



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

---

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS  
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

## CAMPUS SAN LUIS POTOSÍ

POSTGRADO EN  
INNOVACIÓN EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES

### **EFFECTO DEL TRATAMIENTO ACARICIDA EN DIFERENTES ESTACIONES DEL AÑO SOBRE LA POBLACIÓN DE *Varroa destructor* EN COLONIAS DE ABEJAS MELÍFERAS (*Apis mellifera*)**

OMAR MAYA MARTÍNEZ

## T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, México  
NOVIEMBRE 2018

---



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS  
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

**CAMPUS SAN LUIS POTOSÍ**

POSTGRADO EN  
INNOVACIÓN EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO ACARICIDA EN DIFERENTES ESTACIONES  
DEL AÑO SOBRE LA POBLACIÓN DE *Varroa destructor* EN COLONIAS  
DE ABEJAS MELÍFERAS (*Apis mellifera*)**

**OMAR MAYA MARTÍNEZ**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, México  
NOVIEMBRE 2018

---



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

## CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el (la) que suscribe Omar Maya Martínez, alumno(a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del (la) Profesor(a) PhD Gildardo Aquino Pérez, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis Efecto del tratamiento acaricida en diferentes estaciones del año sobre la población de Varroa destructor en colonias de abejas (Apis mellifera) y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El (la) Consejero (a) o Director (a) de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, a 16 de noviembre de 2018.

Omar Maya Martínez

Firma

PhD. Gildardo Aquino Pérez

Vo. Bo. Profesor(a) Consejero(a) o Director(a) de Tesis

La presente tesis, titulada: **Efecto del tratamiento acaricida en diferentes estaciones del año sobre la población de *Varroa destructor* en colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*)**, realizada por el alumno **Omar Maya Martínez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada y aceptada por el mismo como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS  
INNOVACIÓN EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES**

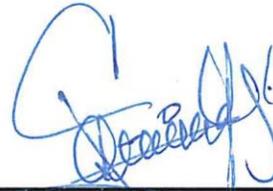
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. GENARO OLMOS OROPEZA

DIRECTOR:



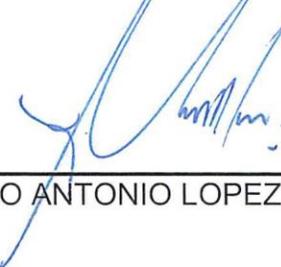
PhD. GILDARDO AQUINO PÉREZ

ASESOR:



DR. CARLOS AURELIO MEDINA FLORES

ASESOR:



DR. MARCO ANTONIO LOPEZ CARLOS

SALINAS DE HIDALGO., SAN LUIS POTOSÍ  
NOVIEMBRE 2018

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO ACARICIDA EN DIFERENTES ESTACIONES DEL AÑO SOBRE LA POBLACIÓN DE *Varroa destructor* EN COLONIAS DE ABEJAS MELÍFERAS (*Apis mellifera*)**

Omar Maya Martínez, MC  
Colegio de Postgraduados, 2018

**RESUMEN**

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del tratamiento a base de amitraz aplicado en diferentes estaciones del año sobre los niveles de infestación por *Varroa destructor* y las condiciones poblacionales y alimenticias de colonias de abejas melíferas. Se utilizaron 48 colonias con valores homogéneos de población de abejas, cría, reservas de alimento, niveles de infestación por varroa en abejas y origen y edad de las reinas. 12 colonias recibieron tratamiento acaricida en el verano, 12 en el invierno, 12 en verano e invierno y 12 no recibieron tratamiento. Durante un año se evaluaron los niveles de infestación por varroa en abejas adultas, cría y en piso adherible de las colmenas (caída de ácaro) así como la población de abejas en área, áreas de cría operculada, reservas de alimento y peso de las colonias. Los resultados muestran que dos aplicaciones en diferentes estaciones del año es mejor que una. Así mismo se observó que las colonias tratadas en invierno y en verano e invierno tuvieron niveles de infestación por varroa en abejas adultas significativamente ( $p = 0.004$ ) inferiores a las colonias tratadas en el verano y no tratadas. Se observó correlación positiva y significativa entre el nivel de infestación en abejas adultas con el nivel de infestación en cría ( $r = 0.52$ ,  $p < 0.001$ ) y con la mortalidad de varroa ( $r = 0.63$ ,  $p < 0.001$ ); y una correlación negativa entre el nivel de varroa en abejas adultas con las áreas de miel ( $r = -0.32$ ,  $p < 0.05$ ). El resultado obtenido permite concluir que la efectividad de las aplicaciones de amitraz para el control de varroa dependió de las estaciones de año, lo que implica reconocer que hay un efecto ambiental que debería estudiarse con mayor detalle.

Palabras clave: umbral de tratamiento, amitraz, altiplano, *Apis mellifera*, *Varroa destructor*.

**EFFECT OF ACARICIDE TREATMENT IN DIFFERENT SEASONS OF THE YEAR ON THE POPULATION ON *Varroa destructor* IN HONEY BEE COLONIES (*Apis mellifera*)**

Omar Maya Martínez, MC  
Colegio de Postgraduados, 2018

**ABSTRACT**

The aim of this study was to determine the effect of the treatment based of amitraz applied in different seasons of the year on the levels of infestation by *Varroa destructor* and the population and food conditions of honey bee colonies. 48 colonies were used with homogeneous values of bee population, brood, food reserves, levels of varroa infestation in bees and origin and age of the queens. 12 colonies received acaricidal treatment in summer, 12 in winter, 12 in summer and winter and 12 did not receive treatment. During one year the levels of varroa infestation were evaluated in adult bees, worker brood and in the adherable floor of the hives (fall of mite) as well as the population of bees, operculated brood areas, food reserves and weight of the colonies. The results show that two applications in different seasons of the year is better than one. Likewise, it was observed that the colonies treated in winter and summer and winter had significantly higher levels of varroa infestation in adult bees ( $p = 0.004$ ) than the colonies treated in the summer and not treated. A positive and significant correlation was observed between the level of infestation in adult bees with the infestation level in worker brood ( $r = 0.52$ ,  $p < 0.001$ ) and with varroa mortality ( $r = 0.63$ ,  $p < 0.001$ ); and a negative correlation between varroa level in adult bees and honey areas ( $r = -0.32$ ,  $p < 0.05$ ). The result obtained allows us to conclude that the effectiveness of applications of amitraz for the control of varroa depended on the seasons of the year, which implies recognizing that there is an environmental effect that should be studied in greater detail.

**Keywords:** altiplano, amitraz, *Apis mellifera*, treatment threshold, *Varroa destructor*.

## DEDICATORIA

A mis padres Emilio Maya y Martha Martínez que gracias a su apoyo constante ha sido posible alcanzar mis objetivos.

A mis hermanos Diana, Erick, a mi hermana gemela Edith, a Emilio Ezequiel y Carlos Israel, que desde donde se encuentran siempre recibí su apoyo, consejos y alientos para culminar con este proyecto de posgrado.

A mi gran amigo Manual Alberto Chiñas Aguilar † quién siempre ha sido inspiración para superarme.

Me dedico este trabajo, por mi esfuerzo, trabajo, dedicación, mis desvelos y perseverancia.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco **A DIOS** por prestarme la vida, por brindarme salud durante todo este tiempo y por permitirme culminar esta etapa en mi vida la cual anhelaba realizar desde hace algunos años.

Al pueblo de México que paga sus impuestos, que por medio del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Colegio de Postgraduados, han financiado parte de mi formación.

Al Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Campus San Luis Potosí por ser la institución que me brindó la oportunidad y me formo como Maestro en Ciencias.

Muy en especial a mi asesor y director el Dr. Carlos Aurelio Medina Flores por aceptarme en este proyecto, por todo su apoyo, por sus críticas, aportaciones y sugerencias en esta investigación.

Agradezco a mi asesor el Dr. Gildardo Aquino Pérez por sus consejos y aportaciones en esta investigación, así mismo por motivarme y demostrarme que todo es posible con disciplina y constancia.

Agradezco a mi asesor el Dr. Genaro Olmos Oropeza por todo el apoyo brindado en cada momento, por sus recomendaciones y aportaciones a esta investigación, así mismo por su disposición y ayuda en la gestión de recursos en todo momento.

Al Dr. Marco Antonio López Carlos por sus consejos y sugerencias en esta investigación.

A los directivos y administrativos en turno del COLPOS SLP, por brindarme el apoyo económico y las facilidades para el desarrollo de esta investigación, así como para mi desarrollo personal. ¡Gracias!

A todos los docentes, investigadores y trabajadores del COLPOS SLP, así como del campo experimental “La Huerta”.

A mis compañeros de la 4ª generación y amigos de la M. en C. en Innovación en Manejo de Recursos Naturales.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. José de Jesús Martínez Hernández docente investigador y amigo, muchas gracias por sus consejos, críticas, por esas pláticas constructivas en mi formación, así como por el apoyo brindado en esos momentos difíciles, hubiese sido un honor ser su alumno.

Especial mención merecen las personas que me apoyaron en campo, en esas visitas madrugadoras y calurosas en Jalpa, Zacatecas: Ricardo Romero, Horacio Ruiz, Samantha Enríquez, Ricardo Rendón, Mario Soto.

Agradezco al personal que me apoyo en laboratorio: Clara Tovar, Dulce J. Rodríguez, Marcela Villa, Claudia Parga y demás personas que faltan por mencionar. ¡Gracias!

A todas las personas que conocí en mi corta estancia en Salinas S.L.P. “La Perla del Salado” una tierra de gente maravillosa, gente noble, hospitalaria y trabajadora.

## CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
2.1 Situación actual de la apicultura .....	4
2.2 Varroosis .....	5
2.2.1 Origen, prevalencia y distribución.....	5
2.2.2 Cadena epidemiológica .....	6
2.2.3 Efecto de <i>V. destructor</i> sobre la colonia y la producción .....	8
2.2.4 Factores de riesgo.....	10
2.2.5 Diagnóstico.....	10
2.2.6 Métodos de control de la Varroosis .....	12
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	25
3.1 Localización del estudio .....	25
3.2 Establecimiento de colonias experimentales.....	26
3.3 Determinación del nivel de infestación por <i>V. destructor</i> en abejas adultas, cría operculada y caída natural diaria .....	27
3.5 Determinación del tamaño poblacional, reservas de alimento y peso .....	28
3.6 Determinación del morfotipo.....	28
3.7 Manejo alimenticio de las colonias experimentales .....	30
3.8 Análisis estadístico.....	30
<b>4. RESULTADOS</b> .....	34
4.1 Nivel de infestación por <i>V. destructor</i> en abejas adultas.....	34
4.2 Nivel de infestación por <i>V. destructor</i> en cría operculada .....	37
4.3 Caída diaria de <i>V. destructor</i> .....	38
4.4 Caída diaria de <i>V. destructor</i> durante la aplicación del amitraz, verano e invierno .....	41
4.5 Tamaño poblacional de la cría .....	43
4.6 Tamaño poblacional de abejas adultas .....	44
4.7 Reservas de alimento.....	45
4.8 Peso .....	45

4.9 Análisis de correlación.....	46
<b>5. DISCUSIÓN .....</b>	<b>48</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>56</b>
<b>7. REFERENCIAS.....</b>	<b>57</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>70</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Esquema de grupos de investigación, tratamiento y aplicaciones. ....	26
<b>Cuadro 2.</b> Nivel de infestación de <i>V. destructor</i> en abejas adultas de cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero. ....	35
<b>Cuadro 3.</b> Porcentajes de infestación por varroa en abejas adultas con cero, uno y dos y tratamientos. ....	36
<b>Cuadro 4.</b> Caída diaria de <i>V. destructor</i> en colonias de abejas de cuatro grupos tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero. ....	39
<b>Cuadro 5.</b> Numero de ácaros caídos diariamente en colonias de abejas con cero, uno y dos tratamientos. ....	40
<b>Cuadro 6.</b> Áreas (cm <sup>2</sup> ) de cría (medias±EE) en los grupos de colonias tratadas contra <i>V. destructor</i> en verano, invierno, verano-invierno y el grupo no tratado (testigo), durante las estaciones del año. ....	43
<b>Cuadro 7.</b> Población de abejas adultas (medias±EE) en los grupos de colonias tratadas contra <i>V. destructor</i> en verano, invierno, verano-invierno y el grupo no tratado (testigo), durante las estaciones del año. ....	44
<b>Cuadro 8.</b> Peso (medias±EE) de las colonias tratadas contra <i>V. destructor</i> en verano, invierno, verano-invierno y el grupo de colonias no tratadas (testigo), durante las estaciones del año. ....	45
<b>Cuadro 9.</b> Coeficientes de correlación entre la infestación de cría, caída de varroa, población de cría, población de abejas, reservas de polen, miel y peso, de colonias tratadas contra <i>V. destructor</i> en diferentes estaciones del año. ....	46
<b>Cuadro 10.</b> Población de abejas, áreas (cm <sup>2</sup> ) de cría, polen, miel y peso de colonias con bajo (≤5.5%), medio (5.6 a 7.5%) y alto (≥7.6%) nivel de infestación por varroa en abejas adultas. ....	47

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Localización de la zona de estudio en Jalpa, Zacatecas. ....	25
<b>Figura 2.</b> Medición de parámetros en colonias de abejas melíferas en apiarios de Jalpa, Zacatecas. ....	31
<b>Figura 3.</b> Toma de muestras de abejas melíferas en etanol al 75% para determinar el nivel de infestación por <i>V. destructor</i> . ....	31
<b>Figura 4.</b> Abejas reina ( <i>Apis mellifera</i> ) procedentes de un criadero certificado por SAGARPA. ....	31
<b>Figura 5.</b> Apiario experimental, ubicado en el municipio de Jalpa, Zacatecas. ....	31
<b>Figura 6.</b> Agitador mecánico utilizado para desprender los ácaros de las abejas. ...	32
<b>Figura 7.</b> Filtrado de alcohol y retención de ácaros para su conteo. ....	32
<b>Figura 8.</b> Trampa con charola metálica colocada al fondo de la colonia para la captura de <i>V. destructor</i> por caída natural. ....	32
<b>Figura 9.</b> Detección y conteo de <i>V. destructor</i> en charolas metálicas impregnadas con petrolato. ....	32
<b>Figura 10.</b> Colonia de abejas melíferas destapada para inspeccionar diferentes parámetros. ....	33
<b>Figura 11.</b> Pesaje de colonias de abejas melíferas (imagen tomada a inicios del verano). ....	33
<b>Figura 12.</b> Alas posteriores izquierdas listas para su proyección. ....	33
<b>Figura 13.</b> Medición del ala tomando como referencia la canaladura de la vena costal y su lado distal. ....	33
<b>Figura 14.</b> Porcentajes de infestación (media±EE) de <i>V. destructor</i> en abejas adultas de cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones del año. Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls, los datos mostrados en la grafica son datos normales y su análisis fue realizado con datos transformados a la raíz cuadrada del arcoseno ( $p < 0.05$ ). ....	34
<b>Figura 15.</b> Porcentajes de infestación (media±EE) por <i>V. destructor</i> en cría operculada en cuatro grupos de abejas melíferas tratadas en diferentes épocas del año.	

Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls, los datos mostrados en la grafica son datos normales y su análisis fue realizado con datos transformados a la raíz cuadrada del arcoseno ( $p < 0.05$ ). .....37

**Figura 16.** Caída diaria (media $\pm$ EE) de *V. destructor* en cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones. Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls.....38

**Figura 17.** Caída diaria (media $\pm$ EE) de *V. destructor* en cuatro grupos de colonias tratadas y no tratadas con cuatro aplicaciones de amitraz al 1.25% durante el verano. Diferentes literales indican diferencias significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ). .....41

**Figura 18.** Caída diaria (media $\pm$ EE) de *V. destructor* en cuatro grupos de colonias tratadas y no tratadas con cuatro aplicaciones de amitraz al 1.25% durante el invierno. Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls, los datos fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada ( $p < 0.05$ ). .....42

## ANEXOS

<b>Cuadro Anexo 1.</b> Nivel de infestación de <i>V. destructor</i> en cría operculada en panales de abejas de cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.....	70
<b>Cuadro Anexo 2.</b> Cantidad de panales con cría en colonias de abejas de cuatro grupos tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero. ....	71
<b>Cuadro Anexo 3.</b> Panales cubiertos con abejas en colonias de cuatro grupos tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.....	72
<b>Cuadro Anexo 4.</b> Numero de panales con polen en colonias de cuatro grupos tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.....	73
<b>Cuadro Anexo 5.</b> Numero de panales con miel en colonias de cuatro grupos tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.....	74
<b>Cuadro Anexo 6.</b> Peso de colonias de abejas tratadas contra varroa a principios de agosto (verano) y finales de enero (enero).....	75

## 1. INTRODUCCIÓN

El ácaro *V. destructor* (Acari: Varroidae; Anderson y Trueman, 2000) causante de la varroosis, es considerado el problema sanitario número uno para las colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) a nivel mundial (De Jong, 1997). Lo anterior se debe a que su distribución es generalizada, afecta a la cría y abejas adultas, transmite y predispone a la presencia de enfermedades bacterianas, virales y fungales (Martin, 2001; vanEngelsdorp y Maixner, 2010), reduce el periodo de vida de las abejas (De Jong y Goncalves, 1998), el tamaño poblacional y la producción de miel de las colonias (Arechavaleta y Guzmán-Novoa, 2000; Medina-Flores *et al.*, 2011). Adicionalmente, el ácaro varroa es considerado como uno de los principales factores que están provocando la pérdida de colonias registrada en Europa, EUA y Canadá (Marie-Pierre *et al.*, 2010; Guzmán-Novoa *et al.*, 2010; vanEngelsdorp *et al.*, 2010).

La NOM-001-ZOO-1994 (SARH, 1994) recomienda que a partir del 5% de infestación por varroa en abejas adultas se implemente algún tratamiento contra la parasitosis en las colonias, sin embargo, Arechavaleta y Guzmán-Novoa (2000), reportan que las colonias tratadas y con un promedio de infestación del 2.3% producen 65% más miel que colonias no tratadas y con un nivel promedio de infestación del 6.8% en abejas adultas. Además, Medina-Flores *et al.* (2011) encontraron que por cada punto porcentual ( $15.21 \pm 8.44$  valor base), de infestación de varroa en abejas adultas se reducen la producción de miel a razón de 53 g de miel ( $36.26 \pm 29.24$  kg valor base) y que la variación atribuida a este parásito en la producción de miel es del 19%. Estos resultados sugieren que lo recomendado por dicha norma puede ser erróneo.

La varroosis puede ser controlada con el uso de acaricidas sintéticos (fluvalinato, flumetrina y amitraz) los cuales afectan el desarrollo de reinas y zánganos, en la habilidad de aprendizaje y en la postura de la reina (Rinderer *et al.*, 1999; Pettis *et al.*, 2004) y pueden promover el desarrollo de resistencia del ácaro a dichos productos (Pettis, 2004; Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005). Los ácidos orgánicos (oxálico y fórmico) reducen la longevidad y sobrevivencia de obreras y la cría (Fries, 1991; Underwood y Currie, 2003). Mientras que los monoterpenos constituyentes de

los aceites esenciales derivados de plantas, pueden tener efectos tóxicos y suprimir la expresión genética relacionada con la inmunidad (Boncristiani *et al.*, 2012).

El desarrollo de prácticas que contribuyan a reducir las poblaciones de ácaros en las colonias pero que a su vez limiten el uso de acaricidas contribuirá a reducir la presión de selección sobre los ácaros que generaría genotipos resistentes, los riesgos de contaminación de los productos de las colonias, los costos de producción a los apicultores debido a la aplicación innecesaria de tratamientos (Delaplane 1998; Calderon 1999; Elzen *et al.*, 1999; Delaplane y Hood, 1997; 1999; Strange y Sheppard, 2001; Martel *et al.*, 2007).

En este sentido, es necesario determinar los niveles de infestación óptimos (umbral de tratamiento) para tratar a las colonias cuando las poblaciones de ácaros alcanzan un nivel en que las abejas toleran su infestación, pero que por encima de estos niveles puedan causar un grave daño a la colonia. Sin embargo, los umbrales de tratamiento varían regionalmente debido a la variación en el período de cría en las colonias y los efectos sobre la dinámica poblacional del ácaro (Delaplane, 1998).

En México no existen estudios que determinen la época del año más oportuna para aplicar algún acaricida y el efecto detrimental del ácaro sobre el desarrollo poblacional y reservas de alimento de colonias de abejas con diferentes niveles de infestación. Por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto del amitraz aplicado en dos estaciones del año, sobre los niveles de infestación por *V. destructor* y las condiciones poblacionales y alimenticias de colonias de abejas melíferas del altiplano.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto de amitraz aplicado en dos estaciones del año sobre los niveles de infestación por *V. destructor* así como las condiciones poblacionales y alimenticias de colonias de abejas melíferas del altiplano bajo el ambiente de control químico del ácaro.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Evaluar el efecto de amitraz al 1.25% en el control de varroa y medir su población residual mensual después de las aplicaciones en colonias de abejas melíferas tratadas contra el ácaro durante el verano, invierno y verano-invierno.
2. Determinar el tamaño poblacional, ganancia de peso y reservas de alimento, en colonias de abejas melíferas tratadas con amitraz al 1.25% contra el ácaro durante el verano, invierno y verano-invierno.
3. Evaluar los valores poblacionales, ganancias de peso y reservas de alimento en colonias con bajo, medio y alto nivel de infestación por varroa en abejas adultas.

## **HIPÓTESIS**

1. La efectividad del tratamiento del amitraz en el control de varroa es afectado por la estación del año y se manifiesta en los niveles poblacionales, ganancias de peso y reservas de alimento en las colonias de abejas.
2. El efecto detrimental de varroa y el tratamiento con amitraz sobre valores poblacionales, ganancia de peso y reservas de alimento es observado a un nivel de infestación inferior al 5% establecido por la NOM-001-ZOO-1994.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Situación actual de la apicultura

De acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), 132 países reportan producción de miel de abeja, ofertando en su conjunto 2.3 millones de toneladas en 2016. El principal productor a nivel mundial es China quien aporta el 21% (490,839 t), seguido por Turquía con el 4.6% (105,532 t) e Irán con el 3.5% (80,559 t), en la cuarta posición se encuentra Estados Unidos de Norteamérica aportando solo el 3.2% (73,428 t), México se encuentra ubicado en el octavo lugar como productor a nivel mundial aportando el 2.4% (55,358 t), seguido de Argentina con el 2.2% (51,363 t) y Etiopía con el 2.1% (47,706 t) (FAOSTAT, 2018).

La tendencia de la producción de miel en México en el periodo de 1990 a 2012 es muy variable, pero a la baja (Magaña-Magaña *et al.*, 2016), la producción anual osciló en torno a las 57 mil toneladas al año. En 2016, se produjeron 55,358 mil toneladas al año, siendo menor a lo reportado en el año anterior donde se produjeron 61,881 toneladas. La información disponible del 2016 indica que en ese mismo año aproximadamente 45,000 apicultores manejaron en México alrededor de dos millones de colmenas (SIAP, 2017).

La exportación de miel mexicana en 2015 fue 40% mayor que en 2016. En este año, México ocupó el tercer lugar como exportador de miel, con 30 mil toneladas de miel destinadas a la exportación generando ganancias de 93 millones 725 mil dólares.

Los diez principales estados productores de miel en México son: Yucatán, Campeche, Jalisco, Veracruz, Guerrero, Chiapas, Puebla, Quintana Roo, Oaxaca y Michoacán (Magaña-Magaña *et al.*, 2016); sin embargo la producción reportada en 2017 muestran a Jalisco como principal productor de miel, seguido de Chiapas, Veracruz, Yucatán, Oaxaca, Campeche, Quintana Roo, Puebla, Guerrero y Zacatecas, ubicando este último en décimo lugar, aportando el 4.1% de la producción nacional, San Luis Potosí se ubica en el catorceavo lugar aportando el 2% (SIAP, 2017).

Diferentes factores han afectado el nivel de productividad y rentabilidad de miel en México. Uno de ellos es la pérdida constante de competitividad de la miel mexicana

en el mercado mundial. Las razones que explican este fenómeno son los elevados costos de producción, el difícil acceso al crédito y el atraso tecnológico, así como la carencia de una práctica exportadora profesional. Otra de las causas posibles es la descapitalización de las unidades productivas, fenómeno posiblemente asociado a la disminución de las exportaciones de miel y a la falta de créditos. Lo anterior obstaculiza la adopción de nuevas prácticas tecnológicas en el subsector, lo cual impacta negativamente en el rendimiento por colmena (Magaña-Magaña y Layva-Morales, 2011). En términos biológicos, el bajo rendimiento y calidad de la miel mexicana se explica principalmente a la llegada en 1986 de la abeja africana proveniente de Sudamérica y al ectoparásito *V. destructor* en 1992. Ambos organismos se encuentran actualmente diseminados en todas las regiones apícolas del país y constituye el principal problema sanitario ya que afecta a las colonias de abejas en todos sus estadios de desarrollo: cría sellada, abierta e individuos adultos. Estos dos agentes biológicos elevaron los costos de producción y redujeron el rendimiento (Gris *et al.*, 2004).

## **2.2 Varroosis**

La varroosis de las abejas melíferas (*A. mellifera*), constituye una parasitosis externa causada por el ácaro *V. destructor* (Anderson y Trueman, 2000). Actualmente, este ácaro está disperso en todo el mundo y se considera la mayor amenaza para la apicultura (Rosenkranz *et al.*, 2010).

### **2.2.1 Origen, prevalencia y distribución**

Al parecer el ácaro fue traído sobre reinas vivas de *A. mellifera* o en obreras acompañantes, desde la zona oriental de la antes URSS o la Rusia Europea y de ahí a Europa y Oriente medio. Se cree que de esa misma forma fue llevado desde Japón hasta América de sur. En Norteamérica fue reportada por primera vez en septiembre de 1987, como resultado de las importaciones ilegales de reinas desde el sur de América (Bailey, 1984).

Actualmente se conocen seis haplotipos de *V. destructor*, todos provenientes de Asia y sólo dos parasitan a *A. mellifera*. Se distinguen el haplotipo Coreano-Ruso

y el haplotipo Japonés-Tailandés. Éste último es el menos virulento y se distribuye en Japón, Tailandia, Norte y Sudamérica. El tipo Coreano-Ruso se localiza en Asia, el Medio Este, Europa Norte, Sudamérica y Sudáfrica (Cobey, 2001). México sólo presenta el haplotipo Coreano-Ruso, el cual es el más común, destructivo y ha desarrollado resistencia a varios controles químicos (Cobey, 2001).

En México, el ácaro se identificó por primera vez en mayo de 1992 en el Estado de Veracruz (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 1992). Se considera que probablemente el ácaro fue introducido al país accidentalmente al importar reinas (Chihu *et al.*, 1992). En 1993, se reportó en Tamaulipas, Puebla, Oaxaca, Tlaxcala, México, Hidalgo y Baja California Norte, cubriendo casi la totalidad del país. Probablemente su diseminación en el país se debió a la apicultura migratoria (transhumancia), durante el aprovechamiento de los recursos florísticos y los servicios de polinización de los cultivos agrícolas. En los estados fronterizos, la presencia de varroa fue debido a la migración de enjambres silvestres provenientes de los estados de Texas y California (Cajero, 1995).

La fertilidad de las hembras dentro de las celdas de cría de obreras, el número de descendientes producidos por hembra adulta y el número de ciclos reproductivos de las hembras son factores que han favorecido la dispersión de este parásito en México (Fries *et al.*, 1994). Varroa tiene preferencia por las celdas de los zánganos para su reproducción, comportamiento que parece asociado al vuelo errático de los zánganos que favorece la dispersión del ectoparásito a otras colonias. El vuelo a la deriva de los zánganos oscila entre un 3 a un 89% con una media de  $50 \pm 6.8$  en comparación con la de abejas obreras que es menor de 0 a 14 % con una media de  $5 \pm 0.7$  % (Neumann *et al.*, 2000).

### **2.2.2 Cadena epidemiológica**

*V. destructor* afecta tanto abejas adultas como crías de la colonia y a diferencia de *V. jacobsoni* (parásito de *Apis cerana*) también afecta a la cría de zángano (Anderson y Trueman, 2000).

Los ácaros se alimentan de la hemolinfa de las abejas y presentan dimorfismo sexual. Las hembras son más grandes que los machos, son de color marrón y miden de 1.1 a 1.2 mm de largo y 1.5 a 1.6 mm de ancho (Sanford y Cromroy, 1992), por lo cual se alcanzan a ver a simple vista. Los machos son más pequeños miden 0.8 mm de largo a 0.7 mm de ancho y son de color grisáceo (Bailey, 1981). Los machos al igual que los individuos inmaduros viven dentro de la celda operculada y mueren al salir la abeja. Solamente las hembras adultas pueden vivir fuera de la celda.

El ciclo de vida del ácaro involucra dos aspectos que acontecen dentro de la colonia, la fase forética y la reproductiva: La fase forética se distingue cuando el ácaro se encuentra sobre una abeja adulta donde puede sobrevivir por un largo tiempo alimentándose de hemolinfa (Fries y Rosenkranz, 1996). Esta fase varía de 4 a 6 días y depende de la disponibilidad de cría, pero puede prolongarse hasta un máximo de 23 días (Boot *et al.*, 1995), además la porción de ácaros en esta etapa es determinada por la proporción de crías susceptibles y el tamaño de la colonia (Martin, 1998).

La fase reproductiva inicia cuando una hembra madre deja la abeja adulta y penetra a una celda ocupada por cría de obrera o zángano, aproximadamente de 15 a 20 horas en celdas de obreras y de 40 a 50 horas en celdas de zánganos antes de ser operculadas (Boot *et al.*, 1992); una vez dentro de la celda, la hembra permanece en el alimento de la larva, esto debido probablemente a la baja concentración de oxígeno o a la alta concentración de dióxido de carbono existente en el alimento evitando ser detectada y removida por las abejas adultas antes de ser operculada la celdilla; después de que la larva consume su alimento, la hembra de varroa deposita el primer huevo en aproximadamente 60 horas después de que la celdilla ha sido operculada, los subsecuentes son puestos a intervalos aproximados de 30 horas (Martin, 1997).

La madre determina el sexo de su progenie (haplodiploidía) debido a su dimorfismo sexual, el primer huevo da origen a un macho y los demás a hembras; en las celdas de obreras el ácaro puede poner un máximo de cinco a seis huevecillos y en la de los zánganos hasta 7 huevecillos (Martin, 1997; Rosenkranz *et al.*, 2010). El ácaro pasa por los estados de huevecillo, larva, protonífa, deutonífa, y adulto

(hembra y macho), este desarrollo es de un poco más de 6 días en machos y en aproximadamente 5.5 días en hembras (Wallner y Fries, 2003).

Los machos alcanzan su madurez sexual a los seis días y las hembras a los siete días. Una vez alcanzada la madurez se realiza la cópula, esta se lleva a cabo dentro de la celda de la cría. Al nacer la abeja, las hembras del parásito fecundadas salen con ella, y los machos mueren junto con los individuos inmaduros (Rosenkranz *et al.*, 2010).

### **2.2.3 Efecto de *V. destructor* sobre la colonia y la producción**

La gravedad de los daños depende del grado de infestación de la colonia, pudiendo mencionarse los siguientes:

El daño provocado por los ácaros es de carácter físico y tóxico-infeccioso. Físico porque consume la hemolinfa de su huésped y tóxico-infeccioso por las heridas que causan al alimentarse (Kanber y Engels, 2005). Así mismo, está comprobado que las heridas físicas son puerta de entrada para agentes infecciosos, tanto bacterias como virus, los cuales pueden provocar daños estructurales a las abejas como deformidad de alas, apéndices, tórax y abdomen (Kanber y Engels, 2005). En todos los niveles de parasitosis, las anomalías están positivamente correlacionadas con el número de ácaros. Cuando la infestación alcanza niveles altos los síntomas se hacen visibles, pudiéndose observar abejas arrastrándose en la entrada de la colmena e incapaces de volar (De Jong *et al.*, 1982ab).

El peso de las abejas al emerger en colonias infestadas se reduce de 6.3 a 25% (De Jong *et al.*, 1982b), así mismo el contenido de agua es afectado, se estima que, por cada ácaro presente en el desarrollo de la abeja, esta pierde 3% de su peso en agua. Las abejas parasitadas emergen con niveles menores de proteína y carbohidratos en cabeza y abdomen. La pérdida de peso relacionada con el nivel de infestación se hace evidente especialmente durante la última fase larval de la abeja, en el que aparte del daño causado por los ácaros hembra se suma la de la progenie que también se alimentan de la hemolinfa del huésped (Bowen-Walker y Gunn, 2001).

Las celdillas de los zánganos son las más afectadas, al abrirse se pueden observar los ácaros en distintas etapas de desarrollo (Boot *et al.*, 1995; Beetsma *et al.*, 1999). La reducción del peso en los zánganos también está relacionada con el número de ácaros hembra que invaden la celdilla. Celdillas con una carga parasitaria alta emergen zánganos de menor tamaño, donde infestaciones de 1 a 3 ácaros puede representar la pérdida del 11.3% de su peso corporal, en cambio infestaciones de 3 a 6 ácaros por celdilla puede representar una reducción del 18.3% de su peso corporal (Duay *et al.*, 2003) y con deformidades, una alta proporción de zánganos infestados mueren antes de ser sexualmente maduros (Collins y Pettis, 2001; Kanbar y Engels, 2005).

En colonias infestadas el promedio de vida de las abejas es de 13.6 días, en comparación a los 27.6 días que viven las abejas provenientes de colonias no infestadas lo que trae como consecuencia disminución en el número de habitantes de la colonia lo cual provoca disminución en la producción de miel (De Jong y De Jong, 1983). Además, él ácaro transmite y/o predispone la presencia de enfermedades en la cría de abejas como la loque europea (*Melissococcus pluton*), loque americana (*Paenibacillus larvae*) y cría calcárea (*Ascosphaera apis*). Así mismo, la varroa es responsable de la transmisión del virus de la parálisis aguda y el virus de las alas deformes (Martin, 1998; Martin, 2001; Yue y Genersch, 2005).

Un alto porcentaje de infestación de varroa en crías y en abejas adultas ocasiona que las colonias colapsen, después de 2 a 4 años de iniciada la infestación éstas mueren (Ritter, 1981), aunque este periodo puede reducirse a 12 o 24 meses si la colonia no es tratada (Szabo y Szabo, 2002).

El efecto de la varroosis sobre la producción de miel inicia cuando la población de ácaros infesta al 10% de las abejas adultas de una colonia. Cuando la infestación llega al 30% o 40%, normalmente termina con la muerte de la colonia (Guzmán-Novoa *et al.*, 1996a; Boecking y Ritter, 1994). Se ha reportado en Canadá, que la infestación por *V. destructor* es la principal causa de muerte de colonias de abejas durante el invierno, ya que está asociada a más del 85% de los casos de mortalidad de estas (Guzmán-Novoa, *et al.*, 2010).

En México, Arechavaleta y Guzmán-Novoa (2000) reportan que las colonias tratadas con fluvalinato produjeron 65% más miel que colonias no tratadas, las cuales contaban con niveles de infestación en abejas adultas de 2.3 y 6.8%, respectivamente. La reducción en la producción de miel se ha atribuido a la disminución de la longevidad de las abejas, bajo peso corporal y despoblamiento de la colonia (De Jong *et al.*, 1982a; De Jong, 1997). Medina-Flores *et al.* (2011) realizaron un estudio en el estado de Zacatecas donde muestran que al incrementarse el nivel de infestación por varroa en abejas adultas se reduce la producción de miel por colonia en una relación de 52.8 g de miel por cada nivel (%) de varroa, además, que el 19% de la variación que ocurre en la producción de miel se debe a esta parasitosis.

#### **2.2.4 Factores de riesgo**

Entre los principales problemas de riesgo encontramos las poblaciones de colonias silvestres cerca de los apiarios o la introducción de estas a los apiarios sin ser tratadas.

Las colonias silvestres son el principal foco de infestación de los ácaros para colonias manejadas, ya que las abejas de los enjambres silvestres pueden llevar el ácaro a colonias manejadas a través del pillaje (robo de alimento entre colonias) (Guzmán-Novoa y Correa, 1996b). La transmisión entre colonias manejadas de un apiario puede ocurrir por medio del pillaje o cuando entran abejas a otra colmena diferente, por tal razón es recomendable poner las colmenas separadas que faciliten la orientación (Morse y Flottum, 1997).

#### **2.2.5 Diagnóstico**

La detección de la Varroosis exige una atenta observación por parte del apicultor, puede basarse en el cuadro clínico, optando como rutina la de revisar celdillas de zánganos cada vez que se abra una colmena, así como la observación de abejas adultas (Molina *et al.*, 1990), se puede realizar la identificación macroscópica del ácaro en abejas que se encuentran todo el año en la colonia. Sin embargo, para poder decidir correctamente y poder dar un tratamiento más acertado, es necesario el determinar el nivel de infestación en las colonias (De Jong *et al.*, 1982a).

### **2.2.5.1 Determinación del nivel de infestación en abejas adultas**

El nivel de infestación en abejas adultas se determina recolectando una muestra aproximada de 200 abejas obreras del área de cría en un recipiente con alcohol etílico al 75%, posteriormente la muestra se coloca en un recipiente y se agita por 15 minutos para desprender a los ácaros del cuerpo de las abejas. En el recipiente donde se agitan las abejas se le coloca una malla de alambre con orificios de 2 a 3 mm en su parte inferior (De Jong *et al.*, 1982ab).

Transcurrido el tiempo de agitación el alcohol se vacía por la parte inferior sobre otro recipiente con una tela de color blanco en su parte superior. La malla del recipiente de agitación impedirá el paso de las abejas, mientras que la tela del otro recipiente impedirá el paso de los ácaros para realizar su conteo. De tal manera que el porcentaje de infestación por varroa en abejas adultas se determina dividiendo el número de ácaros encontrados entre el número de abejas analizadas multiplicadas por 100. El alcohol puede ser sustituido por agua jabonosa, pero ésta no conserva la muestra como el alcohol (De Jong *et al.*, 1982b).

### **2.2.5.2 Determinación del nivel de infestación en cría de obreras**

Ferrer *et al.* (1994) optan por tomar únicamente celdillas de la obrera ya que se encuentran en la colmena en forma más regular. Así, de uno de los cuadros de cría se toma una muestra de panal de unos 10 x 10 cm, procurando que existan celdillas operculadas en ambas caras. Posteriormente con una pinza y un punzón se desopercula cada celdilla, se extraen tanto la larva de abeja como los ácaros presentes en el interior, incluyendo en el cálculo todos los ácaros que estén maduros e inmaduros como protoninfas o deutoninfas.

De la misma manera que para las abejas adultas se calcula el porcentaje de infestación dividiendo el número de ácaros entre el número de larvas multiplicado por 100 (De Jong *et al.*, 1982ab; Ferrer *et al.*, 1994).

### **2.2.5.3 Determinación del nivel de infestación mediante el conteo de la caída natural del ácaro**

Para este método se requiere el uso de charolas metálicas, triplay o fribracel de 3 mm de grosor de 33 x 45 cm, con un marco de 2 cm de espesor por uno de alto con una pequeña entrada de 8 cm en el centro por uno de sus lados cortos para ser utilizado como piquera, en la cara superior de este marco se coloca una malla criba (8 cuadros por pulgada lineal). El piso de la cámara de cría es despegado e invirtiendo la entrada original de la piquera hacia atrás se coloca el marco de malla entre el piso y la cámara de cría dejando la piquera contraria a la abertura del piso para poder introducir la charola. En el piso de la colmena, se coloca la charola usando esponja para sellar el espacio libre, esta se deja por un lapso de siete días.

Transcurrido este tiempo se retira, con sumo cuidado se extrae la lámina y se revisa para detectar la presencia de ácaros. Con esta técnica no se obtiene un porcentaje de infestación, sino una estimación de la población de varroas en la colonia, a través del conteo de los ácaros que mueren diariamente en forma natural o se desprenden de las abejas por causas naturales o por acción de algún acaricida. Para obtener este resultado, se hace el conteo total de varroas en la charola dividiéndolo entre los días que fue colocada.

Con los resultados obtenidos, se tomarán en cuenta los siguientes criterios: de 0 a 5 varroas por día la infestación es baja, de 6 a 10 por día la infestación es media y si esa mayor a 10 varroas diarias la infestación es alta (SAGARPA 2002).

### **2.2.6 Métodos de control de la Varroosis**

Debido a los efectos negativos que ocasiona el ácaro varroa, diversos métodos de control han sido utilizados con la finalidad de reducir su población en las colonias de abejas melíferas. La efectividad de los acaricidas depende del estado de las abejas en la colonia (población de abejas y grado de infestación), la calidad del acaricida, métodos y periodo de aplicación, observándose que la mejor época es cuando existe menor cantidad de cría en la colmena y cuando no haya flujo de néctar, sin embargo, hasta el día de hoy no existe un tratamiento totalmente efectivo. Actualmente existen

varios acaricidas o métodos de control de la varroosis, los cuales se pueden dividir en cuatro grupos según su principio activo o naturaleza: 1) productos sintéticos, 2) ácidos orgánicos, 3) monoterpenoides y 4) prácticas biotecnológicas y de manejo, las cuales se describen a continuación.

#### **2.2.6.1 Acaricidas sintéticos**

A partir del ingreso de varroa al país, se ha dependido del uso regular de plaguicidas para su control. Para ello, sólo se cuenta con tres ingredientes activos disponibles comercialmente en México aprobados por la SAGARPA: fluvalinato, flumetrina y amitraz, con los nombres comerciales de Apistan<sup>®</sup>, Bayvarol<sup>®</sup> y Colmesán<sup>®</sup>, respectivamente (González-Gómez, 2010; González-Gómez *et al.*, 2016). También existen más productos que son utilizados en otros países, por ejemplo, el cimiazol (amidina) y coumaphos (organofosforado). Sin embargo, el uso obligado de plaguicidas para el control de varroa ha representado aumento en el costo de producción, contaminación de la miel, mortalidad de abejas y el desarrollo de resistencia a los plaguicidas usados (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005, 2011).

##### **2.2.6.1.1 Amitraz**

El amitraz pertenece al grupo de las Formamidinas, este tipo de agente provoca híper excitabilidad y seguidamente parálisis y muerte. La excitabilidad hace también que los paracitos no logren fijarse al huésped para alimentarse, posee un efecto repelente lo que hace que muchos parásitos se desprendan del hospedador antes de morir (Rosenkranz *et al.*, 2010).

En el mercado se encuentra disponible como Colmesán<sup>®</sup>, el cual tiene una concentración al 1.25% de amitraz, para su aplicación se humedece un material absorbente (papel, tela, etc.) con 0.5 mililitros del producto (por colmena) y se coloca en el ahumador encendido, cuando libera humo blanco, se aplican 5 bocanadas a la colmena. Para obtener buenos resultados se deben repetir este proceso 3 veces con intervalos de 5 a 7 días, este mismo agente viene en presentación de solución que se aplica por medio de un gasificador (1.25%) de acuerdo a las indicaciones del fabricante, esta misma presentación se puede aplicar en almohadillas sobre los

cabezales de la cámara de cría, su liberación es por evaporación, para esto se aplican dos dosis de 10 ml separados a intervalos de 10 días (2.05 g por aplicación) (Marcangeli *et al.*, 2004). Otra de las presentaciones de este compuesto es Apivar® (3.3% Amitraz), este viene en presentación en tiras de copolímero de etileno y acetato de vinilo de liberación progresiva, la forma de aplicación es insertar dos tiras por colmena en la cámara de cría, el tiempo de exposición debe ser por seis semanas, transcurrido este tiempo se retiran las tiras y son desechadas. En un inicio al utilizarse este agente para el control del ácaro, la eficacia de este producto era superior al 90%, sin embargo, actualmente se reportan índices menores de efectividad. Marcangeli *et al.* (2004) al tratar este ácaro por el medio de evaporación obtuvieron resultados de eficacia del 71%. En la presentación de tiras impregnadas (Amivar®) presentó una eficacia promedio de 85.05% (Marcangeli *et al.*, 2005). Rodríguez-Dehaibes *et al.* (2005) realizaron pruebas en el estado de Veracruz México, para verificar si en esa área la varroa había desarrollado resistencia, sus resultados demostraron que la nueva DL50 encontrada de *V. destructor* para el amitraz, al compararla con la estimada por Pérez-Santiago *et al.* (2000), es 2.3 veces superior a la recomendada nueve años atrás.

La aplicación de amitraz debe ser cuando no exista flujo de néctar ya que existe el riesgo de contaminación de la miel y la cera. Estudios recientes en España demostraron que el 80% de muestras de cera analizadas estaban contaminadas con amitraz en una concentración promedio de 6.884 ppm (Calatayud-Vernich *et al.*, 2017) mientras que en México el límite máximo permisible de amitraz para la miel es de 0.200 ppm (NOM-004-ZOO-1994).

Investigaciones recientes han demostrado que el amitraz altera significativamente la función cardiaca de la abeja melífera, muy probablemente a través de la interacción con los receptores de octopamina, disminuye la respuesta de su sistema inmunológico en abejas infectadas con algún virus, presentando una alta mortalidad al ser tratadas con este agente. Estos resultados sugieren un posible inconveniente para el uso de amitraz en la colmena y se plantean preguntas sobre la función cardiaca de las abejas y la tolerancia a las enfermedades (O'Neal *et al.*, 2017).

### 2.2.6.1.2 Tao-Fluvalinato

El fluvalinato es un piretroide, el mecanismo de acción es a nivel sistema nervioso, generando una alteración de la transmisión del impulso nervioso. Su efecto fundamental se debe a una modificación en el canal del sodio de la membrana nerviosa, causando una paralización que propina un efecto de volteo o knock-out del insecto, posteriormente convulsiones y finalmente muerte. Es importante aclarar que puede ocurrir una detoxificación en organismos resistentes por lo que el volteo no siempre es seguido de la muerte del insecto. Para ello se suele utilizar sinergizantes (sustancias auxiliares que actúan asemejando a catalizadores) como el Butóxido de Piperonilo, que intensifican la acción del piretroide.

En México se comercializa un producto sintético conocido como Apistan® (100g/10g de Tau-fluvainato y 100g Excipiente c.b.p) que comúnmente es empleado en el control de varroasis en colonias de abejas, es un compuesto lipo-soluble y no volátil. La presentación de este acaricida es común en tiras plásticas y actúa lentamente a través del contacto. Se recomienda colocar 2 tiras por colmena entre los cuadros de cría y dejarlas actuar de 6 a 8 semanas; colocarlas después de la última cosecha o previo al primer flujo de néctar. La efectividad del método de aplicación variará de acuerdo a las condiciones particulares de cada colonia de abejas; tamaño de la colmena, la temporada y el clima, principalmente.

Debido a que el fluvalinato fue uno de los primeros productos químicos disponibles en México para el control del ácaro *V. destructor* y ha sido utilizado de manera constante durante y desde 1992 (Arachavaleta *et al.*, 2007; Rodríguez-Dehaidés *et al.*, 2005), se ha reportado la presencia de poblaciones de ácaros resistentes al fluvalinato en algunas regiones del país como en el Estado de México donde se reportó un porcentaje de mortalidad del 60.6% (Arachavaleta *et al.*, 2007); en el estado de Veracruz se observó que necesitaban 327 veces más concentración del producto para alcanzar la concentración letal media, esto debido a la constante aplicación de este producto (Rodríguez-Dehaidés *et al.*, 2005). En Yucatán Martínez-Puc y Medina-Medina (2011) realizaron aplicaciones de Apistan al 10% durante 24 horas, observándose una eficacia del 83.6%.

Es evidente que en algunas zonas del país existe resistencia a este compuesto, probablemente debido a la continua exposición o al mal manejo de las tiras con que se aplica. Sin embargo, se puede utilizar este método de control combinado con algún otro método de control alternativo como de ácidos orgánicos (fórmico, láctico y oxálico) y aceites esenciales (timol) (Martínez-Puc y Medina-Medina 2011).

#### **2.2.6.1.3 Flumetrina**

Al igual que el Fluvalinato, la Flumetrina es un piretroide, se ha demostrado que existe resistencia cruzada entre estos dos compuestos (Milani, 1995). El producto comercial en México es el Bayvarol® de Bayer® se presenta en tiras de PVC impregnadas con 3.6 mg/tira. En este caso se colocan 4 tiras por colmena, repartidas entre los panales de la cámara de cría y se dejan por un periodo mínimo de 6 semanas hasta un máximo de 8 semanas. El modo de acción de la flumetrina es igual que el del fluvalinato actuando en sistema nervioso central.

#### **2.2.6.2 Ácidos orgánicos**

Debido a la poca efectividad a largo plazo de los controles sintéticos se optó por la opción de los ácidos orgánicos o “químicos blandos” que ya tenían una historia de su uso en Europa (Kraus *et al*, 1994; Imdorf *et al*, 1996; Delaplane y Hood,1997). Estos ácidos son productos que se generan naturalmente en la miel de la abeja y pueden ser utilizados para el control de varroa, los más comúnmente usados son el ácido fórmico, ácido láctico y ácido oxálico. El efecto se basa en un pH disminuido que es menos tolerado por los ácaros pequeños que por la abeja adultas (Wallner y Fries 2003).

##### **2.2.6.2.1 Ácido fórmico**

El ácido fórmico es un compuesto químico orgánico presente en la naturaleza. Se encuentra presente en la miel, en el veneno de las hormigas y en algunas frutas como lo son la manzana y la freza, etc., (Vandame, 2000). En altas concentraciones actúa como inhibidor del complejo citocromo oxidasa mitocondrial causando asfixia del tejido y la consecuente muerte celular (Maduh *et al.*, 1990).

Este ácido es el más comúnmente utilizado para el control de varroa, hay distintas formas de su aplicación (gel o tablillas artesanales) y se recomienda que se utilice en un rango de temperatura de 12° a 25°C; por debajo de dicha temperatura la eficacia se reduce y por encima de esta temperatura las abejas se pueden agitar y salir de la colmena. Una de las ventajas es que también hace efecto sobre los ácaros que se encuentran en la cría en celdas operculadas (Fries, 1991).

Api-Plus® de Pronabive, es el producto comercial aprobado por la SAGARPA. La presentación comercial es en bolsas de 80 mililitros de ácido fórmico al 65%, con un dispositivo que permite su liberación gradual y una óptima concentración en el interior de la colmena. Para el tratamiento de las colmenas se coloca una bolsa del producto en la cámara de cría y se deja por 4 días; transcurrido este tiempo se sustituye por una nueva y así sucesivamente hasta completar 16 días (4 bolsas en total). Otro de los modos de aplicación a corto plazo es administrar en un soporte de esponja viscosa, cartón o pavatex, una solución al 60-70% a razón de unos 30 mililitros para colmena Dadant, de 20-30 para Langstroth de una cámara de cría y de 40 a 50 para la de dos cámaras de cría. El ácido fórmico a largo plazo consiste en usar una solución al 85% a razón de 250 mililitros en un soporte que se colocara con una perforación de 1.5 cm para que la evaporación sea más lenta.

La eficacia de los tratamientos está muy influida por la temperatura, sólo en condiciones óptimas se alcanzan eficacias superiores al 90%. Estudios realizados por Espinosa-Montaño y Guzmán-Novoa (2006) reportaron una eficiencia del 66.4%, la forma de aplicación que ellos utilizaron fue en una concentración al 65%, dos aplicaciones de 80 ml con intervalo de 4 días entre cada aplicación, las temperaturas medias durante su evaluación fueron de 18°C y 29°C, así, como una humedad relativa con rangos promedio entre el 46% y 55%. Los residuos en la miel son mínimos ya que el ácido fórmico es muy volátil, por lo que se evapora en menos de 3 semanas en bastidores de la cámara de cría, esto evita la acumulación a largo plazo en miel y cera (Bogdanov *et al.*, 2002). Las desventajas es la variación en la eficacia y los riesgos para el usuario que maneja el ácido concentrado. En tratamientos prolongados a las

colmenas hay ciertos efectos sobre las reinas y zánganos, por lo que no se recomienda su uso en estaciones de cría de reinas.

#### **2.2.6.2.2 Ácido oxálico**

El ácido oxálico ha demostrado ser altamente eficaz para el control de varroa, tanto aplicado disuelto en solución de azúcar goteando sobre las abejas, como fumigante aplicado después de calentar cristales de ácido oxálico en el interior de la colmena de abejas (Mutinelli *et al.*, 1997). El ácido oxálico sólo es efectivo en las colonias sin cría operculada y si se aplica a finales del otoño, además el riesgo de encontrar residuos en la miel es mínimo. El mecanismo de acción frente a varroa se atribuye a la sensibilidad del ácaro al pH ácido, de forma que la acción acaricida se cree que es debida al contactar el ácaro con la solución que contiene el ácido.

Una de las aplicaciones es mediante el goteo de ácido oxálico combinado con azúcar y agua en proporción 1:10:10. Actualmente se prefieren disoluciones menos concentradas de oxálico y azúcar: 60 gr de ácido oxálico, 300 gr de azúcar y 1 lt de agua. Sin embargo, estudios recientes realizados por Toufailia *et al.* (2016) utilizaron un método de evaporación utilizando sólo 2.25 g de ácido oxálico, este método consiste en sellar la colmena al realizar la aplicación y con ayuda de un vaporizador eléctrico introducido en la piquera sellando esta misma también por 10 a 15 minutos, se pueden obtener resultados de control del 98% en ausencia de cría y causando una menor mortalidad en la población de abejas que con los otro métodos por goteo y pulverización.

Las desventajas incluyen la acción caustica local sobre la piel y mucosas del manipulador. La inhalación de polvo o vapores provoca problemas respiratorios. Para prevenir lo anterior, es necesario usar gafas, guantes y máscaras antiácidos. El problema del ácido oxálico sobre las abejas es su toxicidad por lo que se recomiendan pocas aplicaciones. El método de goteo tiene más efectos secundarios en las colonias de abejas que el método de evaporación o llamado también sublimación por lo que se recomienda sustituir el método de goteo por el de evaporación (Tufalia *et al.*, 2016). No se han reportado residuos del ácido oxálico en la cera y propóleos de las colonias

tratadas, así mismo, existe una baja posibilidad de que el ácaro adquiriera resistencia hacia este producto (Barbero *et al.*, 1997).

#### **2.2.6.2.3 Ácido láctico**

Es un ácido orgánico cuya acción es similar a la del ácido oxálico y es tolerable para las abejas. Se aplica mediante pulverización fina de una disolución al 15% en agua directamente en cada lado de todos los bastidores cubiertos por abejas. Este tipo de tratamiento para que sea efectivo debe de aplicarse tres veces. Su eficacia es menor que la del oxálico. Su aplicación sin la presencia de cría en la colonia, puede alcanzar el 80% de la mortandad del ácaro, mientras que en presencia de cría la eficacia es del 20-40%. Sin embargo, este tipo de control implica una intensa mano de obra, las desventajas para el manipulador son similares al del ácido oxálico.

#### **2.2.6.3 Monoterpenoides (aceites esenciales)**

La mayoría de los aceites esenciales se componen de monoterpenos, compuestos que contienen 10 átomos de carbono a menudo dispuestos en forma de anillo o acíclico, así como sesquiterpenos que son hidrocarburos que comprenden 15 átomos de carbono. Los terpenos superiores también pueden estar presentes como constituyentes menores. Sin embargo, la composición química de un aceite esencial depende sobre el cultivo y las condiciones climáticas en las que se desarrolla (Koul *et al.*, 2008). Los monoterpenoides utilizados en el control de varroa en colmenas de abejas de la miel son aceites esenciales (Imdorf *et al.*, 1999). Poseen actividad insecticida por contacto (Samarasekera *et al.*, 2008), también tienen propiedades repelentes hacia varroa y antialimentaría en varroa (Argadoña *et al.*, 2002) así como inhibitoria del crecimiento en varroa. Existen más de 150 aceites esenciales que han demostrado cierta eficacia contra *V. destructor*, como los aceites de menta, orégano, mejorana y clavo, sin embargo, el timol es el más utilizado.

##### **2.2.6.3.1 Timol**

El timol es un aceite esencial obtenido del tomillo (*Thymus vulgaris*). Esta planta aromática es tradicionalmente muy utilizada en la cocina mediterránea, de modo que

sus residuos no se consideran tóxicos. Se encuentran productos patentados en el mercado, pero debido a su alto costo, se usa el timol sintético.

El timol puede encontrarse en varias presentaciones comerciales, así como formas de dosificación y aplicación: en gel y líquido (Apiguard®, Happy-Varr®) y en cristales. La presentación en gel contiene 50 g de timol dentro de una charola de aluminio. El modo de empleo de esta presentación consiste en colocar una charola sobre los panales durante 15 días, transcurrido este tiempo se coloca una nueva charola. En la presentación líquida se aplican 20 ml del producto comercial en dos piezas de cartón (7 x 9 x .05 cm), posteriormente se colocan sobre la cámara de cría. El tratamiento consta de tres aplicaciones con un intervalo de seis días entre aplicaciones en las tres presentaciones del producto mencionadas.

El timol sintético se puede aplicar en oasis sobre vermiculita o en forma de cristales. El oasis consiste en disolver 8 g de timol sintético puro con ocho mililitros de alcohol, una vez homogenizada, la solución es vertida en un cuadro de vermiculita (6 cm x 4 cm x 0.5 cm), por cada colonia se recomienda colocar dos cuadros empapados con esta mezcla. Los cuadros se colocan en la parte superior de los bastidores de la cámara de cría, lo ideal es poner el tratamiento en las dos contra esquinas de la cámara de cría. El tratamiento completo consiste en dos aplicaciones a intervalos de ocho días uno del otro. Sin embargo, se obtienen mejores resultados realizando tres aplicaciones con el mismo intervalo (Vandame, 2000).

La presentación en cristales se aplica sobre tapas de plástico de 5 a 7 cm de diámetro, cada tapa es colocada en la cámara de cría sobre los cabezales de los bastidores. A cada tapa de plástico se le agregan 4 g de timol, lo ideal es poner el tratamiento en contra esquina. El tratamiento completo consiste en dos aplicaciones con intervalos de ocho días, sin embargo, para mejores resultados se recomienda realizar tres aplicaciones con el mismo intervalo (Vandame, 2000).

Como en el caso del ácido fórmico, la evaporación del timol está relacionada con la temperatura ambiente, ya que conforme se incrementa la temperatura se incrementa la tasa de evaporación (Calderon, 1999). Estudios realizados por Calderón

*et al.* (2014) obtuvieron resultados de efectividad del 96.9% en la aplicación en forma de gel (50 g) con dos aplicaciones. Similares resultados obtuvieron Espinosa-Montaña y Guzmán-Novoa (2006) con dos aplicaciones de timol en gel con 12.5 g obteniendo una efectividad del 92.1%.

El uso del timol como acaricida ha registrado resultados variables en diversas partes del mundo con eficacias de entre 50 al 90%, en México se observó una eficacia del 92%, sin embargo, se han observado efectos negativos como reducción del número de cría y la producción de miel, enjambrazón, evasión y pillaje.

#### **2.2.6.3.2 Orégano**

El aceite esencial del orégano se compone principalmente de monoterpenoides y monoterpenos. Se han identificado más de 60 compuestos diferentes, siendo los principales el carvacrol y timol. Sin embargo, las concentraciones de los compuestos específicos (carvacrol y timol) varían de 0% a 80% dependiendo de la ubicación geográfica, genética y otros factores variables que influyen en el crecimiento y desarrollo de la planta.

Actualmente no existe algún producto comercial disponible como extracto de orégano, las formas con las que se ha probado son el aceite puro a diferentes diluciones. Estudios recientes en Canadá, demostraron que la liberación continua de orégano controla de manera efectiva y segura las infestaciones de *V. destructor* en colonias de abejas melíferas. La aplicación de aceite de orégano en vaporizadores demostró una eficacia del  $97.4 \pm 0.68\%$  en el control de varroa, esta aplicación consto en suministrar por medio de dos vaporizadores eléctricos  $2.13 \pm 0.06$  g/día/cuatro semanas de aceite puro de orégano (Sabahi *et al.*, 2017).

Pérez-Santiago *et al.* (2008) reportaron una mortalidad de varroa del 80% utilizando una solución de orégano al 1% *in vitro*, sin embargo, al realizar las pruebas en campo obtuvieron una eficiencia en la mortalidad de varroa que varió del 31 al 54%. De acuerdo a los estudios presentados, la eficacia de los aceites esenciales y los ácidos orgánicos son influenciados por el clima, mecanismo de aplicación, la concentración y la capacidad de mantener las concentraciones continuas y uniformes

dentro de la colmena (Currie y Gatien, 2006; Emsen *et al.*, 2007; Melathopoulos *et al.*, 2010).

#### **2.2.6.4 Controles biotécnicos o de manejo**

El objetivo de este tipo de controles biotécnicos o de manejo es reducir el uso de productos químicos utilizados en el control de varroa, manteniendo bajos los niveles de infestación en las colonias de abejas melíferas (Fries y Hansen, 1993).

##### **2.2.6.4.1 Remoción de cría de zángano**

La varroa para su reproducción prefiere celdas de zánganos en un 90% y en un 10% a las de obreras. Para la remoción de zánganos se utilizan cuadros de cera estampada o bien una guía de cera para que las abejas construyan el panal. En la época propicia para la producción de zánganos, se coloca el cuadro en la cámara de cría durante 17 días. Transcurrido este tiempo, se retira y se procede ya sea a la eliminación de las larvas y pupas desoperculando la cría y destruyéndolas con un lavado a presión, o bien fundir los panales con todo y cría. Esta técnica resulta ideal para ser combinada con otros mecanismos de control, disminuyendo la aplicación de sustancias químicas y la generación de resistencia por parte del ácaro frente a los principios activos utilizados para su control. Sin embargo, debido a que este método de control demanda una gran cantidad de tiempo, así como recursos de la colonia la productividad de miel y polen puede verse afectada considerablemente (Damiani y Marcangeli, 2006).

##### **2.2.6.4.2 Cambio anual de abejas reinas**

Una reina en su primer año de actividad pone un número limitado de huevos de zánganos y ayuda a mantener en la colonia bajos niveles de infestación (Barbattini y Greatti, 1996). Las colonias de abejas con reinas jóvenes mantienen niveles de infestación más bajos que las colonias con reinas viejas, debido al decaimiento en la capacidad de ovoposición (Pérez-Sato y Cervantes-Santana, 2001).

#### **2.2.6.4.3 Selección de colonias resistentes para cría de reinas**

La mejor solución a largo plazo para el control de varroa es el desarrollo de abejas genéticamente resistentes al ácaro (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 1996b). En el contexto de las interacciones sociales, las abejas melíferas exhiben una amplia gama de habilidades de comportamiento. El comportamiento higiénico y el comportamiento de acicalamiento pueden ayudar a controlar el crecimiento poblacional de varroa dentro de la colonia.

El comportamiento higiénico (CH) en *Apis mellifera*, consiste en la capacidad de las abejas para detectar y remover de sus celdas a la cría enferma o muerta (Rothenbuhler, 1964). Este comportamiento, ha sido considerado como uno de los mecanismos de resistencia de las abejas melíferas contra enfermedades de la cría como “loque americana” (*Paenibacillus larvae*) y la “cría calcárea” (*Ascosphaera apis*) (Spivak y Gillian, 1993). Además, se ha reportado que el CH confiere a las abejas melíferas tolerancia contra el ácaro *V. destructor* (Spivak, 1996).

Otra de las características deseables en colonias de abejas melíferas para mantener bajos niveles del ácaro varroa es el comportamiento de acicalamiento, este comportamiento consiste en la capacidad de la abeja de detectar, morder y eliminar los ácaros en su fase forética (Araneda *et al.*, 2010). Esta es una de las razones del por qué la abeja *Apis cerana*, hospedero original de *Varroa jacobsoni* mantiene un equilibrio entre huésped-parasito (Peng *et al.*, 1987).

#### **2.2.6.4.4 Tratamiento térmico de la cría y abejas (Hipertermia)**

Estudios recientes indican que el incremento de la temperatura (hipertermia) en la colonia puede ser una técnica de control contra varroa evitando el uso de agentes químicos. Esta consiste en elevar la temperatura de la colonia a temperaturas superiores a los 42.3 °C y no mayor a los 47 °C, la eficacia de este método dependerá del tiempo de exposición. Por ejemplo, tratamientos de 12 minutos y 480 minutos se puede obtener reducciones en la población de ácaros del 29.8% y 79.8% respectivamente. Se han obtenido resultados en el control del 100% de los ácaros en una exposición de 480 minutos. Sin embargo, exposiciones mayores de 120 minutos

se presenta una mortalidad alta de la cría sellada, el cual se incrementa gradualmente con el tiempo de exposición (Goras *et al.*, 2016).

#### **2.2.6.5 Controles biológicos**

Se han realizado investigaciones encaminadas al uso de bacterias, virus y hongos entomopatógenos que ayuden al control de varroa pero a la fecha no existen agentes biológicos disponibles en el mercado con este fin. No obstante, Rodríguez *et al.* (2009) demostraron que el hongo *Metarhizium anisopliae* (Qu-M845) produjo una mortalidad (*in vitro*) del 85%, este resultado no ha sido verificado en campo. Alquisira-Ramírez *et al.* (2014) informan que aislaron cincuenta y cuatro cepas similares de *Bacillus* encontradas en *V. destructor* muertas recogidas del fondo de 24 colonias de siete apiarios diferentes. Tres cepas pertenecientes a *B. thuringiensis* EA26.1, EA3 y EA11.3 demostraron altos índices de control. Las DL50 utilizadas de estas tres cepas fueron 1.50 µg/ml, 7.1 µg/ml y 22.8 µg/ml respectivamente, las concentraciones probadas no influyeron en su eficacia. Recientemente Alquisira-Ramírez *et al.* (2017) evaluaron los efectos de cepas *B. thuringiensis* virulentas contra *V. destructor* en larvas y abejas adultas de *A. mellifera* en condiciones de laboratorio. Se evaluaron dos cepas (EA3 y EA26.1) a diferentes concentraciones de proteína total (1, 5, 25, 50 y 100 µg/ml) aplicado en jarabe de azúcar. Los resultados demostraron que la proteína total de las dos cepas no afectó el desarrollo de larvas, el consumo de jarabe, la actividad locomotora o la respuesta de extensión de la probóscide de los adultos. Esto indica que estas cepas pueden usarse en colmenas para el control de varroa y reducir los efectos negativos de este ácaro sobre las colonias sin efectos adversos sobre las larvas y los adultos de *A. mellifera*.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Localización del estudio

El presente trabajo se realizó en el municipio de Jalpa, Zacatecas (Figura 1) localizado al sur del estado a  $21^{\circ} 39' 08''$  latitud norte y  $102^{\circ} 55' 47''$  longitud oeste, cuenta con una altura promedio de 1400 msnm; el clima es templado, semiárido (García E. 1998); la temperatura media anual es de  $19.5^{\circ}\text{C}$  y presenta una precipitación media anual de 600 a 700 mm (INEGI, 2005), este trabajo fue realizado durante el periodo de enero del 2016 a mayo del 2017.



**Figura 1.** Localización de la zona de estudio en Jalpa, Zacatecas.

Los trabajos de laboratorio se realizaron en las instalaciones del Colegio de Postgraduados, campus San Luis Potosí, ubicado en Agustín de Iturbide No. 73, Salinas de Hidalgo, Salinas, SLP; y en la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Zacatecas (UAMVZ-UAZ), ubicada en El Cordovel, Enrique Estrada, Zacatecas kilómetro 31.5 de la carretera panamericana tramo Zacatecas-Fresnillo.

### 3.2 Establecimiento de colonias experimentales

Se seleccionaron cinco apiarios de la zona, donde estos no habían recibido tratamiento contra varroa en al menos un año, inicialmente se determinó el número de panales con abejas, reservas de alimento y niveles de infestación por varroa en abejas adultas a 200 colonias de abejas melíferas alojadas en colmenas tipo Langstroth (Figura 2 y 3). Se seleccionaron 48 colonias con condiciones estadísticas similares ( $p>0.22$ ) de población de abejas (ocho panales), cría operculada (cinco), reservas de alimento (dos panales con miel y uno con polen) y niveles de infestación por varroa en abejas adultas ( $5.3\pm 0.36\%$ ). Las colonias fueron establecidas en un sólo apiario y sus reinas fueron remplazadas por reinas jóvenes de la misma generación y origen (Figura 4 y 5).

El tratamiento contra varroa consistió en aplicar semanalmente y durante cuatro ocasiones 10 ml de amitraz al 1.25% (p/v) diluido en aceite vegetal en toallas absorbentes de papel Scott® (6.5x28 cm) sobre los cabezales de los bastidores de las cámaras de cría de las colmenas, por lo que, cada colonia recibió aproximadamente 125 mg de amitraz como ingrediente activo en cada aplicación (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Esquema de grupos de investigación, tratamiento y aplicaciones.

Grupo	Número de colonias	Serie de aplicación	Estación de aplicación	Fecha y numero aplicaciones
I	12	1	Verano	10,17,24,31 de julio de 2016
II	12	1	Invierno	19,26 de enero 2,9 de febrero de 2017
III	12	2	Ver-Inv.	Mismas para Grupo I y II
IV	12	0	Testigo	Sin aplicaciones

**Serie de aplicación:** número de veces que recibieron tratamiento los grupos de colonias a lo largo de la investigación, **Estación de aplicación:** primavera o invierno, **Fechas de aplicación:** julio, enero y febrero, **Tratamiento:** solución acuosa de amitraz al 1.25% (p/v) diluido en aceite vegetal.

### **3.3 Determinación del nivel de infestación por *V. destructor* en abejas adultas, cría operculada y caída natural diaria**

La determinación del nivel de infestación de varroa en abejas adultas se realizó de acuerdo a la metodología descrita por De Jong *et al.* (1982b), la cual consiste en coleccionar una muestra de aproximadamente de 200 abejas adultas en un recipiente con etanol al 75%, para posteriormente mediante agitación mecánica desprender los ácaros adheridos a las abejas. El porcentaje de infestación por el ácaro se determinó mediante el conteo total de ácaros, divididos entre el número de abejas que fueron analizadas y se multiplicó por 100 (Figura 6 y 7).

Así mismo para determinar el nivel de infestación en la cría de obreras se tomaron muestras de porciones de panal (10 x 10 cm) con cría operculada en su estado de pupa. Las porciones de panal se colocaron en bolsas de nylon identificadas para ser transportadas y conservadas en refrigeración a 4°C. Con ayuda de un microscopio estereoscópico (Leica LED5000 SLI) lámparas de fibra óptica y pinzas entomológicas, se desoperularon 100 celdas, se extrajo la pupa y los ácaros que se encontraban presentes en su interior incluyendo los ácaros inmaduros y adultos.

El porcentaje de infestación se determinó contando el número total de celdas infestadas entre el número de celdas desoperculadas multiplicando por 100 (De Jong *et al.*, 1982b).

Para el registro de la caída natural de ácaros se instalaron en el piso de cada colmena experimental una lámina galvanizada (28 x 43.5 cm) impregnada con petrolato (para que los ácaros caídos se pegaran en las láminas), sobre la lámina se colocó una malla criba (3 mm) para evitar que las abejas tuvieran contacto con la lámina con petrolato. Las charolas fueron removidas a los siete días posterior a su instalación (Figura 8 y 9). El promedio diario de ácaros caídos se determinó al dividir el número de ácaros encontrados entre los días que fue colocada la charola.

La determinación del nivel de infestación por varroa en abejas adultas, cría operculada de obreras y caída de ácaros fue realizada en todas las colonias de cada grupo con una frecuencia mensual a partir del mes de mayo de 2016 y hasta el mes

de abril de 2017. Además, durante la aplicación de los tratamientos se registró semanalmente la caída de ácaros en los cuatro grupos.

### **3.5 Determinación del tamaño poblacional, reservas de alimento y peso**

Las estimaciones de la población de cría, reservas de miel y polen se realizaron visualmente determinando la superficie cubierta por estos recursos en todas las colonias. En cada visita, los panales de las colonias experimentales fueron inspeccionados y se registró el porcentaje de cada panal ocupado por la cría, la miel y el polen en ambos lados. Posteriormente este porcentaje se convirtió a área (cm<sup>2</sup>) tomando como base el área de un bastidor tipo Langstroth (880 cm<sup>2</sup>) por lado (Delaplane *et al.*, 2013).

Para estimar la población de abejas adultas de la colonia, se determinó el promedio de abejas en 20 panales Langstroth escogidos al azar de diferentes colonias ajenas al experimento. La densidad de población de abejas adultas en los grupos experimentales se estimó multiplicando el número promedio de abejas obtenido de los 20 panales (1,120) por el número de panales cubiertos con abejas de cada colonia en cada muestreo (Szabo y Lefkovich 1989; Nesr *et al.*, 1990) (Figura 10).

La ganancia neta de peso de las colonias experimentales se determinó restando el peso del equipo (piso, cámara de cría, techo y panales) del peso total de cada colmena (Figura 11).

La determinación de los niveles de infestación por varroa, las estimaciones del tamaño poblacional de abejas, cría, reservas de alimento y peso se realizaron con una frecuencia mensual a partir de mayo de 2016 hasta abril de 2017.

### **3.6 Determinación del morfotipo**

El morfotipo de las colonias experimentales fue determinado mediante la técnica FABIS I (Fast Africanized Bee Identification System), la cual consiste en el análisis de mediciones del largo del ala anterior de 10 abejas obreras de una colonia (Sylvester y Rinderer, 1987; Nielsen *et al.*, 1999).

De las 48 muestras de abejas adultas colectadas para realizar el diagnóstico de varroosis, se tomaron doce abejas y se depositaron sobre un papel absorbente, el cual absorbió el líquido conservador sobrante. Posteriormente se desprendió el ala anterior izquierda desde su base con la ayuda de pinzas entomológicas. Usando un microscopio estereoscópico, se verificó que las alas fueron bien desprendidas desde su base al observar en la canaladura de la vena costal del ala y de la parte distal del borde del ala completa. En los casos en que el ala fue mal desprendida o rota, se sustituyó por otra abeja de la misma muestra.

Una vez que se tuvieron las doce alas completas y bien diseccionadas se procedió a montarlas entre dos cubreobjetos (24X40 mm) unidos con cinta adhesiva. Posteriormente, los cubreobjetos con las alas se colocaron en un marco para diapositivas identificado con el número de la muestra (Figura 12).

Previo a la lectura del tamaño de las alas se ajustó el proyector colocando un lente micrométrico en un marco para diapositivas. La montura con el ocular micrométrico se proyectó en la pantalla, para poder medir la proyección con la ayuda de una regla de 50 cm de longitud; el proyector se ajustó igualando el centímetro proyectado del ocular milimétrico con 25 centímetros de una regla, de este modo los resultados de las medidas de las alas se multiplicaron por cuatro. El ajuste se hizo acercando o retirando el proyector de la pantalla, una vez ajustada la imagen, el proyector se fijó para evitar falsos resultados.

Posteriormente se procedió a efectuar las mediciones de las alas, para lo cual se colocó la regla en el centro de la canaladura de la vena costal y se trazó una línea recta hasta la parte más distal del ala (Figura 13), cada diez muestras se colocaba el ocular milimétrico con la finalidad de confirmar su ajuste; finalmente se registró la medida de las alas de cada muestra.

De acuerdo con este método, las abejas cuya longitud promedio de ala es mayor a 9.001 mm son consideradas europeas, mientras que las que tienen una longitud menor a 8.968 mm, se clasifican como africanizadas. Aquellas cuyo promedio

se encuentra entre 8.968 y 9.001 mm son consideradas intermedias o mixtas (Sylvester y Rinderer, 1987).

### **3.7 Manejo alimenticio de las colonias experimentales**

Todas las colonias en investigación fueron alimentadas artificialmente a fines del otoño y durante el invierno con suplemento energético, este consistió en proporcionar jarabe de azúcar común, 1:1 (vol./vol. una parte de agua por una de azúcar). Todas las colonias recibieron 1.5 litros del alimento energético en seis ocasiones, éste alimento fue proporcionado mediante alimentadores tipo boardman, utilizando botellas de plástico tipo PET, cuyas partes superiores eran introducidas parcialmente a un orificio previamente elaborado en el techo de la colmena, de esta manera las botellas quedaron invertidas sobre el techo de las colonias, la tapa del contenedor contaba con una perforación donde las abejas succionaron el jarabe sin ser derramado dentro de la colonia. Además, las colonias recibieron sustituto proteico (250 gr) en dos ocasiones, esta fue elaborada con lavadura de cerveza (70%) y polen (5%) mezclados con jarabe de azúcar (1/1) hasta alcanzar la consistencia pastosa.

### **3.8 Análisis estadístico**

Con la finalidad de determinar posibles diferencias estadísticas entre los cuatro grupos respecto a los niveles de infestación por varroa en abejas adultas, en cría de obreras, caída natural del ácaro, así como la población de abejas, áreas (cm<sup>2</sup>) de cría operculada, miel y polen y el peso de las colonias, durante la primavera, verano, otoño e invierno, se realizó un análisis de varianza de mediciones repetidas, así mismo se realizó el mismo análisis a los datos obtenidos mensualmente. Además, con el propósito de comparar las variables antes mencionadas entre colonias con diferente nivel de infestación se realizó un análisis de varianza, para esto se clasificó en colonias con bajo ( $\leq 5.5\%$ ), medio (5.6 a 7.5%) y alto ( $\geq 7.6\%$ ) nivel de infestación por varroa en abejas adultas. Se utilizó la prueba de comparación de medias de Newman-Keuls. Se utilizaron pruebas de correlación de Pearson para establecer relaciones entre las variables evaluadas. Los datos porcentuales fueron transformados a raíz cuadrada del arcoseno, esto para garantizar su distribución normal (SAS, 2014).



**Figura 2.** Medición de parámetros en colonias de abejas mellíferas en apiarios de Jalpa, Zacatecas.



**Figura 3.** Toma de muestras de abejas mellíferas en etanol al 75% para determinar el nivel de infestación por *V. destructor*.



**Figura 4.** Abejas reina (*Apis mellifera*) procedentes de un criadero certificado por SAGARPA.



**Figura 5.** Apiario experimental, ubicado en el municipio de Jalpa, Zacatecas.



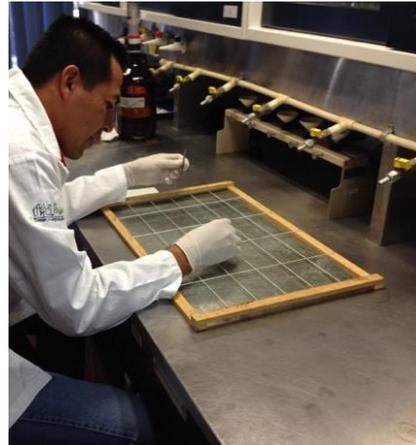
**Figura 6.** Agitador mecánico utilizado para desprender los ácaros de las abejas.



**Figura 7.** Filtrado de alcohol y retención de ácaros para su conteo.



**Figura 8.** Trampa con charola metálica colocada al fondo de la colonia para la captura de *V. destructor* por caída natural.



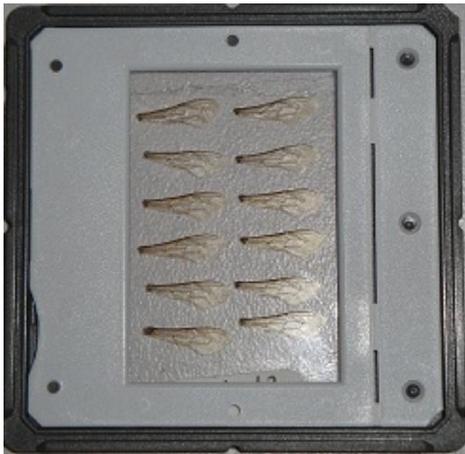
**Figura 9.** Detección y conteo de *V. destructor* en charolas metálicas impregnadas con petrolato.



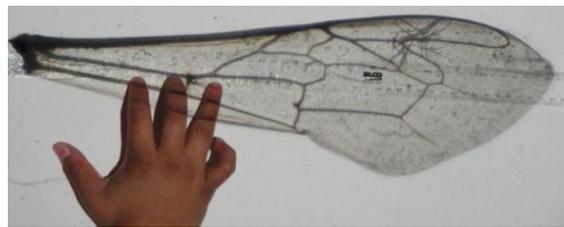
**Figura 10.** Colonia de abejas melíferas destapada para inspeccionar diferentes parámetros.



**Figura 11.** Pesaje de colonias de abejas melíferas (imagen tomada a inicios del verano).



**Figura 12.** Alas posteriores izquierdas listas para su proyección.

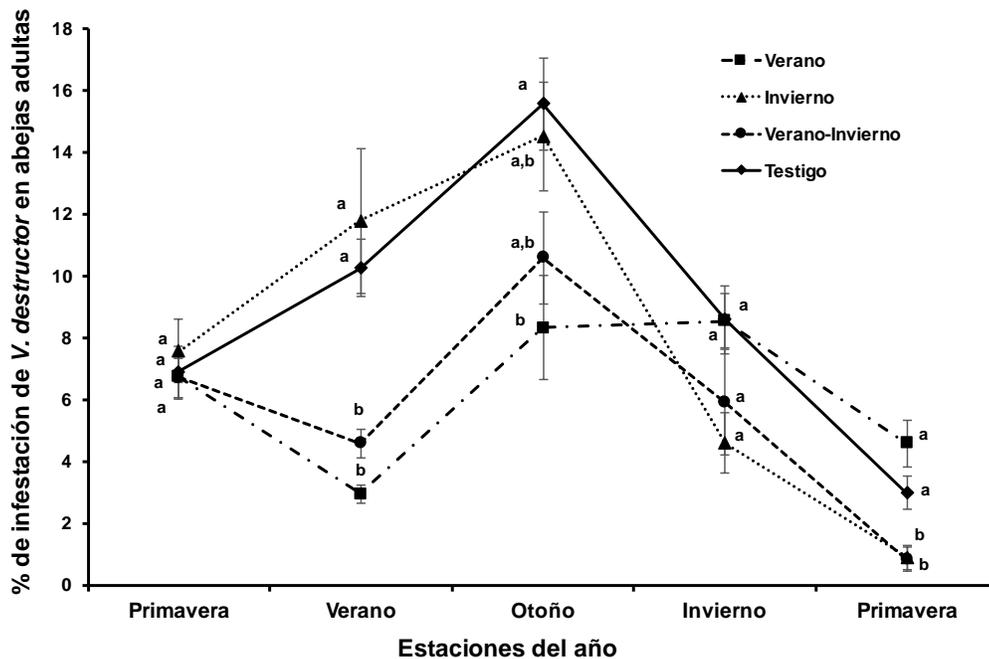


**Figura 13.** Medición del ala tomando como referencia la canaladura de la vena costal y su lado distal.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Nivel de infestación por *V. destructor* en abejas adultas

Los resultados del presente estudio respecto al nivel de infestación por varroa en abejas adultas por estaciones, muestran diferencias estadísticas significativas en los grupos por medio de la prueba de medidas repetidas ( $F=5.35$ ,  $p=0.004$ ), además, los grupos en las estaciones de verano ( $F=17.48$ ,  $p=0.0001$ ), otoño ( $F=3.48$ ,  $p=0.0262$ ) y primavera ( $F=10.09$ ,  $p=0.0001$ ) mostraron diferencias significativas (Figura 13).



**Figura 14.** Porcentajes de infestación (media $\pm$ EE) de *V. destructor* en abejas adultas de cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones del año. Diferentes literales indican diferencias significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls, los datos mostrados en la grafica son datos normales y su análisis fue realizado con datos transformados a la raíz cuadrada del arcoseno ( $p<0.05$ ).

El análisis general de los resultados mensuales sobre los niveles de infestación por *V. destructor* en abejas adultas muestra diferencias significativas entre fecha de aplicación por medio del análisis de medidas repetidas, además, los meses de agosto, septiembre y octubre muestran diferencias, no observándose diferencias posteriores hasta el mes de febrero (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Nivel de infestación de *V. destructor* en abejas adultas de cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.

<b>Estación de aplicación</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>	<b>Diciembre</b>	<b>Enero</b>	<b>Febrero</b>	<b>Marzo</b>	<b>Abril</b>
<b>Verano</b>	0.4±1.6 <sup>b</sup>	1.1 ±0.6 <sup>b</sup>	2.4 ±1.2 <sup>b</sup>	8.5±2.2 <sup>a</sup>	13.7±3.4 <sup>a</sup>	10.8±1.3 <sup>a</sup>	6.1±0.6 <sup>a</sup>	6.3±1 <sup>a</sup>	3.4±0.6 <sup>a</sup>
<b>Invierno</b>	12.3±2 <sup>a</sup>	6.7± 0.7 <sup>a</sup>	7.8±1.4 <sup>a</sup>	14.4±2.7 <sup>a</sup>	19.1±4.1 <sup>a</sup>	11.6±1.6 <sup>a</sup>	0.1±0.8 <sup>b</sup>	0.9±1.2 <sup>b</sup>	1.5±0.7 <sup>a</sup>
<b>Ver-Inv</b>	0.3±1.6 <sup>b</sup>	1.6± 0.6 <sup>b</sup>	4.1±1.1 <sup>b</sup>	11.1±2.2 <sup>a</sup>	15.9±3.4 <sup>a</sup>	8.2±1.3 <sup>a</sup>	0.5±0.6 <sup>b</sup>	0.7±1 <sup>b</sup>	0.9±0.6 <sup>a</sup>
<b>Testigo</b>	11.3±2 <sup>a</sup>	8.0±0.7 <sup>a</sup>	10.2±1.4 <sup>a</sup>	14.9±2.7 <sup>a</sup>	20.9±4.1 <sup>a</sup>	9.7±1.6 <sup>a</sup>	6.5±0.8 <sup>a</sup>	2.8±1.2 <sup>b</sup>	3.3±0.7 <sup>a</sup>
<b><i>p</i></b>	<.0001	<.0001	0.0007	0.2134	0.5486	0.3676	<.0001	0.1116	0.0243

Porcentajes de infestación (media±EE) de *V. destructor* en abejas adultas de cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones del año. Diferentes literales indican diferencias significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls.

Con respecto al nivel de infestación en abejas adultas según el número de tratamientos recibidos, las colonias muestran diferencias según el análisis de medidas repetidas, los meses de agosto, septiembre, octubre, febrero y abril muestran diferencias, también se observa que las colonias que presentaron menores niveles de infestación en abejas adultas fueron las que se les aplicó tratamiento en dos temporadas del año, seguidas por las que se les aplicó en una sola temporada y por último, las colonias que presentaron mayores niveles de infestación en abejas fueron las que no recibieron tratamiento alguno (Cuadro 3).

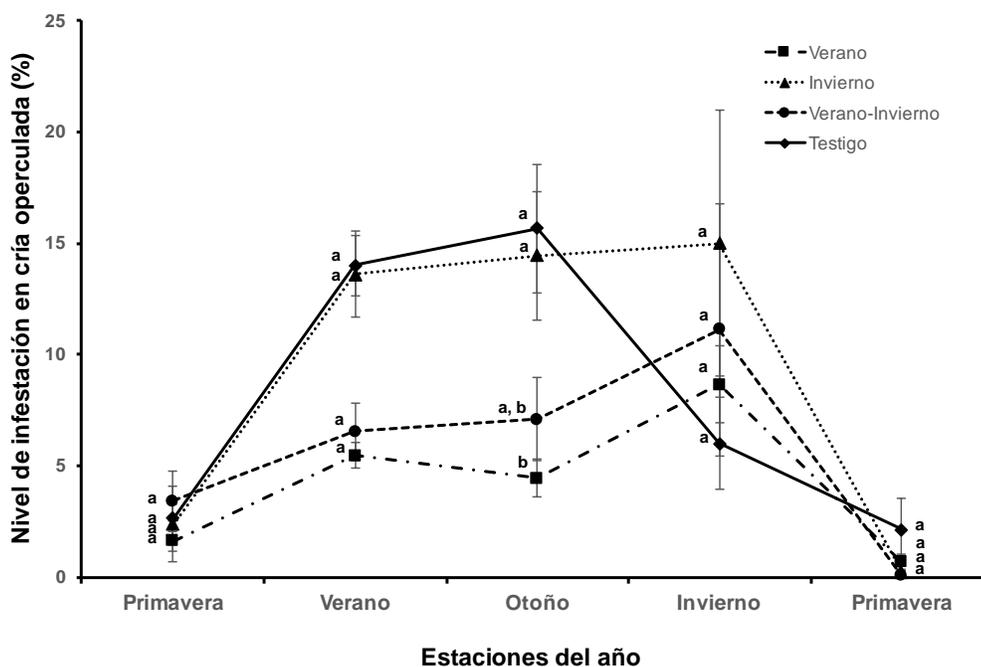
**Cuadro 3.** Porcentajes de infestación por varroa en abejas adultas con cero, uno y dos y tratamientos.

<b>T.</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>	<b>Diciembre</b>	<b>Enero</b>	<b>Febrero</b>	<b>Marzo</b>	<b>Abril</b>
<b>0</b>	11.3±2.6 <sup>a</sup>	8.0±1.1 <sup>a</sup>	10.2±1.6 <sup>a</sup>	15.0±2.8 <sup>a</sup>	21.0±4.2 <sup>a</sup>	9.7±1.6 <sup>a</sup>	6.4±1.2 <sup>a</sup>	2.8±1.4 <sup>a</sup>	3.3±0.8 <sup>a</sup>
<b>1</b>	5.1±1.7 <sup>a,b</sup>	3.4±0.7 <sup>b</sup>	4.5±1.0 <sup>b</sup>	10.9±1.7 <sup>a</sup>	15.9±2.6 <sup>a</sup>	11.1±1.0 <sup>a</sup>	3.7±0.7 <sup>a</sup>	4.1±0.9 <sup>a</sup>	2.6±0.5 <sup>a,b</sup>
<b>2</b>	0.3±2.2 <sup>b</sup>	1.6±0.9 <sup>b</sup>	4.1±1.3 <sup>b</sup>	11.1±2.3 <sup>a</sup>	15.9±3.4 <sup>a</sup>	8.2±1.3 <sup>a</sup>	0.5±1.0 <sup>b</sup>	0.7±1.2 <sup>a</sup>	0.9±0.6 <sup>b</sup>
<b>P</b>	0.0119	0.0005	0.0097	0.4386	0.5585	0.2125	0.0021	0.0788	0.0533

Porcentajes de infestación (media±EE) de *V. destructor* en abejas adultas en colonias tratadas en diferentes estaciones del año. Diferentes literales indican diferentes significativas ( $p \leq 0.05$ ), basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls.

## 4.2 Nivel de infestación por *V. destructor* en cría operculada

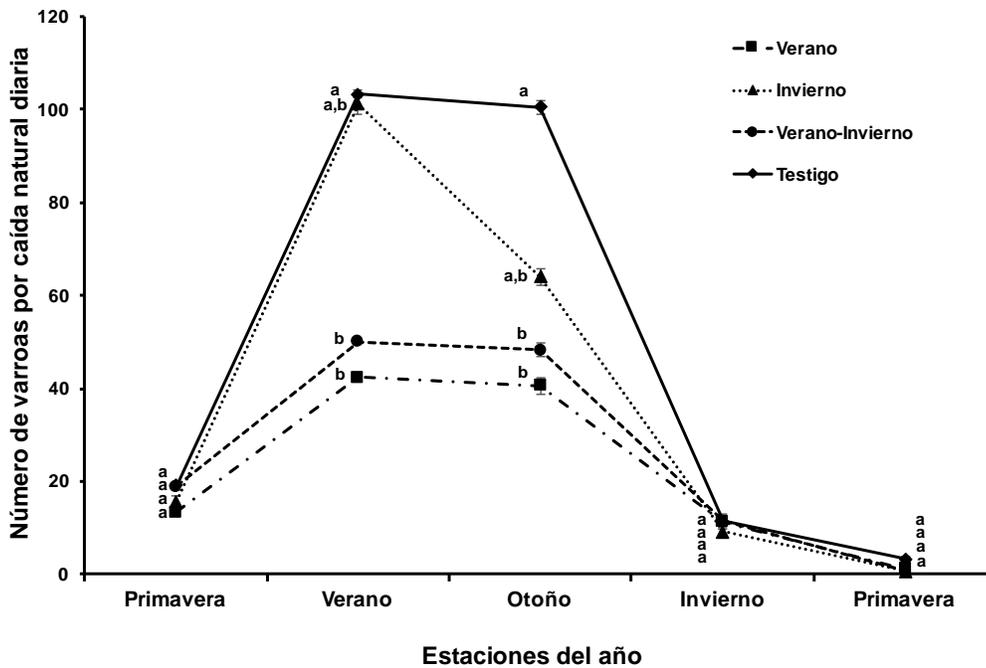
El análisis por temporadas de los resultados sobre los niveles de infestación por *V. destructor* en cría operculada por medio de la prueba de mediciones repetidas no encontró diferencias significativas ( $F=1.85$ ,  $p=0.20$ ). Sólo se observaron diferencias para el otoño, las colonias del grupo tratado en el verano mostraron niveles de infestación estadísticamente inferiores al grupo testigo y el tratado sólo en el invierno (Figura 15).



**Figura 15.** Porcentajes de infestación (media $\pm$ EE) por *V. destructor* en cría operculada en cuatro grupos de abejas melíferas tratadas en diferentes épocas del año. Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls, los datos mostrados en la grafica son datos normales y su análisis fue realizado con datos transformados a la raíz cuadrada del arcoseno ( $p<0.05$ ).

### 4.3 Caída diaria de *V. destructor*

Respecto a la caída natural de *V. destructor* por estación, los resultados mostraron diferencias significativas ( $F=7.01$ ,  $p=0.0008$ ) entre grupos según al análisis de medidas repetidas. Los grupos tratados en verano presentaron menor número de ácaros caídos en las estaciones de verano y otoño en comparación con los grupos de colonias no tratados en el verano. Y para el invierno y la primavera no se presentaron diferencias significativas para esta variable (Figura 16).



**Figura 16.** Caída diaria (media $\pm$ EE) de *V. destructor* en cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones. Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls.

El análisis general de los resultados mensuales sobre la caída diaria de *V. destructor* en colonias de abejas melíferas muestra diferencias significativas entre los grupos, así mismo los meses de septiembre, octubre, febrero y marzo muestran diferencias en la caída del ácaro (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Caída diaria de *V. destructor* en colonias de abejas de cuatro grupos tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.

Estación de aplicación	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Verano	36±26 <sup>a</sup>	34±24 <sup>b</sup>	36±14 <sup>b</sup>	25±13 <sup>a</sup>	59±16 <sup>a</sup>	21±5 <sup>a</sup>	1±0 <sup>b</sup>	1±1 <sup>b</sup>	0±0 <sup>a</sup>
Invierno	67±26 <sup>a</sup>	98±24 <sup>a,b</sup>	98±14 <sup>a</sup>	66±13 <sup>a</sup>	64±16 <sup>a</sup>	18±5 <sup>a</sup>	1±0 <sup>b</sup>	0±1 <sup>b</sup>	0±0 <sup>a</sup>
Ver-Inv	38±25 <sup>a</sup>	41±23 <sup>b</sup>	39±14 <sup>b</sup>	34±12 <sup>a</sup>	66±15 <sup>a</sup>	20±5 <sup>a</sup>	1±0 <sup>b</sup>	0±1 <sup>b</sup>	0±0 <sup>a</sup>
Testigo	112±31 <sup>a</sup>	153±29 <sup>a</sup>	92±17 <sup>a</sup>	30±16 <sup>a</sup>	119±19 <sup>a</sup>	19±6 <sup>a</sup>	3±0 <sup>a</sup>	7±1 <sup>a</sup>	3±0 <sup>a</sup>
<i>p</i>	0.2640	0.0155	0.0096	0.1744	0.1110	0.9794	0.0139	0.0366	0.2150

Caída diaria (media±EE) de *V. destructor* en cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones. Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls.

Con respecto a la caída de ácaros según el número de tratamientos recibidos, las colonias muestran diferencias significativas según el análisis de medidas repetidas, además, los meses de septiembre, diciembre, febrero y marzo muestran diferencias, también se observa que las colonias que presentaron menores caídas de ácaros fueron a las que se les aplicó tratamiento en dos temporadas del año, seguidas por las que se les aplicó una sola vez y por último las colonias que presentaron mayor número de caída de ácaros fueron las que no recibieron tratamiento alguno (Cuadro 5).

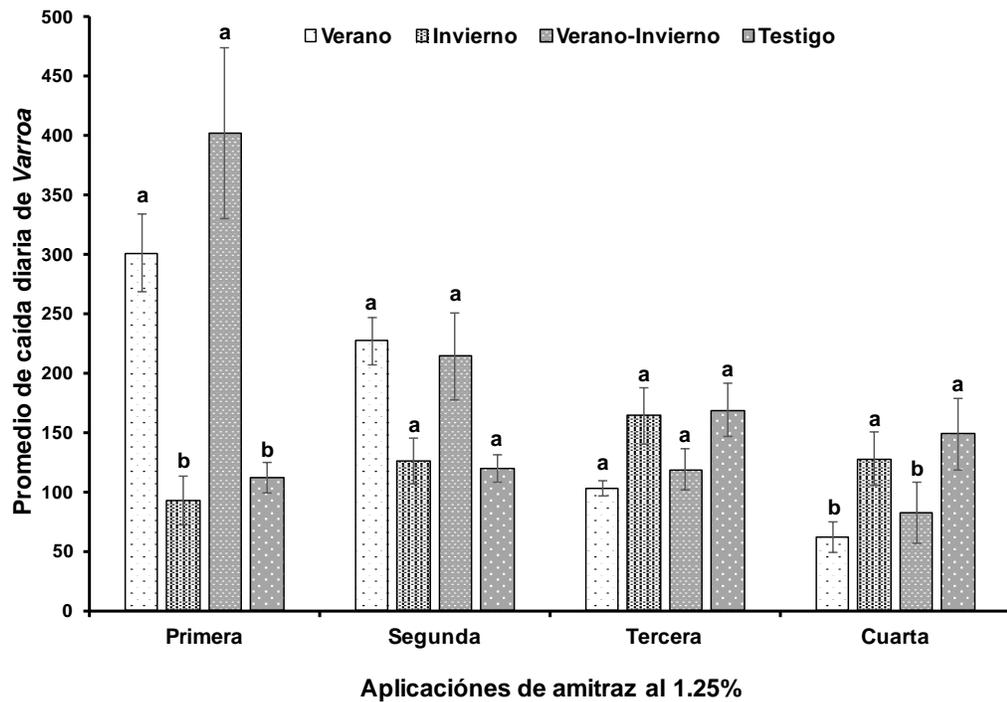
**Cuadro 5.** Número de ácaros caídos diariamente en colonias de abejas con cero (0), uno (1) y dos (2) tratamientos.

<b>T.</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>	<b>Diciembre</b>	<b>Enero</b>	<b>Febrero</b>	<b>Marzo</b>	<b>Abril</b>
<b>0</b>	112.5±31.7 <sup>a</sup>	153.0±30.6 <sup>a</sup>	92.0±20.4 <sup>a</sup>	45.7±17.2 <sup>a</sup>	120.0±19.3 <sup>a</sup>	19.5±6.2 <sup>a</sup>	3.8±0.6 <sup>a</sup>	7.0±1.7 <sup>a</sup>	3.0±0.9 <sup>a</sup>
<b>1</b>	52.1±18.9 <sup>a</sup>	66.0±18.3 <sup>b</sup>	67.4±12.2 <sup>a</sup>	34.5±10.3 <sup>a</sup>	66.7±11.5 <sup>b</sup>	20.2±3.7 <sup>a</sup>	1.4±0.3 <sup>b</sup>	1.1±1.0 <sup>b</sup>	0.8±0.5 <sup>a</sup>
<b>2</b>	38.9±25.1 <sup>a</sup>	41.6±24.2 <sup>b</sup>	39.5±16.1 <sup>a</sup>	30.8±13.6 <sup>a</sup>	62.0±15.3 <sup>b</sup>	20.4±4.9 <sup>a</sup>	1.3±0.5 <sup>b</sup>	0.5±1.4 <sup>b</sup>	0.7±0.7 <sup>a</sup>
<b>p</b>	0.1858	0.0252	0.1401	0.6899	0.0472	0.9937	0.0044	0.0133	0.1036

Medias ± DE con letras distintas en cada columna indican diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0.05$ ).

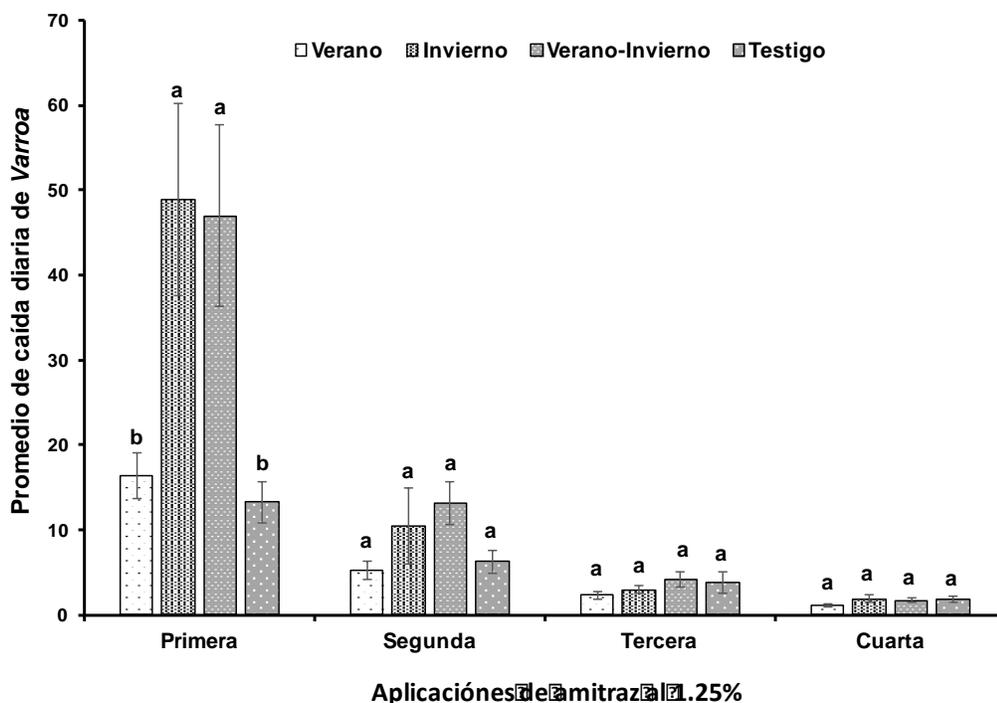
#### 4.4 Caída diaria de *V. destructor* durante la aplicación del amitraz, verano e invierno

Se observó que durante la aplicación del tratamiento a base de amitraz en el verano, hubo diferencias significativas respecto al número de ácaros caídos en la primera ( $F=8.51$ ,  $p=0.0003$ ) y última ( $F=5.69$ ,  $p=0.0034$ ) aplicación, hubo más ácaros caídos en la primera y menos ácaros caídos en la última aplicación en los dos grupos tratados en el verano (verano y verano-invierno) (Figura 17).



**Figura 17.** Caída diaria (media±EE) de *V. destructor* en cuatro grupos de colonias tratadas y no tratadas con cuatro aplicaciones de amitraz al 1.25% durante el verano. Diferentes literales indican diferencias significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls ( $p<0.05$ ).

La caída diaria de ácaros durante las cuatro aplicaciones en el invierno mostró diferencias significativas durante la primera aplicación ( $F=6.43$ ,  $p=0.0013$ ) teniendo mayor cantidad de ácaros caídos los grupos tratados (invierno y verano-invierno), en la segunda, tercera y cuarta aplicación no se encontró diferencia estadística (Figura 18).



**Figura 18.** Caída diaria (media±EE) de *V. destructor* en cuatro grupos de colonias tratadas y no tratadas con cuatro aplicaciones de amitraz al 1.25% durante el invierno. Diferentes literales indican diferencias significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls, los datos fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada ( $p<0.05$ ).

#### 4.5 Tamaño poblacional de la cría

Las áreas de cría operculada fueron estadísticamente similares en los cuatro grupos al ser analizados por medio de la prueba de medidas repetidas, solamente en el otoño se observó una mayor cantidad de cría ( $F=3.63$ ,  $p=0.02$ ), en las colonias de los grupos: verano, verano-invierno y testigo que en el grupo de colonias tratadas en el invierno (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Áreas (cm<sup>2</sup>) de cría (medias±EE) en los grupos de colonias tratadas contra *V. destructor* en verano, invierno, verano-invierno y el grupo no tratado (testigo), durante las estaciones del año.

Estación / estación de aplicación	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
<b>Verano</b>	10222±429 <sup>a</sup>	8629±448 <sup>a</sup>	6747±352 <sup>a</sup>	3777±523 <sup>a</sup>	5683±451 <sup>a</sup>
<b>Invierno</b>	10720±286 <sup>a</sup>	8008±393 <sup>a</sup>	4889±472 <sup>b</sup>	3025±45 <sup>a</sup>	6270±517 <sup>a</sup>
<b>Verano-Invierno</b>	10413±444 <sup>a</sup>	8880±474 <sup>a</sup>	5960±191 <sup>a,b</sup>	3120±281 <sup>a</sup>	5808±593 <sup>a</sup>
<b>Testigo</b>	10320±240 <sup>a</sup>	7973±427 <sup>a</sup>	5764±390 <sup>a,b</sup>	3276±577 <sup>a</sup>	5555±743 <sup>a</sup>
<b><i>p</i></b>	0.6114	0.2975	0.0224	0.6618	0.8531

Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de varianza y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls ( $p<0.05$ ).

#### 4.6 Tamaño poblacional de abejas adultas

Sobre la población de abejas en las colonias, sólo se presentó diferencia significativa entre grupos en el invierno ( $F=2.85$ ,  $p=0.04$ ), hubo mayor población de abejas en los grupos: verano, verano-invierno y testigo que en el grupo invierno (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** Población de abejas adultas (medias $\pm$ EE) en los grupos de colonias tratadas contra *V. destructor* en verano, invierno, verano-invierno y el grupo no tratado (testigo), durante las estaciones del año.

Estación / estación de aplicación	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
<b>Verano</b>	9003 $\pm$ 408 <sup>a</sup>	10114 $\pm$ 848 <sup>a</sup>	9089 $\pm$ 774 <sup>a</sup>	5858 $\pm$ 813 <sup>a</sup>	5772 $\pm$ 644 <sup>a</sup>
<b>Invierno</b>	9724 $\pm$ 189 <sup>a</sup>	9734 $\pm$ 980 <sup>a</sup>	7433 $\pm$ 1170 <sup>a</sup>	3024 $\pm$ 725 <sup>b</sup>	4480 $\pm$ 999 <sup>a</sup>
<b>Verano-Invierno</b>	9660 $\pm$ 156 <sup>a</sup>	9567 $\pm$ 935 <sup>a</sup>	8867 $\pm$ 829 <sup>a</sup>	4097 $\pm$ 510 <sup>a,b</sup>	5133 $\pm$ 887 <sup>a</sup>
<b>Testigo</b>	9622 $\pm$ 165 <sup>a</sup>	10650 $\pm$ 147 <sup>a</sup>	8960 $\pm$ 440 <sup>a</sup>	4236 $\pm$ 705 <sup>a,b</sup>	4989 $\pm$ 1134 <sup>a</sup>
<b><i>p</i></b>	0.1872	0.8001	0.4903	0.0482	0.7889

Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de varianza y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls ( $p<0.05$ ).

#### 4.7 Reservas de alimento

No se presentaron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre los grupos respecto a las áreas con polen y miel en ninguna estación del año.

#### 4.8 Peso

El peso de las colonias de los cuatro grupos en prueba, sólo fue estadísticamente diferente ( $F=5.42$ ,  $p=0.003$ ), en el invierno, las colonias tratadas durante el verano mostraron un peso superior al registrado en las colonias de los tratamientos: invierno, verano-invierno y testigo, entre los cuales no hubo diferencias significativas (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Peso (medias $\pm$ EE) de las colonias tratadas contra *V. destructor* en verano, invierno, verano-invierno y el grupo de colonias no tratadas (testigo), durante las estaciones del año.

Estación / estación de aplicación	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
Verano	11.31 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>	9.62 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>	11.33 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	11.92 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	8.83 $\pm$ 0.98 <sup>a</sup>
Invierno	11.55 $\pm$ 0.68 <sup>a</sup>	10.09 $\pm$ 0.71 <sup>a</sup>	9.5 $\pm$ 1.22 <sup>a</sup>	8.0 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>	6.38 $\pm$ 1.05 <sup>a</sup>
Verano-Invierno	10.33 $\pm$ 1.05 <sup>a</sup>	9.58 $\pm$ 1.03 <sup>a</sup>	11.0 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>	9.73 $\pm$ 0.62 <sup>b</sup>	7.18 $\pm$ 0.76 <sup>a</sup>
Testigo	11.09 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	10.82 $\pm$ 0.88 <sup>a</sup>	10.6 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>	8.9 $\pm$ 0.89 <sup>b</sup>	6.38 $\pm$ 0.75 <sup>a</sup>
<i>p</i>	0.9498	0.8880	0.5766	0.0036	0.1792

Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de varianza y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls ( $p<0.05$ ).

## 4.9 Análisis de correlación

El análisis de correlación permitió observar que el nivel de infestación en cría se relacionó positivamente con el nivel de infestación en abejas adultas, así como con el número de varroas caídas y se relacionó negativamente con el peso y la población de abejas. El porcentaje de infestación en abejas adultas se relacionó positivamente con la caída de varroas y negativamente con la cantidad de miel. La caída de varroa se relacionó positivamente con la cantidad de polen y negativamente con la cantidad de miel. La población de cría se relaciona negativamente con la población de abejas y la población de abejas se relaciona positivamente con el peso de la colonia. Los valores de correlación entre las variables medidas se presentan en el cuadro 9.

**Cuadro 9.** Coeficientes de correlación entre la infestación de cría, caída de varroa, población de cría, población de abejas, reservas de polen, miel y peso, de colonias tratadas contra *V. destructor* en diferentes estaciones del año.

Variable	Infestación adultas	Infestación cría	Caída varroa	Población cría	Población abejas	Polen	Miel
<b>Infestación cría</b>	0.52***						
<b>Caída varroa</b>	0.63***	0.42**					
<b>Área de cría (cm<sup>2</sup>)</b>	0.07ns	-0.20ns	0.18ns				
<b>Población abejas</b>	-0.23ns	-0.30*	-0.16ns	-0.29*			
<b>Área de polen (cm<sup>2</sup>)</b>	0.11ns	0.13ns	0.30*	-0.00ns	-0.11ns		
<b>Área de miel (cm<sup>2</sup>)</b>	-0.32*	-0.09ns	-0.35*	-0.17ns	0.14ns	0.21ns	
<b>Peso colonia</b>	-0.24ns	-0.33*	-0.04ns	0.05ns	0.66***	0.17ns	0.24ns

\*\*\*,  $p < 0.001$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*,  $p < 0.05$ ; NS = No significativo. El coeficiente de correlación fue obtenido mediante la prueba de Pearson, la n en todas las variables fue de 47 colonias.

Adicionalmente, no se observó relación significativa entre la longitud promedio de ala de las abejas con ninguna de las variables medidas.

#### 4.10. Población y reservas de alimento en colonias con bajo, medio y alto nivel de infestación por *V. destructor* en abejas adultas.

Al agrupar a las colonias con bajo, medio y alto nivel de infestación por varroa en abejas adultas, sólo se observaron diferencias significativas respecto al peso, las colonias con bajo nivel tuvieron un peso superior al registrado en colonias con medio y alto porcentaje de infestación, entre las cuales no se presentó diferencia significativa (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Población de abejas, áreas (cm<sup>2</sup>) de cría, polen, miel y peso de colonias con bajo ( $\leq 5.5\%$ ), medio (5.6 a 7.5%) y alto ( $\geq 7.6\%$ ) nivel de infestación por varroa en abejas adultas.

<b>Nivel de infestación</b> <b>Variable</b>	<b>Nivel bajo</b> ( $\leq 5.5\%$ )	<b>Nivel medio</b> (5.6 a 7.5%)	<b>Nivel alto</b> ( $\geq 7.6\%$ )	<b>F y p</b>
Población de abejas	8405 <sup>a</sup>	7326 <sup>a</sup>	7018 <sup>a</sup>	2, 0.14
Área de cría (cm <sup>2</sup> )	7080 <sup>a</sup>	7128 <sup>a</sup>	6755 <sup>a</sup>	0.63, 0.53
Área de polen (cm <sup>2</sup> )	872 <sup>a</sup>	881 <sup>a</sup>	1074 <sup>a</sup>	1.2, 0.31
Área de miel (cm <sup>2</sup> )	3863 <sup>a</sup>	3862 <sup>a</sup>	3540 <sup>a</sup>	1.4, 0.26
Peso (kg)	10.5 <sup>a</sup>	9.6 <sup>b</sup>	9 <sup>b</sup>	2.5, 0.05

Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de varianza y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

#### 4.11. Análisis morfométrico

La frecuencia de colonias con morfotipo africanizado fue del 13% y del morfotipo europeo del 79% mientras que de morfotipo sospechoso o mixto del 8%. Se observó que la frecuencia de colonias con morfotipo europeo y africanizado no difirió entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ). El promedio de colonias con morfotipo europeo en los tres tratamientos y el grupo testigo fue del 79% y el promedio de colonias con morfotipo africanizado fue del 12%.

## 5. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran que el tratamiento con amitraz aplicado durante el verano e invierno provoca una reducción significativa de los niveles de infestación por varroa en abejas adultas, adicionalmente se observó que para el final del experimento (primavera), los grupos verano-invierno e invierno muestran niveles de infestación en abejas adultas estadísticamente similares entre sí (1%) y significativamente inferiores al grupo verano (4.5%) y testigo (3%).

Se observó una notable reducción de los niveles de infestación en abejas adultas, esto al final del experimento en todos los tratamientos, lo cual probablemente se deba al incremento de la población de abejas en las colonias en dicha estación del año, esto debido a que cuando la población de la colonia se incrementa, el nivel de infestación en abejas adultas se reduce (efecto de dilución) debido a una menor concentración de los ácaros en las abejas, es decir que la proporción varroa respecto a las abejas se reduce (Moretto *et al.*, 1991).

El análisis general mensual muestra una reducción en los niveles de infestación de varroa en abejas adultas después de aplicar el tratamiento, la lectura del mes de agosto muestra diferencias ( $p > 0.0001$ ), así como septiembre ( $p > 0.0001$ ) y octubre ( $p > 0.0007$ ), sin embargo para el mes de noviembre los niveles de infestación se incrementan en los grupos tratados en el verano, este mismo efecto es observado posterior al tratamiento aplicado en invierno, observándose diferencias significativas entre grupos tratados y no tratados durante febrero ( $p > 0.0001$ ), marzo ( $p > 0.0016$ ) y abril ( $p > 0.0243$ ). Este resultado indica que la duración efectiva del amitraz es de sólo tres meses, después la población del ácaro tiende a incrementarse con el consecuente riesgo de que dicha población presente un cierto grado de resistencia.

Así mismo, se realizaron comparaciones entre las colonias que recibieron tratamiento en dos temporadas, un sólo tratamiento en diferentes temporadas y las que no recibieron ningún tratamiento, los resultados mostraron que las colonias que recibieron tratamiento en dos temporadas mantuvieron niveles bajos de infestación en abejas adultas a lo largo de la investigación.

Respecto a los niveles de infestación por el ácaro en la cría de obreras, solo se observó una reducción significativa en los niveles de infestación en otoño, en los grupos tratados en el verano (verano y verano-invierno), en comparación con el grupo tratado en invierno y no tratado. Sin embargo, los niveles de infestación de las crías fueron similar en todos los grupos de colonias para el final del experimento. Respuesta que aparentemente se explica por la recuperación de la población de ácaros una vez que el efecto del amitraz se haya disipado permitiendo que la proporción de crías infestadas por el ácaro aumenta a medida que las áreas de cría disminuyen estacionalmente, por lo que al incrementarse las áreas de cría durante la primavera se observa una reducción en la proporción de crías infestadas (Eguaras *et al.*, 1994).

En la caída de ácaros colectados durante el periodo de aplicación de los tratamientos en las temporadas de verano e invierno, durante las cuatro aplicaciones se observó una caída en constante decremento entre cada aplicación (Figura 17 y 18), observándose una diferencia significativa durante la primera aplicación en ambas temporadas con una mayor cantidad de ácaros colectados y una diferencia en la cuarta aplicación con una menor cantidad de ácaros colectados sólo para la temporada de verano.

Dichos hallazgos sugieren que es necesaria la aplicación de amitraz al 1.25% durante cuatro semanas ya que durante la cuarta aplicación en la temporada de verano se siguieron colocando setenta y dos ácaros diarios en promedio, sin embargo, al final de la aplicación de los tratamientos no se realizó la aplicación de otro agente químico o natural para colectar los ácaros renuentes y poder estimar la eficacia del amitraz en los grupos tratados.

Además, en el presente estudio se observó que los grupos tratados a inicios del verano presentaron menor cantidad de ácaros caídos durante las evaluaciones de verano y otoño en comparación con los grupos de colonias no tratadas (invierno y testigo), sin embargo, en el invierno y la primavera siguiente no se presentaron diferencias significativas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Delaplane y Hood (1997) quienes observaron al final de su investigación que, en una de las localidades de su estudio, el número de ácaros caídos del grupo no tratado fue similar

al tratado al inicio del experimento (junio), dichos autores atribuyeron este resultado a la presencia de agentes patógenos que pueden ser transmitidos por varroa, y que afectan el desarrollo de la cría, abejas adultas y por consiguiente la reproducción de varroa. Además, está comprobado que los altos niveles de infestación incrementan la susceptibilidad de las colonias a diversas enfermedades (Guzmán-Novoa *et al.*, 2010; Fries y Camazine, 2001; Shimanuki *et al.*, 1994). Las colonias del presente estudio iniciaron con condiciones sanitarias similares, sin embargo, en el transcurso del estudio no se determinó la presencia y niveles de infección de otras enfermedades, las cuales probablemente pudieron haber influido en los resultados del presente estudio. Además, la manipulación constante de las colonias pudo causar estrés y hacerlas propensas a la aparición de enfermedades (Bailey y Ball, 1991).

En un estudio realizado por Delaplane y Hood (1997) reportaron que en el grupo no tratado disminuyó significativamente la población de abejas adultas, así como la cría operculada y se observó un mayor nivel de infestación en abejas adultas en comparación con las colonias que sí recibieron tratamiento acaricida. Dichos resultados se contraponen con los obtenidos en el presente estudio ya que al final de este estudio no se encontraron diferencias en la población de abejas en ninguno de los cuatro grupos de colonias. Delaplane y Hood (1999) han realizado estudios tratando de determinar la temporada óptima de tratamiento (umbrales económicos), sus trabajos arrojan resultados contradictorios, ellos describen que en 1997 se encontraron diferencias en la población de abejas adultas no controlando la deriva de abejas de colonias no tratadas dentro del mismo apiario como se realizó en este estudio, sin embargo para el próximo año (1998) no se mostraron diferencias en la población de abejas adultas en las mismas áreas de estudio pero esta vez controlando la deriva de abejas que posiblemente puedan re-infestar las colonias tratadas con ácaros procedentes de otras colonias cercanas no tratadas. Uno de los efectos presentes en los trabajos anteriores muestra que durante 1997 donde no se controló la deriva de abejas se presentó una alta incidencia de cría enferma en los grupos tratados tempranamente y no tratados, no observándose este mismo efecto durante 1998. Por lo anterior, la deriva de las abejas de los grupos tratados en invierno y no

tratados, así como la presencia de agentes patógenos pudieron afectar los resultados del presente estudio (Wilfert *et al.*, 2016; Shimanuki *et al.*, 1994).

Al término del experimento, los resultados mostraron que las áreas de cría operculada y la población de abejas fueron estadísticamente similares en los tres tratamientos y el grupo testigo, sólo se observaron diferencias respecto a las áreas de cría y población de abejas en el otoño e invierno, respectivamente. Se observó una mayor superficie de cría durante el otoño en el grupo verano tratado al inicio del mismo, lo cual se tradujo en una mayor población de abejas adultas durante el invierno, sólo para este grupo. Se ha reportado que no siempre existe una clara relación entre la población de cría y los niveles de ácaros en las colonias (Korpela *et al.*, 1992) y que la producción de crías en colonias parasitadas por varroa, en ocasiones no se ve afectada por los tratamientos con acaricidas (Delaplane, 1995). Sin embargo, los resultados encontrados no concuerdan con los encontrados por Delaplane y Hood (1997), quienes reportan que las colonias con altos niveles de infestación por varroa reducen su población de abejas, así mismo se ha observado una mayor producción de cría en colonias con altos niveles de infestación por varroa debido al esfuerzo de las colonias para compensar la pérdida de crías a consecuencia de la parasitosis, cosa que no pudo observarse en nuestros resultados.

El tratar de incrementar la cría para compensar la pérdida de la misma a causa de los altos niveles de infestación por varroa u otros agentes patógenos, representa un mayor consumo de sus reservas de alimento en la colonia, así mismo se estimula a las abejas a la recolección de néctar y polen consumiendo sus reservas alimenticias (Fewell y Winston, 1992), sin embargo, si no existe disponibilidad de recursos florísticos o se encuentran disminuidos, esto puede causar estrés nutricional provocando inanición en las colonias y su posible colapso (Naug, 2009).

En lo que respecta a las reservas de miel y polen no se encontraron diferencias significativas en los grupos tratados en ninguna de las estaciones. Lo anterior coincide con lo reportado por Medina-Flores *et al.* (2011) quienes observaron que el contar con mayores reservas de miel y polen no implica para la colonia una menor presencia de la parasitosis. Las malas condiciones ambientales presentadas durante la realización

del experimento, las bajas temperaturas, heladas y baja precipitación pluvial de 564 mm<sup>3</sup> (INIFAP, 2018), posiblemente expliquen que el efecto del tratamiento no se tradujera en un incremento en los valores poblacionales y de reservas de alimento.

Aun cuando el efecto del tratamiento acaricida aplicado en diferentes estaciones del año no mostró efecto significativo sobre los valores poblacionales y de reservas de alimento en el presente estudio, se observó que los grupos de colonias que recibieron un tratamiento temprano (verano y verano-invierno) presentaron una menor proporción de colonias muertas al término del experimento a diferencia de las colonias tratadas tardíamente o no tratadas. En el grupo verano murió el 7.6% de las colonias, en el grupo verano-invierno el 16.6%, mientras que en el grupo invierno hubo una mortalidad del 27% y para el grupo testigo del 36%. Lo anterior coincide con los resultados encontrados por Delaplane y Hood (1997) donde el porcentaje de mortalidad en grupos tratados tardíamente o no tratados presentan un elevado porcentaje de mortalidad de colonias, así mismo Fries *et al.* (2006) realizaron el monitoreo de colonias no tratadas contra varroa observando altos índices de mortalidad en un año (21%) similares a los del presente estudio.

Strange y Sheppard (2001) realizaron un trabajo donde aplicaron tratamientos contra varroa a inicios de la primavera, mediados del verano y principios del otoño, ellos compararon las ganancias de peso en base a su peso inicial, los resultados obtenidos en cuanto a las ganancias de peso para la primavera siguiente mostraron que sólo las colonias que recibieron tratamiento a principios del otoño estaban por encima de su peso inicial no encontrando diferencias en los otros grupos que fueron tratados en primavera, verano y su grupo testigo. Ellos atribuyen que posiblemente los ácaros remanentes en sus tratamientos en primavera y verano tuvieron la oportunidad de incrementar su población rápidamente debido a la disponibilidad de cría y afectar el desarrollo de la colonia. Lo anterior coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio ya que nuestros tratamientos fueron aplicados a principios del verano y mediados del invierno no encontrándose diferencias significativas respecto a esta variable (peso) entre los tratamientos. Al final del estudio ninguno de los grupos tratados y testigo mostraron diferencias, al contrario, los pesos en los cuatro grupos

en la primavera siguiente fueron inferiores a los iniciales. Posiblemente las malas condiciones climáticas influyeron en la disponibilidad de recursos florísticos en el área de estudio, lo cual provocó escasez de recursos alimenticios para las colonias que pudo haberse reflejado en el peso, así como la población de abejas.

El análisis de correlación permitió observar una relación positiva en los niveles de infestación en cría con el nivel de infestación en abejas adultas y la caída diaria de ácaros, así mismo, estos parámetros se relacionaron negativamente con el peso y la población de abejas en las colonias. La población de abejas está correlacionada positivamente con el peso lo cual coincide con lo descrito por Szabo y Lefkovitch (1988, 1989) ellos describen que la población de abejas está relacionada positivamente con la producción de miel, correlación que no tuvo un efecto significativo en esta investigación. Así mismo se analizó si existía correlación de la cantidad de cría con la cantidad de polen donde no se encontró efecto significativo. Estos dos últimos parámetros está comprobado que existe un efecto de correlación positiva (Fewell y Winston, 1992) la cual no se pudo observar en esta investigación.

Se ha reportado en México que las abejas con morfotipo africanizado presentan niveles de infestación por varroa en abejas adultas significativamente inferiores a los de las colonias con morfotipo europeo (Medina-Flores *et al.*, 2014). Sin embargo, en el presente estudio se observó que sin considerar al grupo al que pertenecían, la longitud de ala no se relaciona significativamente con los valores poblacionales de varroa ni con los parámetros relacionados con el tamaño poblacional y reservas de alimento de las colonias experimentales. Lo anterior probablemente se deba al reducido número de colonias con morfotipo africanizado (12%) encontrado en la población de colonias experimentales.

Debido a la importancia que representa la varroosis para la apicultura mundial, se han realizado múltiples investigaciones para desarrollar nuevas técnicas de diagnóstico y control del ácaro (Calderone 1999, Calderone y Turcotte, 1998) así como para establecer y recomendar a los apicultores el tiempo óptimo (o umbral de tratamiento) para aplicar a las colonias algún acaricida. Al respecto, se ha reportado que el umbral de tratamiento es cuando las colonias tienen un promedio de 10 ácaros

caídos o más en 24 horas (Hoopingarner, 1996; SAGARPA, 2002). Sin embargo, estos umbrales difieren a otros establecidos por diferentes autores en diferentes épocas y regiones. Los umbrales de tratamiento establecidos para el noreste de EUA son de 12 ácaros en abril (Strange y Sheppard, 2001) y de 0.7-12.2 ácaros para el suroeste para febrero y abril respectivamente, pero para agosto se recomienda que el tratamiento acaricida sea a partir de 23 ácaros para el noroeste y 70.8–224.4 para el sureste respectivamente (Delaplane y Hood, 1997, 1999).

En el presente estudio se observó que el grupo tratado en el verano tuvo un promedio diario de ácaros caídos de 3.8, el grupo tratado en verano e invierno 4.8, el tratado en invierno de 7.9 y el grupo no tratado (testigo) tuvo un promedio de 8.7 ácaros caídos. Sin embargo, no se presentaron diferencias significativas entre dichos grupos de colonias respecto al tamaño poblacional en abejas adultas, cría, reservas de alimento y peso de las colonias. Adicionalmente, al realizar el análisis estadístico de los resultados clasificando a las colonias de acuerdo al nivel de infestación en abejas adultas en los niveles bajo, medio y alto, no se presentaron diferencias significativas respecto al tamaño poblacional de abejas y cría, reservas de alimento y sólo se observó que las colonias con un nivel bajo fueron significativamente más pesadas. Por lo que los resultados del presente estudio no permiten sugerir a que nivel de infestación ni en que época del año es más recomendable aplicar un tratamiento acaricida el cual influya en mejorar las población y las reservas de alimento (miel y polen), sin embargo, si fue posible identificar que los grupos que recibieron tratamiento dos veces en el transcurso del año, mantuvieron menores niveles de infestación de varroa en abejas y menor cantidad de caída de ácaros.

No obstante, y considerando los resultados del presente estudio y los de trabajos previos se recomienda a los apicultores monitorear los niveles de infestación por varroa de sus colonias dos veces al año con el objetivo de determinar los niveles de infestación y poder identificar colonias o apiarios que requieran ser tratados siguiendo la reglamentación de la NOM-001-ZOO-1994 donde colonias que presenten un nivel de infestación mayor o igual al 5% deben recibir tratamiento contra varroa.

Se sugiere que al aplicar tratamientos consideren la rotación de productos de origen sintético (amitraz, fluvalinato, flumetrina), ácidos orgánicos (ácido fórmico, ácido oxálico, ácido láctico) y aceites esenciales (timol, orégano) intercalando estos productos evitando propiciar la resistencia por parte de los ácaros a alguno de estos compuestos tratando de prolongar su uso en un futuro.

En base a los resultados obtenidos se sugiere que las colonias sean tratadas a principios del verano minimizando la mortalidad de colonias de abejas para el año siguiente y posiblemente sea necesario según los niveles de infestación recibir otro tratamiento con otro agente de control a finales del otoño ya que durante el verano y otoño los niveles de varroa se incrementan en los grupos tratados a niveles en los cuales fueron tratados inicialmente.

Así mismo, se sugiere realizar prácticas de manejo y biológicas encaminadas al control de varroa, algunas de ellas pueden ser la remoción de zánganos en panales especiales, el cambio anual de reinas, así como la selección genética de colonias resistentes para cría de reinas.

## 6. CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones y resultados del presente estudio se concluye lo siguiente:

1. Se observó efecto significativo del tratamiento con amitraz 1.25% en las estaciones del año experimentadas en los niveles de infestación por varroa en abejas adultas.

2. No se observó efecto con respecto al nivel de infestación por varroa en la población de abejas adultas, cría operculada y reservas alimenticias en ninguno de los grupos al final de la investigación. Lo cual significa que hay una recuperación paulatina y rápida del parásito, que podría ser atribuido a la resistencia del insecto al producto utilizado. Característica que debe ser aclarado en estudios por venir.

3. Al final de la investigación el grupo que recibió tratamiento en el verano y en el invierno, presento menores niveles de infestación por varroa.

4. Las colonias con un nivel de infestación bajo ( $\leq 5.5\%$ ) por varroa presentaron mayor peso significativamente, en comparación con las colonias que presentaron un nivel de infestación medio (5.6 a 7.7%) y un nivel de infestación alto ( $\geq 7.6\%$ ).

5. Con los resultados obtenidos no fue posible identificar cual es la temporada del año óptima para aplicar tratamiento contra varroa en abejas mellíferas y que este repercuta en mejorar las condiciones poblacionales y alimenticias de las colonias.

## 7. REFERENCIAS

- Alquisira-Ramírez, E.V., G. Peña-Chora., V.M. Hernández-Velázquez., A. Alvear-García., I. Arenas-Sosa., R. Suarez-Rodríguez. 2017. Effects of *Bacillus thuringiensis* strains virulent to *Varroa destructor* on larvae and adults of *Apis mellifera*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 142:69-78.
- Alquisira-Ramírez, E.V., J.R. Paredes-Gonzalez., V.M. Hernández-Velázquez., J.A. Ramírez-Trujillo., G. Peña-Chora. 2014. In vitro susceptibility of *Varroa destructor* and *Apis mellifera* to native strains of *Bacillus thuringiensis*. *Apidologie* 45(6):707-718.
- Anderson, D.L., J.W.H. Trueman. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24:165-189.
- Arachavaleta M., Torres G., C. Robles., A. Correa. 2007. Identificación de poblaciones de *Varroa destructor* A. resistentes al fluvalinato en colonias de abejas en el estado de México. Congreso Internacional de Actualización Apícola. Veracruz, México 2007:113-116.
- Araneda., D.X., M.M. Bernales., S.J. Solano., V.K. Mansilla. 2010. Comportamiento de acicalamiento de abejas (Hymenoptera: Apidae) sobre varroa (Mesostigma: Varroidae). *Revista Colombiana de Entomología* 36(2):232-234.
- Arechavaleta, V.M.E., E. Guzmán-Novoa. 2000. Producción de miel en colonias de abejas (*Apis mellifera* L.) tratadas y no tratadas con fluvalinato contra *Varroa jacobsoni* Oudemans en Valle de bravo, Estado de México. *Veterinaria México* 31:381-384.
- Argadoña, V.H., A.J. Revirosa., A. San-Martín., A. Riquelme., C.R. Díaz-Marrero., González-Colmo. 2002. Antifeedant effects of marine halogenated monoterpenes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(24): 7029-7033.
- ASERCA. 2010. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria, SAGARPA. Situación Actual y Perspectivas de la Apicultura en México. Claridades Agripecuarias. <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/199/ca199-3.pdf> Consulta: Septiembre, 2018.

- Bailey L., B.V. Ball. 1991. Honey Bee Pathology. Segunda Edición. Academic Press, London.
- Bailey, L. 1981. Honey Bee Pathology. Academic Press Inc. (London) Ltd.
- Bailey, L. 1984. Patología de las abejas. Edit. Acribia. Zaragoza España. 139: 75-77.
- Barbattini, R., M. Greatti. 1996. Métodos de lucha contra la Varroa en Italia Nororiental. Vida apícola 75: 50-55.
- Beetsma, J., W.J. Boot., J. Calis. 1999. Invasion behaviour of *Varroa jacobsoni* Oud. From bees into brood cells. Apidologie 30:125-140.
- Boecking, O., W. Ritter. 1994. Current status of behavioral tolerance of the honey bee *Apis mellifera* to the mite *Varroa jacobsoni*. American Bee Journal 134:689-694.
- Bogdanov, S., J.D. Charriere., A. Imdorf., V. Kilchenmann., P. Fluri. 2002. Determination of residues in honey after treatments with formic and oxalic acid under field conditions. Apidologie 33(4), 399-409.
- Boncristiani, H., R. Underwood., R. Schwarz., J. D. Evans., J. Pettis., D. vanEngelsdorp. 2012. Direct effect of acaricides on pathogen loads and gene expression levels in honey bees *Apis mellifera*. Journal of Insect Physiology 58: 613-620.
- Boot, W.J., J. Schoenmaker., J. Calis., J. Beetsma. 1995. Invasion of *Varroa jacobsoni* into drone brood cells of the honey bee, *Apis mellifera*. Apidologie 26:109-119.
- Boot, W.J., J.N.M. Calis., J. Beetsma. 1992. Differential periods of Varroa-specific hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera Apidae). Animal Breeds genetic 117:417-424.
- Bowen-Walker, P.L., A. Gunn. 2001. The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. Entomologia experimentalis et applicate 101:207-217.
- Cajero, A.S. 1995. Logros y acciones del Programa Nacional Para el Control de la Abeja Africana. Memorias del IX Seminario Americano de Apicultura; agosto 24-26 Colima, México. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural 5-7.

- Calatayud-Vernich, P., F. Calatayud., E. Simó., Y. Picó. 2017. Occurrence of pesticide residues in Spanish beeswax. *Science of the Total Environment* 605-606: 745-754.
- Calderon, N.W. 1999. Evaluating subsampling methods for estimating numbers of *Varroa jacobsoni* mites (Acari: Varroidae) collected on sticky-boards. *Journal of Economic Entomology* 92: 1057-1061.
- Calderón, R. A., M. Ramírez., F. Ramírez., E. Villalobos. 2014. Efectividad del ácido fórmico y el timol en el control del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas afrizadas. *Agronomía Constarticense* 38: 175-188.
- Calderone, N.W., R.M. Turcotte. 1998. Development of sampling methods for estimating levels of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) infestation in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 91: 851-863.
- Chihu, A.D., A.L.M. Rojas., D.S. Rodríguez. 1992. Presencia en Veracruz México del ácaro *Varroa jacobsoni*, causante de la varroosis de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.). *Técnica Pecuaria México* 30:132-135.
- Cobey, S. 2001. The *Varroa* species complex: Identifying *Varroa destructor* and new strategies of control. *American Bee Journal* 141:194-196.
- Collins, A., J. Pettis. 2001. Effect of *Varroa* infestation on semen quality. *American Bee Journal* 30:590-593.
- Currie, R.W., P. Gatién. 2006. Timing acaricide treatments to prevent *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) from causing economic damage to honey bee colonies. *The Canadian Entomologist* 138:238–252.
- Damiani, N., J. Marcangeli. 2006. Control del parásito *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) en colmenas de la abeja *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) mediante la aplicación de la técnica de atrapado. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 65:1-2.
- De Guzman, L. I., T. E. Rinderer., V. A. Lancaster., G. T. Delatte., A. Stelzer. 1999. *Varroa* in the mating yard:III. The effects of acid gel formulation on drone production. *American Bee Journal* 139: 304-307.

- De Jong, D. 1997. Mites: Varroa and other parasites of brood. In: Morse R.A., K. Flottum. (eds) Honey bee pests, predators and diseases. Ithaca (NY): Root Publishing 279-328.
- De Jong, D., D.A. Roma., L.S. Goncalves. 1982b. A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honeybees. *Apidologie* 13:297-306.
- De Jong, D., L.S. Goncalves. 1998. The africanized bees of Brazil have become tolerant to *Varroa*. *Apiacta* 33:65-70.
- De Jong, D., P.H. De Jong. 1983. Longevity of Africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested by *Varroa jacobsoni* (Parasitiformes: Varroidae). *Journal of Economical Entomology* 76:766-768.
- De Jong, D., R.A. Morse., G.C. Eickwort. 1982a. Mite pest of honey bees. *Annual Review of Entomology* 27: 229 – 252.
- Delaplane, K.S. 1995. Effects of Terramycin antibiotic and Apistan acaricide on colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with *Varroa jacobsoni* (Parasitiformes: Varroidae). *Journal of Economic Entomology* 88(5): 1206-1210.
- Delaplane, K.S. 1998. *Varroa* control: timing is everything. *Am. Bee J.* 138: 575-576.
- Delaplane, K.S., J. Van Der-Steen., E. Guzman-Novoa. 2013. Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apicultural Research* 52:1-12.
- Delaplane, K.S., W.M. Hood. 1997. Effects of delayed acaricide treatment in honey bee colonies parasitized by *Varroa jacobsoni* and a late-season treatment threshold for the south-eastern USA. *Journal of Apicultural Research* 36(3/4) 125-132.
- Delaplane, K.S., W.M. Hood. 1999. Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Apidologie* 30: 383-395.
- Duay, P.R., D. De Jong., W. Engels. 2003. Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by *Varroa destructor* mites. *Apidologie* 34:61-65.
- Eguaras, M., J. Marcangeli., N. A. Fernandez. 1994. Influence of parasitic intensity of *Varroa Jacobson/* Oud. reproduction. *Journal of Apicultural Research* 33(3): 155-159.

- Elzen, P. J., F. A. Eischen., J. R. Baxer., G. W. Elzen., W. T. Wilson. 1999. Detection of resistance in US *Varroa Jacobsoni* Oud. (Mesostigmata: Varroidae) to the acaricide fluvalinate. *Apidologie* 30: 13-17.
- Emsen, B., E. Guzmán-Novoa., P.G. Kelly. 2007. The effect of three methods of application on the efficacy of thymol and oxalic acid for the fall control of the honey bee parasitic mite *Varroa destructor* in a Northern climate. *Apicultural Research* 535-539.
- Espinosa-Montaño, L.G., E. Guzmán-Novoa. 2006. Eficacia de dos acaricidas naturales, ácido fórmico y timol, para el control del ácaro *Varroa destructor* de las abejas (*Apis mellifera* L.) en Villa Guerrero, Estado de México. *Veterinaria México* 38(1):9-19.
- FAOSTAT. 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations Databases <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL> pagina visitada el 16 de octubre del 2018.
- Ferrer, D., M., C. Moreno-Marena., A.I. Martínez-Viñuelas., C. Sanchez-Acedo., M.J. Garcia-Salinas. 1994. Diagnóstico de la Varroasis, cuantificación del porcentaje de infestación en condiciones de campo. *Vida Apícola* 68:17-21.
- Fewell, J.H., M.L. Winston. 1992. Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30:387-393.
- Fries I., H. Hansen. 1993. Biotechnical control of Varroa mites in cold climates. *American Bee Journal*. 133(6): 435-438.
- Fries, I. 1991. Treatment of sealed honey-bee brood with formic-acid for control of *Varroa jacobsoni*. *American Bee Journal* 131(5): 313-314.
- Fries, I., A. Imdorf., P. Rosenkranz. 2006. Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apidologi* 37: 564-570.
- Fries, I., P. Rosenkranz. 1996. Number of reproductive cycles of *Varroa jacobsoni* in honey-bee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental and Applied Acarology* 20:103-112.
- Fries, I., S. Camazine, J. Sneyd. 1994. Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: a model and a review. *Bee World* 75:5-28.
- Fries, I., S. Camazine. 2001. Implications of horizontal and vertical pathogen transmission for honey bee epidemiology. *Apidologie* 32: 199-214.

- Garcia, E. 1998. Modificaciones al Sistema de clasificación climática de Köpper. UNAM Geografía. Numero 6.
- González-Gómez, R. 2010. Desarrollo de un producto a base de Nem (*Azadirachta indica*) para el control de *Varroa destructor*. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados.
- González-Gómez, R., G. Otero-Colina., J.A. Villanueva-Jiménez., M.T. Santillan-Galicia., C.B. Peña-Valdivia., J.A. Santizo-Rincón. 2016. Effects of neem (*Azadirachta indica*) on honey bee workers and Queens, while applied to control *Varroa destructor*. Journal of Apicultural Research 55:5, 413-421.
- Goras, G., C. Tananaki., M. Dimou., E. Lazaridou., E. Karazafiris., D. Kanelis., V. Liolios., H.F. El Taj., Thrasyvoulou. 2016. Hyperthermia-a non-chemical control strategy agains varroa. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society 66 (4): 246-256.
- Gris, V.A.G., E. Guzmán-Novoa, B.A. Correa., R.J.A. Zozaya. 2004. Efecto del uso de dos reinas en la población, peso, producción de miel y rentabilidad de colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) en el altiplano mexicano. Técnica Pecuaria México 42:361-377.
- Guzmán-Novoa, E., A. Correa-Benítez. 1996b. Selección de abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) resistentes al ácaro *Varroa jacobsoni* O. Veterinaria México. 27:149-158.
- Guzmán-Novoa, E., A. Sánchez., R.E. Page., T. García. 1996a. Susceptibility of European and Africanized honeybees (*Apis mellifera* L) and their hybrids to *Varroa jacobsoni* Oud. Apidologie 27:93-103.
- Guzmán-Novoa, E., L. Eccles., Y. Calvete., J. McGowan., P.G. Kelly., A. Correa-Benítez. 2010. *Varroa destructor* is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada. Apidologie. 41: 443-450.
- Imdorf, A., J. Charriere., C. Maquelin., V. Kilchemann., B. Bachofen. 1996. Alternative *Varroa* control. American Bee Journal 136, 189-193.

- Imdorf, A., S. Bogdanov., R. Ibáñez-Ochoa., N.W. Calderone. 1999. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidologie* 30:209-228.
- INEGI. 2005. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Municipios de Zacatecas. 234-235.
- Kanbar, G., W. Engels. 2005. Communal use of integumental wounds in honey bee (*Apis mellifera*) pupae multiply infested by the ectoparasitic mite *Varroa destructor* Genetics and Molecular Research 4: 465-472.
- Korpela, S., A. Aarhus., I. Fries., H. Hansen. 1992. *Varroa jacobsoni* Oud. in cold climates: population growth, winter mortality and influence on the survival of honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research* 31(3/4): 157-164.
- Koul, O., S. Walia., G.S. Dhaliwal. 2008. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. *Biopesticides International* 4(1): 63-84.
- Kraus, B., N. Koeniger., S. Fuchs. 1994. Screening of substances for their effect on *Varroa jacobsoni*: attractiveness, repellency, toxicity and masking effects of ethereal oils. *Journal of Apicultural Research* 33(1) 34-43.
- Maduh, E.U., J.J. Turek., J.L. Borowitz., A. Rebar., G.E. Isom. 1990. Cyanine-induced neurotoxicity: Calcium mediation of morphological changes in neuronal cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* 103 (2): 214-221.
- Magaña-Magaña, M.A., C.E. Layva-Morales. 2011. Costos y rentabilidad del proceso de producción apícola en México. *Contaduría y Administración* 235: 99-119.
- Magaña-Magaña, M.A., M.E. Tavera-Cortés., L.L. Salazar-Barrientos., J.R. Sanguinés-García. 2016. Productividad de la apicultura en México y su impacto sobre la rentabilidad. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7(5): 1103-1115.
- Marcangeli, J., M.C. García., C. Vega., A. Quiroga., M.L. Martín., L. Distéfano., G. Cano. 2005. Estudio sobre la eficacia a campo del Amivar® contra *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidea) en colmenas de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 64: 1-2.
- Marcangeli, J., R. Pérez., D. Leveratto., L.A. Guardia. 2004. Ensayo de campo sobre la eficacia del Colmesan® contra el ácaro *Varroa destructor* (Varroidae) en

- colmenas de *Apis mellifera* (Apidae). Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 63: 2-4.
- Marie-Pierre, C., M. Anne-Claire., S. Zeggane., P. Drajnudel., F. Schurr., C. Marie-Claude., M. Ribière-Chabert., M. Aubert., F. Jean-Paul. 2010. A case control study and a survey on mortalities of honey bee colonies (*Apis mellifera*) in France during the winter of 2005-6. Journal of Apiculture Research 49:40-51.
- Martel, A.C., S. Zeggane., C. Aurières., P. Drajnudel., J.P. Faucon., M. Aubert. 2007. Acaricide residues in honey and wax after treatment of honey bee colonies with Apivar® or Asuntol® 50\*. Apidologie 38: 534-544.
- Martin, S.A. 1997. Life and death of Varroa. Ficht the Mite. Edited by Pamela Munn and Richard Jones. International Bee Research Association 3-10.
- Martin, S.A. 1998. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. Ecological Modelling 109:267-281.
- Martin, S.J. 2001. The role of Varroa and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. Journal of Applied Ecology 38:1082-1093.
- Martínez-Puc, J.F., L.A. Medina-Medina. 2011. Evaluación de la resistencia del ácaro *Varroa destructor* al fluvalinato en colonias de abejas (*Apis mellifera*) en Yucatán, México. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias 2(1):93-100.
- Medina-Flores, C.A., E. Guzmán-Novoa., C.F. Aréchiga-Flores., J.I. Aguilera-Soto., J. Gutiérrez-Piña. 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 2:313-317.
- Medina-Flores, C.A., E. Guzmán-Novoa., M.M. Hamiduzzaman., C.F. Aréchiga-Flores., M.A. López-Carlos. 2014. Africanized honey bee (*Apis mellifera*) have low infestation levels of the *Varroa destructor* in different ecological regions in Mexico. Genetic and Molecular Research 13(3): 7282-7293.
- Melathopoulos, A.P., S.F. Pernal., E. Moller., W. Baumgartner., E. Guzmán-Novoa. 2010. A spring evaluation of thymol formulated in a sucrose dust for the control of *Varroa destructor*, a parasite of the honey bee (*Apis mellifera*) in Alberta, Canada. Bee Culture 2:2-6.

- Milani, N. 1995. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to pyrethroids: a laboratory assay. *Apidologie* 26(15): 415-429.
- Molina, P.A., E. Guzmán-Novoa., D. Message., D. De Jong., A.D. Pesante., C.C. Mantilla., R.A. Zozaya., E.R. Jaycox., V.F. Alvarado., C.S. Handal., G. Meneses. 1990. Manual de enfermedades y plagas de la abeja melífera occidental. Publicado por el organismo internacional regional de sanidad agropecuaria. El Salvador.
- Moretto, G., S.L. Goncalves., D. De Jong. 1991. Africanized bees are more efficient at removing *Varroa jacobsoni*- Preliminary data. *American Bee Journal* 131:434.
- Morse, A.R., K. Flottum. 1997. Honey bee pests, predators, and diseases. 3<sup>a</sup> edition. The A. I. Root Company. Medina, Ohio, USA. p718.
- Mutinelli, F., A. Baggio., F. Capolongo., R. Piro., L. Prandin., L. Biasion. 1997. A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis. *Apidologie* 28:461-462.
- Nasr, M.E., R.W. Thorp., T.L. Tyler., D.L. Briggs. 1990. Estimating honey bee (Hymenoptera: Apidae) Colony strength by a simple method: Measuring cluster size. *Journal of Economic Entomology* 83: 748-754.
- Naug, D. 2009. Nutritional stress due to habitat loss may explain recent honeybee colony collapses. *Biological Conservation* 142: 2369-2372.
- Neumann, P., R.F.A. Mortiz., D. Mautz. 2000. Colony evaluation is not affected by drifting of drone and worker honeybees (*Apis mellifera* L.) at a performance testing apiary. *Apidologie* 31:67-79.
- Nielsen, D.I., P.R. Ebert., G.J. Hunt., E. Guzmán-Novoa., S.A. Kinee., R.E. Page Jr. 1999. Identification of Africanized honey bee (Hymenoptera: Apidae) incorporating morphometrics and an improved PCR mitotyping procedure. *Annals Entomological Society of America* 93: 1-6.
- NOM-004-ZOO-1994, Proyecto de Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-1994, Grasa, hígado, músculo y riñón en aves, bovinos, caprinos, cérvidos, equinos, ovinos y porcinos. Residuos tóxicos. Límites máximos permisibles y procedimientos de muestreo. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

- O'Neal, S.T., C.C. Brewster., J.R. Bloomquist., T. Anderson. 2017. Amitraz and its metabolite modulate honey bee cardiac function and tolerance to viral infection. *Journal of Invertebrate Pathology* 149(10): 119-126.
- Peng, Y.S., Y. Fang., S. Xu., L. Ge. 1987. The resistance mechanism of the Asian honey bee, *Apis cerana* Fabr., to an ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Journal of Invertebrate Pathology* 49, 54-60.
- Pérez-Santiago, G., G. Otero-Colina., D. Mota-Sánchez., M.E. Ramírez-Guzman., R. Vandame. 2000. Comparing effects of three Acaricides on *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) using two application techniques. *Florida Entomologist* 83(4): 468-476.
- Pérez-Santiago, G., M.C. González-Güereca., A. Mere-Rementería. 2008. Repelencia y letalidad con aceite de orégano (*Lippia graveolense* H. B. K. VAR. *berlandierii*) en *Varroa destructor*. 3era Reunión Nacional Sobre Orégano. RESPYN 1.
- Pérez-Sato, J.A., T. Cervantes-Santana. 2001. Selección para tolerancia a *Varroa jacobsoni* Oud. en una población de abejas euroafricanas. *Agrociencia* 35(4):413-421.
- Pettis, J. S., A. M. Collins., R. Wilbanks., M. F. Feldlaufer. 2004. Effects of coumaphos on queen rearing in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie* 35: 605-610.
- Rinderer TE, DeGuzman LI, Lancaster VA, Delatta GT, Stelzer JA (1999) *Varroa* in the mating yard: I. The effects of *Varroa jacobsoni* and Apistan on drone honey bees. *American Bee Journal* 139(2):134-139.
- Ritter, W. 1981. *Varroa* disease of the honeybee *Apis mellifera*. *Bee World* 62: 141-153.
- Rodríguez-Dehaibes, S.R., G. Otero-Colina., J.A. Villanueva-Jiménez., P. Corcuera. 2011. Susceptibility of *Varroa destructor* (Gamasida: Varroidae) to four pesticides used in three Mexican apicultural regions under two different management systems. *International Journal of Acarology* 37:441-447.
- Rodríguez-Dehaibes, S.R., G. Otero-Colona., V. Pardo-Sedas., J.A. Villanueva-Jiménez. 2005. Resistance to amitraz and flumethrin in *Varroa destructor* population from Veracruz, México. *Journal of Apicultural Research* 44(3): 124-125.

- Rodríguez-Dehaibes, S.R., M.J. Moro, G. Otero-Colina. 1992. *Varroa* found in México. American Bee Journal 132: 728-729.
- Rodríguez, M., M. Garding., A. France. 2009. Selection of entomopathogenic fungi to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). Chilean journal of agricultural research 64(4):534-540.
- Rosenkranz, P., P. Aumeier., B. Ziegalmann. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. Journal of Invertebrate Pathology 103: 196-119.
- Rothenbuhler, W.C. 1964. Behavior genetics of nest cleaning in honey bee. I. Responses of four inbred lines to disease-killed brood. Animal Behaviour 12:578-583.
- Sabahi, Q., H. Gashout., P.G. Kelly., E. Guzman-Novoa. 2017. Continuous release of oregano oil effectively and safely controls *Varroa destructor* infestation in honey bee colonies in a northern climate. Experimental and Applied Acarology 72:263-275.
- SAGARPA. 2002. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Patología apícola. Manual 5. Pág. 11-86.
- Samarasekera, R., I.S. Weerasinghe., K.D. Hemalal. 2008. Insecticidal activity of menthol derivatives against mosquitoes. Pest Management Science 64(3):290-295.
- Sanford, M.T., H.L. Cromroy. 1992. The *Varroa* bee mite. Hints for the Hive. 127: 1-5.
- SARH 1994 Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. NORMA Oficial Mexicana NOM-001-ZOO-1994, Campaña Nacional contra la Varroasis de las Abejas.
- SAS. (2014). Statistical Analysis System. Version 9.4, Cary, NC.
- Shimanuki, H., N.W. Calderone., D.A. Knox. 1994. Parasitic mite syndrome: the symptoms. American Bee Journal 134(1/2) 827-829.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) 2017. Población Ganadera. Abejas, Población apícola 2006-2015. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/165992/abeja.pdf> página consultada 17 de octubre 2017.

- Spivak, M. 1996. Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 27:245-260.
- Spivak, M., M. Gillian. 1993. Facultative expression of hygienic behavior of honey bees in relation to disease resistance. *Journal of Apicultural Research* 32(3/4) 147-175.
- Strange, J.P., W.S. Sheppard. 2001. Optimum timing of miticide applications for control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in Washington State, USA. *Entomological Society of America* 94(6):1324-1331.
- Sylvester, H.A., T.E. Rinderer. 1987. Fast Africanized Bee Identification System (FABIS) Manuel. Honey bee breeding, genetics and physiology research laboratory. 1157 Ben Hur Road, Baton Rouge, Louisiana 70820. 511-516.
- Szabo, T.I., D.C. Szabo. 2002. *Varroa* infestation levels of honey bee colonies in the fifth year of breeding program: Report for 2001. *American Bee Journal* 142: 423-427. *Canadian Beekeeping* 2002. 22: 8-13.
- Szabo, T.I., L.P. Lefkovich. 1988. Fourth generation of closed population honeybee breeding. 2. Relationship between morphological and colony traits. *Apidologie* 19(3): 259-274.
- Szabo, T.I., L.P. Lefkovich. 1989. Effect of brood production and population size on honey production of honeybee production of honeybee colonies in Alberta, Canada. *Apidologie* 20(2): 157-163.
- Toufailya, H.A., L. Scandian., F.L.W. Ratnieks. 2016. Toward integrated control of varroa: 2) comparing application methods and doses of oxalic acid on the mortality of phoretic *Varroa destructor* mites and their honey bee hosts. *Journal of Apicultural Research* 54:2 108-120.
- Underwood, R. M., R. W. Currie. 2003. The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), a parasite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Experimental and Applied Acarology* 29: 303-313.
- Vandame, R. 2000. Control alternativo de *Varroa* en apicultura. *El colegio de la frontera sur*. 2.2

- vanEngelsdorp, D., J. Hayes Jr., R.M. Underwood., J.S. Pettis. 2010. A Survey of honey bee colony losses in the United States, fall 2008 to spring 2009. *Journal of Apiculture Research* 49: 7-14.
- vanEngelsdorp, D., M. D. Meixner. 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S80-S95.
- Wallner, K., I. Fries. 2003. Control of the mite *Varroa destructor* in honey bee. This journal is The Royal Society of Chemistry 2003 Pesticide Outlook. April 2003.
- Wilfert, L., G. Long., H.C. Leggett., P. Schmid-Hempel., R. Butlin., S.J.M. Martin., M. Boots. 2016. Deformed wing viruses is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. Research Report. *Science*. 351(6273):594-597.
- Yue, C., E. Genersch. 2005. RT-PCR analysis of deformed wing virus in honey bees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *Journal of General Virology* 86: 3419-3424.

## 8. ANEXOS

En este apartado se anexa los datos restantes de la investigación que fueron analizados por medio del programa de SAS, sin embargo esta información no cumple con la calidad para ser presentada debido a la falta de datos en algunas temporadas.

### 8.1. Nivel de infestación de *V. destructor* en cría operculada

El análisis general de los resultados mensuales sobre los niveles de infestación por *V. destructor* en cría operculada no mostro diferencias entre tratamientos, los meses de octubre y marzo muestran diferencias (Cuadro Anexo 1).

**Cuadro Anexo 1.** Nivel de infestación de *V. destructor* en cría operculada en panales de abejas de cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.

Grupo	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Verano	3.3±4.4	3.0±3.1	4.1±1.1 <sup>b</sup>	-	-	8.1±4.9	-	0.0±0.0 <sup>b</sup>	0.4±0.3
Invierno	7.5±7.7	9.9±5.4	12.0±1.8 <sup>a</sup>	-	-	21.0±8.5	-	1.9±0.0 <sup>a</sup>	0.0±0.5
Ver-Inv	3.5±4.4	1.7±3.1	2.7±1.1 <sup>b</sup>	-	-	14.1±4.9	-	0.0±0.0 <sup>b</sup>	0.0±0.3
Testigo	17.5±5.4	12.1±3.8	8.9± 1.3 <sup>a, b</sup>	-	-	7.5±6.0	-	0.0±0.0 <sup>b</sup>	0.4±0.3
<i>p</i>	0.2892	0.2469	0.0169	-	-	0.5383	-	<.0001	0.7123

Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls.

## 8.2. Cantidad de panales con cría

El análisis general de los resultados mensuales sobre la cantidad de panales con cría en colonias de abejas melíferas por medio del análisis de medidas repetidas no muestra diferencias, no se observaron diferencias en las fechas de aplicación en ninguno de los meses del año (Cuadro Anexo 2).

**Cuadro Anexo 2.** Cantidad de panales con cría en colonias de abejas de cuatro grupos tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.

Estación de aplicación	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
<b>Verano</b>	4.7±0.3 <sup>a</sup>	5.1±0.5 <sup>a</sup>	4.5±0.4 <sup>a</sup>	-	2.9±0.2 <sup>a</sup>	1.9±0.3 <sup>a</sup>	2.3±0.3 <sup>a</sup>	2.8±0.3 <sup>a</sup>	3.6±0.4 <sup>a</sup>
<b>Invierno</b>	4.0±0.4 <sup>a</sup>	5.3±0.7 <sup>a</sup>	3.4±0.5 <sup>a</sup>	-	2.1±0.3 <sup>a</sup>	1.7±0.4 <sup>a</sup>	2.1±0.4 <sup>a</sup>	3.3±0.4 <sup>a</sup>	3.4±0.5 <sup>a</sup>
<b>Ver-Inv</b>	4.5±0.4 <sup>a</sup>	6.1±0.6 <sup>a</sup>	3.9±0.5 <sup>a</sup>	-	2.9±0.3 <sup>a</sup>	1.3±0.4 <sup>a</sup>	2.0±0.3 <sup>a</sup>	3.0±0.4 <sup>a</sup>	3.4±0.4 <sup>a</sup>
<b>Testigo</b>	3.8±0.4 <sup>a</sup>	6.0±0.7 <sup>a</sup>	3.5±0.5 <sup>a</sup>	-	2.8±0.3 <sup>a</sup>	1.8±0.4 <sup>a</sup>	2.7±0.4 <sup>a</sup>	3.2±0.4 <sup>a</sup>	3.7±0.5 <sup>a</sup>
<b><i>p</i></b>	0.3612	0.5206	0.2927	-	0.1564	0.6712	0.5527	0.7528	0.9770

Cantidad de panales con cría (media±EE) en cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones. Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls.

### 8.3. Panales cubiertos con abejas

El análisis general de los resultados mensuales sobre la cantidad de panales con abejas en colonias de abejas melíferas por medio del análisis de medidas repetidas no muestra diferencias, se observaron diferencias en el mes de febrero donde el grupo que fue tratado durante el verano mostro mayor cantidad de abejas, seguido del grupo tratado en verano e invierno y testigo (Cuadro Anexo 3).

**Cuadro Anexo 3.** Panales cubiertos con abejas en colonias de cuatro grupos tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.

Estación de aplicación	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
<b>Verano</b>	8.8±0.7 <sup>a</sup>	9.2±0.7 <sup>a</sup>	9.2±0.8 <sup>a</sup>	-	7.0±0.7 <sup>a</sup>	6.0±0.7 <sup>a</sup>	4.5±0.6 <sup>a</sup>	5.3±0.7 <sup>a</sup>	4.8±0.8 <sup>a</sup>
<b>Invierno</b>	8.1±0.8 <sup>a</sup>	8.8±0.8 <sup>a</sup>	7.8±0.9 <sup>a</sup>	-	5.1±0.9 <sup>a</sup>	3.5±0.8 <sup>a</sup>	2.0±0.7 <sup>b</sup>	3.4±0.8 <sup>a</sup>	4.1±0.9 <sup>a</sup>
<b>Ver-Inv</b>	8.3±0.7 <sup>a</sup>	8.8±0.7 <sup>a</sup>	9.1±0.8 <sup>a</sup>	-	6.7±0.8 <sup>a</sup>	4.4±0.7 <sup>a</sup>	2.9±0.6 <sup>a,b</sup>	4.2±0.8 <sup>a</sup>	4.7±0.9 <sup>a</sup>
<b>Testigo</b>	9.3±0.8 <sup>a</sup>	10.0±0.8 <sup>a</sup>	9.8±0.9 <sup>a</sup>	-	6.0±0.9 <sup>a</sup>	5.0±0.8 <sup>a</sup>	2.7±0.7 <sup>a,b</sup>	4.1±0.8 <sup>a</sup>	3.8±0.9 <sup>a</sup>
<b>p</b>	0.7310	0.6974	0.4653	-	0.3766	0.1443	0.0545	0.3692	0.8792

Cantidad de panales cubiertos con abejas (media±EE) en cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones. Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls.

#### 8.4. Numero de panales con polen (reservas de alimento).

El análisis general de los resultados mensuales sobre la cantidad de polen en panales, en colonias de abejas melíferas por medio del análisis de medidas repetidas no mostro diferencias, no se observaron diferencias con respecto a la cantidad de polen en ninguno de los meses observados (Cuadro Anexo 4).

**Cuadro Anexo 4.** Numero de panales con polen en colonias de cuatro grupos tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.

Estación de aplicación	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
<b>Verano</b>	1.1± <sup>a</sup>	0.7± <sup>a</sup>	1.3± <sup>a</sup>	-	0.0±0.1 <sup>a</sup>	0.0±0.0 <sup>a</sup>	0.0±0.0 <sup>a</sup>	0.3±0.4 <sup>a</sup>	0.1±0.2 <sup>a</sup>
<b>Invierno</b>	1.1± <sup>a</sup>	0.3± <sup>a</sup>	0.8± <sup>a</sup>	-	0.5±0.2 <sup>a</sup>	0.0±0.0 <sup>a</sup>	0.0±0.0 <sup>a</sup>	0.2±0.5 <sup>a</sup>	0.7±0.3 <sup>a</sup>
<b>Ver-Inv</b>	1.4± <sup>a</sup>	0.6± <sup>a</sup>	1.2± <sup>a</sup>	-	0.0±0.1 <sup>a</sup>	0.0±0.0 <sup>a</sup>	0.0±0.0 <sup>a</sup>	0.2±0.4 <sup>a</sup>	0.6±0.2 <sup>a</sup>
<b>Testigo</b>	1.4± <sup>a</sup>	1.0± <sup>a</sup>	1.4± <sup>a</sup>	-	0.0±0.2 <sup>a</sup>	0.0±0.0 <sup>a</sup>	0.0±0.0 <sup>a</sup>	1.6±0.5 <sup>a</sup>	0.2±0.3 <sup>a</sup>
<b><i>p</i></b>	0.9294	0.5586	0.8777	-	0.1703	.	.	0.1126	0.3186

Cantidad de panales con polen (media±EE) en cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones. Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls.

### 8.5. Numero de panales con miel (reservas de alimento)

El análisis general de los resultados mensuales sobre la cantidad de panales con miel en colonias de abejas melíferas por medio del análisis de medidas repetidas no muestra diferencias, se observaron diferencias en el mes de febrero donde el grupo que fue tratado en el verano presento mayor miel seguido del grupo testigo y el grupo que fue tratado durante el verano e invierno (Cuadro Anexo 5).

**Cuadro Anexo 5.** Numero de panales con miel en colonias de cuatro grupos tratadas en diferentes estaciones del año, el tratamiento de control fue aplicado antes de la lectura de agosto y febrero.

Estación de aplicación	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
<b>Verano</b>	1.0±0.2 <sup>a</sup>	1.7±0.3 <sup>a</sup>	1.4±0.3 <sup>a</sup>	-	2.9±0.4 <sup>a</sup>	4.6±0.4 <sup>a</sup>	3.0±0.3 <sup>a</sup>	2.3±0.3 <sup>a</sup>	1.9±0.3 <sup>a</sup>
<b>Invierno</b>	1.1±0.2 <sup>a</sup>	1.7±0.3 <sup>a</sup>	2.0±0.4 <sup>a</sup>	-	2.0±0.5 <sup>a</sup>	4.1±0.5 <sup>a</sup>	1.6±0.4 <sup>b</sup>	2.0±0.3 <sup>a</sup>	1.8±0.4 <sup>a</sup>
<b>Ver-Inv</b>	0.9±0.2 <sup>a</sup>	2.1±0.3 <sup>a</sup>	2.0±0.3 <sup>a</sup>	-	3.1±0.4 <sup>a</sup>	3.6±0.4 <sup>a</sup>	2.5±0.3 <sup>a,b</sup>	1.9±0.3 <sup>a</sup>	1.5±0.3 <sup>a</sup>
<b>Testigo</b>	1.0±0.2 <sup>a</sup>	2.0±0.4 <sup>a</sup>	2.6±0.4 <sup>a</sup>	-	3.3±0.6 <sup>a</sup>	4.7±0.6 <sup>a</sup>	2.6±0.4 <sup>a,b</sup>	1.8±0.4 <sup>a</sup>	2.1±0.4 <sup>a</sup>
<b>p</b>	0.8411	0.7566	0.2227	-	0.3386	0.2893	0.0453	0.7497	0.7051

Cantidad de panales con miel (media±EE) en cuatro grupos de colonias tratadas en diferentes estaciones. Diferentes literales indican diferentes significativas basadas en un análisis de mediciones repetidas y la comparación de medias con la prueba de Newman-Keuls.

## 8.6. Peso de colonias

El análisis general de los resultados mensuales sobre el peso de las colonias en los cuatro grupos en prueba, no presento diferencias al ser analizados por medio de la prueba de medidas repetidas, se observaron diferencias en el mes de febrero, observándose mayor peso en el grupo que fue tratado en verano (Cuadro Anexo 6).

**Cuadro Anexo 6.** Peso de colonias de abejas tratadas contra varroa a principios de agosto (verano) y finales de enero (enero).

Grupo	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
<b>Verano</b>	10.2±1.0	10.4±2.0	13.1±1.1	8.2±1.6	12.2±0.9	13.0±0.9	10.6±0.7 <sup>a</sup>	8.8±0.8	8.3±1.0
<b>Invierno</b>	10.8±1.2	11.1±2.4	11.9±1.2	8.2±1.4	8.8±1.1	9.8±1.0	6.5±0.9 <sup>b</sup>	6.0±0.9	6.5±1.2
<b>Ver-Inv</b>	9.7±1.1	13.1±2.1	14.1±1.1	8.7±1.2	10.8±1.0	11.1±0.9	8.5±0.8 <sup>a,b</sup>	7.7±0.8	6.9±1.1
<b>Testigo</b>	10.5±1.3	12.0±2.5	12.3±1.3	9.3±1.4	10.6±1.2	10.0±1.1	8.5±0.9 <sup>a,b</sup>	7.7±1.0	5.8±1.3
<b>p</b>	0.9106	0.8212	0.5700	0.9443	0.1696	0.0904	0.0091	0.1764	0.4652

Medias ± DE con letras distintas en cada columna indican diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0.05$ ).