena (10,2 kg) por encima de la media (MAGAP 2017)
- No aplicación de tratamiento contra varroa previo al estudio
- No introducción de reinas en los últimos años

Criterios de exclusión:

- Enjambrazón de las colmenas (exploración cada 15 días)
- Trashumancia del apiario.
- Negativa del apicultor a participar en el estudio.

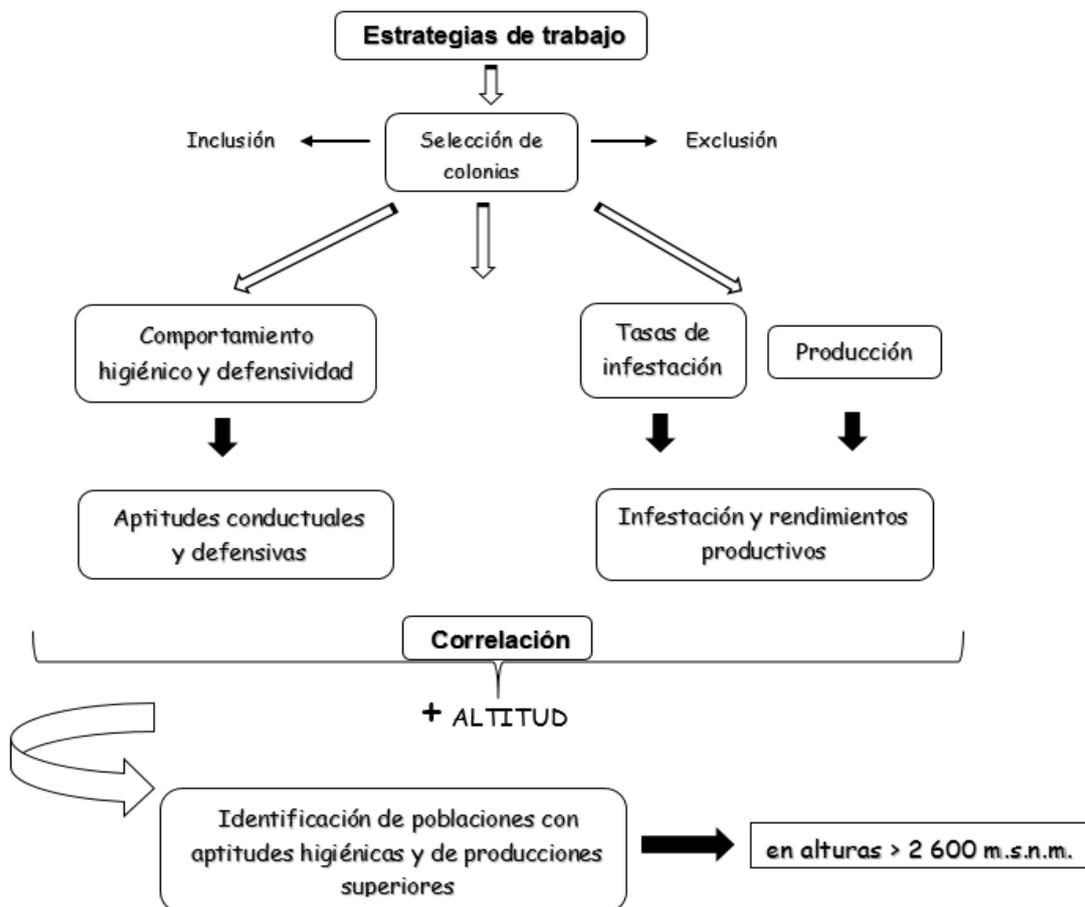
En este caso fueron excluidos tres apiarios: dos de la provincia de Tungurahua (por enjambrazón y trashumancia) y uno de Chimborazo (negativa del apicultor). Las colmenas en estudio contaron con una cámara de cría y dos medias alzas de producción.

Además, se trabajó durante el mismo periodo y las colmenas en evaluación fueron las mismas en los tres muestreos y para todos los experimentos.

- **Esquema de la investigación**

La investigación estuvo constituida por seis evaluaciones, integradas en tres capítulos y en correspondencia con cada una de las fases experimentales (Figura 25).

Figura 25. Estrategias de la investigación.



- **Toma de muestras y evaluación en los apiarios**

La investigación se realizó en tres momentos del año coincidentes con los meses de marzo - abril; mayo - julio (durante la etapa de producción) y agosto - septiembre; las evaluaciones del CH, CD y las TIA se realizaron en los tres muestreos y los rendimientos productivos se obtuvieron al final de la etapa de producción. Se muestrearon

aleatoriamente cinco colmenas/apiario/muestreo y de cada colmena se obtuvieron 250 abejas mediante extracción directa de obreras nodrizas de los cuadros de cría que se colocaron en tubos de plástico de 100 mL. Los tubos se identificaron con la respectiva información y se rellenaron con etanol al 96 %. Las muestras se almacenaron a -20 °C hasta su posterior análisis.

- **Técnica para la evaluación**

Para la determinación del comportamiento higiénico se recurrió al método propuesto por Newton y Ostasiewski (1986), denominada técnica del perforado de las crías. Se identificaron dos bastidores (panales) de cría con pupas entre 16- 17 días de edad (pupa de ojo rosado) y se seleccionó una sección conteniendo 10 × 10 celdas. Las pupas se sacrificaron mediante punción (Figura) y después el bastidor fue devuelto a la colonia para ser evaluado luego de 24 h (Figura). Se realizó un conteo inicial y, transcurrido el tiempo, se cuantificaron la cantidad de celdas operculadas y desoperculadas con cría.

Figura 26. Determinación del comportamiento higiénico mediante la técnica del perforado de las crías



Figura 27. Evaluación del comportamiento higiénico después de 24 horas.



Así mismo se utilizó la fórmula de comportamiento higiénico total (CHT) utilizada por Gramacho (1999); Espinosa et al., (2007) y Pérez (2014):

$$CHT (\%) = \frac{COi - COf - CD/cría}{COi} \times 100$$

Dónde: **COi:** Celdas operculadas iniciales

COf: Celdas operculadas finales

CD/cría: Celdas desoperculadas con cría finales a las 24 horas

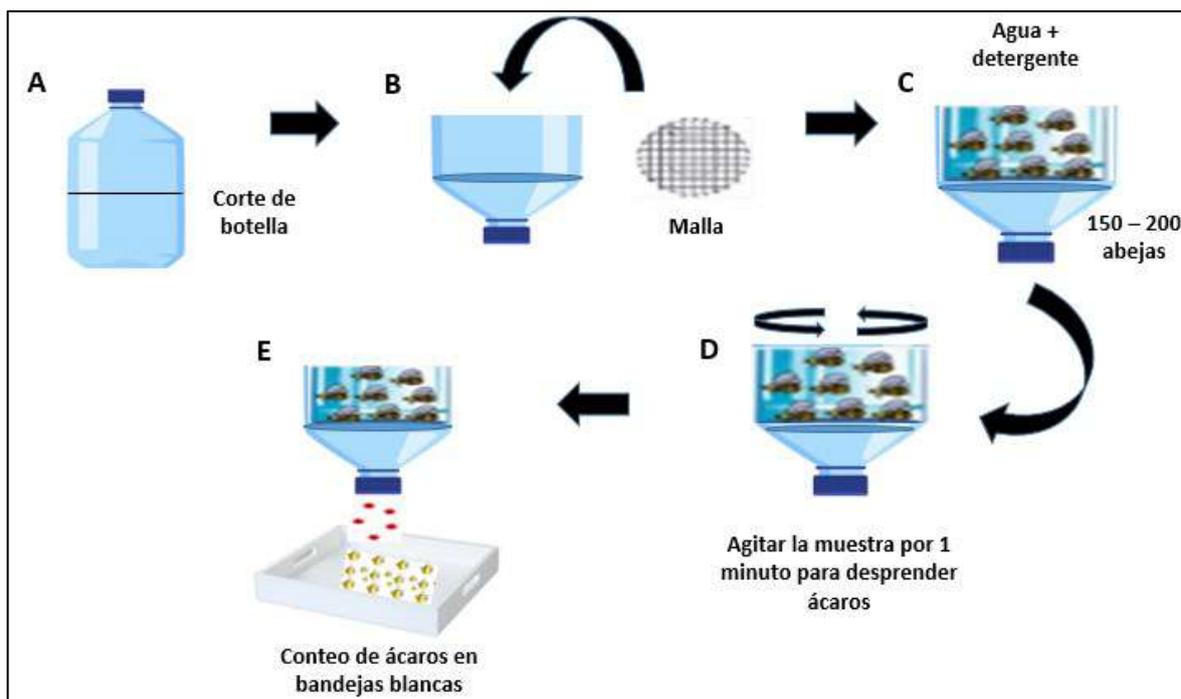
El CD se evaluó con la metodología de Collins y Kubasek (1982), se realizó en el horario de 11:00 a.m. a 3:00 p.m. de manera simultánea en las colonias seleccionadas en cada apiario, sin utilizar humo, mediante el uso de una banderilla de gamuza de color negro de 10 x 10 cm (Figura 28), se agitó suavemente delante de la piquera con movimientos en forma de péndulo por un minuto. Los resultados se promediaron y agruparon por cuartiles que se denominaron como dócil (≤ 10 aguijones), poco dócil (10,1 - 13), agresivo (13,1 - 17) y muy agresivo (17.01+).

Figura 26. Evaluación del comportamiento defensivo



Mediante la metodología de Collins y Kubasek (1982)

Figura 27. Procedimiento para determinar las tasas de infestación de muestras de abejas melíferas.



Las TIA se evaluaron según De Jong et al., (1982), se tomaron entre 150 y 200 abejas del centro de la cámara de cría que se introdujeron en un recipiente contentivo de agua con detergente comercial y se les agitó para el desprendimiento de los ácaros; las abejas se depositaron en bandejas de color blanco y se contabilizaron los ácaros desprendidos (Figura 29).

Igualmente, el índice se determinó mediante la fórmula:

$$TIA (\%) = \frac{n^{\circ} \text{ de varroas}}{n^{\circ} \text{ de abejas}} \times 100$$

La producción de miel se determinó mediante la metodología de Büchler et al., (2013), totalizando la misma al finalizar la etapa de cosecha (julio); se evaluaron en forma individual, se pesaron las alzas de cada colonia antes y después de la extracción y la diferencia obtenida se consideró como la miel cosechada. Toda la miel recolectada dentro de la etapa de producción por cada colonia, se reconoció como la producción total. No se consideró la miel almacenada en las cámaras de cría.

En el caso del CH se promediaron las tres evaluaciones y se clasificaron en base a los criterios de Medina-Flores et al., (2014) con ligeras modificaciones. Las colonias que desopercularon y removieron; más del 85 % de la cría sacrificada se clasificaron

como de CH alto, mientras aquellas que removieron del 50,1 al 85 % se clasificaron como CH medio y las que removieron menos o igual del 50 % de la cría fueron tipificadas como de CH bajo.

- **Análisis estadístico**

Se realizaron pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov), correlaciones (Pearson o Spearman), comparaciones (análisis de varianza y pruebas no paramétricas), y prueba *post-hoc* de Student Newman Keuls con el software SPSS Versión 21.0.

Para las relaciones del CH entre los muestreos se realizaron correlaciones bivariadas (Pearson). Entre los pisos altitudinales y el CH de cada muestreo se efectuaron correlaciones bivariadas (Pearson), ANOVA y pruebas Post-hoc (Student Newman Keuls). Correlaciones bivariadas (Pearson) entre el CH promedio y los pisos altitudinales, ANOVA y pruebas Post-hoc (Student Newman Keuls). Se ejecutaron correlaciones bivariadas (Spearman) entre los pisos altitudinales y el CD.

Se realizaron correlaciones bivariadas (Spearman) entre las TIA y la producción melífera con los pisos altitudinales. Pruebas no paramétricas para dos muestras independientes (M-W) para la comparación entre el CH clasificado, las TIA y la producción de miel. Se efectuaron correlaciones bivariadas (Spearman) entre las variables: CH, CD con TIA y producción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluación del comportamiento higiénico en colonias de *Apis mellifera* en el altiplano central del Ecuador

Se determinó que el CH de los apiarios fue del $80,0 \pm 9,7$ %; mientras que los resultados por muestreo indicaron valores de 76,31 %; 83,81 % y 79 % para el primero, segundo y tercer muestreo, respectivamente. Gramacho et al., (1999), encontraron valores para las colmenas entre el 80 y el 90 % el cual consideraron como CH alto; de la misma manera; Medina-Flores et al., (2014) reconocen colonias con alto CH, aquellas que remueven más del 95 % de las crías perforadas, pero a las 48 horas. De acuerdo con estos criterios el CH de las colonias en la zona de estudio puede ser catalogado como medio.

Los porcentajes de higiene mostrados son superiores a los reportados por Araneda et al., (2008) en Chile, que obtuvieron valores que fluctuaron entre 20 y 80 % y por Vásquez et al., (2016) en Perú, quienes indicaron un promedio de 71,75 % y lo estimaron como levemente higiénicas. Sin embargo, los valores reportados con abejas europeas en Cuba por Pérez (2014) superan los resultados obtenidos, se identificaron comportamientos superiores al 90 %; mientras que en México con abejas africanizadas, Espinosa et al., (2007) registraron colonias con comportamientos higiénicos del 88 % y Contreras et al., (2016) valores mayores a 86 %.

El CH obtenido es aceptable si se tiene en cuenta que en el altiplano ecuatoriano no se aplica un programa de selección y mejoramiento genético y los productores seleccionan sus colmenas de forma un tanto arbitraria. Además, la mayoría desconoce la importancia de este indicador y su relación con la salud y producción de las colonias de abejas melíferas. En países como Cuba, México y Perú se realiza la selección de colonias con alta expresión de los hábitos higiénicos, bajos índices de infestación y producciones por encima de la media de la población (MINAG 2014; MINAGRI 2015; SAGARPA 2018).

El factor altitud influyó en las diferencias entre los porcentajes higiénicos observados, ya que al correlacionar las medias de los porcentos de higiene con los diferentes pisos altitudinales, se mostró una correlación negativa ($r=-0,25^*$; $P<0,05$). En base a los resultados de la correlación entre los muestreos, se puede indicar que la evaluación del CH en la etapa previa a la producción (marzo - abril) puede ser utilizada como indicativa del CH de las colonias durante el año en la región. Se presentaron los mayores porcentajes de higiene en el primer piso altitudinal con diferencias significativas de $P<0,05$ (Tabla 8).

Tabla 8. Evaluación del comportamiento higiénico promedio de *Apis mellifera* en distintos pisos altitudinales del altiplano central del Ecuador.

CH (promedio) (%)	PISOS ALTITUDINALES (m.s.n.m.)		
	2 600 – 2 800	2 801 – 3 000	> 3 000

N	15	35	25
Media	86,5^a	77,9^b	78,9^b
Desv,típ,	10,29	8,38	8,34
Mínimo	55,3	51,3	59,7
Máximo	96,7	90,7	93

Prueba: Student Newman Keuls

Un elemento para considerar serían las variaciones en el grado de africanización de las abejas en los diferentes pisos altitudinales del altiplano halladas en el análisis morfométrico, donde se encontró mayor nivel de africanización en las menores alturas. De acuerdo con este resultado, los apiarios situados a menor altura tendrán mayor nivel de africanización y expresarán un CH superior, teniendo en cuenta que varias investigaciones señalan a las abejas africanizadas como más higiénicas que las europeas (Chemurot et al., 2016).

La necesidad de mantener valores de higiene altos en los apiarios radica en la importancia sanitaria y económica que representa este comportamiento para las colonias, esto se traduce en colonias más sanas, productivas y con mayor acción polinizadora sobre los cultivos agrícolas (SAGARPA 2018). Existen correlaciones positivas entre los porcentajes de higiene del primer y segundo muestreo ($r=0,34^{**}$), igualmente ocurrió entre el segundo y el tercer muestreo ($r=0,38^{**}$). Se presentó diferencias significativas entre los porcentajes de higiene ($P<0,005$) de los tres muestreos.

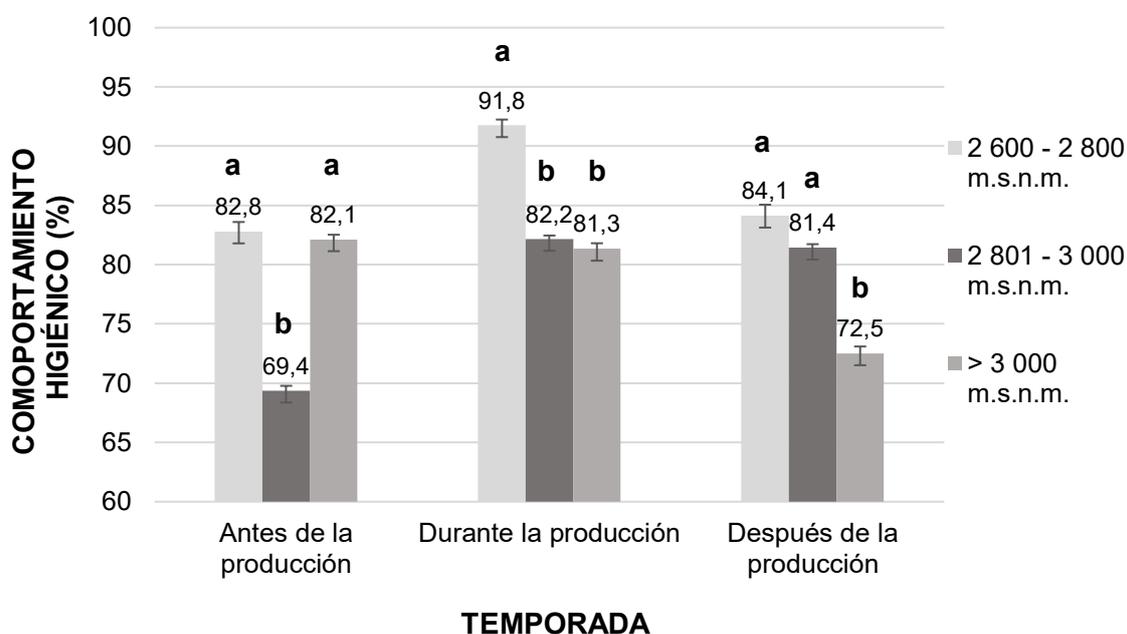
Resultados coincidentes reportaron Boutin et al., (2015), quienes después de realizar dos evaluaciones en años diferentes, indicaron un amplio rango de variación atribuible a la diferencia de estaciones. Sin embargo, el hecho de que las colonias muestren variabilidad para la expresión de este rasgo, se les atribuirá a la fuerte aptitud física o a una composición óptima de colonias, que se basa en la distribución de las obreras a diversas tareas (Scannapieco et al., 2016). Se encontraron los mejores porcentajes de higiene en el primer muestreo, en las colonias ubicadas en el primer piso (2 600 - 2 800 m.s.n.m.) y el tercer piso altitudinal ($> 3 000$ m.s.n.m.), no así para el segundo piso (2 801 - 3 000 m.s.n.m.).

En el segundo muestreo los porcentajes más altos de higiene se obtuvieron en el primer piso, con diferencias significativas ($P<0,05$) con el segundo y tercero, en el caso

del tercer piso las colonias mostraron un CH más bajo en relación con los otros. En el tercer muestreo se detectaron diferencias entre los dos primeros pisos y el tercero a favor de las menores altitudes (Figura 30). Estas diferencias pueden estar determinadas, entre otras cosas, por los cambios en el desarrollo de las colonias en diferentes períodos del año, al realizar cada muestreo (antes, durante y después de la mielada), donde influyen las variaciones ambientales que ocurren durante el año.

Los altos porcentajes de higiene en el segundo muestreo, coincidente con la mielada, pueden estar también relacionados con el estímulo que provoca en las abejas la abundante entrada de néctar y polen, que según Spivak y Downey (1998), incita a los insectos a realizar la limpieza de los panales, debido a la necesidad de espacio para almacenar estos productos en la colonia; igualmente, Janmaat y Winston (2000) agregan que la fuerte entrada de néctar durante la mielada estimula la postura de la reina, lo que requiere de celdas limpias. Los criterios anteriores apoyan la idea de la importancia de realizar análisis seriados del CH durante el año y determinar la media de estos para evaluar las poblaciones de abejas en determinada región.

Figura 28. Comportamiento higiénico en cada período de evaluación de colonias por los diferentes pisos altitudinales del altiplano central del Ecuador.



Los datos representan las medias \pm DS (n=75 colmenas/muestreo). Letras diferentes significan diferencias significativas entre los grupos (Student Newman Keuls). p = significancia en medias.

4.2 Evaluación del comportamiento defensivo de colonias de *Apis mellifera* en el altiplano central del Ecuador

En respuesta al estímulo físico utilizado para evaluar la conducta defensiva, se comprobó un valor medio de $14,43 \pm 7,47$ aguijones/min, además los valores máximos y mínimos para este rasgo conductual fueron de 46,7 y 4 aguijones/min respectivamente. Los resultados obtenidos en esta investigación son inferiores a los dados a conocer en Brasil por Faita et al., (2014) al evaluar colonias de abejas africanizadas, con valores medios de 28.4 ± 2.50 y $22,2$ aguijones/min, respectivamente.

En el mismo país, Pinto et al., (2016) hallaron una media de 27 aguijones/minuto. Estas diferencias en cuanto al CD pueden ser debido a que en Brasil las abejas africanizadas han permanecido por más tiempo en comparación las de la zona de estudio, como también a los repetidos y distintos episodios de hibridación, ya que en este país se inició el proceso de africanización y existe un mayor grado de introgresión de genes, lo que conduce a fijar en mayor nivel las características de la *A. m. scutellata* en los individuos. Asimismo, Esquivel et al., (2015) en México, sugieren que los promedios de números de aguijones en la zona de montaña, son menores que en la zona valle.

Factores ambientales como la altitud no influyeron sobre el CD de las colonias ($r=0.15$; $P=0.2$); resultados similares fueron aportados por Mantilla et al., (1997) en Colombia Esquivel et al., (2015) en México y; pero son contradictorios a los indicados por Büchler et al., (2013) y Delaplane et al., (2013) quienes señalan que los factores medioambientales pueden influir en la expresión de este rasgo conductual.

Asimismo, Villa (1988) acota que los factores ambientales como la altitud influyen en el número de aguijones, ya que a medida que la temperatura se incrementa el CD es mayor y cuando la temperatura es menor la cantidad también se reduce. De acuerdo con este criterio los resultados de esta investigación son bajos en comparación con otras regiones y pudieron ser afectados por la altitud, ya que se debe tomar en cuenta que en la

zona del altiplano hay una reducción de un grado de temperatura por cada incremento en la altitud de 200 m (Ron et al., 2019).

Barrera (2013) y Esquivel et al., (2015) significan que el hecho de encontrar baja respuesta defensiva en las colonias es un resultado importante y valioso, ya que esta característica se convierte en un punto de interés en el mejoramiento genético, lo que permite utilizarlas como colmenas progenitoras para iniciar proyectos de selección, en base a esta característica que es altamente heredable. Además se reporta que el CD se incrementa con la hibridación de abejas europeas y africanizadas (Brizuela 2003); de la misma manera sucede cuando se cruzan líneas puras europeas (Uzunov et al., 2014).

En lo que se refiere a las colonias en estudio, se pudo apreciar que momentos antes del primer aguijoneo tienen comportamientos de advertencia, tales como el batido intenso de las alas, propinar golpes al objetivo (banderilla) y también al individuo evaluador, con el objetivo de ahuyentarlo y así evitar un ataque suicida. Se presentaron colonias con abejas más sensibles que responden con ataques directos y en mayor número a los estímulos del evaluador; por lo que se puede indicar que una alta cantidad de individuos en la colmena no es un indicador de la intensidad del CD (Vaziritabar et al., 2016); consecuentemente esta característica puede estar influida por efectos de dominancia genética y por efectos paternos (Guzmán-Novoa et al., 2005). Además, se observó la manifestación de comportamientos defensivos diferenciados en un mismo apiario, aun cuando las colonias eran mantenidas en condiciones similares, lo que concuerda con lo referido por Pinto et al., (2016).

Las colonias de abejas africanizadas tienen alta tendencia a la enjambrazón y en cada uno de estos enjambres, las reinas portan genes responsables del alto CD que serán transmitidos a sus descendientes; igualmente hay que tomar en cuenta el apareamiento entre las reinas producidas en colmenares con zánganos africanizados, los cuales poseen genes para la actitud defensiva (Faita et al., 2014), lo cual es considerado la fuerza principal que desplaza los genes europeos.

El alto CD de los híbridos africanizados ha sido uno de los principales problemas asociados con su presencia en la mayoría de los países de América, pues dificulta en buena medida el manejo de las colonias y ha provocado accidentes en el caso de personas y animales (Scott et al., 2004). Esta situación hace necesario buscar que la selección

favorezca el predominio de genes ventajosos mediante planes de mejoramiento ya que, si estas progenitoras se mantienen en la población, también se harán los genes responsables de este comportamiento.

4.3 Determinación de las Tasas de Infestación

En la investigación se determinó que la Varroasis está presente en toda la zona de estudio (Tabla 9); observándose un incremento de las colonias infestadas por varroa con el avance de la temporada, en lo que también hay que considerar los cambios en el comportamiento del parásito a lo largo del año, determinados por las condiciones ambientales.

Tabla 9. Colonias infestadas por *Varroa destructor* antes, durante y después de la producción en el altiplano central del Ecuador.

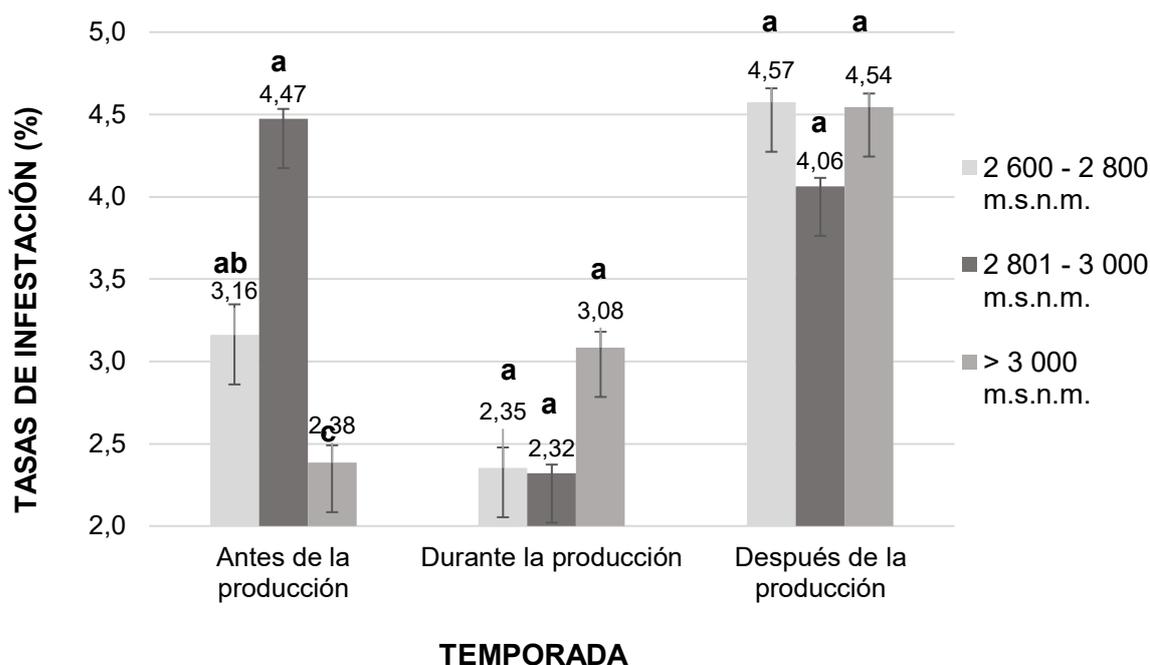
PROVINCIA	Colonias infestadas (%)		
	Antes	Durante	Después
TUNGURAHUA	86,7	96,7	100
CHIMBORAZO	93,3	93,3	100

La alta prevalencia del ácaro puede estar asociada con diferentes causas, entre las que cabe señalar el manejo incorrecto de las colonias por algunos productores, la trashumancia y la falta de un programa de mejoramiento a nivel de región. Valores de prevalencia inferiores fueron hallados en México por Medina-Flores et al., (2014) que alcanzaron el 88 %, mientras que en Estados Unidos, Rose et al., (2014) diagnosticaron una prevalencia del 90 % y en Argentina, Tiranti et al., (2011) solo reportaron un 23,12 %.

Se obtuvo una TIA media para los tres muestreos de $3,47 \pm 1,56$ % con valores máximos de 12 %; en estos periodos de evaluación se presentó variabilidad en las TIA que obtuvieron valores de 3,5 %; 2,6 % y 4,3 % para el primero, segundo y tercer muestreo, respectivamente; mostrándose las menores TIA durante la etapa de producción. Se encontraron TIA medias de 3,36 %; 3,61 %; 3,33 % para cada piso altitudinal (2 600

- 2 800; 2 801 - 3 000; > 3 000 m.s.n.m.). Además, se presentaron diferencias significativas únicamente en el primer muestreo para las TIA del tercer piso altitudinal ($P < 0.05$) y, al pasar la etapa de producción, las TIA fueron similares en toda la zona de estudio (Figura 31).

Figura 29. Infestación por *Varroa destructor* en cada período de evaluación y en distintos pisos altitudinales del altiplano central del Ecuador.



Los datos representan las medias \pm DS ($n=75$ colonias/muestreo). *Letras diferentes significan diferencias significativas entre los grupos (Student Newman Keuls).

Estas TIA son inferiores a las encontradas en Cuba por Sanabria et al., (2015), quienes hallaron TIA de 5,36 %, mientras Pérez (2014) confirmó valores entre 7,51 % y 6,07 % para líneas paternas y maternas, respectivamente; por su parte en México, Contreras et al., (2016) señalan promedios de 6,76 % y 6,82 % para el indicador. Este comportamiento pudiera estar ligado al efecto de las condiciones ambientales, así como a la mayor o menor presencia de africanización en los apiarios.

Sin embargo, no existió correlación entre la altitud y la TIA; resultados contradictorios fueron hallados por Muli et al., (2014) ya que los niveles de varroa se

correlacionaron positivamente con la altitud. Al mismo tiempo, el no encontrar correlación entre la elevación y los niveles de varroa, sugiere que el ácaro ha logrado adaptarse a las condiciones ambientales del altiplano, ya que existen TIA con ligeras variaciones en los tres pisos altitudinales, aunque también influiría el componente genético de las abejas, ya que las TIA encontradas son inferiores a las halladas en poblaciones de genotipo europeo y similares a las de origen africano.

El aumento en las TIA (media 4,4 %; con máximos de 12 %) durante el tercer muestreo (agosto y septiembre) podría estar asociado con factores como la mielada, la disminución de las poblaciones de abejas y además al desplazamiento de una mayor cantidad de ácaros hacia las abejas adultas; pues en este período hay una reducción de la postura de la reina, debido a la finalización de la temporada de producción (Sanabria 2007).

Aparejado a ello, durante los meses de marzo y abril se identificaron tasas promedio de 3,34 % (máximo de 12 %), lo que podría deberse a que en ese período las colonias se encuentran en mejor estado de población y existe una gran cantidad de zánganos, los cuales son más atractivos para el ácaro (Vandame 2000). Además existen nacimientos masivos ya que esta etapa es previa a la época de producción.

Factores como la presencia de otros patógenos (Bahreini y Currie 2015), condiciones de temperatura y humedad, uso del suelo, carga de pesticidas y disponibilidad de recursos (Giacobino et al., 2014) pueden promover la diseminación de varroa. Sin embargo, los niveles de infestación encontrados en el estudio están dentro de un rango no letal para las colonias (Medina-Flores et al., 2011), pero pueden propiciar la introducción de enfermedades y causar efectos negativos en el rendimiento.

4.4 Evaluación de la producción de miel

Se pudo identificar una producción media de $25,08 \pm 4,82$ kg donde no se hallaron relaciones ($r=0,07$) ni diferencias significativas ($P=0,576$) con los diferentes pisos altitudinales (Tabla 10). La no evidencia de diferencias en las producciones de miel entre los diferentes pisos altitudinales, podría explicarse si se tiene en cuenta que la evaluación se realizó en el período de mayor flujo nectarario en la región; lo que coincide con la

floración masiva del eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill*), principal especie nectarífera de la región (Masaquiza et al., 2017).

Tabla 10. Producción de miel en distintos pisos altitudinales en el altiplano central del Ecuador.

Producción (kg)	PISOS ALTITUDINALES (m.s.n.m.)		
	2 600 – 2 800	2 801 – 3 000	> 3 000
N	15	35	25
Media	25,80*	24,37*	25,64*
Desv. típ.	7,00	4,28	3,97
Mínimo	13	15	20
Máximo	35	32	36

*=sin diferencias significativas (P>0,05), ANOVA una vía.

Los criterios mencionados son coincidentes con los de Muli et al., (2014) quienes indican que la abundancia y tipo de floración constituyen el principal factor que determina la producción, aunque no son descartables factores relacionados con el manejo de las colonias.

De forma similar en México, Medina-Flores et al., (2014) encontraron una producción media de 27,5 kg en otoño y de 21,6 kg en primavera para colonias con alto CH; y para aquellas con bajo CH 21,42 y 13,45 kg, respectivamente, en altitudes inferiores a los 1 400 m.s.n.m.

La producción de miel depende de la interacción de factores como el tamaño poblacional, la laboriosidad de las abejas y el medio ambiente.

4.5 Relación entre las variables: comportamiento higiénico y defensivo con las tasas de infestación y producción de miel

La influencia de la localidad se manifiesta en variabilidad de la expresión de los rasgos conductuales, TIA y producción que puede interpretarse como la suma de todos los componentes abióticos y bióticos en un entorno dado (Uzunov et al., 2014). Además, los distintos genotipos pueden variar en el grado en que sus fenotipos se ven afectados por condiciones ambientales específicas (Büchler et al., 2014).

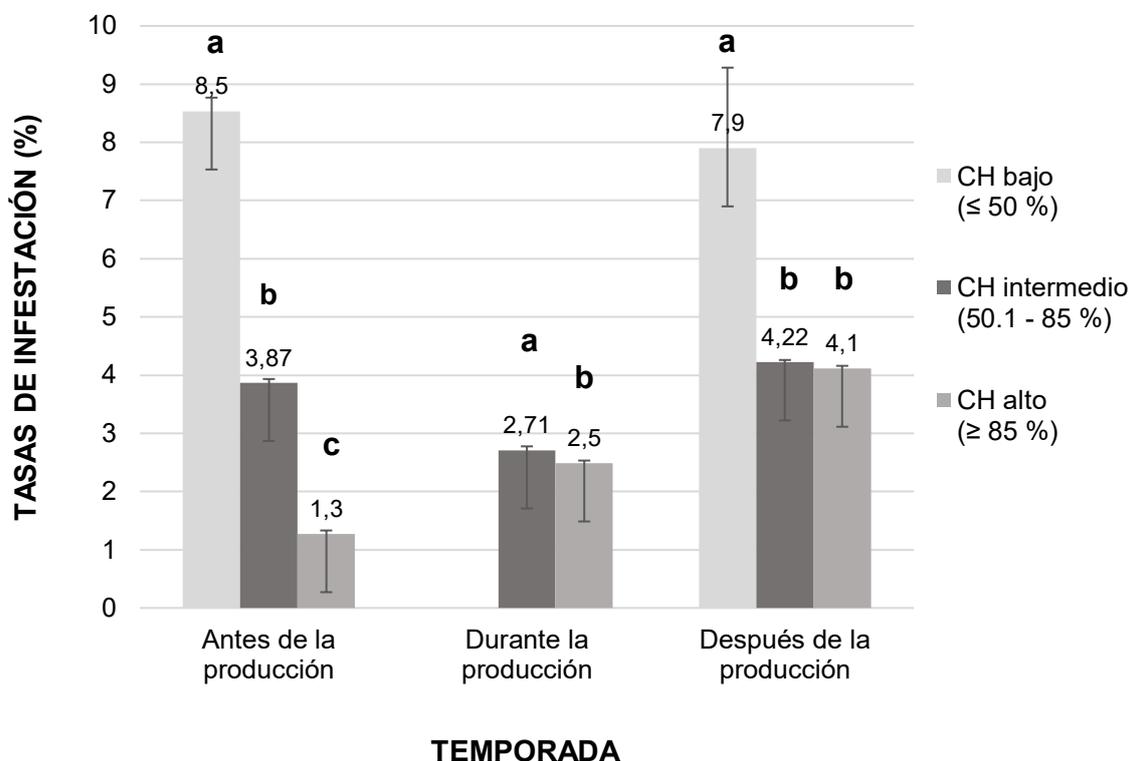
El CH y las TIA del primer muestreo presentaron una correlación negativa ($r=-0,49$, $P<0,01$), no así para el segundo y el tercero ($r=-0,11$ y $r=-0,12$ respectivamente). Los resultados obtenidos concuerdan con lo informado por Moretto (1996), quien encontró una correlación ($r=-0,70$) entre el CH y la tasa de infestación por varroa en abejas africanizadas y sugirió una mayor resistencia de estas abejas al parásito. De la misma manera, Muli et al., (2014) en poblaciones africanizadas de África del este, hallaron una correlación negativa significativa ($r=-0,42$) entre el CH y el número de varroas. Sin embargo, en México Mondragón et al., (2005) así como en Chile, Araneda et al., (2008), no establecieron relación significativa entre la tasa de infestación por varroa y el CH de colonias africanizadas.

La efectividad del CH en la reducción de las TIA se ve condicionada por factores como la etapa de desarrollo de las colonias, las condiciones ambientales (Hatjina et al., 2014) y la biología del parásito (Rosenkranz et al., 2010). Sin embargo, algunas investigaciones revelan que las abejas son dependientes sobre la autodefensa o la resistencia natural (Akinwande et al., 2013) por lo que la evaluación del CH es la clave de la tolerancia y resistencia general de las abejas a las plagas y enfermedades.

Cabe señalar que las abejas de ascendencia europea en climas tropicales como el de Cuba (Pérez 2014) tienen mayor CH que a los del presente trabajo. Al mismo tiempo, las TIA son más altas; lo que sugiere que estas abejas posiblemente tienen alta aptitud higiénica de limpieza, pero no así la capacidad de detección de varroa en celdas de cría como en las abejas africanizadas. Por lo que las colonias de ascendencia predominantemente africana, son relativamente menos susceptibles a las infestaciones de varroa, que las de ascendencia europea, independientemente del ambiente.

Al clasificar el CH en base a su magnitud y compararlo con las TIA, se detectaron TIA totales promedio de 2,62 % para las colonias con CH alto; 3,6 % para colonias con CH medio; 8,22 % para las colonias con CH bajo (Figura 32), lo que indica que aquellas colonias con mayor CH presentan menos carga parasitaria. Gempe et al., (2016) sugieren que las diferencias cuantitativas en el desempeño higiénico a nivel de colonia se deben a diferentes porcentajes de obreras que se dedican a la tarea higiénica, ya que la cantidad de abejas se triplica en colonias con alto CH.

Figura 30. Infestación por *Varroa destructor* en relación con el comportamiento higiénico (bajo - medio - alto), en cada período de evaluación en el altiplano central del Ecuador.



Los datos representan las medias \pm DS (n=75 colonias/muestreo). * Letras diferentes significan diferencias significativas entre los grupos (Student Newman Keuls).

Se identificaron diferencias en las TIA en los tres muestreos donde las colonias con CH alto y medio tuvieron las TIA más bajas. Sin embargo, Medina-Flores et al., (2014) no detectaron diferencias para los niveles de infestación de *V. destructor* entre las colonias con CH alto y bajo. Por otra parte, Pinto et al., (2012) en Brasil obtuvieron alta heterogeneidad en los resultados al evaluar el CH y las TIA en abejas africanizadas.

Frazier et al., (2011) argumentan que las colonias altamente higiénicas debido a su hábito de limpieza, tienden a tener un patrón disperso o irregular de celdas operculadas o sin opercular; debido a la tendencia de detectar varroas y extraerlas (Reyes 2016). Cabe resaltar que las abejas en estudio no recibieron ningún método de control de ácaros durante los meses anteriores a los muestreos. No obstante, las TIA fueron bajas (3,4 %),

lo que sugiere un proceso de adaptación a *V. destructor* por parte de las abejas de la zona de estudio.

Datos similares reportaron Rosenkranz et al., (2010) en Brasil con abejas africanizadas (3 - 4 %) y de forma similar, Berry et al., (2010) 3,3 a 5,1 % en Estados Unidos. Además se indica que en poblaciones de *A. m. scutellata* en Sudáfrica, la presencia de los ácaros varroa es común, aunque las TIA nunca superan los 4 % (Strauss et al., 2013).

Por su parte, Coelho et al., (2015a) indicaron que en Europa, Asia y América del Norte las abejas melíferas europeas sufrieron grandes pérdidas de colonias, en comparación con abejas de ciertas partes del mundo, con mayor supervivencia frente al patógeno, como en el caso de las africanizadas de Brasil, que exhiben comportamientos diferenciados, con cierta resistencia y tolerancia a varroa (Hamiduzzaman et al., 2012).

Las abejas africanizadas de Brasil son genéticamente idénticas a su raza africana ancestral, *A. m. scutellata*, por lo que muestran cualidades genotípicas diferentes a la raza europea (Scott et al., 2004). El CH es un rasgo heredable, que no se aprende (Boutin et al., 2015). Los resultados del presente trabajo apoyan los reportes de que el CH confiere tolerancia a las colonias de abejas contra el parásito, debido a su alta heredabilidad ($h^2=0,65$) de acuerdo con Harbo y Harris (1999a), por lo que se transmite a las demás generaciones incluso si las condiciones ambientales son diferentes a las de sus antecesores, como sucede en los diferentes pisos altitudinales en el altiplano del Ecuador.

En lo referente a la producción de miel se encontraron correlaciones positivas con el CH promedio ($r=0,26^*$, $P=0,04$). Igualmente, Garcia et al., (2013) encontraron en abejas africanizadas alta correlación ($r=0,73$) entre las variables y Uzunov et al., (2014) en abejas europeas ($r=0,17^*$).

Las mayores producciones en la zona de estudio se obtuvieron en el grupo de colonias con CH alto (26,46 kg/colonia) y las menores en colonias con CH intermedio (23,43 kg/colonia), con 12,9 % más de miel en las primeras. Resultados similares dieron a conocer Medina-Flores et al., (2014), donde las colonias con alto CH produjeron 23 % más miel que el grupo de colonias con CH bajo.

Las diferencias en la producción pueden ser debido a que las colonias con alto CH, eliminan con mayor rapidez enfermedades y parásitos (Akinwande et al., 2014; Contreras et al., 2016), por lo que los efectos dañinos del ácaro son mínimos, lo que permite producción de miel superior (Bigio et al., 2014).

En general, los resultados del presente trabajo sugieren que es posible la selección, tanto para un mayor CH, como para mayor producción de miel. Sin embargo, no significa que estos rasgos estén genéticamente vinculados (Leclercq et al., 2017).

Por otro lado no se encontró correlación entre el CD y la producción de miel. Sin embargo (Bahraini et al., 2018) en la subespecie *A. m. meda* encontraron una correlación positiva de 0,21 entre la producción de miel y el CD, esta subespecie es un recurso de alto valor genético debido a su adaptabilidad a la sequía y pobre vegetación. Los resultados del presente estudio confirman que se pueden seleccionar colmenas para planes de mejoramiento genético, con alta producción y bajo CD, rasgo de mucha importancia en la apicultura.

Las TIA y la producción de miel carecieron de correlación, aunque cabe señalar que los niveles de infestación de ácaros fueron bajos y con rendimientos productivos aceptables. Kefuss et al., (2015) y Namayanja (2018) acotan que el parásito puede afectar gravemente la producción de miel de las colonias cuando las TIA son superiores al 5 %.

Aunque existen varios niveles de infestación para considerarla baja o alta; en Argentina se consideran altas infestaciones cuando la TIA son mayores al 1 %, después de haber recibido tratamiento acaricida (Giacobino et al., 2015) y mayores al 3 % antes de recibir tratamiento acaricida (Giacobino et al., 2014).

Asimismo, Paray y Gupta (2017) demostraron que existen pérdidas en la producción de miel desde el 1 % de infestación e incrementa con el aumento de las infestaciones; lo cual depende de la zona, el clima y otros factores que intervienen en la producción de miel. La literatura científica proporciona resultados contradictorios con los de la presente investigación, entre el efecto de la infestación por varroa en la producción de miel.

La infestación por *Varroa destructor* afecta los beneficios en la calidad de los lípidos, proteínas y producción de miel en áreas con altas intensidad de cultivo agrario (Dolezal et al., 2016). Además la falta de relación entre las TIA y la producción melífera

no significa que *Varroa destructor* esté ausente en las colonias, sino que, gracias a sus mecanismos de defensa, estas abejas pueden tolerar sus efectos debido a las bajas infestaciones en las colonias.

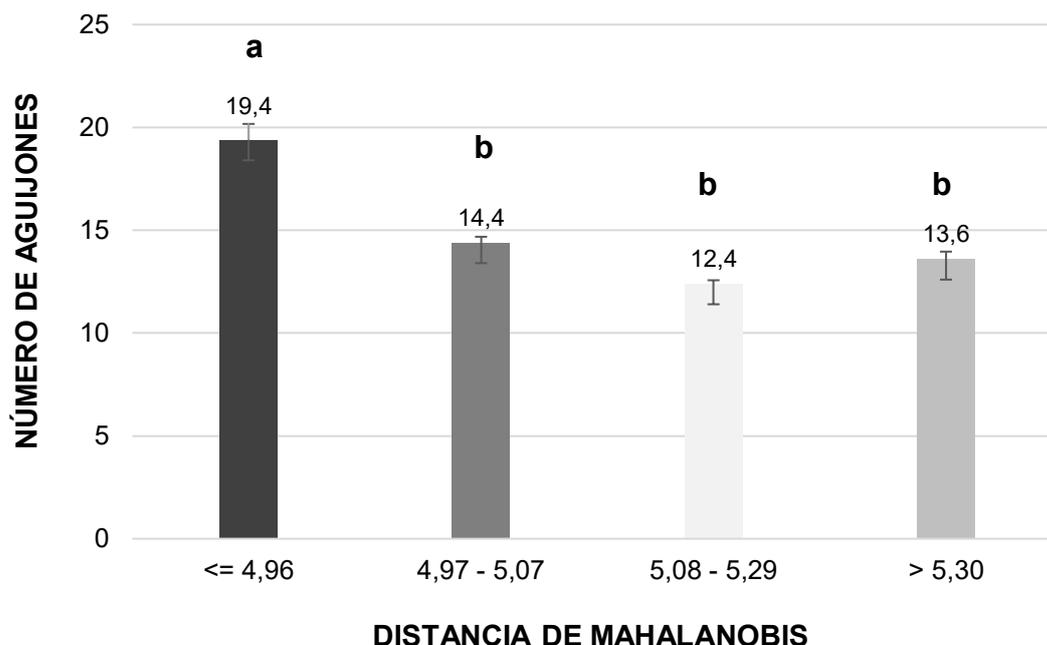
Con relación al CH y el CD se estableció una correlación negativa ($r=-0,291$, $P<0,05^*$), resultados similares lograron Uzunov et al., (2014) en abejas europeas en una evaluación por dos años consecutivos. Estos especialistas hallaron en el primer año una correlación negativa, lo que indica la posibilidad de encontrar colonias con alto CH y bajo CD. En algunos programas de selección de *Apis mellifera* se asume que las colonias con altos CH son más defensivas (Leclercq et al., 2017).

No se confirmó correlación entre el CD y las distancias de Mahalanobis obtenidas de abejas africanizadas en la zona central del Ecuador señaladas por Masaquiza et al., (2019), sin embargo, se pudo identificar diferencias significativas ($P<0,05$) para el 25 % de las poblaciones que corresponden a las de mayor identidad con *Apis mellifera scutellata* ($D2= <4,96$) con mayor CD (media=19,36 agujones/min) en relación con el resto de colonias (Figura 33).

Estos resultados confirman que a mayor grado de africanización las abejas tienden a ser más defensivas. Avalos et al., (2017) señalan que las abejas africanizadas son altamente agresivas en comparación con las abejas melíferas europeas. Además el comportamiento defensivo tanto de las abejas europeas como de las africanizadas disminuye con la altura.

Sin embargo, el CD de las abejas en el altiplano del presente trabajo son mayores que el informe sobre abejas europea a 500 m.s.n.m. (Villa 1988). La rápida evolución durante el proceso de dispersión a nuevos hábitats puede generar cambios importantes en las características, como los rasgos morfológicos o de coloración, generalmente controlados por uno o más loci genéticos principales (Avalos et al., 2017).

Figura 31. Asociación del número de agujones y la africanización de *Apis mellifera*.



Los datos representan las medias \pm DS (n=75 colonias). * Letras diferentes significan diferencias significativas entre los grupos (Student Newman Keuls).

4.6 Discusión General y Conclusiones

- **Discusión General**

La apicultura en Ecuador tuvo un marcado desarrollo y pasó de ser una actividad marginal a representar una importante fuente de productos e ingresos para muchas familias campesinas (Masaquiza et al., 2017). Sin embargo, el desarrollo futuro de la producción apícola en el país necesita reordenarse para permitir una sistematización del parque apícola por áreas, la modernización masiva de las colmenas y la introducción de esquemas de salud en la especie.

Además, es necesario establecer centros de producción de abejas reinas y programas de manejo integrado de las enfermedades que tengan en cuenta la diversidad genética existente, dada la variedad de condiciones geográficas y medioambientales que caracterizan el territorio ecuatoriano.

El presente trabajo proporciona el primer informe sobre las relaciones entre caracteres conductuales, TIA por *V. destructor* y la producción de miel, en altitudes superiores a 2 600 m.s.n.m. Estos resultados sirven como base para los procesos de

selección de poblaciones de abejas con características sanitarias y productivas adaptadas al altiplano del Ecuador, más dóciles y con altos comportamientos higiénicos. Como consecuencia, es factible reducir el empleo de medicamentos y plaguicidas en el control del ácaro varroa y otras enfermedades.

Aunque el CH presentó correlaciones negativas con la altitud y las TIA por *V. destructor*, no hubo relación entre estas dos últimas. Sin embargo, algunos autores indican una correlación positiva entre la altitud y el número de adultos de *V. destructor* en Kenia (Muli et al., 2014) y Tanzania (Mumbi et al., 2014). Contradictoriamente, Chemurot et al., (2016) determinaron mayor número de ácaros cuando aumentaba la altitud y sugieren que los factores medioambientales, como temperatura y humedad, pudieran actuar indirectamente y modificar la conducta del hospedero, no así con el ácaro, ya que la *V. destructor* carece de estadios de vida libre.

En el caso del CD tampoco tuvo una correlación con el CH, resultados similares están descritos en abejas europeas (Kefuss et al., 1996). En contraposición durante una pesquisa en varias regiones europeas se detectó una correlación negativa entre el CD y el CH, aunque hubo diferencias marcadas entre los diferentes genotipos europeos (Uzunov et al., 2014).

Se conoce que las abejas africanizadas en Las Américas presentan mayor CD que las de genotipo europeo (Faita et al., 2014). De la misma forma, tanto las europeas como las africanizadas disminuyen el CD con la altitud (Villa 1988). Estos especialistas además discuten que la temperatura es el factor con mayor influencia en el CD y señalan que aunque las africanizadas mantienen mayor CD, en ambientes fríos el comportamiento carece de valor discriminante para la clasificación y puede traer consigo falsos negativos en la identificación.

Conjuntamente debe evitarse la endogamia para permitir el incremento de la susceptibilidad ante brotes de enfermedades, la tendencia a la enjambrazón y alta CD, entre otras características negativas asociadas con la africanización, como señalan (Seeley y Tarpy 2006).

Para fomentar la diversidad entre líneas de reproducción, algunos programas de cría mantienen líneas separadas que luego se cruzan. En el caso del altiplano del Ecuador, deben crearse centros de crianza de reinas, como bancos de germoplasma para promover procesos de selección y mejoramiento de caracteres de importancia zootécnica que muestren altas correlaciones y heredabilidad (CH, CD, TIA por *V. destructor*, producción de miel).

- **Conclusiones**

Las TIA de *Varroa destructor* y la producción melífera carecen de relación con la altitud en el altiplano central del Ecuador, propone que los factores ambientales no modulan los niveles de varroa ni de producción.

El comportamiento higiénico de las abejas en el altiplano central del Ecuador presenta una relación inversa con la altitud con independencia del proceso de africanización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbo P., Kawasaki J., Hamilton M., Cook S., DeGrandi-Hoffman G., Li W., et al. 2017 Effects of Imidacloprid and *Varroa destructor* on survival and health of European honey bees, *Apis mellifera*. *Insect Science*, 24, 467-477.
- Abizanda Javier 2018 Caracterización morfométrica y molecular de las abejas melíferas en la provincia de Huesca. Tesis fin de Master. Universidad de Zaragoza, Escuela Politécnica Superior., 5-85.
- Abou-Shaara Hossam F 2013 Wing venation characters of honey bees. *Journal of Apiculture*, 28(2), 79-86.
- Achou Mohamed, Loucif-Ayad W, Legout H, Hmidan H, Alburaki M, and Garnery L 2015 An insightful molecular analysis reveals foreign honey bees among Algerian honey bee populations (*Apis mellifera* L.). *Data Mining Genomics Proteomics*, 6, 166.
- Acosta Jonathan 2018 *Caracterización morfométrica y molecular de Apis mellifera provenientes de colmenas localizadas en las provincias de Pichincha, Imbabura y Carchi-Ecuador*. (Ingeniería Tesis de Ingeniería), Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Ecuador.
- Adams Dean, Rohlf F, and Slice Dennis 2004 Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, 71(1), 5-16.
- AGROCALIDAD. (2016). *Programa Nacional Sanitario Apícola. Dirección de Control Zoonosario. Gestión de Manejo y Control de Enfermedades Animales*. Quito - Ecuador: Retrieved from www.agrocalidad.gob.ec.
- Akinwande K. , Badejo M. , and Ogbogu S. 2013 Morphometrics and Parasitic load of Varroa mites (Acari: Varroidea) on Colonies of *Apis mellifera adansonii* in south-west Nigeria. *Acarina*, 21(1), 17-25.
- Akinwande K., Badejo M., and Ogbogu S. 2014 Hygienic behavioural mechanism of resistance to diseases and parasites in west african honey bee colonies *Apis mellifera adansonii* (HYMENOPTERA: APIDAE). *International Journal of Entomology Research*, 2(2), 73-79.
- Alburaki Mohamed, Bertrand Bénédicte, Legout Hélène, Moulin Sibyle, Alburaki Ali, Sheppard Walter Steven, et al. 2013 A fifth major genetic group among honeybees revealed in Syria. *BMC genetics*, 14(1), 117.
- Alfalah Hassan Almahdi, Shaibi Taher, Tawfiq Marwan Mohamed, and Mogrby Abdulrahim Abdulgawad 2012 The effects of wax comb age on some

- morphometrics characteristics of honey bee (*Apis mellifera* L.) workers. *Persian Gulf Crop Protection*, 1(1), 18-23.
- Alpatov W 1929 Biometrical studies on variation and races of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *The Quarterly Review of Biology*, 4(1), 1-58.
- Alpatov WW 1938 Contribution to the study of variation in the honeybee, VI. Carniolan and Crimean bees and their places among other forms of *Apis mellifera*. *Zool. J*, 17, 473-481.
- Alqarni Abdulaziz S, Hannan Mohammed A, Owayss Ayman A, and Engel Michael S 2011 The indigenous honey bees of Saudi Arabia (Hymenoptera, Apidae, *Apis mellifera jemenitica* Ruttner): Their natural history and role in beekeeping. *ZooKeys*(134), 83.
- Anderson D, and Trueman J 2000 *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, 24, 165-189.
- Ángel-Beamonte Enresto, Martín-Ramos Pablo, Santolaria Pilar, Sales Ester, Abizanda Javier, and Yániz Jesús L 2018 Automatic determination of landmark coordinates for honey bee forewing venation using a new MATLAB-based tool. *Journal of Apicultural Research*, 57(5), 605-610.
- Anido Matilde 2013 Epidemiología de los principales patógenos de interés apícola en Uruguay.
- Annoscia Desiderato, Del Piccolo Fabio, Covre Francesca, and Nazzi Francesco 2015 Mite infestation during development alters the in-hive behaviour of adult honeybees. *Apidologie*, 46(3), 306-314.
- Araneda X. , Bernaldes M. , Solano J., and Mansilla K. 2010 Comportamiento de acicalamiento de abejas (Hymenoptera: Apidae) sobre *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 36(2), 232-234.
- Araneda Ximena, Pérez Roberto, Castillo Claudia, and Medina Leovigildo 2008 Evaluación del comportamiento higiénico de *Apis mellifera* L. en relación al nivel de infestación de *Varroa destructor* Anderson y Trueman. *Idesia (Arica)*, 26(2), 59-67.
- Arathi H., Burns I., and Spivak M. 2000 Ethology of hygienic behavior in the honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae): behavioral repertoire of hygienic bees. *Ethology*, 106, 365-379.

- Ardestani Masoud M 2015 Investigating the influence of postcapping period on varroa mite infestation. *Journal of Apicultural Research*, 54(4), 335-341.
- Arechavaleta-Velasco Miguel, Hunt Greg, Spivak Marla, and Camacho-Rea Carmen 2011 Loci de rasgos binarios que influyen en la expresión del comportamiento higiénico de las abejas melíferas. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2(3), 238-298.
- Avalos Arian, Pan Hailin, Li Cai, Acevedo-Gonzalez Jenny P., Rendon Gloria, Fields Christopher J., et al. 2017 A soft selective sweep during rapid evolution of gentle behaviour in an Africanized honeybee. *Nature Communications*, 8(1), 1550. doi: 10.1038/s41467-017-01800-0
- Aydin L., Gulegen E., Cakmak I., and Girisgin A. 2007 The occurrence of Varroa destructor on Honeybees (*Apis mellifera*) in Turkey. *Turkey Journal Veterinary Animal Science*, 31(3), 189 -191.
- Bahraini R, Ebadi R, Kamali MA, Tahmasbi Gh, Gharadaghi AA, Babaei M, et al. 2018 Genetic Trends and Parameters of Honey Production, Swarming and Defense Behavior in Iranian Honeybee (*Apis mellifera meda*) Colonies.
- Bahreini Rassol, and Currie Robert 2015 The influence of Nosema (Microspora: Nosematidae) infection on honey bee (Hymenoptera: Apidae) defense against *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 132, 57-65.
- Barour Choukri, Tahar Ali, and Baylac Michel 2011 Forewing shape variation in Algerian honey bee populations of *Apis mellifera intermissa* (Buttel-Reepen, 1906)(Hymenoptera: Apidae): a landmark-based geometric morphometrics analysis. *African Entomology*, 19(1), 11-22.
- Barour Chourki, and Baylac Michel 2016 Geometric morphometric discrimination of the three African honeybee subspecies *Apis mellifera intermissa*, *A. m. sahariensis* and *A. m. capensis* (Hymenoptera, Apidae): Fore wing and hind wing landmark configurations. *Journal of Hymenoptera Research*, 52(52).
- Barrera D. (2018). *Apicultura Chilena: actualización de mercado y estadísticas sectoriales*. Departamento de análisis de mercado y política sectorial. Chile: Retrieved from WWW.ODEPA.GOB.CL.
- Barrera R. . (2013). *Programa nacional para el control de la abeja Africana. Manual de cría de abejas reinas*. México: Retrieved from

<http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Manuales%20apcola/s/Attach>.

- Baylac M, Garnery L, Tharavy D, Pedraza-Acosta J, Rortais A, and Arnold G 2008 ApiClass, an automatic online wing morphometric expert system for honeybee worker identification. *Online at: <http://apiclass.mnhn.fr>*.
- Beaurepaire Alexis L, Ellis James D, Krieger Klemens J, and Moritz Robin FA 2019 Association of *Varroa destructor* females in multiply infested cells of the honeybee *Apis mellifera*. *Insect science*, 26(1), 128-134.
- Beaurepaire Alexis, Sann Christina, Arredondo Daniela, Mondet Fanny, and Le Conte Yves 2019 Behavioral Genetics of the Interactions between *Apis mellifera* and *Varroa destructor*. *Insects*, 10(9), 299.
- Benelli Giovanni, Pavela Roman, Petrelli Riccardo, Cappellacci Loredana, Santini Giuseppe, Fiorini Dennis, et al. 2018 The essential oil from industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) by-products as an effective tool for insect pest management in organic crops. *Industrial crops and products*, 122, 308-315.
- Berry Jennifer, Owens William, and Delaplane Keith 2010 Small-cell comb foundation does not impede Varroa mite population growth in honey bee colonies. *Apidologie*, 41(1), 40-44.
- Bienefeld K, and Pirchner F 1990 Heritabilities for several colony traits in the honeybee (*Apis mellifera carnica*). *Apidologie*, 21(3), 175-183.
- Bigio G., Al Toufailia H., and Ratnieks F. 2014 Honey bee hygienic behaviour does not incur a cost via removal of healthy brood. *J. Evol. Biol.* , 27, 226-230. doi:doi:10.1111/jeb.12288
- Boch R, and Rothenbuhler Walter 1974 Defensive behaviour and production of alarm pheromone in honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 13(4), 217-221.
- Bogdanov Stefan 2006 Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37(1), 1-18.
- Bonatti Vanessa, Simões Zilá Luz Paulino, Franco Fernando Faria, and Franco Tiago Mauricio 2014 Evidence of at least two evolutionary lineages in *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) suggested by mtDNA variability and geometric morphometrics of forewings. *Naturwissenschaften*, 101(1), 17-24.
- Bookstein FL 1991 Morphometric tools for landmark data Cambridge University Press. *New York*.
- Bookstein Fred L 1982 Foundations of morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13(1), 451-470.

- Bookstein Fred L. (1996). Combining the tools of geometric morphometrics *Advances in morphometrics* (pp. 131-151): Springer.
- Boutin Sébastien, Alburaki Mohamed, Mercier Pierre-Luc, Giovenazzo Pierre, and Derome Nicolas 2015 Differential gene expression between hygienic and non-hygienic honeybee (*Apis mellifera* L.) hives. *BMC genomics*, 16(1), 1.
- Branchiccela Belén, Aguirre Carlos, Parra Gloria, Estay Patricia, Zunino Pablo, and Antúnez Karina 2014 Genetic changes in *Apis mellifera* after 40 years of Africanization. *Apidologie*, 45(6), 752-756.
- Bravo L., Bustos, M., Cobo, A., Espinosa, E., Flores, M., Flores, J. M., Gijón, H., Giordani, G., Josa, A., Llorente, J., Martín, E., Navarro, C. J., Padilla, F., Pellín, P., Puerta, F., Romero, P., and Santidrián S., Serrano, I., Usón, J. y Writter, W. 1989 Cursos de apicultura: Temas teóricos básicos. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaria General Técnica. .
- Breed Michael, Guzmán-Novoa, and Hunt Greg 2004 Defensive behavior of honey bees: organization, genetics, and comparisons with other bees. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), 271-298.
- Brizuela F. 2003 *Flujo génico, comportamiento defensivo y efecto de la temperatura en colonias de Apis mellifera infestadas con Varroa destructor*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Büchler R, Andonov S, Bienefeld K, Costa C, Hatjina F, Kezic N, et al. 2013 Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-30.
- Büchler R., Costa C., Hatjina F., Andonov S., Meixner M., Le Conte Y., et al. 2014 The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 205-214.
- Buescu Elena, Gurau Maria Rodica, and Danes Doina. (2018). *Identification of the honeybee subspecies from some romanian counties using a semiautomatic system for analyzing wings*. Paper presented at the CBU International Conference Proceedings.
- Byatt MA, Chapman NC, Latty T, and Oldroyd BP 2016 The genetic consequences of the anthropogenic movement of social bees. *Insectes Sociaux*, 63(1), 15-24.
- Calderón R, Ureña S, Sánchez L, and Calderón R 2014 Comparación de la habilidad reproductiva y mortalidad del ácaro *Varroa destructor* en celdas con cría de

- obrero y zángano en abejas africanizadas de Costa Rica. . *Revista de Ciencias Veterinarias*, 30(1), 7-24.
- Cánovas Fernando, de la Rúa Pilar, Serrano José, and Galián José 2011 Microsatellite variability reveals beekeeping influences on Iberian honeybee populations. *Apidologie*, 42(3), 235-251.
- Cappa Federico, Bruschini Claudia, Protti Ilaria, Turillazzi Stefano, and Cervo Rita 2016 Bee guards detect foreign foragers with cuticular chemical profiles altered by phoretic varroa mites. *Journal of Apicultural Research*, 55(3), 268-277.
- Cardinal Sophie, and Danforth Bryan N 2013 Bees diversified in the age of eudicots. *Proc. R. Soc. B*, 280(1755), 20122686.
- Carpana E 2004 L'Aperegina Allevamento e Selezione. *IL Genere Apis: Evoluzione e Biogeografia. Parte 1. En: Genética. Capitolo 1. Istituto Nazionale di Apicoltura Bologna. Italia.*, 23-89.
- Cassian Teotimi, Mwakatobe Angela, Hamisi Issa, Richard Allen, and Machumu Raphael 2014 Parasitic mite, *Varroa species (Parasitiformes: Varroidae) infesting the colonies of African honeybees, Apis mellifera scutellata (Hymenoptera: Apididae) in Tanzania* (Vol. 188).
- Cepero Almudena Rodríguez 2016 *Monitorización de los principales patógenos de las abejas para la detección de alertas y riesgos sanitarios. Tesis doctoral, Departamento de Sanidad Animal. p9-12. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.*
- Cervo R., Bruschini C., Cappa F., Meconcelli S., Pieraccini G., Pradella D. , et al. 2014 High Varroa mite abundance influences chemical profiles of worker bees and mite–host preferences. *Journal of Experimental Biology*, 217, 2998-3001.
- Chapman Nadine, Lim Julianne, and Oldroyd Benjamin 2008 Population Genetics of commercial and feral honey bees in Western Australia. *Journal of Economic Entomology*, 101(2), 272-277. doi: 10.1093/jee/101.2.272
- Charistos Leonidas, Hatjina Fani, Bouga Maria, Mladenovic Mica, and Maistros Anastasios D 2014 Morphological discrimination of Greek honey bee populations based on geometric morphometrics analysis of wing Shape. *Journal of Apicultural Science*, 58(1), 75-84.
- Chávez-Galarza Julio, Galaschi-Teixeira Juliana S, Neves Cátia, Henriques Dora, Francoy Tiago M, and Pinto M Alice. (2016). *Geometric morphometrics of wings of drones and workers support a process of secondary contact in the Iberian*

- honey bee (Apis mellifera iberiensis)*. Paper presented at the EURBEE 2016: 7th European Conference of Apidology.
- Chávez-Galarza Julio, Garnery Lionel, Henriques Dora, Neves Cátia, Loucif-Ayad Wahida, Jonhston Spencer, et al. 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.
- Chávez-Galarza Julio, Henriques Dora, Johnston J Spencer, Carneiro Miguel, Rufino José, Patton John C, et al. 2015 Revisiting the Iberian honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) contact zone: maternal and genome-wide nuclear variations provide support for secondary contact from historical refugia. *Molecular Ecology*, 24(12), 2973-2992.
- Chemurot Moses, Brunain Marleen, Akol Anne, Descamps Tine, and de Graaf Dirk 2016 First detection of *Paenibacillus larvae* the causative agent of American Foulbrood in a Ugandan honeybee colony. *SpringerPlus*, 5(1), 1090.
- Chen Chao, Liu Zhiguang, Pan Qi, Chen Xiao, Wang Huihua, Guo Haikun, et al. 2016 Genomic analyses reveal demographic history and temperate adaptation of the newly discovered honey bee subspecies *Apis mellifera sinixinyuan* n. ssp. *Molecular biology and evolution*, 33(5), 1337-1348.
- Cobb Matthew 2000 Reading and writing the book of nature: Jan Swammerdam (1637–1680). *Endeavour*, 24(3), 122-128.
- Coelho F., Santos J., and Bliman P. 2015a Behavioral modulation of the coexistence between *Apis mellifera* and *Varroa destructor*: A defense against colony collapse? *PeerJ PrePrints*.
- Coelho Flávio C, Santos Joyce F, and Bliman Pierre-Alexandre J 2015b Behavioral modulation of the coexistence between *Apis melifera* and *Varroa destructor*: A defense against colony collapse? : *PeerJ PrePrints*.
- Collet T., Ferreira K., Arias M., Soares A., and Del Lama M. 2006 Genetic structure of Africanized honeybee populations (*Apis mellifera* L.) from Brazil and Uruguay viewed through mitochondrial DNA COI–COII patterns. *Heredity*, 97(5), 329.
- Collins Anita M, and Kubasek Kim J 1982 Field test of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony defensive behavior. *Annals of the Entomological Society of America*, 75(4), 383-387.
- Combes SA, and Daniel TL 2003 Flexural stiffness in insect wings I. Scaling and the influence of wing venation. *Journal of Experimental Biology*, 206(17), 2979-2987.

- Combey Rofela, Quandahor Peter, and Mensah Benjamin A 2018 Geometric Morphometrics Captures Possible Segregation Occurring within Subspecies *Apis Mellifera Adansonii* in Three Agro Ecological Zones. *Annals of Biological Research*, 9(3), 31-43.
- Contreras D., Pérez M., Payró E., Rodríguez G., Castañeda E., and Gómez R. 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 1975 La apicultura en el mundo pasado y presente. La colmena y la abeja melífera. Montevideo. *Hemisferio Sur*.
- Cridland Julie M, Tsutsui Neil D, and Ramírez Santiago R 2017 The complex demographic history and evolutionary origin of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Genome biology and evolution*, 9(2), 457-472.
- Crozier R., and Crozier Y. 1993 The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization. *Genetics* 133, 97-117.
- Daly Howell V, Hoelmer Kim, Norman Penelope, and Allen Tracy 1982 Computer-assisted measurement and identification of honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 75(6), 591-594.
- Danka R.G., Harris J.W., Villa J.D., and Dodds G.E. 2013 Varying congruence of hygienic responses to *Varroa destructor* and freeze-killed brood among different types of honeybees. *Apidologie*, 44, 447-457.
- Darger Katherine 2013 *Determining low levels of Africanization in unmanaged honey bee colonies using three diagnostic techniques*. (Master of Science in Entomology), University of Delaware, Estados Unidos.
- De Jong D, Roma D, and Goncalves L 1982 A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honeybees. *Apidologie*, 13(3), 297-306.
- De la Rúa P, Galián J, and Serrano J 1999 Variabilidad del ADN mitocondrial en poblaciones de abejas de la miel (*Apis mellifera* L.) de la Región de Murcia. *Investigación Agraria. Producción y sanidad animales* 14, 41-49.
- De la Rúa P., Galián J., Pedersen B., and Serrano J. 2006 Molecular characterization and population structure of *Apis mellifera* from Madeira and the Azores. *Apidologie*, 37(6), 699-708.

- De la Rúa Pilar, Jaffé Rodolfo, Dall'Olio Raffaele, Muñoz Irene, and Serrano José 2009 Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie*, 40(3), 263-284.
- De la Rúa Pilar, Martínez José, Domingo Obdulia, and Gabaldón Irene 2013 Caracterización molecular de la biodiversidad de la cabaña apícola de la provincia de Albacete. *Revista de Estudios Albacetenses*(9), 175-196.
- De Meulemeester Thibaut, Michez Denis, Aytekin Ahmet Murat, and Danforth Bryan Nicholas 2012 Taxonomic affinity of halictid bee fossils (Hymenoptera: Anthophila) based on geometric morphometrics analyses of wing shape. *Journal of Systematic Palaeontology*, 10(4), 755-764.
- Debat Vincent, Béagin Mattieu, Legout Hélène, and David Jean R 2003 Allometric and nonallometric components of Drosophila wing shape respond differently to developmental temperature. *Evolution*, 57(12), 2773-2784.
- Delaplane Keith, van der Steen Jozef, and Guzman-Novoa Ernesto 2013 Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-12.
- Dietemann Vincent, Nazzi Francesco, Martin Stephen J, Anderson Denis L, Locke Barbara, Delaplane Keith S, et al. 2013 Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-54.
- Diniz F., Hepburn H., Radloff S., and Fuchs S. 2000 Analysis of Morphometrical Variation in African honeybees (*Apis mellifera* L.) on a Continental Scale. *Apidologie*, 31, 191-204.
- Dolezal Adam G, Carrillo-Tripp Jimena, Miller W Allen, Bonning Bryony C, and Toth Amy L 2016 Intensively cultivated landscape and varroa mite infestation are associated with reduced honey bee nutritional state. *PloS one*, 11(4), e0153531.
- DuPraw EJ 1965 Non-Linnean taxonomy and the systematics of honeybees. *Systematic Zoology*, 14(1), 1-24.
- Eimanifar Amin, Brooks Samantha A, Bustamante Tomas, and Ellis James D 2018 Population genomics and morphometric assignment of western honey bees (*Apis mellifera* L.) in the Republic of South Africa. *BMC genomics*, 19(1), 615.
- Eimanifar Amin, Kimball Rebecca, Braun Edward, and Ellis James 2018 Mitochondrial genome diversity and population structure of two western honey bee subspecies in the Republic of South Africa. *Scientific reports*, 8(1), 1333.

- Engel Michael, Hinojosa-Díaz Ismael, and Rasnitsyn Alexandr 2009 A Honey Bee from the Miocene of Nevada and the Biogeography of *Apis* (Hymenoptera: Apidae: Apini). *Proceedings of the California academy of Sciences*, 60 (3), 23-28.
- Engel Michael S 1999 The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*).
- Escribano Miguel Ángel Brezmes, Vázquez Iván García, and Vela Raúl Martín. (2014). *Hidromiel en contextos de la antigüedad*. Paper presented at the Investigaciones Arqueológicas en el valle del Duero. Del Paleolítico a la Antigüedad Tardía: actas de las III Jornadas de Jóvenes Investigadores del Valle del Duero Salamanca 20, 21 y 22 de noviembre de 2013.
- Espinosa L., Guzmán-Novoa E., Sánchez A., Montaldo H., and Correa A. 2007 Estudio comparativo de tres pruebas para evaluar el comportamiento higiénico en colonias de abejas (*Apis mellifera* L). *Vet. Méx.*, , 39(1), 39-54.
- Esquivel Samir, Macías-Macías José, Tapia-González José, Contreras-Escareño Francisca, Mantecón León, and Silva-Contreras Amador 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.
- Faita Márcia, Mattoso Rita, Vieira Valter, and Chaud-Netto José 2014 Defensive behavior of africanized honeybees (Hymenoptera: Apidae) in Dourados-Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revista Colombiana de Entomología*, 40(2), 235-240.
- FAO. (2016). *¿Cómo podemos proteger a los polinizadores y promover su papel en las prácticas agrícolas y ambientales?* . Paper presented at the Foro Global sobre Seguridad Alimentaria y Nutrición
- FAO. (2018). Estadísticas FAOSTAT. from <http://www.fao.org/faostat/es/#data>.
- Ferreira Helena Mendes 2017 Diversity patterns of honey bee (*Apis mellifera* L.) populations from the Archipelago of the Azores: insights from mtDNA and wing geometric morphometrics.
- Fontanillas J., García I., Aránzazu M., Higes M., and Moreno M. 2007 Diferencias morfométricas entre la abeja *Apis mellifera iberica* y la abeja rusa de la region de Primorsky. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 1(2), 8-21.
- Forfert N. , Natsopoulou M., Frey E., Rosenkranz P. , Paxton R., and Moritz R. 2015 Parasites and pathogens of the honeybee (*Apis mellifera*) and their influence on inter-colonial transmission. *PLoS ONE*, 10(10).

- Francis Roy M, Kryger Per, Meixner Marina, Bouga Maria, Ivanova Evgeniya, Andonov Sreten, et al. 2014 The genetic origin of honey bee colonies used in the COLOSS Genotype-Environment Interactions Experiment: a comparison of methods. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 188-204.
- Franck P, Garnery L, Loiseau A, Oldroyd BP, Hepburn HR, Solignac M, et al. 2001 Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data. *Heredity*, 86(4), 420-430.
- Franck Pierre, Garnery Lionel, Solignac Michel, and Cornuet Jean-Marie 2000 Molecular confirmation of a fourth lineage in honeybees from the Near East. *Apidologie*, 31(2), 167-180.
- Francoy T, Wittmann D, Drauschke M, Müller S, Steinhage V, Bezerra-Laure M, et al. 2008 Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39(5), 488-494.
- Francoy Tiago Mauricio, Grassi Marina Lopes, Imperatriz-Fonseca Vera Lucia, de Jesús May-Itzá William, and Quezada-Euán José Javier G 2011 Geometric morphometrics of the wing as a tool for assigning genetic lineages and geographic origin to *Melipona beecheii* (Hymenoptera: Meliponini). *Apidologie*, 42(4), 499.
- Francoy Tiago, Prado Pedro, Gonçalves Lionel, da Fontoura Costa Luciano, and De Jong David 2006 Morphometric differences in a single wing cell can discriminate *Apis mellifera* racial types. *Apidologie*, 37(1), 91-97.
- Francoy TM, Wittmann D, Steinhage V, Drauschke M, Müller S, Cunha DR, et al. 2009 Morphometric and genetic changes in a population of *Apis mellifera* after 34 years of Africanization. *Genet. Mol. Res*, 8(2), 709-717.
- Frazier Maryann, Caron Dewey, and VanEngelsdorp Dennis 2011 *A field guide to honey bees and their maladies*: Pennsylvania State University.
- Froylán M., Alcalá E., Leal H. , Rodríguez A. , and Martínez A. 2011 Manual de capacitación. Prevención de Varroosis y suplementación.: Instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en microbiología animal.
- Galindo A. 2013 Especies Invasoras. *Apis mellifera* L., de África vinieron todas. Boletín de la Sociedad Entomológica Argentina (SEA) (Vol. 23, pp. 3-4).
- García P 2007 Control de varroosis de las abejas con manejo tipo orgánico. *Apitec*.(65), 3-8.

- Garcia Regina, Oliveira Newton, Camargo Simone, Pires Bruno, Oliveira Carlos, Teixeira Rodrigo, et al. 2013 Honey and propolis production, hygiene and defense behaviors of two generations of Africanized honey bees. *Scientia Agricola*, 70(2), 74-81.
- Garnery L, Cornuet J-M, and Solignac M 1992 Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Molecular ecology*, 1(3), 145-154.
- Garnery L., Franck P., Baudry E., Vautrin D., Cornuet J., and Solignac M. 1998 Genetic diversity of the west European honey bee (*Apis mellifera* and *A. m. iberica*). *Genetics Selection Evolution*, 30, 31-47. doi: 10.1186/1297-9686-30-S1-S31
- Garrido-Bailón E 2012 *Repercusión potencial en la cabaña apícola española de agentes nosógenos detectados en colonias de Apis mellifera iberiensis*. (Tesis Doctoral), Universidad Complutense de Madrid, Madrid -España.
- Gempe Tanja, Stach Silke, Bienefeld Kaspar, Otte Marianne, and Beye Martin 2016 Behavioral and molecular studies of quantitative differences in hygienic behavior in honeybees. *BMC Research Notes*, 9(1), 474. doi: 10.1186/s13104-016-2269-y
- Genersch E., and Aubert M. 2010 Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Vet. Res*, 41, 54.
- Giacobino A., Bulacio C., Merke J., Orellano E., Bertozzi E. , Masciangelo G., et al. 2014 Risk factors associated with the presence of *Varroa destructor* in honey bee colonies from east-central Argentina. *Prev. Vet. Med.*, 115, 280-287.
- Giacobino Agustina, Molineri Ana, Cagnolo Natalia Bulacio, Merke Julieta, Orellano Emanuel, Bertozzi Ezequiel, et al. 2015 Risk factors associated with failures of Varroa treatments in honey bee colonies without broodless period. *Apidologie*, 46(5), 573-582.
- Gill Richard J., Ramos-Rodriguez Oscar, and Raine Nigel E. 2012 Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. *Nature*, 491(7422), 105-108. doi: 10.1038/nature11585
- Gilliam M., Taber S. , Lorenz P., and Prest D. 1988 Factors affecting development of chalkbrood disease in colonies of honey bees, *Apis mellifera*, fed pollen contaminated with *Ascosphaera apis*. *Journal of Invertebrates Pathology*, 25, 314-325.

- González-Varo Juan P, Biesmeijer Jacobus C, Bommarco Riccardo, Potts Simon G, Schweiger Oliver, Smith Henrik G, et al. 2013 Combined effects of global change pressures on animal-mediated pollination. *Trends in ecology & evolution*, 28(9), 524-530.
- Graciano Laura 2018 *Niveles de infestación de Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae) en abejas africanizadas (Apis mellifera scutellata)*. (Magister Tesis de Maestría), Universidad Nacional de Colombia-Medellín, Colombia.
- Gramacho K, Gonçalves L, Rosenkranz P, and De Jong D 1999 Influence of body fluid from pin-killed honey bee pupae on hygienic behavior. *Apidologie*, 30(5), 367-374.
- Gramacho K. 1999 *Fatores que interferem no comportamento higiênico das abelhas Apis mellifera*.
- Granadillo N 2009 Índices de infestación y reproducción del ácaro Varroa destructor en colmenas de abejas africanizadas. Estado Zulia, Venezuela. Tesis de grado. pp: 3-4.
- Granda Ojeda Rodrigo Esteban 2017 *Análisis del potencial de la actividad apícola como desarrollado socioeconómico en sectores rurales*. Quito.
- Grassi Marina, and Gonçalves Lionel 2009 Discriminação morfométrica de 26 subespécies de *Apis mellifera L.* e abelhas Africanizadas por técnicas de morfometria tradicional, morfometria geométrica e sistema ABIS de identificação automática de espécies.
- Gruber Karl, Schöning Caspar, Otte Marianne, Kinuthia Wanja, and Hasselmann Martin 2013 Distinct subspecies or phenotypic plasticity? Genetic and morphological differentiation of mountain honey bees in East Africa. *Ecology and evolution*, 3(10), 3204-3218.
- Guzmán-Novoa E, Hunt G, Page Jr R, Uribe-Rubio J, Prieto-Merlos D, and Becerra-Guzman F 2005 Paternal effects on the defensive behavior of honeybees. *Journal of Heredity*, 96(4), 376-380.
- Guzman-Novoa Ernesto, Emsen Berna, Unger Peter, Espinosa-Montaño Laura G., and Petukhova Tatiana 2012 Genotypic variability and relationships between mite infestation levels, mite damage, grooming intensity, and removal of Varroa destructor mites in selected strains of worker honey bees (*Apis mellifera L.*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 110(3), 314-320. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.03.020>

- Guzmán-Novoa Ernesto, Hunt Greg, Uribe-Rubio José, and Prieto-Merlos Daniel 2004 Genotypic effects of honey bee (*Apis mellifera*) defensive behavior at the individual and colony levels: the relationship of guarding, pursuing and stinging. *Apidologie*, 35(1), 15-24.
- Hamiduzzaman M., Sinia A., Guzmán-Novoa E., and Goodwin P. 2012 Entomopathogenic fungi as potential biocontrol agents of the ecto-parasitic mite, *Varroa destructor*, and their effect on the immune response of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Invertebrate Pathology*, 111(3), 237-243.
- Hamiduzzaman Mollah, Guzmán-Novoa Ernesto, Goodwin Paul, Reyes-Quintana Mariana, Koleoglu Gun, Correa-Benítez Adriana, et al. 2015 Differential responses of Africanized and European honey bees (*Apis mellifera*) to viral replication following mechanical transmission or *Varroa destructor* parasitism. *Journal of Invertebrate Pathology*, 126, 12-20. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.12.004>
- Hamiduzzaman Mollah Md, Emsen Berna, Hunt Greg J, Subramanyam Subhashree, Williams Christie E, Tsuruda Jennifer M, et al. 2017 Differential gene expression associated with honey bee grooming behavior in response to Varroa mites. *Behavior genetics*, 47(3), 335-344.
- Han Fan, Wallberg Andreas, and Webster Matthew T 2012 From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate? *Ecology and evolution*, 2(8), 1949-1957.
- Harbo John R, and Harris Jeffrey W 1999a Heritability in honey bees (Hymenoptera: Apidae) of characteristics associated with resistance to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *Journal of Economic Entomology*, 92(2), 261-265.
- Harbo John R, and Harris Jeffrey W 1999b Selecting honey bees for resistance to *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 30(2-3), 183-196.
- Harpur Brock A, Kent Clement F, Molodtsova Daria, Lebon Jonathan MD, Alqarni Abdulaziz S, Owayss Ayman A, et al. 2014 Population genomics of the honey bee reveals strong signatures of positive selection on worker traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(7), 2614-2619.
- Hatjina F., Costa C., Büchler R., Uzunov A., Drazic M., Filipi J., et al. 2014 Population dynamics of European honey bee genotypes under different environmental conditions. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 233-247. doi: <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.05>

- Hernández FC 2013 Caverna de la Araña: Obtenido de Madrid, España: Ecomuseo de Bicorp.: <http://www.imbabura.gob.ec>.
- Hidalgo M., and Mena S. 2003 *Proyecto de viabilidad de implementación de una granja apícola en la parroquia de Nanegalito*. (Tesis de Ingeniería en Ciencias Administrativas Tesis de Ingeniería), Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito (no publicado).
- Hogue Charles Leonard, and Hogue Joe 1993 *Latin American insects and entomology*: Univ of California Press.
- Hunt Greg, Guzmán-Novoa Ernesto, Uribe-Rubio José, and Prieto-Merlos Daniel 2003 Genotype–environment interactions in honeybee guarding behaviour. *Animal Behaviour*, 66(3), 459-467.
- Ivanova EN, Staykova TA, and Bouga M 2007 Allozyme variability in honey bee populations from some mountainous regions in the southwest of Bulgaria. *Journal of Apicultural Research*, 46(1), 3-7.
- Ivanova EN, Staykova TA, and Petrov PP 2010 Allozyme variability in populations of local Bulgarian honey bee. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(sup1), 379-384.
- Ivanova Evgeniya, Bouga Maria, Staykova Teodora, Mladenovic Mica, Rasic Sladjan, Charistos Leonidas, et al. 2012 The genetic variability of honey bees from the Southern Balkan Peninsula, based on alloenzymic data. *Journal of Apicultural Research*, 51(4), 329-335.
- Jaffe Rodolfo, Dietemann Vincent, Allsopp Mike H, Costa Cecilia, Crewe Robin M, DALL'OLIO RAFFAELE, et al. 2010 Estimating the density of honeybee colonies across their natural range to fill the gap in pollinator decline censuses. *Conservation biology*, 24(2), 583-593.
- Janmaat F., and Winston L. 2000 Removal of *Varroa jacobsoni* infested brood in honey bee colonies with differing pollen stores. *Apidologie*, 31, 377-385.
- Jaramillo N 2011 Morfometría Geométrica: Principios Teóricos y Métodos de Empleo. *Research Gate*, 7(4), 23.
- Jarnevich Catherine, Esaias Wayne, Ma Peter, Morisette Jeffery, Nickeson Jaime, Stohlgren Thomas, et al. 2014 Regional distribution models with lack of proximate predictors: Africanized honeybees expanding north. *Diversity and Distributions*, 20(2), 193-201.

- Kamrani B, Pirany N, Hashemi A, and Kamrani M 2012 Genetic characterization of honey bees (Hymenoptera: Apidea) populations from North West of Iran using RAPD markers. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 2(12), 430-435.
- Kandemir İ., Moradi M. G., Özden B., and Özkan A. 2009 Wing geometry as a tool for studying the population structure of dwarf honey bees (*Apis florea Fabricius* 1876) in Iran. *Journal of Apicultural Research*, 48(4), 238-246.
- Kandemir İrfan, Kence Meral, and Kence Aykut 2000 Genetic and morphometric variation in honeybee (*Apis mellifera* L.) populations of Turkey. *Apidologie*, 31(3), 343-356.
- Kandemir İrfan, Özkan Ayça, and Fuchs Stefan 2011 Reevaluation of honeybee (*Apis mellifera*) microtaxonomy: a geometric morphometric approach. *Apidologie*, 42(5), 618.
- Kastberger G., Thenius R. , Stabentheiner A., and Hepburn R. 2009 Aggressive and docile colony defense patterns in *Apis mellifera*. A retreat-releaser concept. *Journal of Insect Behavior* 22, 65-85.
- Kefuss J., Taber S., Vanpoucke J., and Rey F. 1996 A practical method to test for disease resistance in honey bees. *American Bee Journal*, 136(1), 31-32.
- Kefuss John, Vanpoucke Jacques, Bolt Maria, and Kefuss Cyril 2015 Selection for resistance to *Varroa destructor* under commercial beekeeping conditions. *Journal of Apicultural Research*, 54(5), 563-576.
- Kekeçoğlu Meral 2018 Morphometric Divergence of Anatolian Honeybees through Loss of Original Traits: A Dangerous Outcome of Turkish Apiculture. *Sociobiology*, 65(2), 232-243.
- Kelomey Aude, Paraiso Armand, Sina Haziz, Legout Hélène, Adjanooun Adolphe, Garnery Lionel, et al. 2017 Genetic Variability of the Mitochondrial DNA in Honeybees (*Apis mellifera* L.) from Benin. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 7, 557-566.
- Kendall Maurice, and Stuart Alan 1977 The advanced theory of statistics. Vol. 1: Distribution theory. London: Griffin, 1977, 4th ed.
- Kerr Warwick E 1967 The history of the introduction of African bees in Brazil. *South African Bee J.*, 39, 33-35.
- Khongphinitbunjong Kitiphong, De Guzman L., Tarver M., Rinderer T., Chen Y., and Chantawannakul P. 2014 Differential viral levels and immune gene expression in

- three stocks of *Apis mellifera* induced by different numbers of *Varroa destructor*. *Journal of Insect Physiology*, 72, 28-34.
- Khongphinitbunjong Kitiphong, de Guzman Lilia, Rinderer Thomas E, Tarver Matthew R, Frake Amanda M, Chen Yanping, et al. 2016 Responses of Varroa-resistant honey bees (*Apis mellifera* L.) to deformed wing virus. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 19(4), 921-927. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2016.08.008>
- Kielmanowicz Merav Gleit, Inberg Alex, Lerner Inbar Maayan, Golani Yael, Brown Nicholas, Turner Catherine Louise, et al. 2015 Prospective large-scale field study generates predictive model identifying major contributors to colony losses. *PLoS pathogens*, 11(4), e1004816.
- Klingenberg Christian Peter 2010 Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. *Nature Reviews Genetics*, 11(9), 623.
- Klingenberg Christian Peter 2011 MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular ecology resources*, 11(2), 353-357.
- Knight K. 2014 Varroa mites switch hitch preference as hive collapses. *The Journal of Experimental Biology*, 217, 2985–2986.
- Koka Ayça Özkan, and Kandemir Irfan 2013 Comparison of two morphometric methods for discriminating honey bee (*Apis mellifera* L.) populations in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 37(2), 205-210.
- Kono Y., and Kohn J. 2015 Range and frequency of africanized honey bees in California (USA). *PLoS One*, 10(9), e0137407.
- Kuster R. , Oncristiani H., and Rueppell O. 2014 Immunogene and viral transcript dynamics during parasitic *Varroa destructor* mite infection of developing honey bee (*Apis mellifera*) pupae. *J. Exp. Biol.*, 217, 1710-1718.
- Labougle J., and Zozaya J. 1986 La apicultura en México. *Ciencia y desarrollo*, 12(69), 17-36.
- Lawing A Michelle, and Polly P David 2010 Geometric morphometrics: recent applications to the study of evolution and development. *Journal of Zoology*, 280(1), 1-7.
- Lazaneo Vincent 2002 Bee alert: Africanized honey bee facts.
- Leclercq Gil, Pannebakker Bart, Gengler Nicolas, Nguyen Bach Kim, and Francis Frédéric 2017 Drawbacks and benefits of hygienic behavior in honey bees (*Apis mellifera* L.): a review. *Journal of Apicultural Research*, 56(4), 366-375. doi: 10.1080/00218839.2017.1327938

- Lightbody Kirsty, Davis Paul, and Austin Corrine 2016 Validation of a novel saliva-based ELISA test for diagnosing tapeworm burden in horses. *Veterinary Clinical Pathology*.
- Lin Zheguang, Page Paul, Li Li, Qin Yao, Zhang Yingying, Hu Fuliang, et al. 2016 Go east for better honey bee health: *Apis cerana* is faster at hygienic behavior than *A. mellifera*. *PloS one*, 11(9), e0162647.
- Liu Mei, Ma Na, and Hua Bao-Zhen 2016 Intraspecific morphological variation of the scorpionfly *Dicerapanorpa magna* (Chou)(Mecoptera: Panorpidae) based on geometric morphometric analysis of wings. *Contributions to Zoology*, 85(1).
- Locke Barbara 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.
- Locke Barbara 2016b Natural Varroa mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations. *Apidologie*, 47(3), 467-482.
- MAG. (2018). *Ecuador tiene 1760 apicultores registrados*. Ministerio de Agricultura y Ganadería Quito - Ecuador: Retrieved from <https://www.agricultura.gob.ec>.
- MAGAP. (2017). *Programa Nacional Apícola*. Quito - Ecuador.
- Magnus Roxane, and Szalanski Allen 2010 Genetic evidence for honey bees (*Apis mellifera* L.) of Middle Eastern lineage in the United States. *Sociobiology*, 55(1), 285.
- Mantilla C., Idárraga A., García M., and Bravo A. 1997 Relación entre factores internos y externos a una colonia de abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* híbrida) (Hymenoptera: Apidae) y su efecto en el comportamiento de manejo y pecoreo. *Revista de la Facultad de Ciencias (Universidad Nacional de Colombia)*, 5(1), 46-57.
- Marini Gina Verónica, Bulacio Cagnolo Natalia Verónica, Rodríguez Graciela Adriana, and Figini Emilio Eduardo 2017 Valle de Uco. Prevalencia de Varroa destructor en el periodo 2016-2017: INTA. Programa Nacional de Apicultura (ProApi).
- Martorell Ximo, and Martínez Trinidad 2022 Las Cuevecicas del Estiércol (Quesa, Valencia) y su aportación al debate en torno a la figura femenina en el Arte Rupestre Levantino del macizo del Caroig.
- Masaquiza D., Curbelo L., and Arenal A. 2019 Caracterización de *Apis mellifera* mediante morfometría geométrica del ala en diferentes pisos altitudinales en la zona centro del Ecuador. Paper presented at the "I Convención Internacional

- Científico Tecnológica de la Universidad de Camagüey", Cayo Santa María - Villa Clara - Cuba.
- Masaquiza Diego, Llerena Guido, Díaz Byron, Curbelo Lino , Carrasco Robinson, and Guapi Raul 2017 Caracterización de sistemas apícolas en la zona centro del Ecuador. *Agrisost*, 23(3), 118-127.
- Mattu VK, and Verma LR 1984 Morphometric studies on the indian honeybee, *apis cerana indica* f. Effect of seasonal variations. *Apidologie*, 15(1), 63-74.
- McDonnell C., Alaux C., Parrinello H., Desvignes J., Crauser D., Durbesson E., et al. 2013 Ecto and endoparasite induce similar chemical and brain neurogenomic responses in the honey bee (*Apis mellifera*). *BMC Ecology*, 13(1), 25. doi: 10.1186/1472-6785-13-25
- Medina-Flores C, Guzmán-Novoa E, Aguilera J, López M, and Medina S 2019 Condiciones poblacionales y alimenticias de colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en tres regiones del altiplano semiárido de México.
- Medina-Flores C, Guzmán-Novoa E, Hamiduzzaman M, Aréchiga-Flores C, and López M 2014 Africanized honey bees (*Apis mellifera*) have low infestation levels of the mite *Varroa destructor* in different ecological regions in México. *Genetics and Molecular Research*, 13(3), 7282-7293.
- Medina-Flores C., Guzmán-Novoa E., Aréchiga-Flores C., Gutiérrez-Bañuelos H., and Aguilera-Soto J. 2014 Producción de miel e infestación con *Varroa destructor* de abejas africanizadas (*Apis mellifera*) con alto y bajo comportamiento higiénico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5(2), 157-170.
- Medina-Flores CA., Guzmán-Novoa E., Aréchiga-Flores C., Aguilera-Soto J., and Gutiérrez-Piña F. 2011 Efecto del nivel de infestación de *Varroa destructor* sobre la producción de miel de colonias de *Apis mellifera* en el altiplano semiárido de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2(3), 313-317.
- Medina-Flores Carlos, Guzmán-Novoa Ernesto, Hamiduzzaman M, Aguilera Soto Jairo, Carlos López, and Marco A 2015 Africanización de colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en tres regiones climáticas del norte de México. *Veterinaria México OA*, 2(4), 1-9.
- Meixner Marina, Pinto Maria, Bouga Maria, Kryger Per, Ivanova Evgeniya, and Fuchs Stefan 2013 Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-28.

- Mendes Marcelo Fidelis Marques, Francoy Tiago Mauricio, Nunes-Silva Patrícia, Menezes Cristiano, and Imperatriz-Fonseca Vera Lucia 2007 Intra-populational variability of *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier 1836 (Hymenoptera, Meliponini) using relative warps analysis. *Bioscience journal*, 23.
- Mendoza Yamandú, Antúnez Karina, Branchiccela Belén, Anido Matilde, Santos Estela, and Invernizzi Ciro 2014 *Nosema ceranae* and RNA viruses in European and Africanized honeybee colonies (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Apidologie*, 45(2), 224-234.
- MGAP. (2018). *Sector Apícola: Estadísticas de Comercio Exterior*. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Uruguay: Retrieved from http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/informe_-_sector_apicola_-_comercio_exterior.
- Miguel I., Baylac M., Iriondo M., Manzano C., Garnery L., and Estonba A. 2010 Both geometric morphometric and microsatellite data consistently support the differentiation of the *Apis mellifera* evolutionary branch. *Apidologie*, 42, 150-161.
- Miguel Irati, Baylac Michel, Iriondo Mikel, Manzano Carmen, Garnery Lionel, and Estonba Andone 2011 Both geometric morphometric and microsatellite data consistently support the differentiation of the *Apis mellifera* M evolutionary branch. *Apidologie*, 42(2), 150-161.
- Miguel Irati, Garnery Lionel, Iriondo Mikel, Baylac Michel, Manzano Carmen, Steve W., et al. 2016 Origin, evolution and conservation of the honey bees from La Palma Island (Canary Islands): molecular and morphological data. *Journal of Apicultural Research*, 54(5), 427-440. doi: 10.1080/00218839.2016.1180017
- MINAG. (2014). *Programa de Mejoramiento Genético de la abeja Apis mellifera con abejas localmente adaptadas al ácaro Varroa destructor*. Cuba.
- MINAGRI. (2015). *Plan Nacional de Desarrollo Apícola (PNDA) 2015-2025*. Ministerio de Agricultura y Riego. Perú.
- Mondet F., de Miranda J., Kretzschmar A., Le Conte Y., and Mercer A. 2014 On the Front Line: Quantitative Virus Dynamics in Honeybee (*Apis mellifera* L.) Colonies along a New Expansion Front of the Parasite *Varroa destructor*. *PLoS Pathog* 10(8).
- Mondet Fanny, Kim Seo Hyun, de Miranda Joachim R., Beslay Dominique, Le Conte Yves, and Mercer Alison R. 2016 Specific Cues Associated With Honey Bee Social Defence against *Varroa destructor* Infested Brood. *Scientific Reports*, 6(1), 25444. doi: 10.1038/srep25444

- Mondragón L. , Spivak M. , and Vandame R. 2005 A multifactorial study of the resistance of honeybees *Apis mellifera* to the mite *Varroa destructor* over one year in México. *Apidologie*, 36(345-358).
- Moretti Caroline Julio, Costa Claudineia Pereira, and Francoy Tiago Maurício 2018 Wing morphometrics reveals the migration patterns of Africanized honey bees in Northeast Brazil. *Sociobiology*, 65(4), 679-685.
- Moretto G. . (1996). *Influência do Comportamento Higiénico no Grau de Determinado pelo Ácaro Varroa jacobsoni em Colônias de Abelhas Apis mellifera Africanizadas*. Paper presented at the V Congreso Ibero Latinoamericano de Apicultura, Mercedes -Uruguay.
- Mortensen A., and Ellis J. 2015 The frequency of African (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) matrilineal usurpation of managed European-derived honey bee (*A. mellifera* L.) colonies in the southeastern United States. *Insectes Sociaux*, 62(2), 151-155. doi: 10.1007/s00040-014-0383-1
- Muli Elliud, Patch Harland, Frazier Maryann, Frazier James, Torto Baldwin, Baumgarten Tracey, et al. 2014 Evaluation of the distribution and impacts of parasites, pathogens, and pesticides on honey bee (*Apis mellifera*) populations in East Africa. *PLoS one*, 9(4), e94459.
- Mumbi Cassian Teotimi, Mwakatobe Angela Richard, Mpinga Issa Hamisi, Richard Allen, and Machumu Raphael 2014 Parasitic mite, Varroa species (Parasitiformes: Varroidae) infesting the colonies of African honeybees, *Apis mellifera scutellata* (Hymenoptera: Apidae) in Tanzania. *J. Entomol. Zool. Stud*, 2(3), 188-196.
- Muñoz I, Lodesani M , and De la Rúa P 2014 Estimating introgression in *Apis mellifera siciliana* populations: are the conservation islands really effective? *Insect Conserv Divers*, 7(6), 563-571.
- Muñoz Tatiana, and Cumbal Emily 2022 *Descripción de las técnicas de laboratorio para la identificación de agentes que causan varroa (Varroa destructor), Acarapiosis (Acarapis woodi) y nosemosis (Nosema apis)*.
- Naeger Nicholas, Peso Marianne, Even Naïla, Barron Andrew, and Robinson Gene 2013 Altruistic behavior by egg-laying worker honeybees. *Current Biology*, 23(16), 1574-1578.
- Namayanja Diana 2018 *Infestation levels and control of the varroa mite (Varroa destructor) in managed honey bee colonies from Selected agro ecological zones of Uganda*. Makerere University.

- Nawrocka Anna, Kandemir İrfan, Fuchs Stefan, and Tofilski Adam 2018 Computer software for identification of honey bee subspecies and evolutionary lineages. *Apidologie*, 49(2), 172-184.
- Nazzi Francesco, and Le Conte Yves 2016 Ecology of *Varroa destructor*, the major ectoparasite of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Annual review of entomology*, 61, 417-432.
- Newton D., and Ostasiewski N 1986 A Simplified Bioassay for Behavioral Resistance to American Foulbrood in Honey-Bees (*Apis mellifera* L). *American Bee Journal*, 126(4), 278-281.
- Nogueira-Neto Paulo 1964 The spread of a fierce African bee in Brazil. *Bee World*, 45(3), 119-121.
- Nogueira-Neto Paulo 1972 Notas sobre a história da apicultura brasileira. *Manual de Apicultura*. Editora Agronomia Ceres, Sao Paulo, 17-32.
- Nouvian Morgane, Reinhard Judith, and Giurfa Martin 2016 *The defensive response of the honeybee Apis mellifera* (Vol. 219).
- Nunamaker Richard, and Wilson William 1982 Isozyme changes in the honeybee, *Apis mellifera* L., during larval morphogenesis. *Insect Biochemistry*, 12(1), 99-104.
- Nunes Lorena, Araújo Edilson, Marchini Luis, and Moreti Augusta 2012 Variation morphogeometrics of Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 102(3), 321-326.
- Oddie Melissa AY, Dahle Bjørn, and Neumann Peter 2017 Norwegian honey bees surviving *Varroa destructor* mite infestations by means of natural selection. *PeerJ*, 5, e3956.
- Oddie Melissa, Büchler Ralph, Dahle Bjørn, Kovacic Marin, Le Conte Yves, Locke Barbara, et al. 2018 Rapid parallel evolution overcomes global honey bee parasite. *Scientific Reports*, 8(1), 7704.
- Oleksa Andrzej, and Tofilski Adam 2015 Wing geometric morphometrics and microsatellite analysis provide similar discrimination of honey bee subspecies. *Apidologie*, 46(1), 49-60.
- Orjuela Parrado Rafael Leonardo 2018 Variación morfométrica de abejas africanizadas en un gradiente altitudinal de la Cordillera Oriental (Colombia). *Bogotá, D. C., Tesis de Maestría, Pontificia Universidad Javeriana*.
- Oyerinde A, Salako E, and Rabiou M 2017 Morphometric taxonomy of honeybee races of *Apis mellifera* L. in Kaduna state.

- Padilla F., and Flores J. 2011 La selección de abejas tolerantes a *Varroa destructor* (I). Un mundo sin varroa. *El Colmenar*, 104.
- Pantoja A , Smith–Pardo A, García A, Sáenz A, and Rojas F 2014 Principios y avances sobre polinización como servicio ambiental para la agricultura sostenible en países de Latinoamérica y el Caribe. Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO.
- Papachristoforou Alexandros, Rortais Agnès, Bouga Maria, Arnold Gérard, and Garnery Lionel 2013 Genetic characterization of the cyprian honey bee (*Apis mellifera cypria*) based on microsatellites and mitochondrial DNA polymorphisms. *Journal of Apicultural Science*, 57(2), 127-134.
- Paray MA, and Gupta Saurav 2017 Economic threshold of *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) infesting *Apis mellifera* in Kashmir. *Indian Journal of Entomology*, 79(1), 27-31.
- Paxton Robert J., Sakamoto Clarice H., and Rugiga Frederick C. N. 1994 Modification of honey bee (*Apis mellifera* L.) stinging behaviour by within-colony environment and age. *Journal of Apicultural Research*, 33(2), 75-82. doi: 10.1080/00218839.1994.11100853
- Péntek-Zakar E., Andrzej O., Borowik T., and Kusza S. 2015 Population structure of honey bees in the Carpathian Basin (Hungary) confirms introgression from surrounding subspecies. *Ecology and Evolution* 5(23), 5456-5467.
- Péntek-Zakar Erika, Oleksa Andrzej, Borowik Tomasz, and Kusza Szilvia 2015 Population structure of honey bees in the Carpathian Basin (Hungary) confirms introgression from surrounding subspecies. *Ecology and evolution*, 5(23), 5456-5467.
- Pereira R., Morais M., Francoy T., and Gonçalves L. 2013 Hygienic Behavior of africanized honey bees *Apis mellifera* directed towards brood in old and new combs during diurnal and nocturnal periods. *Journal Insects*, 4, 521-532.
- Pérez A. 2014 *Correspondencia de los índices de infestación por Varroa destructor y los mecanismos defensivos, con la condición de europeas y selectas de las colmenas en un Centro Genético de Producción de Abejas Reinas*. (Doctor en Ciencias Veterinarias Tesis Doctoral), Universidad Agraria de la Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez", Cuba.
- Pérez Hernández Anisley 2014 Correspondencia de los índices de infestación por *Varroa destructor* y los mecanismos defensivos, con la condición de europeas y

- selectas de las colmenas en un Centro Genético de Producción de Abejas Reinas. Tesis en opción al Grado Científico de Doctora en Ciencias Veterinarias. UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA HABANA.
- Pernal S., Baird D., Birmingham A., Higo H., Slessor K., and Winston M. 2005 Semiochemicals influencing the host-finding behavior of *Varroa destructor*. *Experimental and Applied Acarology*, 37, 1-26.
- Perrard A, Baylac M, Carpenter JM, and Villemant C 2014 Evolution of wing shape in hornets: why is the wing venation efficient for species identification? *Journal of Evolutionary Biology*, 27(12), 2665-2675.
- Pinto Fábio, Netto P., de Sousa Pereira Kleber, and Della Lucia Terezinha 2016 Repertoire of defensive behavior in Africanized honey bees (Hymenoptera–Apidae): variations in defensive standard and influence of visual stimuli. *Entomo Brasiliis*, 9(1), 6-9.
- Pinto Fábio, Puker A , and Barreto L 2012 The ectoparasite mite *Varroa destructor* Anderson and Trueman in southeastern Brazil apiaries: effects of the hygienic behavior of Africanized honey bees on infestation rates. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64(5), 1194-1199.
- Pinto Fábio, Puker Anderson, and Barreto Lídia 2011 *Varroa destructor* in Juquitiba, Vale do Ribeira, southeastern Brazil: seasonal effects on the infestation rate of ectoparasitic mites on honeybees.
- Pinto M Alice, Rubink William L, Coulson Robert N, Patton John C, and Johnston J Spencer 2004 Temporal pattern of Africanization in a feral honeybee population from Texas inferred from mitochondrial DNA. *Evolution*, 58(5), 1047-1055.
- Pinto Maria, Henriques Dora, Neto Margarida, Guedes Helena, Muñoz Irene, Azevedo João, et al. 2013 Maternal diversity patterns of Ibero-Atlantic populations reveal further complexity of Iberian honeybees. *Apidologie*, 44(4), 430-439.
- Pitchers William, Pool John E, and Dworkin Ian 2013 Altitudinal clinal variation in wing size and shape in African *Drosophila melanogaster*: one cline or many? *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 67(2), 438-452.
- Poklukar J 1999 Izboljšanje odbire čebel na proizvodne lastnosti z uporabo selekcijskega indeksa. *Zb. Biotehniške fak. Univ. v Ljubljani. Kmetijstvo. Zootehnika*, 74.
- Porrini Leonardo Pablo; Porrini, Martín P.; Garrido, P. Melisa; Fernandez Iriarte, Pedro; Eguaras, Martín Javier; Francoy, Tiago 2016 Análisis del grado de africanización

de colonias de *Apis mellifera* en Argentina mediante el uso de morfometría geométrica de alas.

XI Encuentro Biólogos En Red. Mar del Plata. Argentina.

Pritchard Dorian J 2016 Grooming by honey bees as a component of varroa resistant behavior. *Journal of Apicultural Research*, 55(1), 38-48.

Raffiudin Rika, and Crozier Ross H 2007 Phylogenetic analysis of honey bee behavioral evolution. *Molecular phylogenetics and evolution*, 43(2), 543-552.

Rafie Javad; Nazemi Mohamadi, Reza; Teimory, Hossein 2014 Comparison of two morphometrics methods for discriminating of honey bee (*Apis mellifera meda sk.*) populations in Iran.

Ramírez Santiago R, Nieh James C, Quental Tiago B, Roubik David W, Imperatriz-Fonseca Vera L, and Pierce Naomi E 2010 A molecular phylogeny of the stingless bee genus *Melipona* (Hymenoptera: Apidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(2), 519-525.

Ramsey Samuel D, Ochoa Ronald, Bauchan Gary, Gulbranson Connor, Mowery Joseph D, Cohen Allen, et al. 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.

Rangel Juliana, Giresi Melissa, Pinto Maria, Baum Kristen, Rubink William, Coulson Robert, et al. 2016 Africanization of a feral honey bee (*Apis mellifera*) population in South Texas: does a decade make a difference? *Ecology and evolution*, 6(7), 2158-2169.

Rašić Slađan, Mladenović Mića, and Stanisavljević Ljubiša 2015 Use of geometric morphometrics to differentiate selected lines of Carniolan honeybees (*Apis mellifera carnica*) in Serbia and Montenegro. *Archives of Biological Sciences*, 67(3), 929-934.

Reyes Fausto 2016 Efectividad de cuatro acaricidas en el control del ácaro (*Varroa destructor*) en abejas (*Apis mellifera L.*).

Rinderer T., Harris J, Hunt G., and de Guzman L. 2010 Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America. *Apidologie*, 41, 409–424

Rinderer T., Sylvester H., Collins A., Lancaster V., Crewe R., Davis G., et al. 1987 Morphometric differences between South American Africanized and South African (*Apis mellifera scutellata*) honey bees. *Apidologie*, 18(3), 217-222.

- Rinderer Thomas E, de Guzman Lilia I, Delatte GT, Stelzer JA, Lancaster VA, Kuznetsov Victor, et al. 2001 Resistance to the parasitic mite *Varroa destructor* in honey bees from far-eastern Russia. *Apidologie*, 32(4), 381-394.
- Roberts J, Anderson D, and Tay W 2015 Multiple host shifts by the emerging honeybee parasite, *Varroa jacobsoni*. *Molecular Ecology*, 24(10), 2379-2391.
- Rodriguez Almudena 2016 *Monitorización de los principales patógenos de las abejas para la detección de alertas y riesgos sanitarios*: Universidad Complutense de Madrid.
- Rodríguez M., Neira M. , Moran A. , Loyola R., and Gerding M. . (2010). *Control Integrado de Varroa destructor*. Boletín. 209, Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- Rohlf F James. (1990). *Rotational fit (Procrustes) methods*. Paper presented at the Proceedings of the Michigan morphometrics workshop.
- Rohlf F James, and Bookstein Fred L 2003 Computing the uniform component of shape variation. *Systematic Biology*, 52(1), 66-69.
- Rohlf F James, and Corti Marco 2000 Use of two-block partial least-squares to study covariation in shape. *Systematic Biology*, 49(4), 740-753.
- Rohlf F. James 2000 Statistical power comparisons among alternative morphometric methods. *American Journal of Physical Anthropology*, 111(4), 463-478. doi: doi:10.1002/(SICI)1096-8644(200004)111:4<463::AID-AJPA3>3.0.CO;2-B
- Rohlf J., and Marcus Leslie. 1993 A revolution morphometrics. *Trends in Ecology & Evolution*, 8(4), 129-132. doi: [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(93\)90024-J](https://doi.org/10.1016/0169-5347(93)90024-J)
- Ron S., Merino-Viteri A., and Ortiz D. (2019). *Anfibios del Ecuador*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Version 2019.0. Museo de Zoología.
- Rortais A. , Arnold G., Alburaki M. , Legout H. , and Garnery L. 2011 Review of the Dral COI-COII test for the conservation of the black honeybee (*Apis mellifera mellifera*). *Conserv Genet Resour.*, 3(2), 383-391.
- Rose R, Pettis J, Rennich K, and van Engelsdorp D 2014 Estudio nacional de las plagas y enfermedades de la abeja melífera en Estados Unidos. *Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA)*.
- Rosenkranz P., Aumeier P., and Ziegelmann B. 2010 Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, S96-S119.

- Rothenbuhler Walter C 1964a Behavior genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F 1 and backcross generations to disease-killed brood. *American Zoologist*, 4(2), 111-123.
- Rothenbuhler Walter 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.
- Russo Romina M, Liendo Maria C, Landi Lucas, Pietronave Hernán, Merke Julieta, Fain Hernán, et al. 2020 Grooming behavior in naturally Varroa-resistant *Apis mellifera* colonies from north-central Argentina. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8, 590281.
- Ruttner F 1988a Biogeography and taxonomy of honeybees Springer. *Berlin, Germany*.
- Ruttner F 1988b Taxonomy and biogeography of honeybees (pp. 284): Springer, Berlin.
- Ruttner F., Tassencourt L., and Louveaux J. 1978 Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. Material and methods. *Apidologie*, 9(4), 363-381.
- SAGARPA. (2018). *Buenas prácticas pecuarias en la producción primaria de miel*. México.
- Salamanca Guillermo, Osorio Mónica, and Rodríguez Nelson 2012 Presencia e incidencia forética de *Varroa destructor* (Mesostigma: Varroidae) en colonias de abejas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), en Colombia. *Zootecnia Tropical*, 30(2), 183-195.
- San Martín G. (2010). Adults of *Varroa destructor* (female-male), mite parasiting the domestic bee (honeybee - *Apis mellifera*). Retrieved <https://www.flickr.com/photos/sanmartin/5048696928/in/photostream/>
- Sanabria J. 2007 *Índices de infestación, estatus racial y expresión de mecanismos de resistencia en colmenas sin control antivarroa*. (Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias Tesis Doctoral), Universidad Agraria de La Habana (UNAH), Cuba.
- Sanabria Jorge, Demedio Jorge, Pérez Tania, Peñate Idolidia, Rodríguez Daysi, and Lóriga Walberto 2015 Índices de infestación por *Varroa destructor* en colmenas sin medidas de control. *Revista de Salud Animal*, 37(2), 118-124.
- Sanchez C., Castignani H., and Rabaglio M. (2018). *El Mercado Apícola Internacional. Gestión de la innovación como Aporte para el Desarrollo Territorial* Argentina.

- Sánchez O., Castañeda P., Muños G., and Tellez G. 2013 Aportes para el análisis del sector apícola colombiano. *Ciencia y Tecnología agraria*, 2, 469.
- Sanford Malcolm 2006 Africanized honey bee: A biological revolution with human cultural implications. *American bee journal*.
- Santana F., Costa A., Truzzi F., Silva F., Santos S., Francoy T., et al. 2014 A reference process for automating bee species identification based on wing images and digital image processing. *Ecol. Inform.*, 24, 248–260.
- Santoso MAD, Juliandi B, and Raffiudin R. (2018). *Honey Bees Species Differentiation using Geometric Morphometric on Wing Venations*. Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- Scannapieco A. , Lanzavecchia S. , Parreño M., Liendo M., Cladera J., Spivak M., et al. 2016 Individual precocity, temporal persistence, and task-specialization of hygienic bees from selected colonies of *Apis mellifera*. *J Apic Sci*, 60, 63/74.
- Scott S., DeGrandi-Hoffman G., and Smith D. 2004 The African honey bee: factors contributing to a successful biological invasion. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), 351-376.
- Scott Schneider Stanley, DeGrandi-Hoffman Gloria, and Smith Deborah Roan 2004 The African honey bee: factors contributing to a successful biological invasion. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), 351-376.
- Seeley Thomas D, Tarpy David R, Griffin Sean R, Carcione Angela, and Delaney Deborah A 2015 A survivor population of wild colonies of European honeybees in the northeastern United States: investigating its genetic structure. *Apidologie*, 46(5), 654-666.
- Seeley Thomas, and Tarpy David 2006 Queen promiscuity lowers disease within honeybee colonies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1606), 67-72.
- Sepúlveda Gil Juan Manuel 1980 Apicultura. *AEDOS, Barcelona, Spain. p, 418*.
- Sheppard W. , and Smith D. 2000 Identification of African-derived bees in the Americas: a survey of methods. *Annals of the Entomological Society of America*, 93(159-176).
- Shivashankar M, Guruprasad NM, and Chandan N 2013 Heterogeneity in Honeybees Populations of India Reveled by RAPD Analysis. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences (JCBPS)*, 3(2), 1155.

- Silva Felipe, Grassi Marina, Francoy Tiago, and Costa Anna 2015 Evaluating classification and feature selection techniques for honeybee subspecies identification using wing images. *Computers and Electronics in Agriculture*, 114, 68-77. doi: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2015.03.012>
- Silva Felipe L 2015 *Automated bee species identification through wing images*. Master thesis, São Paulo: Polytechnic School of the University of São Paulo.
- Slice DE 2002 Morpheus, For morphometric research software. *Department of Biomedical Engineering, Wake Forest University School of Medicine, Winston, Salem*.
- Slice Dennis E 2007 Geometric morphometrics. *Annu. Rev. Anthropol.*, 36, 261-281.
- Smart M., Pettis J., Rice N., Browning Z., and Spivak M. 2016 Linking measures of colony and individual honey bee health to survival among apiaries exposed to varying agricultural land use. *PLoS ONE* 11(3), e0152685.
- Smith Kristine M, Loh Elizabeth H, Rostal Melinda K, Zambrana-Torrelío Carlos M, Mendiola Luciana, and Daszak Peter 2014 Pathogens, pests, and economics: drivers of honey bee colony declines and losses. *EcoHealth*, 10(4), 434-445.
- Sousa A, Araújo E, Gramacho K, and Nunes L 2016 Bee's morphometrics and behavior in response to seasonal effects from ecoregions. *Genetics and Molecular Research*, 15(2).
- Souza Daiana Almeida de, Wang Ying, Kaftanoglu Osman, De Jong David, Amdam Gro V, Gonçalves Lionel Segui, et al. 2016 Morphometric identification of queens, workers and intermediates in in vitro reared honey bees (*Apis mellifera*). *PLOS ONE*, 10(4), 1-14.
- Spivak M., and Downey D. 1998 Field assays for hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J Econ Entomol*, 91, 64-70.
- Spivak Marla, and Reuter Gary 1998 Honey bee hygienic behavior. *American Bee Journal*, 138(4), 283-286.
- Steinhauer Nathalie., Kulhanek Kelly., Antúnez Karina., Human Hannelie., Chantawannakul Panuwan., and Chauzat Marie 2018 Drivers of colony losses. *Current opinion in Insect science*, 26, 142-148.
- Strauss Ursula, Dietemann Vincent, Human Hannelie, Crewe Robin M, and Pirk Christian WW 2016 Resistance rather than tolerance explains survival of savannah honeybees (*Apis mellifera scutellata*) to infestation by the parasitic mite *Varroa destructor*. *Parasitology*, 143(3), 374-387.

- Strauss Ursula, Human Hannelie, Gauthier Laurent, Crewe Robin, Dietemann Vincent, and Pirk Christian 2013 Seasonal prevalence of pathogens and parasites in the savannah honeybee (*Apis mellifera scutellata*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 114(1), 45-52.
- Sylvester HA, and Rinderer TE 1987 Fast Africanized bee identification system (FABIS) manual. *American bee journal (USA)*.
- Szalanski A. , and Tripodi A. 2015 Assessing the Utility of a PCR Diagnostics Marker for the Identification of Africanized Honey Bee, *Apis mellifera* L., (Hymenoptera: Apidae) in the United States. *Sociobiology*, 61(2), 234-236.
- Szalanski Allen, and Magnus Roxane 2010 Mitochondrial DNA characterization of Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) populations from the USA. *Journal of Apicultural Research*, 49(2), 177-185.
- Techer Maéva, Clémencet Johanna, Simiand Christophe, Preaduth Sookar, Azali Hamza, Reynaud Bernard, et al. 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.
- Techer Maéva, Clémencet Johanna, Turpin Patrick, Volbert Nicolas, Reynaud Bernard, and Delatte Hélène 2015 Genetic characterization of the honeybee (*Apis mellifera*) population of Rodrigues Island, based on microsatellite and mitochondrial DNA. *Apidologie*, 46(4), 445-454. doi: 10.1007/s13592-014-0335-9
- Tibatá Víctor Manuel, Arias Edgar, Corona Miguel, Ariza Botero Fernando, Figueroa-Ramírez Judith, and Junca Howard 2017 Determination of the Africanized mitotypes in populations of honey bees (*Apis mellifera* L.) of Colombia. *Journal of Apicultural Research*, 57(2), 219-227.
- Tibatá Víctor Manuel, Arias Edgar, Corona Miguel, Ariza Botero Fernando, Figueroa-Ramírez Judith, and Junca Howard 2018 Determination of the Africanized mitotypes in populations of honey bees (*Apis mellifera* L.) of Colombia. *Journal of Apicultural Research*, 57(2), 219-227.
- Tirado R, Simon G, and Johnston P 2013 El declive de las abejas Peligros para los polinizadores y la agricultura de Europa. *Unidad Científica de Greenpeace, Universidad de Exeter, Reino Unido. pág, 46.*

- Tiranti K., Melegatti P., Ingrassia M., Julian A., Degioanni A., Aime F., et al. 2011 Prevalencia de Enfermedades en Abejas Melíferas (*Apis mellifera* L.) en Apiarios del Sur de la Provincia de Córdoba. *Vet. Arg.*, 28(278).
- Tofilski Adam 2004 DrawWing, a program for numerical description of insect wings. *Journal of Insect Science*, 4(1).
- Tofilski Adam 2008 Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies. *Apidologie*, 39(5), 558-563.
- Torcida Sebastián, and Perez S Ivan 2012 Análisis de Procrustes y el estudio de la variación morfológica/Procrustes analysis and the study of morphological variation. *Revista argentina de antropología biológica*, 14(1), 131-141.
- Torné-Noguera Anna, Rodrigo Anselm, Arnan Xavier, Osorio Sergio, Barril-Graells Helena, da Rocha-Filho Léo, et al. 2014 Determinants of spatial distribution in a bee community: nesting resources, flower resources, and body size. *PLoS One*, 9(5), e97255.
- Toro Ibacache Maria Viviana, Manriquez Soto German, and Suazo Galdames Ivan 2010 Geometric morphometry and the biologic shapes study: From the descriptive morphology to the quantitative morphology. *International Journal of Morphology*, 28(4), 977-990.
- Traynor Kirsten S, Mondet Fanny, de Miranda Joachim R, Techer Maeva, Kowallik Vienna, Oddie Melissa AY, et al. 2020 Varroa destructor: A complex parasite, crippling honey bees worldwide. *Trends in parasitology*, 36(7), 592-606.
- Troen Hadassah, Dubrovsky Irit, Tamir Ram, and Bloch Guy 2008 Temporal variation in group aggressiveness of honeybee (*Apis mellifera*) guards. *Apidologie*, 39(2), 283-291.
- Ulloa José Armando, Mondragón Pedro, Rodríguez Rogelio, Reséndiz JA, and Rosas Petra 2010 La miel de abeja y su importancia. *Revista Fuente*, 2(4), 11-18.
- Uzunov Aleksandar, Costa Cecilia, Panasiuk Beata, Meixner Marina, Kryger Per, Hatjina Fani, et al. 2014 Swarming, defensive and hygienic behaviour in honey bee colonies of different genetic origin in a pan-European experiment. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 248-260.
- Valdés Paula 2013 Situación mundial de la producción y exportación de material vivo apícola. *Analista Apicultura ODEPA*.

- van Alphen Jacques J. M., and Fernhout Bart Jan 2020 Natural selection, selective breeding, and the evolution of resistance of honeybees (*Apis mellifera*) against *Varroa*. *Zoological Letters*, 6(1), 6. doi: 10.1186/s40851-020-00158-4
- Van der Sluijs Jeroen P, Simon-Delso Noa, Goulson Dave, Maxim Laura, Bonmatin Jean-Marc, and Belzunces Luc P 2013 Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current opinion in environmental sustainability*, 5(3-4), 293-305.
- van Der Zee Romée, Gray Alison, Pisa Lennard, and De Rijk Theo 2015 An observational study of honey bee colony winter losses and their association with *Varroa destructor*, neonicotinoids and other risk factors. *PloS one*, 10(7), e0131611.
- Vandame R. 2001 Control alternativo de *Varroa destructor*. Chiapas, México, Colegio de la Frontera Sur, Proyecto Abejas de Chiapas.
- Vandame Rémy 2000 Curso de capacitación sobre control alternativo de varroa en la apicultura. *Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.*
- Vásquez O., Mestanza B., and Alarcón R. 2016 Características morfológicas, comportamiento higiénico y agresividad de abejas criollas *Apis mellifera sp.* *Revista de Investigación y Cultura*, 5(1), 16-23.
- Vaziritabar S., Aghamirkarimi A., and Mehdi S. 2016 Evaluation of the defensive behavior in two honeybee races Iranian honeybee (*Apis mellifera meda*) and Carniolan honeybee (*Apis mellifera carnica*) and grooming behavior of different bee races in controlling *Varroa destructor* mite in honey. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(5), 586-602.
- Verde M, Demedio J, and Gómez T 2013 Apicultura, Salud y Producción: Guía Técnica para el Apicultor. *Consejo Científico Veterinario de Cuba. La Habana. Cuba.*
- Verde Mayda M 2014 Apicultura y seguridad alimentaria. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48(1).
- Villa J. 1988 Defensive Behaviour of Africanized and European Honeybees at two Elevations in Colombia. *Journal of Apicultural Research*, 27(3), 141-145.
- Villa José D 2004 Swarming behavior of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in southeastern Louisiana. *Annals of the Entomological Society of America*, 97(1), 111-116.

- Voorhies Edwin C, Todd Frank E, and Galbraith John Kenneth 1933 Economic Aspects of the Bee Industry." Bulletin 555, September. University of California, College of Agriculture, Agriculture Experiment Station. Berkeley, California.
- Wagoner Kaira M, Boncristiani Humberto F, and Rueppell Olav 2013 Multifaceted responses to two major parasites in the honey bee (*Apis mellifera*). *BMC ecology*, 13(1), 26.
- Wallberg Andreas, Han Fan, Wellhagen Gustaf, Dahle Bjørn, Kawata Masakado, Haddad Nizar, et al. 2014 A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature Genetics*, 46(10), 1081.
- Wappler Torsten, De Meulemeester Thibaut, Murat Aytakin A, Michez Denis, and Engel Michael S 2012 Geometric morphometric analysis of a new Miocene bumble bee from the Randeck Maar of southwestern Germany (Hymenoptera: Apidae). *Systematic Entomology*, 37(4), 784-792.
- Whitfield Charles W, Behura Susanta K, Berlocher Stewart H, Clark Andrew G, Johnston J Spencer, Sheppard Walter S, et al. 2006 Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science*, 314(5799), 642-645.
- Winston M 1987 The biology of the honey bee *Harvard University Press Cambridge*, 281.
- Winston Mark 1992 The biology and management of Africanized honey bees. *Annual Review of Entomology*, 37(1), 173-193.
- Wu Ming-Cheng, Lu Ting-Hsuan, and Lu Kuang-Hui 2017 PCR-RFLP of mitochondrial DNA reveals two origins of *Apis mellifera* in Taiwan. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 1069-1074. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.008>
- Xie X., Huang Z., and Zeng Z. 2016 Why do Varroa mites prefer nurse bees? . *Scientific Reports*, 6. doi: doi:10.1038/srep28228
- Yániz Jesús, Ángel Ernesto, Ramos Pablo Martín, Sales Ester, and Santolaria Pilar 2016 Caracterización de la abeja melífera en la provincia de Huesca. *Lucas Mallada. Revista de Ciencias*(18), 257-271.
- Zelditch Miriam 2004 Geometric morphometrics for biologists.
- Zhu Xiangjie, Xu Xinjian, Zhou Shujing, Wang Qing, Chen Lin, Hao Zhenbang, et al. 2018 Low temperature exposure (20° C) during the sealed brood stage induces abnormal venation of honey bee wings. *Journal of Apicultural Research*, 57(3), 458-465.

ACERCA DE LOS AUTORES

DIEGO ARMANDO MASAQUIZA MOPOSITA



De profesión Ingeniero Zootecnista (Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2012). Master en Ciencias con la especialidad en Producción Animal Sostenible mención bovina (Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz” – Cuba, 2014). Doctor en Ciencias Veterinarias (Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz” – Cuba, 2019). Investigador del Centro de Estudios para el Desarrollo de la Producción Animal (CEDEPA - Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”) desde el año 2014 al 2019.

Investigador Agregado 2 – Acreditado de la Secretaria de Educación Superior Ciencia Tecnología e Innovación (SENESCYT) desde el año 2019. Integrante del Grupo de Investigación “Causana Yachay” de la ESPOCH desde el año 2021. Revisor de revistas de Alto Impacto como: *Journal of Apicultural Research* (2021) y de la Revista de Investigación TALENTOS de la Universidad Estatal de Bolívar. Evaluador de proyectos, integrando el Banco de Evaluadores del FONCYT – Argentina (2022).

Dirección de proyectos de Investigación y Vinculación con la sociedad a nivel nacional y miembro de proyectos de Investigación a nivel internacional. Autor de varios artículos científicos en el área Zootécnica, publicados en revistas indexadas y de alto impacto. Docente de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo - Sede Orellana desde el año 2020.

EDWIN ROBERTO NARANJO SILVA



Profesional que ha laborado a nivel empresarial en el área comercial, de ventas, marketing y administración desde 1998 hasta el año 2008, a partir de entonces vinculado directamente con la docencia y la investigación universitaria.

Especialista en las cátedras de marketing, administración, proyectos, investigación y emprendimientos empresariales. Ha alcanzado el grado de Doctor en Ciencias Técnicas con especialidad en logística y gestión de procesos, desarrollando investigaciones de impacto dentro del sector de la economía popular y solidaria del Ecuador.

MANUEL PATRICIO PAREDES OROZCO



Profesional graduado de Ingeniero Zootecnista en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias. Magister en Producción Animal de la ESPOCH. Aspirante Doctoral de la Universidad Agraria la Molina Perú, Doctorado en Ciencia Animal.

Ha laborado en el sector pecuario en el área de administración de granjas del 2000 al 2014, a partir de entonces vinculado a la docencia y la investigación Universitaria. Docente en la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí (ESPAM).

Docente en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo - Sede Orellana y Sede Morona Santiago. Especialista en cátedras de Producción Animal.

RAMÓN GONZALO ARAGADVAY YUNGÁN



Ingeniero Zootecnista graduado en el 2010 en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (Ecuador). Maestro en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales por la Universidad Autónoma del Estado de México en 2014. Obtiene su Doctorado en Veterinaria en la Universidad Complutense de Madrid en 2020 (España).

Trabaja como profesor titular en la Carrera de Medicina Veterinaria en la Universidad Técnica de Ambato (Ecuador). Investiga sobre temas de reproducción y nutrición animal. Ha publicado artículos en revistas como *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, *Journal of the Selva Andina Animal Science*, *Environmental Science and Pollution Research*, y *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. Es miembro del cuerpo editorial de la *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales* (Colombia).

Es Coordinador de la Unidad de Vinculación con la Sociedad en la Universidad Técnica de Ambato y ha participado en proyectos de investigación financiados por la Dirección de Investigación y Desarrollo (DIDE-ECUADOR).



**PUERTO MADERO
EDITORIAL**

ISBN 978-987-82816-5-0



9 789878 281650