

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA**



**“CORRELACIÓN DEL COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO EN *Apis mellifera* Y LA INFESTACIÓN DE *Varroa destructor* EN UN COLMENAR EN LIMA, PERÚ”**

**TESIS PARA OPTAR TÍTULO DE  
INGENIERO ZOOTECNISTA**

**JULIO ELEAZAR YANCCE CHUQUIYAURI**

**LIMA-PERÚ**

**2021**

---

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación**

**(Art. 24 - Reglamento de Propiedad Intelectual)**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA**

**“CORRELACIÓN DEL COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO EN *Apis mellifera* Y LA INFESTACIÓN DE *Varroa destructor* EN UN COLMENAR EN LIMA, PERÚ”**

Presentado por:

**JULIO ELEAZAR YANCCE CHUQUIYAURI**

Tesis para Optar el Título Profesional de:

**INGENIERO ZOOTECNISTA**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

---

Ing. Jorge Vargas Morán  
Presidente

---

Dr. William Dale Larrabure  
Miembro

---

M.V. Daniel Zárate Rendón  
Miembro

---

Ing. Alejandrina Sotelo Méndez  
Patrocinadora

---

Dr. Agustín Martos Tupes  
Co Patrocinador

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis asesores, jurados especialistas, y a los diversos profesionales quienes me apoyaron a terminar este trabajo de investigación; en especial a la Ing. Diana Rebaza por su apoyo en el análisis estadístico, a la Ing. Sotelo por su confianza y dirección, y al Dr. Martos por sus enseñanzas y por abrirme generosamente las puertas del apiario.

A mis amigos Gerly, Pia y José Francisco por su apoyo durante la ejecución de la parte experimental del presente estudio.

A la catedrática Nelly González por sus comentarios.

Finalmente, agradecimientos infinitos a mis padres; a mi hermana; y a mis sobrinos Perlita y Leo.

# ÍNDICE GENERAL

	<b>Página</b>
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Aspectos relativos a <i>V. destructor</i> .....	3
2.2 Aspectos relativos a comportamiento higiénico.....	6
III. METODOLOGÍA.....	17
3.1 Ubicación geográfica.....	17
3.2 Material del ensayo.....	17
3.2.1 Material biológico.....	17
3.2.2 Otros materiales.....	18
3.3 Métodos.....	19
3.3.1 Diseño de la investigación.....	19
3.3.2 Periodo de observación.....	19
3.3.3 Descripción metodológica de las técnicas utilizadas en el periodo de observación.....	20
3.3.4 Análisis estadístico de los datos.....	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
4.1 Comportamiento higiénico (CH) o tasa de remoción de pupas perforadas.....	29
4.2 Tasa infestación por varroas en abejas adultas (TIVA).....	34
4.3 Correlación entre comportamiento higiénico y tasa de infestación por varroas en abejas adultas.....	38
4.4 Número de panales con crías, reservas y población de abejas.....	41
4.4.1 Número de panales de crías.....	41
4.4.2 Número de panales con reserva alimenticia.....	43
4.4.3 Número de abejas adultas por colonia.....	45
4.5 Categorización de las colmenas por comportamiento higiénico (CH).....	48

V. CONCLUSIONES.....	52
VI. RECOMENDACIONES .....	53
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	54
VIII. ANEXOS.....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla 1: Tasa de remoción de pupas perforadas o comportamiento higiénico (CH) .....	30
Tabla 2: Tasa de infestación por varroas en abejas adultas (TIVA).....	35
Tabla 3: Número de panales promedio de crías.....	42
Tabla 4: Número de panales de reserva alimenticia .....	44
Tabla 5: Población estimada de abejas adultas .....	47
Tabla 6: Categoría por comportamiento higiénico (CH) .....	49
Tabla 7: Cantidad y porcentaje de colmenas según su categoría de higiene .....	51

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1: Sincronización del ciclo de desarrollo de <i>V. destructor</i> con el ciclo de desarrollo de la abeja. Entre las dos líneas al centro, se indican el número de días, tomado como día cero la operculación de la celda por las obreras.....	4
Figura 2: Ciclo de vida de <i>V. destructor</i> en cría de pupa de <i>A. mellifera</i> .....	4
Figura 3: Vertiendo nitrógeno líquido en tubo (precaución, uso de guantes).....	8
Figura 4: Usando un alfiler entomológico para perforar pupas .....	9
Figura 5: Apiario experimental UNALM .....	18
Figura 6: Colmena que se le asignó aleatoriamente el código C13 .....	20
Figura 7: Delimitación, con palillos, del área de celdas con pupas listas para perforar .	21
Figura 8: Perforación de las crías con aguja .....	21
Figura 9: Celdas limpiadas completamente .....	22
Figura 10: Frasco con alcohol al 70 por ciento.....	23
Figura 11: Observando si la abeja reina se encuentra en el panal .....	23
Figura 12: Deslizamiento del frasco con alcohol para capturar abejas.....	23
Figura 13: Captura de abejas en alcohol al 70 por ciento.....	24
Figura 14: Agitación del frasco con abejas capturadas.....	24
Figura 15: Tamizado de abejas .....	25
Figura 16: Recolectando varroas caídas al contenedor.....	25
Figura 17: Conteo de abejas.....	25
Figura 18: Conteo de varroas capturadas.....	25

Figura 19: Panal de cría .....	26
Figura 20: Panal con reserva alimenticia .....	27
Figura 21: Panal lleno de abejas .....	27
Figura 22: Colonia de abejas que limpiaron completamente las pupas muertas por perforación.....	31
Figura 23: Colonia de abejas que no removieron completamente las pupas muertas por perforación .....	31
Figura 24: Porcentaje de comportamiento higiénico de cada colmena .....	32
Figura 25: Tasa de infestación por <i>V. destructor</i> en abejas adultas en cada colmena de estudio.....	36
Figura 26: Dispersión simple de tasa de infestación de <i>V. destructor</i> por tasa remoción de pupas perforadas .....	39
Figura 27: Número de panales de crías por cada colmena .....	43
Figura 28: Número de panales de reserva alimenticia por cada colmena.....	45
Figura 29: Número de abejas adultas estimadas por cada colmena.....	46
Figura 30: Tasa de infestación por varroas en abejas adultas según el nivel de higiene de cada colmena .....	50
Figura 31: Categoría de las colmenas por comportamiento higiénico.....	51

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Página</b>
Anexo 1. Datos meteorológicos durante el desarrollo de la investigación, según la estación meteorológica Alexander Von Humboldt, de la Universidad Nacional Agraria La Molina. ....	64
Anexo 2. Prueba de normalidad bivariada.....	65
Anexo 3. Análisis de correlación de Spearman .....	66

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el grado de comportamiento higiénico (CH) en *Apis mellifera*, medido por el método de perforación con aguja, y su relación con la tasa de infestación de *Varroa destructor* a través de una prueba de correlación de Spearman. El presente se llevó a cabo en el apiario de la Universidad Nacional Agraria la Molina donde se usaron 17 colonias de abejas melíferas que no han recibido tratamiento químico sanitario por más de dos años. Las colonias se clasificaron en tres grupos de acuerdo al comportamiento higiénico (CH): alto CH (58,82 por ciento), moderado CH (29,41 por ciento) y leve CH (11,77 por ciento). El CH y la tasa de infestación por varroas en abejas adultas determinados fueron en promedio 73,15 por ciento y 4,15 por ciento respectivamente. Se observó que la mayor parte de las colmenas con alto nivel de higiene presentaron menor carga parasitaria, relacionándose estas dos variables de manera significativa ( $r = -0,569$ ,  $p < 0,05$ ). Adicionalmente, se determinó por colmena la cantidad promedio de cría cerrada (5,65 panales), reserva alimenticia (4,35 panales) y se estimó en 18 764,7 la población media de abejas adultas.

**Palabras clave:** comportamiento higiénico, *Apis mellifera*, abeja melífera, *Varroa destructor*.

## ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the degree of hygienic behavior (HC) in *Apis mellifera*, measured by the needle perforation method, and its relationship with the infestation rate of *Varroa destructor* through a Spearman correlation test. The present was carried out in the apiary of the Universidad Nacional Agraria la Molina where 17 colonies of honey bees were used that have not received chemical sanitary treatment for more than two years. The colonies were classified into three groups according to hygienic behavior (CH): high CH (58.82 percent), moderate CH (29.41 percent) and mild CH (11.77 percent). The CH and the infestation rate for varroas in adult bees determined were on average 73.15 percent and 4.15 percent respectively. It was observed that most of the hives with a high level of hygiene presented a lower parasite load, and these two variables were significantly related ( $r = -0.569$ ,  $p < 0.05$ ). Additionally, the average amount of closed brood (5.65 combs), food reserve (4.35 combs) was determined per hive, and the average population of adult bees was estimated at 18,764.7.

**Keywords:** hygienic behavior, *Apis mellifera*, honey bee, *Varroa destructor*.

## I. INTRODUCCIÓN

La abeja melífera, *Apis mellifera*, es un insecto de gran importancia económica por producir una serie de sustancias de utilidad en la alimentación y la salud humana tales como la miel, cera, apitoxina y jalea real; además recolecta sustancias igualmente importantes como el polen y propóleo. También destaca como el agente polinizador más importante de plantas en general, permitiendo, así, la producción de frutos y semillas en mayor cantidad y mejor calidad.

Esta especie se cría en costa, sierra y selva del Perú a través del desarrollo de la Apicultura, para fines de producción de miel y polen, su comercialización permite a los pobladores del campo generar ingresos económicos y mejorar sus condiciones de vida. Los apicultores, además, alquilan sus colmenas con propósitos de polinización a productores de frutas, especialmente paltos y arándanos.

En los últimos años la actividad apícola en nuestro país ha experimentado un evidente crecimiento evidenciado por el mayor número de colmenas y su frecuente uso en la polinización de frutales. En relación al crecimiento de esta actividad el IV Censo Nacional Agropecuario 2012 (INEI, 2012), registra para nuestro país un total de 214 000 colmenas propiedad de alrededor de 40 000 apicultores.

Las abejas, como cualquier otro organismo animal, son atacadas por agentes patógenos que afectan su desarrollo biológico e impactan negativamente en la producción en general, generando pérdidas económicas significativas. Entre los más importantes, que tenemos en el Perú, se encuentran *Varroa destructor* (varroasis), *Melissococcus pluton* (loque europea) y *Ascophaera apis* (cría yesificada). Estos agentes patógenos causan daños serios a las abejas al punto que pueden llevar al colapso a las colmenas afectadas.

Sin embargo, hay evidencias que existen colonias de abejas criadas sin tratamiento químico para varroas que no resultan atacadas fuertemente (Fries et al., 2006; Sanabria, 2007; Sanabria et al., 2015); incluso, sin ser letales a las abejas a pesar de ser fuertemente atacadas por *V. destructor* (De Mattos et al., 2016). Esto estaría relacionado a la existencia de biotipos de abejas con un comportamiento diferencial que pueden reducir su susceptibilidad a varroas, causada, entre otros factores, al comportamiento higiénico. El cual es considerado como un mecanismo de resistencia natural de las abejas respecto a dos enfermedades de la cría: loque americana (*Paenibacillus larvae*) y cría yesificada (*Ascophaera apis*), según Spivak y Gilliam (1998a, b); y una protección al ectoparásito *V. destructor* (Spivak, 1996; Spivak y Gilliam, 1998b; Rath y Drescher, 1990).

Las abejas con buen comportamiento higiénico son muy buenas productoras de miel y no se ven afectadas en sus niveles de producción (Spivak y Reuter, 1998; Pérez et al., 2015). Por otra parte, estas abejas no requieren la aplicación de sustancias químicas como antibióticos o acaricidas (Spivak et al., 2009; De Mattos et al., 2016) que, aparte de contaminar las colmenas y desarrollar resistencia en los ácaros (Berry et al., 2013), generan ingentes gastos económicos por tener altos precios en el mercado de plaguicidas.

En el Perú no se reportan a la fecha estudios sobre comportamiento higiénico de las abejas melíferas sin tratamiento químico durante años para el ácaro *V. destructor*. El objetivo primario de este trabajo fue evaluar la conducta de higiene en *Apis mellifera* y su relación con la infestación de *V. destructor* en el apiario de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM), donde no se ha manejado ningún tipo de control sanitario durante más de dos años. Para ello se formularon los siguientes objetivos específicos:

- Determinación de la capacidad de remoción de pupas dañadas
- Determinación de los niveles de infestación de abejas con varroas
- Determinación de los valores cuantitativos de panales con crías, panales con reserva alimenticia, y población de abejas adultas.
- Categorización de las colmenas del apiario de la UNALM, según su grado de comportamiento higiénico.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos relativos a *V. destructor*

El ácaro *V. destructor* afecta tanto a las abejas adultas como a las crías. Su vida alterna entre dos fases: reproductiva y forética (Figura 1). En ambas fases el ácaro se alimenta de la hemolinfa de las abejas (Garedew et al., 2004, citado por Kurze et al., 2016). Sin embargo, recientemente Ramsey et al. (2018) demostraron, a través de imágenes de microscopía y uso de alimentos marcados con fluorescentes para *V. destructor*, que estos no tienen preferencia por la hemolinfa, pero sí por el tejido graso de las abejas.

La fase reproductiva empieza cuando la hembra de *V. destructor* ingresa a la celda de cría de abeja (zángano u obrera), que suele ser en una estrecha ventana de tiempo para el éxito reproductivo, atraída por la cría de abeja o por el alimento larval (Nazzi et al., 2004, citado por Sanabria, 2007). Antes de la operculación de la celda, el ácaro se alimenta del alimento larval de quinto estadio e inicia la ovogénesis en pocas horas. Después de aproximadamente tres días, la *V. destructor* hembra deposita el primer huevo macho haploide no fertilizado, seguido, en intervalos de 30 horas, por cuatro o cinco huevos hembras diploides fertilizados. Los ácaros eclosionan horas después de la oviposición y pasan por las etapas de protoninfa y deutoninfa hasta convertirse en sexualmente maduras, después de aproximadamente siete días (Figura 2). Una vez que la primera hembra alcanza la madurez sexual empieza el apareo con el macho, y posteriormente este continúa apareándose con la siguiente hembra madura (Ziegelmann y Rosenkranz, 2014, citado por Kurze et al., 2016).

Finalmente, las hembras de varroas fertilizadas se liberan de las celdas operculadas al momento del nacimiento de las abejas para colocarse sobre ellas y otras adultas y así propagarse a diferentes colonias. De esta manera empieza la fase forética de *V. destructor*, y es el momento en que se ubica entre los esternitos abdominales para alimentarse de la grasa de las abejas.

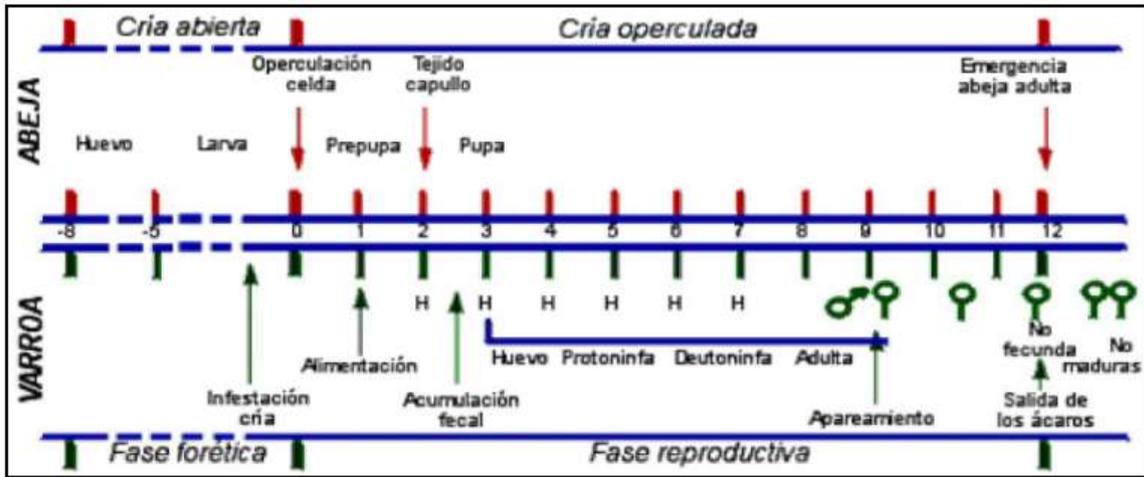


Figura 1: Sincronización del ciclo de desarrollo de *V. destructor* con el ciclo de desarrollo de la abeja. Entre las dos líneas al centro, se indican el número de días, tomado como día cero la operculación de la celda por las obreras

Fuente: Vandame (2000)

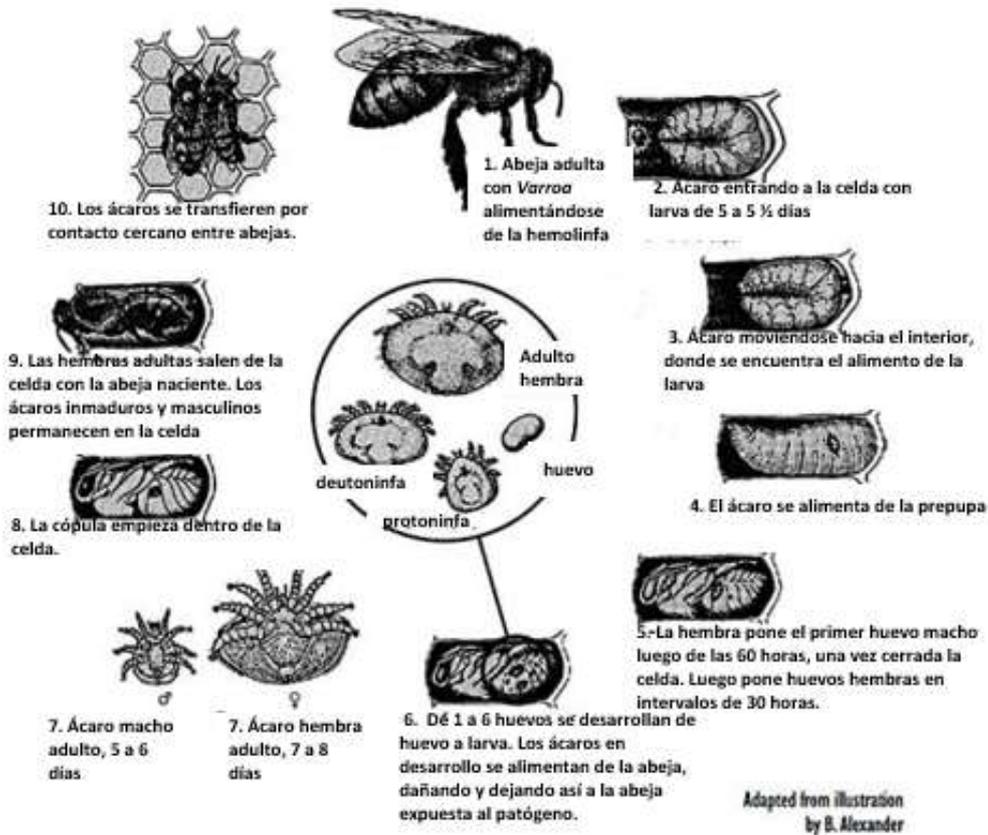


Figura 2: Ciclo de vida de *V. destructor* en cría de pupa de *A. mellifera*

Fuente: Surlis (2015)

Rosenkranz et al., (2010), citado por Surlis (2015) mencionan que los efectos observados de parasitación de *V. destructor* sobre *A. mellifera* han sido pérdidas de peso (entre un 7 a 19 por ciento), una vida útil reducida, mayor tiempo de pecoreo (recolección de néctar y polen de flora apícola) y, adicionalmente, mencionan que los efectos secundarios más importantes son la transmisión de virus.

Las cualidades inmunosupresoras ocasionadas por el estrés del parásito parecen ocasionar un óptimo ambiente para virus y bacterias causando mayores problemas en las colonias, y la saliva de *V. destructor* podría estar influenciando la inmunosupresión de las abejas (Richards et al., 2011a, citado por Surlis, 2015).

Como menciona Jong et al. (1982) para el diagnóstico de infestación por varroas en abejas adultas se necesita capturar aproximadamente 300 abejas adultas en un frasco con soluciones alcohólicas (isopropílico 25 ó 50 por ciento, o etanol 25, 50, 70 ó 96 por ciento). Las abejas deberán proceder del centro de la colonia. Una vez capturadas, se cierra el frasco y se agita manualmente, durante un minuto; o usando un agitador mecánico durante 30 minutos. Después, de agitado el frasco, las abejas y varroas se separan haciendo uso de un tamiz, el cual retiene las abejas y deja pasar las varroas hacia un contenedor de fondo blanco. En reemplazo de alcohol se puede usar azúcar en polvo (Honey Bee Health Coalition, 2015).

Para determinar infestación por varroasis el tamaño de colonias a muestrear que recomienda Vandame (2000) es entre 5 a 10 colmenas por apiario. Mientras que según la guía de la Honey Bee Health Coalition (2015) se recomienda 8 colonias mínimo seleccionadas al azar de cada colmenar; y si el apiario es pequeño (10 colmenas máximo) se deberán medir a cada una de ellas.

Según Vandame (2000), al realizar un diagnóstico de varroas en abejas adultas usando alcohol o agua jabonosa, si la tasa de infestación es inferior al 5 por ciento (5 varroas por 100 abejas) la colonia no necesitará tratamiento con urgencia; y si la tasa de infestación supera el 5 por ciento, entonces la colonia necesitará tratamiento.

Existen otros métodos para determinar infestación por *V. destructor* como: a) contar varroas en cría de zángano (el cual no siempre está presente en la colonia), b) observar ácaros en las abejas obreras (solo esto es observable cuando las colonias están altamente infestadas) y c) usar trampas de tableros pegajosos en el piso. Estos métodos según la Honey Bee Health Coalition (2015) no son confiables y son menos precisos, por lo que no recomiendan su uso.

## **2.2 Aspectos relativos a comportamiento higiénico**

Boecking (1994), citado por Gliński y Jarosz (2001), menciona que se ha descubierto, al menos, cinco mecanismos de defensa que reducen el impacto del género *Varroa* en las colonias de abejas. Estos son: comportamiento de acicalamiento (grooming), eliminación de crías infestadas de ácaros (comportamiento higiénico), rápido tiempo de desarrollo de la cría de abeja, poco atractivo de la cría de abeja para el ácaro, y la infertilidad de los ácaros en la cría de algunas abejas.

Con respecto a las *Apis mellifera*, se han estudiado los siguientes mecanismos conductuales para afrontar la varroasis: Acicalamiento y comportamiento higiénico; también se han estudiado otros tipos de mecanismos como: la característica SMR (Supresión de la Reproducción de los Ácaros) - actualmente SMR fue renombrada por higiene sensible a la *Varroa* - y el efecto de la baja atractividad de la cría (Sanabria, 2007). Por otro lado, Rinderer et al. (2010) mencionan otros mecanismos más de resistencia a *V. destructor* llamados fisiológicos y en estos incluyen a características de la cría, panal y la foresis.

El término comportamiento higiénico (CH) de las abejas fue acuñado por Walter C. Rothenbuhler en 1964, cuando observó que las abejas resistentes a la loque americana (enfermedad de la larva de abeja por *Paenibacillus larvae*) retiraban la cría muerta. El CH se refiere a la capacidad genética de las abejas dentro de una colonia para detectar y eliminar la cría enferma de la colmena, lo que limita la transmisión de la enfermedad (Spivak y Gilliam, 1998a, b). Una colonia poseedora de una buena higiene, no necesariamente, elimina varroas de la colmena, pues, estas podrían escapar al momento del desoperculado de la cría; aun así, ocurre la “interrupción del ciclo de vida” de *V. destructor*. Estudios posteriores determinaron la existencia de abejas que poseen un comportamiento de higiene para detectar

exitosamente a crías que han sido infestadas por *Varroa destructor*, a estas las denominaron abejas VSH (Higiene Sensible a la *Varroa*) (Ibrahim y Spivak, 2006; Harris, 2007).

Como mencionan Fries y Lindström (2010) el principio de la prueba del CH implica la muerte de pupas de abejas obreras de edad relativamente jóvenes y uniforme; normalmente los investigadores suelen sacrificar 100 pupas por colonia. Para valorar el comportamiento higiénico se divide el número de pupas removidas completamente entre la cantidad de pupas perforadas o sacrificadas; mientras más alto sea este valor, mayor será la conducta higiénica de la colonia. Se suele usar dos metodologías para cuantificar este comportamiento: perforación y congelamiento. En ambos casos, se determina previamente el número total de pupas sacrificadas y, posteriormente, se cuenta el número de crías eliminadas o celdas limpiadas en un tiempo determinado.

El método congelación de la cría es el de mayor confiabilidad para determinar el comportamiento higiénico (Spivak y Downey, 1998; Espinosa-Montaña et al., 2008). La ventaja de esta metodología es que no deja señales de manipulación de las pupas, como rastros de hemolinfa en los opérculos u orificios de estos; y tiene como desventaja que la remoción de pupas es más lenta. Se puede realizar de las siguientes maneras:

- **Usando un congelador.** Para este caso se extrae una porción del panal de cría de tamaño 6 cm x 5,5cm, que contiene al menos 100 celdas de crías operculadas por lado de panal, y este es introducido al congelador por 24 horas a una temperatura de -20 °C con el fin de sacrificar las pupas (Spivak, 1996). Después del tiempo establecido, se retira el panal del congelador para contar el número de celdas operculadas e inmediatamente este es reinsertado a la colmena correspondiente. Finalmente, después de 48 horas de introducido el panal a la colmena, se hace el conteo de las celdas limpias.
- **Usando nitrógeno líquido.** Para este método (Figura 3) se necesitan 300 ml de nitrógeno líquido, que servirá para matar pupas en una sección de panal usando un cilindro metálico (6 a 8 cm de diámetro, altura de 10 a 15 cm); luego se sigue el mismo

procedimiento anterior de reinsertión del panal a la colonia de estudio, y se procede a contar las pupas removidas pasadas las 24 a 48 horas (Spivak y Gilliam, 1998b).

El otro método para medir el comportamiento higiénico es el de pin-killing o muerte por perforación. Se realiza de la siguiente manera:

- **Usando un alfiler o aguja.** Para este método se usa una aguja hipodérmica o alfiler entomológico número uno u otro material punzante fino (Figura 4), para perforar 100 celdas de crías operculadas de edad uniforme (10 a 14 días de edad, ojos rosados) en una sección del panal de la colonia (Gramacho y Gonçalves, 2001). El alfiler se inserta sobre el opérculo de la celda hasta el fondo de la misma; luego, debe ser retirado evitando queden gotas de hemolinfa en el opérculo, para evitar una posible provocación a las abejas a limpiar o retirar con más intensidad las pupas dañadas; después, se marca la sección de estudio (pupas perforadas); finalmente, a las 24 horas se cuenta el número de pupas removidas (Fries y Lindström, 2010). Según Espinosa-Montaña et al. (2008) este método es más práctico, económico, pero es de menor nivel de confianza que la prueba por congelación.



**Figura 3: Vertiendo nitrógeno líquido en tubo (precaución, uso de guantes)**

Fuente: Fries y Lindström (2010).



**Figura 4: Usando un alfiler entomológico para perforar pupas**

Fuente: Fries y Lindström (2010)

Los niveles de comportamiento se basan bajo ciertos intervalos preestablecidos por el investigador y pueden ser clasificados de diferentes maneras. Según Gonçalves y Gramacho (1999), citado por Gramacho (2004) valores igual o superiores al 80 por ciento de eliminación de las crías perforadas se consideraron como colonias higiénicas. Palacio et al. (2000) consideraron, también, esos mismos porcentajes pero las colonias para ser calificadas higiénicas debían de superar el 80 por ciento en al menos tres repeticiones, medidos a intervalos de un mes. Por otro lado, Spivak (1996) consideró abejas higiénicas a aquellas que eliminaban más del 95% de las pupas muertas, por congelación en 48 horas, en dos ensayos consecutivos; y colonias que demoraron más de una semana en remover las crías muertas, en dos ensayos consecutivos, se consideraron no higiénicas. Principal et al. (2008) siguieron esta última metodología para las colonias altamente higiénicas; pero, además, clasificaron en colonias moderadamente higiénicas aquellas que eliminaban crías muertas entre el 95% y 75% y como levemente higiénicas a aquellas con tasas menores al 75% de crías removidas. Castagnino et al. (2016) mencionan que, usando el método de perforación, las abejas no higiénicas son aquellas que presentan remoción de pupas muertas menor al 20 por ciento. Y Palacio et al. (2005) obtuvieron un promedio de 40 por ciento de higiene en las dos colmenas menos higiénicas de un total de 108 colonias de abejas estudiadas, considerando este valor como un indicador de las mismas.

La conducta higiénica puede ser interferida por diversos factores, que influyen aisladamente o integrados en dicho mecanismo permitiendo diferentes niveles de eficiencia en la detección y remoción de crías anormales. Entre los cuales se encuentran:

- **Los factores ambientales.** Según Momot y Rothenbuhler (1971), citado por Spivak (1996) observaron que ante la falta de néctar como alimento se redujo la respuesta higiénica. También son consideradas la temperatura, la humedad y la condición de los panales como factores ambientales (Message y Gonçalves, 1980, citado por Sanabria, 2007).
- **Los factores químicos, físicos y biológicos.** Spivak y Gilliam (1998) mencionan que los olores de las crías enfermas o muertas en estados de descomposición y feromonas de las crías influyen en la conducta higiénica. Por otro lado los movimientos o aromas de las varroas no afectan la conducta higiénica (Wagoner et al., 2018). Los hallazgos de Wagoner et al. (2018) sugieren que las crías de abeja infestadas por varroas, podrían ser tan o más importante que los adultos de abejas en la determinación de la frecuencia de la tarea de higiene. Otros factores que, también, podrían influir en la conducta higiénica son la temperatura de las crías enfermas o muertas, la edad, el sexo y el tamaño de las crías (Gramacho y Gonçalves, 2005, citado por Sanabria, 2007). Spivak y Gilliam (1993) mencionan que la expresión del comportamiento higiénico depende de la fuerza de la colonia y la composición de las obreras dentro de la colonia, a pesar de que la conducta de higiene esté determinado genéticamente.

Rothenbuhler (1964) fue el primero en estudiar la genética del comportamiento higiénico. Planteo que este rasgo está regulado por dos pares de genes recesivos; el gen “u” que desopercula (controla la apertura de las celdas de la cría) y el gen “r” removedor (controla la eliminación de la cría afectada). Gramacho y Gonçalves (2001) presentaron una nueva hipótesis para explicar el control genético de la conducta higiénica en *A. mellifera*, que en lugar de dos genes, propuesto por Rothenbuhler en 1964, el modelo tendría tres pares de genes recesivos (u1, u2 y r), es decir para destapar las abejas deben poseer genes u1 y u2 como homocigotos, si solo poseen un gen u1 o u2 permitiría solo perforar las celdas, mientras que los tres genes como homocigotos (u1/u1, u2/u2, r/r) serían responsables del pinchar, destapar y remover la cría afectada. Sin embargo no se ha probado esta última

hipótesis. Lapidge et al. (2002), citado por Nates-Parra (2011) han sugerido, con técnicas moleculares, que son siete genes los que están implicados en el comportamiento higiénico. Además, Arechavaleta et al. (2011) identificaron siete locis asociados con la expresión del comportamiento higiénico medido a nivel del fenotipo de abejas individuales; este estudio podría usarse para identificar genes candidatos que afectan la expresión del comportamiento higiénico. Con respecto a su heredabilidad estimada ( $h^2$ ), Boecking et al. (2000) revelaron que este rasgo tiene base genética hasta cierto punto, aunque, con considerable influencia medioambiental (remoción de celdas infestadas por el ácaro,  $h^2$  de 0,18, y remoción de cría muerta por alfiler,  $h^2$  de 0,36).

El comportamiento higiénico ha sido estudiado y considerado un mecanismo primario de resistencia ante enfermedades como cría yesificada (Spivak y Gilliam, 1998a, b; Invernizzi, 2001), loque americana (Rothenbuhler, 1964; Spivak y Gilliam, 1998a, b; Spivak y Reuter, 2001a); y parasitaria como varroasis (Spivak, 1996; Spivak y Gilliam, 1998; Rath y Drescher, 1990).

En un estudio sobre inoculación de esporas de *Paenibacillus larvae* (agente patógeno causante de la loque americana) en celdas de abejas higiénicas y no higiénicas, se encontró que las primeras presentaron un 39% de colonias con signos de loque americana y solo 11% no se recuperaron. Por otro lado, en el grupo de las abejas no higiénicas, el 100% presentó signos y solo una se recuperó (Spivak y Reuter, 2001a). Los mismos autores también observaron que abejas higiénicas, no tratadas por más de un año, al ser apareadas con zánganos no selectos tuvieron menos ácaros en crías y obreras que otras colonias Starline (línea de abeja italiana híbrida) no selectas (Spivak y Reuter, 2001b).

Gonçalves (2004), citado por Sanabria (2007) considera que el alto índice de comportamiento higiénico de las abejas africanizadas contribuye con una menor tasa de infestación de *V. destructor* sin necesidad de aplicar tratamiento; y, por el contrario, las colonias europeas siguen presentando mayores tasas de infestación. En contraste, Medina y Medina (2004), citado por Sanabria (2007) obtuvieron resultados de bajo comportamiento higiénico (24% y 12%) en abejas africanizadas, similar a los encontrados por los mismos

autores en abejas de origen europeo (10% a 20%), sospechando que otros factores estarían influyendo en la tolerancia a la *V. destructor*.

Padilla y Flores (2011) mencionan que el comportamiento higiénico puede no ser efectivo para seleccionar abejas tolerantes a *V. destructor*. De igual manera, Medina et al. (2014) no detectaron diferencias para los niveles de infestación de *V. destructor* entre colonias con comportamiento higiénico alto y bajo; pero, si encontraron diferencias en la producción de miel entre abejas higiénicas y no higiénicas. Vandame (2004), citado por Sanabria (2007) sostiene que el comportamiento higiénico es un mecanismo que controla la afectación de la enfermedad loque americana y ascosferosis (enfermedad de las abejas producida por el hongo *Ascosphaera apis*), pero con respecto al ácaro *V. destructor* es parcial, pues solo las colonias altamente higiénicas serán resistentes a estas.

La variación de estudios de si o no el comportamiento higiénico está relacionado a resistencia a varroasis, ha sido atribuido a diferentes condiciones ambientales o metodológicas presentes en cada trabajo.

En otro estudio sobre abejas VSH (Higiene Sensible a la *Varroa*) se descubrió que estas presentaron un comportamiento higiénico selectivo a *V. destructor* sin haber sido nunca seleccionado por esta conducta, más si por su baja presentación de éxito reproductivo al ácaro. Además, estas abejas, presentaron mayor porcentaje de higiene que las abejas higiénicas seleccionadas (Ibrahim y Spivak, 2006). Tanto las abejas VSH y abejas higiénicas exhiben mayores niveles de comportamiento higiénico, y se ha demostrado que son más resistentes a los ácaros *V. destructor* en comparación a colonias no seleccionados por higiene (Spivak y Gilliam, 1998; Spivak y Reuter, 2001a, b; Harris, 2007; Danka et al., 2013).

Crane (1978) menciona que las abejas melíferas llegaron a Primorski en la zona oriental de Rusia en el siglo XIX por apicultores ucranianos, entonces, accidentalmente las *A. mellifera* entraron dentro del rango de hogar de la *Apis cerana*, el huésped originario de la *V. destructor*. En ese sentido es casi certero que las abejas melíferas de Primorski se infestaron con el ectoparásito, logrando de esta manera la asociación, entre estas especies, más larga de la historia. Estas abejas fueron introducidas a los Estados Unidos de Norteamérica en 1997

(Harris et al., 2002) con el propósito de ser estudiadas por el equipo de mejora apícola de la USDA-ARS (Servicio de Investigación Agrícola – Departamento de Agricultura de los Estados Unidos). Los científicos plantearon la hipótesis de que esta larga asociación podría contribuir a la abeja una resistencia natural a *V. destructor*. Rinderer et al. (2001) compararon el número de ácaros en abejas adultas Primorski e italianas comerciales y observaron que existían menos parásitos en las abejas rusas, además, que las colonias italianas no tratadas murieron al siguiente año, concluyendo que las abejas rusas (RHB) poseían una resistencia natural a *V. destructor*. Y Guzmán et al. (2002), citado por Rinderer et al. (2010) observaron que estas abejas RHB mejoradas presentaron buena conducta higiénica.

En la Universidad de Minnesota, USA, la Dra. Spivak y el Dr. Reuter, en 1994 empezaron a seleccionar abejas resistentes a enfermedades infecciosas y a *V. destructor* con el objetivo de reducir o eliminar el uso de antibióticos, acaricidas y otros pesticidas por parte de los apicultores. Es así que los investigadores crean la línea de abeja MNHYG (línea higiénica Minnesota), la cual se creó a partir de la abeja italiana (*A. mellifera ligustica* Spinola) que están disponibles comercialmente en Los Estados Unidos de Norteamérica. Durante años la universidad trabajó con los apicultores de Minnesota y North Dakota en la difusión de sus reinas higiénicas Minnesota, logrando incrementar el comportamiento higiénico en colonias de *A. mellifera*. Es así que, en colmenares de apicultores trashumantes que criaron abejas MNHYG durante más de diez años, se les hizo un seguimiento y una evaluación del comportamiento higiénico de sus colmenas, encontrando que las reinas MNHYG, que habían sido apareadas naturalmente con zánganos silvestres del campo, presentaron mejores índices de comportamiento higiénico, y a su vez este indicador se expresaba en colonias de abejas con menos problemas por varroasis, loque, y cría yesificada (Spivak et al., 2009). Y cabe resaltar que de acuerdo al trabajo observado en campo, colonias higiénicas con menos problemas sanitarios se logran en cuatro a cinco años (Spivak y Reuter, 2008).

En los Estados Unidos de Norte América en 1997, una nueva línea de abejas fue seleccionada para rasgo hereditario de SMR (Supresión de la Reproducción del Ácaro). La investigación fue realizada por el equipo de la USDA-ARS. Ésta línea, SMR, se consiguió de colonias desconocidas en dicho país, principalmente de Lousiana y se propagó por inseminación artificial. Las colonias fueron resultado de una selección dirigida que mostró lento crecimiento de población de *V. destructor* o alta frecuencia de no reproducción del ácaro.

Hasta el año 2006 se desconocía que mecanismos de resistencia a *V. destructor* poseían las abejas SMR, pero fue con la investigación de Ibrahim y Spivak (2006) quienes explicaron que el comportamiento higiénico es el principal mecanismo de resistencia a la *Varroa*, es así que se renombró a las abejas SMR por abejas VSH. Estas abejas adultas VSH, por alguna razón, aun no establecida, posiblemente olfato de las abejas limpiadoras o alguna atracción de la cría, impiden el éxito reproductivo de la *V. destructor* en las pupas infestadas, eliminando selectivamente las pupas con ácaros (comportamiento higiénico). Se ha observado que las pupas no retiradas de sus celdas son aquellas que poseen infertilidad o solo un ácaro, además, se presenta en mayor porcentaje que otras líneas de abejas como las MNHYG (Ibrahim y Spivak, 2006).

En el año 1984 en Brasil a unos 540 Km de la costa, en la isla Fernando de Noronha, se introdujeron 20 colonias de *Apis mellifera ligustica* (abejas italianas) con el fin de proporcionar reservas de abejas europeas (EHB) a los apicultores brasileños. En 1996 se reportaron colonias sobrevivientes a *V. destructor* bajo ningún tipo de tratamiento, las cuales presentaron una tasa media de infestación en abejas adultas de 26 por ciento, 19 por ciento y 14 por ciento en los años 1991, 1993 y 1996 respectivamente; a pesar de las altas infestaciones, las colonias no presentaron daño significativo o muerte (De Jong y Soares 1997). De Mattos et al. (2016) hicieron una nueva evaluación de las colonias después de 15 años; los resultados obtenidos no variaron significativamente con respecto a la tasa de infestación de los estudios de De Jong y Soares en 1997 y hallaron un promedio de 16,5 por ciento, además, las colonias se mantuvieron fuertes y sin daños. Otra variable observada por De Mattos et al. (2016) fue el comportamiento higiénico, el cual resultó alto, 85,7 por ciento.

Marcangeli (1997) estudió 12 colonias de abejas híbridas (*Apis mellifera mellifera* y *A. mellifera ligustica*), las cuales no habían recibido tratamiento por siete meses, y encontró una tasa de remoción de cría muerta de  $82,11 \pm 3,94$  por ciento (media  $\pm$  desviación estándar). Con respecto al tamaño de la población de ácaro *V. destructor* encontrado, fue de  $475,58 \pm 163,36$ . Y la correlación hallada fue de  $-0,749$  ( $p < 0,01$ ). Los resultados mostraron que hay evidencia de una alta correlación entre dichas variables, lo cual indica que a mayor higiene de las colonias existe menor carga parasitaria.

Sanabria (2007) realizó estudios de comportamiento higiénico y varroasis con alrededor de 15 colonias de abejas, que habían sido retadas naturalmente al ácaro *V. destructor* durante cuatro años. Encontró una tasa de infestación promedio de 3,61 por ciento y un comportamiento higiénico de 69,06 por ciento medido por el método de congelamiento. A pesar de que las colonias de abejas presentaron niveles de infestación por debajo del valor de daño, no se encontró una correlación significativa entre las variables: tasa de remoción de pupas muertas e infestación por *V. destructor*.

Araneda et al. (2008) en Chile realizaron un estudio de relación de comportamiento higiénico y tasa de infestación de *V. destructor*. Para ello usaron 21 colonias de *Apis mellifera* L. instaladas en colmenas tipo Langstroth. Los resultados de Comportamiento higiénico, usando el método de perforación, fue muy variado y solo dos colonias superaron el 80 por ciento, mientras que las tasas de infestación estuvieron comprendidas entre 3 a 7 por ciento, con un promedio de 4,5 por ciento en abejas adultas. No encontraron correlación significativa entre estas variables.

Pinto et al. (2012) usaron cinco colonias de abejas, en dos regiones de Brasil, para un estudio de correlación encontrando una alta asociación ( $r = -0,963$ ,  $p < 0,01$ ), entre las variables remoción de pupas perforadas y tasa de infestación por varroas en abejas adultas (TIVA). Las tasas de infestación promedios hallados fueron de 4,9 por ciento para la región Taubaté, y 10 por ciento para la región de Viçosa; mientras que las tasas de remoción de pupas fueron 98,6 por ciento para Taubaté y de 57,7 por ciento en Viçosa.

Castagnino et al. (2016) estudiaron 20 colonias de abejas africanizadas y hallaron, en promedio, en tres periodos del año (enero, abril y octubre) un valor de 82,58 por ciento de comportamiento higiénico usando el método de perforación; y una tasa promedio de infestación de varroas en abejas adultas de 4,19 por ciento, valor considerado bajo. Estos mismos autores encontraron una correlación significativa entre estas dos variables. Sin embargo, la relación lineal a pesar de ser significativa solo es explicada por el comportamiento higiénico en un 20,74 por ciento.

Masaquiza et al. (2017) estudiaron 85 colonias de abejas y encontraron, en dos regiones del Ecuador, un promedio de remoción de pupas perforadas de 80,3 y 73,5 por ciento, mientras que las tasas de infestación de *V. destructor* en abejas adultas encontradas fueron de 5,2 y 3,13 por ciento. Además, hallaron una correlación significativa de -0,547 entre estas dos variables de estudio. Los resultados de estos investigadores revelan que, a mejores niveles de comportamiento higiénico las colonias presentan menos cargas parasitarias.

Paco (2018) en el Apiario UNALM realizó estudios de comportamiento higiénico y tasa de infestación por *V. destructor* en abejas adultas en la temporada de otoño del año 2016. Hasta esa fecha el apiario llevaba unos meses de no haber sido tratado por varroasis ni otros problemas sanitarios. Encontró una tasa de remoción de pupas perforadas o comportamiento higiénico de 85,42 por ciento y una tasa de infestación por *V. destructor* en abejas adultas de 1,99 por ciento. Los hallazgos de Paco revelan que si existe una correlación significativa entre las dos variables de estudio, la cual fue de -0,397.

### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1 Ubicación geográfica**

La investigación se realizó en el apiario de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) que está ubicada en el Distrito de la Molina, Provincia de Lima – Perú. El distrito geográficamente se ubica a 12° 4' 56" latitud sur y 76° 56' 22" longitud oeste, a 247 m.s.n.m. La fase experimental se ejecutó en la época de otoño, del 11 de mayo al 8 de junio del 2018. Durante el ensayo se registró una temperatura promedio mínima de 16,41°C y máxima de 21,22 °C; la humedad relativa mínima fue de 71,88 por ciento y la máxima de 88,13 por ciento (Anexo 1).

#### **3.2 Material del ensayo**

##### **3.2.1 Material biológico**

El material biológico fue facilitado por el Proyecto de Investigación y Proyección Social Apícola La Molina (PIPSA-La Molina) (Figura 5), para el presente se emplearon 17 colonias elegidas dispuestas en colmenas Estándar Americana con 10 bastidores, sin tratamiento químico, bajo similares condiciones de manejo. Las colmenas del apiario UNALM fueron tratadas por más de 17 años (1998 a 2015) con ácido oxálico y oxitetraciclina para varroasis y loque europea respectivamente; Sin embargo, en el momento del experimento llevaban dos años y medio sin recibir ningún tratamiento químico sanitario. Las abejas del presente estudio tienen un origen híbrido de raza carniola e italiana. La alimentación artificial que se han brindado a las colonias es el siguiente: dieta energética a base de agua, azúcar, limón o naranja a ración de un litro por colmena y por semana; adicionalmente, se suministró una dieta proteica a base de agua, azúcar y una mezcla de harinas (soja, habas, arveja, quinua, tarwi), a razón de medio litro cada 15 días.



**Figura 5: Apiario experimental UNALM**

### **3.2.2 Otros materiales**

#### **a. Material de protección y de manejo.**

- Careta.
- Guantes.
- Ahumador.
- Cepillo.
- Palanca.

#### **b. Materiales complementarios**

- Colmenas Estándar Americana completa (piso, entretapa, cuerpo, tapa).
- Marcos o bastidores para colmena estándar americana.
- Placa Petri de plástico estéril desechable de 100 mm x 15 mm.
- Frascos de 500 ml.
- Alcohol etílico de 96°.
- Agua potable.
- Aguja hipodérmica N° 21 G x 1 ½ pulgada.
- Palillos higiénicos de madera tipo mondadientes de 8 cm.
- Tamizador de malla de 2x2 mm y 1x3 mm.
- Bandeja con fondo blanco de 40 cm de largo, 25 cm de ancho y 7 cm de alto.

- Balde de plástico, capacidad de 5 litros.
- Jarra de plástico de 1 litro.
- Plumón indeleble.
- Etiquetas.
- Lapicero.
- Tijera.
- Cuaderno de notas.

### **3.3 Métodos**

#### **3.3.1 Diseño de la investigación**

El diseño de la investigación es observacional, descriptivo transversal y de corte correlacional, porque se está caracterizando colonias de abejas que sobreviven a la infestación de varroas sin tratamiento químico en un determinado tiempo de estudio. La hipótesis es la siguiente:

- Existe correlación negativa entre el comportamiento higiénico y la tasa de infestación de *V. destructor*.

Para ello se realizó una prueba de correlación de las variables remoción de pupa muerta y tasa de infestación por varroas en abejas adultas (TIVA).

#### **3.3.2 Periodo de observación**

El período de observación se realizó en la época de otoño, recomendado para el presente estudio, por haber más ácaros foréticos en esta época estacional que en otras.

Se eligieron a las colmenas bajo los requisitos preestablecidos y fueron evaluadas en dos ensayos: a) prueba de higiene (remoción de pupas perforadas) y b) prueba de infestación de varroasis en abejas adultas. Ambos el mismo día. Primero se determinó la infestación de *V. destructor*; luego la prueba de higiene; posteriormente se contabilizó los panales de crías, reserva alimenticia, población de abejas adultas; finalmente, se clasificó a las colmenas por su comportamiento higiénico.

### 3.3.3 Descripción metodológica de las técnicas utilizadas en el periodo de observación

#### a) Determinación del comportamiento higiénico (CH) o tasa de remoción de pupas perforadas.

Para determinar esta variable se usó la Técnica de Perforación de Newton y Ostasiewski Modificada (Gramacho y Gonçalves, 2001), por ser una prueba práctica, de fácil aplicación en campo y menos costosa para el apicultor.

La evaluación del comportamiento higiénico se evaluó una vez por semana, y solo una vez por colonia durante el tiempo que duró el ensayo. La técnica de perforación se realizó de la siguiente manera:

1. Se identificó las colmenas de estudio (Figura 6) utilizando el siguiente código:

- C: Indica colmena
- N°: Es el número de colmena evaluada



**Figura 6: Colmena que se le asignó aleatoriamente el código C13**

2. Se extrajo un panal del centro de cada colmena que contenían crías operculadas de edad uniforme. Luego se eligió un área aproximada de 10 celdas por 10 celdas (6 cm x 6 cm) y se delimitó el área perforada con palillos (Figura 7).



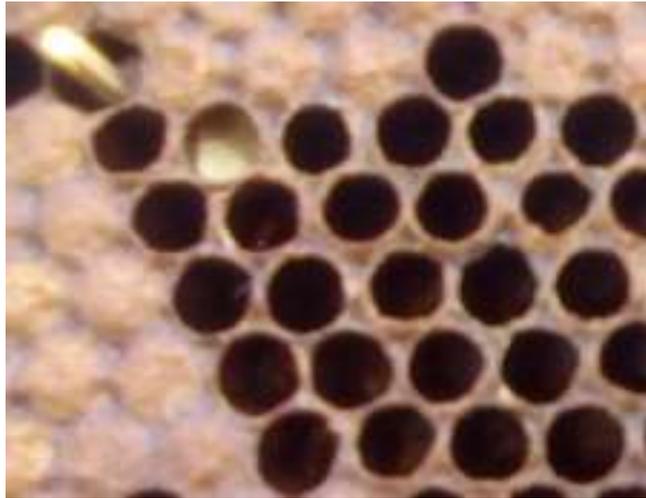
**Figura 7: Delimitación, con palillos, del área de celdas con pupas listas para perforar**

3. Se procedió a la perforación de la cría con una aguja hipodérmica, evitando dañar a otras, asimismo se evitó derrames de hemolinfa en los opérculos de las celdas de estudio (Figura 8).



**Figura 8: Perforación de las crías con aguja**

4. Se contaron las celdas limpiadas completamente (Figura 9) por las abejas después de 24 horas de la prueba. Por otro lado, se descartó a aquellas celdas con restos de pupa muerta.



**Figura 9: Celdas limpiadas completamente**

5. Finalmente se determinó el comportamiento higiénico (CH), el cual es expresado como porcentaje de pupas removidas del total de pupas perforadas. Se usó la siguiente fórmula:

$$CH = \left( \frac{Y}{X} \right) \times 100$$

CH: Comportamiento higiénico

X: Número total de celdas con crías perforadas

Y: Número de celdas vacías completamente (pupas totalmente removidas)

#### **b) Determinación de la tasa de infestación por *V. destructor* en abejas adultas (TIVA)**

Para determinar la infestación de *V. destructor* en crías de abejas se utilizó como base la metodología descrita por De Jong et al. (1982). La toma de muestra para determinar la infestación de varroas en cría de obrera se realizó momento antes de que se ejecutará la prueba de comportamiento higiénico. A continuación se describen las siguientes pautas que se tomaron:

1. Se identificaron los frascos con el mismo código de cada colmena.
2. Se preparó una mezcla de 70 por ciento de alcohol y 30 por ciento de agua (Figura 10).
3. Se retiraron un par de panales de cría del centro de la colmena evitando extraer a la abeja reina (Figura 11).



**Figura 10: Frasco con alcohol al 70 por ciento**



**Figura 11: Observando si la abeja reina se encuentra en el panal**

4. Se hizo una captura aproximada de 300 abejas en un frasco con alcóhol al 70 por ciento. Para capturarlas se deslizó el frasco hacia abajo por el largo del panal con abejas (Figuras 12 y 13).



**Figura 12: Deslizamiento del frasco con alcohol para capturar abejas**

5. Posteriormente se agitó manualmente el frasco con las abejas capturadas durante un minuto (Figura 14).



**Figura 13: Captura de abejas en alcohol al 70 por ciento**



**Figura 14: Agitación del frasco con abejas capturadas**

6. Una vez agitado el frasco, las abejas y varroas se separaron haciendo uso de un tamiz, el cual retuvo las abejas y dejó pasar las varroas hacia un contenedor de fondo blanco (Figura 15). Adicionalmente, se hizo un lavado a las abejas para tamizar a todas las varroas aun adheridas al cuerpo de ellas. Por último se recolectó las varroas caídas en el contenedor (Figura 16).



**Figura 15: Tamizado de abejas**



**Figura 16: Recolectando varroas caídas al contenedor**

7. Finalmente se procedió a contar las varroas y abejas (Figuras 17 y 18). Y el resultado se expresó en porcentaje.

Para determinar el porcentaje de infestación se usó la siguiente fórmula:

$$TIVA = \left( \frac{\text{número de varroas}}{\text{número de abejas}} \right) \times 100$$

*TIVA*: Tasa de infestación por varroas en abejas adultas.



**Figura 17: Conteo de abejas**



**Figura 18: Conteo de varroas capturadas**

**c) Correlación entre comportamiento higiénico y tasa de infestación por varroas en abejas adultas.**

Con los datos obtenidos de la remoción de pupas perforadas y la tasa de infestación por varroas en abejas adultas se procedió a realizar la prueba de correlación de Spearman, al 95 por ciento de confianza. Se usó esta prueba no paramétrica, ya que las variables de estudio no cumplieron con los supuestos de normalidad y, también, por el uso del tamaño de la muestra en el presente trabajo.

**d) Número de panales con crías, con reserva alimenticia, y determinación de la población de abejas adultas.**

Al inicio del ensayo se determinó el número de panales con crías que cuenta cada colonia de abejas. Se consideró un panal de crías, aquel que contenga huevos, larvas, y/o pupas (Figura 19).



**Figura 19: Panal de cría**

Además, se contabilizó los panales de reserva de alimento, que son aquellos que contienen miel y/o polen (Figura 20).

Se estimó la población de abejas en cada colmena al inicio del ensayo. Para ello, se tuvo como referencia que cada panal lleno de abejas contiene alrededor de 2 000 de los mismos (Figura 21).



**Figura 20: Panal con reserva alimenticia**



**Figura 21: Panal lleno de abejas**

#### **e) Categorización de las colmenas por comportamiento higiénico**

Con los resultados obtenidos se elaboró la categorización de colmenas respecto a la capacidad de remoción de pupas perforadas después de 24 horas del ensayo. Basándose en lo descrito por Palacio et al. (2005) se clasificaron las colmenas de la siguiente manera:

- **Colmenas altamente higiénicas**, aquellas colonias cuyas obreras removieron pupas igual o superior al 80 por ciento de la cría perforada después de 24 horas.
- **Colmenas moderadamente higiénicas**, aquellas colonias cuyas obreras removieron pupas mayor o igual a 40 por ciento, pero, menor a 80 por ciento de crías perforadas.
- **Colmenas levemente higiénicas o no higiénicas**, aquellas colonias cuyas obreras limpiaron menor al 40 por ciento de las crías perforadas.

### **3.3.4 Análisis estadístico de los datos**

Se empleó estadística descriptiva para caracterizar el comportamiento higiénico y la tasa de infestación de ácaros en abejas. Además se verificó si los datos cumplían los supuestos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk) con el programa R. Y se usó la prueba no paramétrica Rho de Spearman, según Badii et al. (2014), para hallar correlación entre las variables TIVA y CH. Los datos se procesaron con el programa estadístico IBM SPSS 25.0

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan a modo de tablas y figuras los resultados sobre la determinación del comportamiento higiénico (remoción de pupas perforadas), la tasa de infestación por varroas en abejas adultas, la cantidad de panales de crías, los números de panales de reserva alimenticia, la población estimada de abejas adultas por colmena y, finalmente, la correlación entre las variables infestación de ácaros *V. destructor* y el comportamiento higiénico de las abejas del apiario UNALM.

### 4.1 Comportamiento higiénico (CH) o tasa de remoción de pupas perforadas

En la Tabla 1 se muestra la cantidad total de pupas evaluadas, es decir aquellas que fueron perforadas, removidas o no removidas; asimismo se observa el porcentaje de remoción de pupas y la cantidad promedio, desviación estándar y coeficiente de variación de todas las colmenas estudiadas. Se perforaron 1 593 pupas y se encontró una remoción completa de 1 167 pupas en total. Los promedios por colmena fueron 93,7 de pupas perforadas, 68,7 de pupas removidas y 25,1 de pupas no removidas.

Para hallar el comportamiento higiénico (CH) se consideró a aquellas colonias que eliminaron todas las pupas muertas completamente de las celdas (Figura 22) y se descartó todas las celdas abiertas que presentaron restos de pupa (Figura 23). El porcentaje de pupas removidas de las 17 colonias del apiario UNALM fue de  $73,2 \pm 26,4$  (media  $\pm$  s.d.) por ciento con un rango de 8,43 a 97,85. Esta media o promedio equivale al porcentaje de CH, ya que este se determina como la cantidad de pupas removidas entre la cantidad de pupas perforadas.

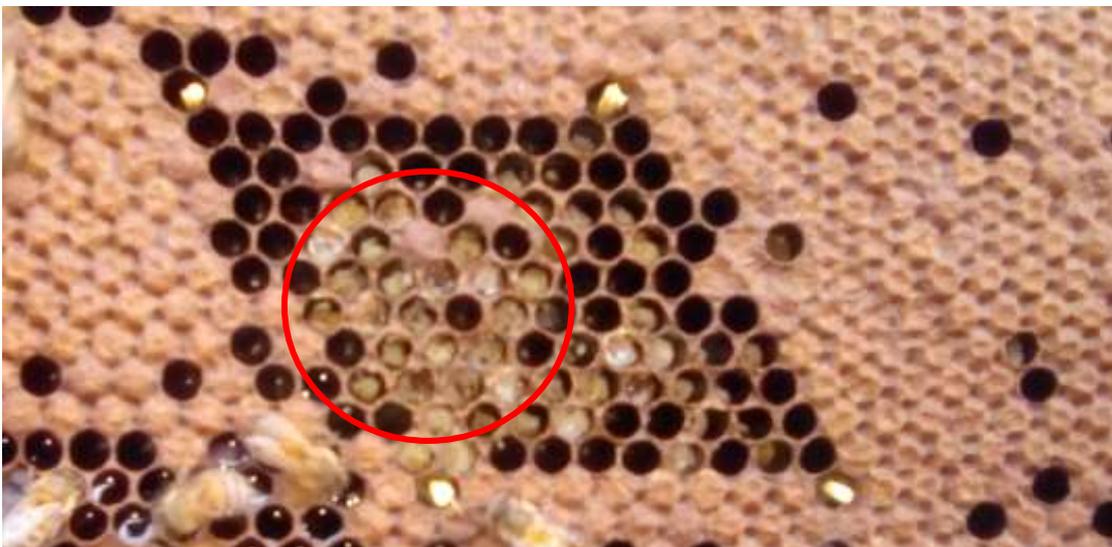
En la Tabla 1 y en la Figura 24 se aprecian los porcentajes de comportamiento higiénico de cada colmena. Se observó que la colmena C15 presentó el menor valor de CH, 8,43 por ciento, y en contraste la colmena C1 fue la que obtuvo un mayor CH, 97,85 por ciento.

**Tabla 1: Tasa de remoción de pupas perforadas o comportamiento higiénico (CH)**

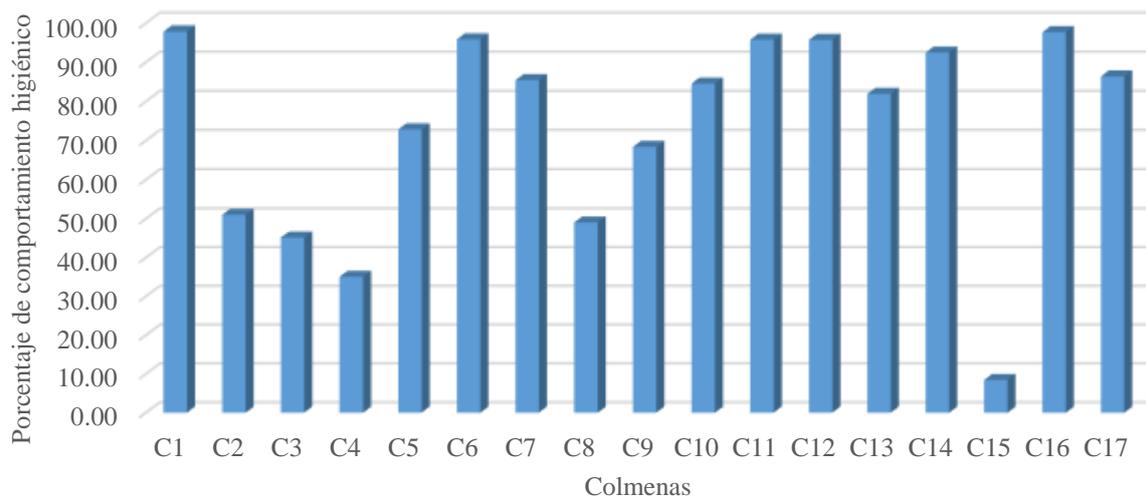
Colmena	Nº de pupas perforadas	Nº de pupas removidas	Nº de pupas no removidas	% de pupas removidas
C1	93	91	2	<b>97,85</b>
C2	96	49	47	<b>51,04</b>
C3	93	42	51	<b>45,16</b>
C4	97	34	63	<b>35,05</b>
C5	81	59	22	<b>72,84</b>
C6	96	92	4	<b>95,83</b>
C7	103	88	15	<b>85,44</b>
C8	106	52	54	<b>49,06</b>
C9	98	67	31	<b>68,37</b>
C10	97	82	15	<b>84,54</b>
C11	95	91	4	<b>95,79</b>
C12	93	89	4	<b>95,70</b>
C13	94	77	17	<b>81,91</b>
C14	93	86	7	<b>92,47</b>
C15	83	7	76	<b>8,43</b>
C16	87	85	2	<b>97,70</b>
C17	88	76	12	<b>86,36</b>
<b>Promedio</b>	<b>93,7</b>	<b>68,7</b>	<b>25,1</b>	<b>73,2</b>
<b>Suma total</b>	<b>1 593</b>	<b>1 167</b>	<b>426</b>	<b>-</b>
<b>Desviación estándar (s.d.)</b>	<b>6,4</b>	<b>24,6</b>	<b>24,0</b>	<b>26,4</b>
<b>Coefficiente de variación</b>	<b>6,8</b>	<b>35,8</b>	<b>95,8</b>	<b>36,1</b>



**Figura 22: Colonia de abejas que limpiaron completamente las pupas muertas por perforación**



**Figura 23: Colonia de abejas que no removieron completamente las pupas muertas por perforación**



**Figura 24: Porcentaje de comportamiento higiénico de cada colmena**

De acuerdo a la literatura, valores iguales o encima de 80 por ciento de remoción de crías perforadas pueden ser consideradas como colonias higiénicas, y presentan un potencial genético para la producción de reinas seleccionadas por este carácter (Palacio et al., 2000). “Los resultados hallados en este trabajo determinan que las colmenas no alcanzaron un nivel promedio de comportamiento higiénico alto”, pero cabe resaltar que el 58,8 por ciento de colonias (Tabla 7) obtuvieron un CH por encima del 80 por ciento, es decir, fueron altamente higiénicas.

Similares resultados obtuvieron Masaquiza et al. (2017), quienes encontraron en la zona central de Ecuador un CH de 73,5 por ciento en Chimborazo. En México Medina-Flores et al. (2014) hallaron, un valor promedio general de  $75 \pm 3,24$  por ciento de CH en abejas africanizadas. Así mismo, Vásquez et al. (2016) en Perú, en el apiario de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, obtuvieron como resultado 71,75 por ciento de CH en abejas criollas. También, Sanabria (2007) en Cuba, en el apiario de la Universidad Agraria de la Habana, obtuvo un promedio de 69,06 por ciento de CH en abejas no tratadas por cuatro años para varroasis y otras enfermedades.

En contraste, se reporta en la literatura valores de CH mayores al encontrado en este estudio. Masaquiza et al. (2017) hallaron un CH de 80,3 por ciento en Tungurahua, otra zona central

del Ecuador. También, De Mattos et al. (2016) en Brasil encontraron un CH de  $85,7 \pm 19,8$  por ciento en colmenas que no fueron tratadas por más de 30 años. En otro estudio realizado en el mismo apiario de la UNALM, se encontró un promedio de 85,42 por ciento (Paco, 2018). Castagnino et al. (2016) en Brasil obtuvieron un promedio de 82,58 por ciento de CH en abejas africanizadas.

Se ha calculado que entre cuatro a seis años son necesarios para saturar el área del apiario con zánganos higiénicos, los cuales también, contribuyen a mejorar el carácter de higiene en las colonias de abejas de la zona (Spivak et al., 2009). De acuerdo a lo citado anteriormente, el área del colmenar del presente estudio, que llevaba dos años y medio sin ser tratadas con químicos para la prevención de algún problema sanitario, aun no se encontraba saturada o llena de zánganos higiénicos que hubiesen contribuido a mejorar la conducta higiénica y, probablemente, bajar los niveles de infestación por varroasis y otras enfermedades infecciosas de las abejas. En ese sentido, Palacio et al. (2000) obtuvieron al inicio de un programa de selección valores promedio de 66,25 por ciento y, luego de 5 años de selección y mejoramiento genético, alcanzaron valores promedios de 84,56 por ciento; de esta manera redujeron drásticamente la frecuencia de enfermedades apícolas en apiarios probados.

Los diferentes valores hallados por Paco (2018) y el presente estudio realizados en el mismo apiario podrían deberse al método usado para evaluar CH. Existen dos metodologías que suelen usarse para determinar el comportamiento higiénico, el de congelación y el de perforación. Ambas metodologías son usadas ampliamente por investigadores. Spivak y Downey (1998) mencionan que la prueba de congelación es más conservadora y confiable que el método de perforación. En este sentido, Medina-Flores et al. (2014) y Espinosa – Montaña et al. (2008) obtuvieron resultados que lo confirmaron. Y con respecto a la hemolinfa que se libera al perforar las celdas de pupas, Gramacho et al. (1999) obtuvieron resultados que el líquido liberado al perforar las celdas de las crías de abejas influye en los resultados del CH.

Las dos metodologías (perforación y congelación) han sido probadas y han resultado ser eficientes para probar el CH (Gramacho, 1995). La ventaja del método de perforación es que puede ser usado fácilmente en campo, además, de su practicidad y menor costo; sin embargo, se debe tener en consideración su menor confiabilidad. Para evitar esta última desventaja “la

doctora Spivak recomienda reducir el tiempo de espera, es decir, ya no contar después de 24 horas para el método de perforación, sino menor tiempo” (M. Spivak, comunicación personal, 22 de noviembre de 2018). Palacio et al. (2005) indicaron que puede evaluarse el CH de una colonia luego de pocas horas de perforación debido a que las abejas higiénicas perciben más fácilmente el olor de las crías perforadas.

Sobre los factores que influyen en estos diferentes porcentajes de CH se aluden a varios no genéticos como el flujo de néctar (Momot y Rothenbuhler, 1971, citado por Spivak, 1996). Las evaluaciones de este estudio, al igual que el de Paco (2018) en el mismo apiario, se realizaron en temporadas de otoño para hacer una comparación similar en condiciones de flujo de néctar sobre los datos obtenidos. Entonces, el flujo de néctar probablemente no ha sido un factor de los diferentes valores de CH obtenidos en ambos estudios en el mismo apiario, porque fueron realizados en la misma estación del año.

Otros factores que influyen en el CH son: la temperatura de las crías enfermas o muertas, la edad, el sexo y el tamaño de las crías (Gramacho y Gonçalves, 2005, citado por Sanabria, 2007). En el presente trabajo las pupas perforadas fueron de edad uniforme por lo que el tamaño de las crías y la edad no pudieron haber influido en el CH; al igual que el sexo porque todas las crías perforadas fueron obreras. Otro factor que influye en el CH es la fortaleza de la población de las colonias de abejas (Spivak y Gilliam 1993). Aunque Bigio et al. (2013) encontraron que, entre otros factores ambientales de la conducta higiénica, el tamaño de la colonia no tuvo efecto sobre el nivel de higiene. Aun así, en este trabajo se eligieron 17 colmenas (de un cuerpo) más homogéneas con respecto a su población.

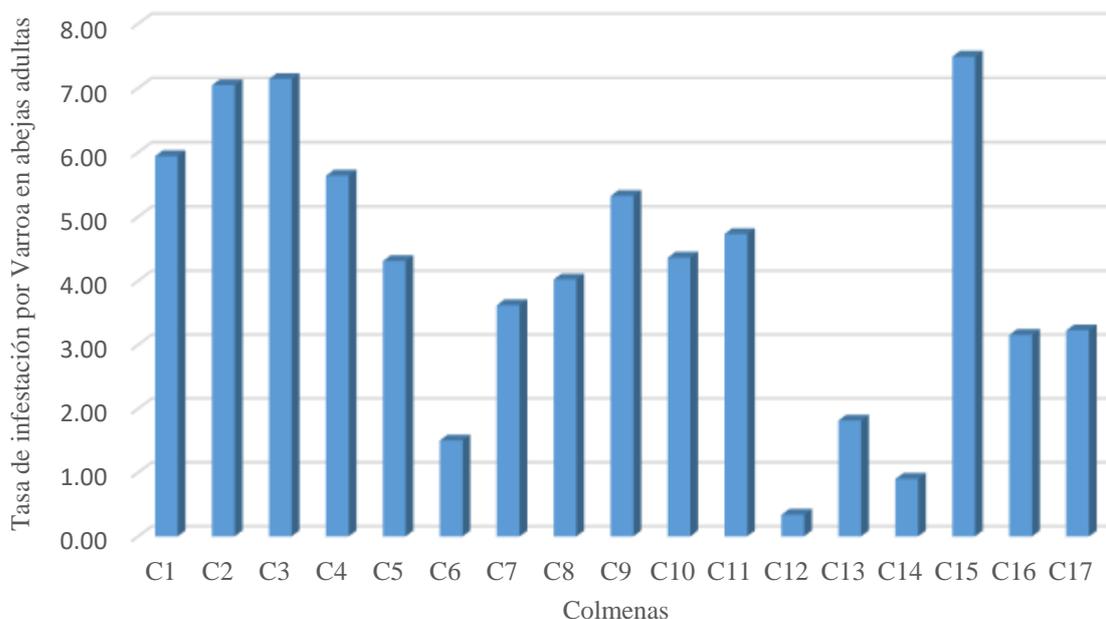
#### **4.2 Tasa infestación por varroas en abejas adultas (TIVA)**

En la Tabla 2 se aprecia que se encontró en total 221 varroas para una muestra total de 5 288 abejas, dando como resultado un promedio de  $13 \pm 6,83$  (media  $\pm$  s.d.) varroas en una muestra promedio de  $311,06 \pm 36,89$  abejas por colmena evaluada. Entonces, en el apiario de la UNALM la media de la TIVA fue de  $4,15 \pm 2,17$  por ciento.

En la Figura 25 y en la Tabla 2 se pueden observar la TIVA por cada colmena. El valor más bajo corresponde a la colmena C12, la cual presentó una TIVA de 0,34 por ciento, y el valor más alto fue de 7,49 por ciento que corresponde a la colmena C15.

**Tabla 2: Tasa de infestación por varroas en abejas adultas (TIVA)**

Colmena	Nº varroas	Nº abejas	TIVA (%)
C1	18	303	5,94
C2	26	369	7,05
C3	21	294	7,14
C4	19	337	5,64
C5	15	348	4,31
C6	5	333	1,50
C7	11	304	3,62
C8	14	348	4,02
C9	14	263	5,32
C10	14	321	4,36
C11	14	296	4,73
C12	1	294	0,34
C13	6	331	1,81
C14	2	222	0,90
C15	20	267	7,49
C16	10	317	3,15
C17	11	341	3,23
<b>Promedio</b>	<b>13,00</b>	<b>311,06</b>	<b>4,15</b>
<b>Suma total</b>	<b>221</b>	<b>5288</b>	<b>70,56</b>
<b>Desviación estándar (s.d.)</b>	<b>6,83</b>	<b>36,89</b>	<b>2,17</b>
<b>Coefficiente de variación</b>	<b>52,53</b>	<b>11,86</b>	<b>52,30</b>



**Figura 25: Tasa de infestación por *V. destructor* en abejas adultas en cada colmena de estudio**

Existen colonias de abejas que fueron retadas naturalmente a enfermedades infecciosas y parasitarias por años y que mantuvieron niveles de infestación en diferentes grados. Al respecto, están los estudios de Sanabria (2007) en Cuba, que encontró luego de cuatro años una TIVA de 3,61 por ciento (no alcanzando el valor de daño de la colonia). Fries et al. (2006) luego de seis años de estudios en colonias sobrevivientes encontraron una TIVA de 0,22 por ciento y con mejor tasa de sobrevivencia al invierno, pero las abejas se mantuvieron en colonias pequeñas. En contraste, De Mattos et al. (2016) realizaron estudios en abejas de origen europeo en Brasil luego de 26 años y encontraron  $16,5 \pm 7,3$  por ciento de TIVA; a pesar de las altas tasas de infestaciones encontradas las colonias no presentaron signos de daño ni muerte de abejas. Pérez (2005), citado por Sanabria (2007) encontró valores promedios de TIVA de 5,24 y 4,69 por ciento en colmenas sin control para *V. destructor* por casi tres años. En el presente trabajo se encontró que la TIVA está por debajo del valor de daño o umbral de control inmediato a *V. destructor*, que es del 5 por ciento, según Vandame (2000).

En evaluaciones realizadas en este mismo apiario (UNALM) se encontró una TIVA de 1,99 por ciento (Paco, 2018); y Reyes (2016) halló valores entre 3,86 a 4,70 por ciento. Ambos autores obtuvieron valores menores al encontrado en este trabajo. La razón de estos

hallazgos pueden deberse al control a varroasis que se realizaron a las colonias unos meses atrás. En este estudio las evaluaciones se realizaron luego de 2 años y medio sin control químico contra *V. destructor*, por lo que es probable que se haya incrementado la población de ácaros para las siguientes temporadas (Fries et al., 2006) en el apiario experimental de la UNALM.

La tasa de infestación por varroas en abejas (TIVA) del presente trabajo se encuentra por debajo del valor de daño, aunque con cierto incremento de los porcentajes de infestaciones con respecto a otros estudios hechos anteriormente en el mismo apiario (Reyes, 2016 y Paco, 2018). El objetivo es seguir evaluando las colmenas naturalmente, ya que si se las trata con productos químicos la resistencia natural será enmascarada (Spivak y Gilliam, 1998b), además considerando que el CH de las abejas proporciona múltiples beneficios para los apicultores como buena producción de miel, menores enfermedades y ácaros, y sin otras características negativas aparentes que puedan acompañar el rasgo (Spivak y Gilliam, 1998b).

Por otro lado, De Mattos et al. (2016) sugieren que para colmenas que han sido manejadas naturalmente podrían responder a “otros parámetros de valor de daño por varroasis”. Ello debido a que en la isla de Fernando de Noronha (Brasil) las abejas no tratadas por más de 30 años han resistido a la infestación por varroas, a saber que se encontró en 1991, 1996 y 2012 tasas de infestaciones de 25, 14 y 16,5 por ciento respectivamente.

Las abejas estudiadas tienen infestaciones bajas, por debajo del valor de daño, y esto podría indicar una cierta resistencia o tolerancia por parte de las colonias al ectoparásito *V. destructor*. Estas abejas en los siguientes años puede que adquieran mejores niveles de resistencia a las infestaciones por el ácaro como las abejas de Gotland, que luego de seis años estas abejas mejoraron notablemente llegando a reducir los niveles de infestación sin tratamiento químico (Fries et al., 2006); o tal vez puede que sigan manteniendo los mismos niveles de infestación como los estudios del Dr. Sanabria en Cuba (Sanabria 2007); o también, que suceda lo contrario, que las colonias se infesten de niveles muy elevados de infestación por ácaros, pero a pesar de ello las colonias no colapsen (De Mattos et al., 2016). A tener en cuenta que un factor importante sobre infestación por varroas es el haplotipo (distinta secuencia de genes en el ADN mitocondrial) de *V. destructor* presente, el cual puede

desempeñar un papel fundamental en la tolerancia o resistencia a la varroasis. El tipo japonés se encuentra en varias regiones del mundo incluida el continente americano y es menos dañino que el haplotipo coreano, que se encuentra en más partes del mundo. De Mattos et al. (2016) mencionan que la alta infestación por varroasis encontrada en la isla de Fernando de Norhona, Brasil, puede deberse a la tolerancia adquirida por las abejas al haplotipo japonés presente en dicha isla, ya que de esta manera no inhiben la infección, pero, en cambio, reducen las consecuencias negativas en la colonia como muertes de abejas o enfermedades. Hasta el momento no se conoce sobre los haplotipos de varroas en el Perú, pero es probable que la cepa japonés se encuentre presente en el país, y no descartando la presencia del tipo coreano, ya que esta se encuentran en Brasil (De Mattos et al., 2016).

#### **4.3 Correlación entre comportamiento higiénico y tasa de infestación por varroas en abejas adultas**

Como las variables de estudio CH y TIVA no cumplieron el supuesto de normalidad (Anexo 2), se realizó una correlación de Spearman entre el porcentaje de remoción de pupas muertas y la tasa de infestación por varroas en abejas adultas. El coeficiente de Spearman hallado fue  $r = -0,569$ , ( $p < 0,05$ ), (Anexo 3).

El resultado del presente estudio evidencia que existe una significativa asociación inversa entre dichas variables, es decir las colonias que presentaron mejores niveles de higiene tuvieron menor carga parasitaria. Se puede observar, en la Figura 26, que existe una correlación puesto que los puntos siguen una tendencia lineal inversa.

Algunos estudios previos encontraron relación de manera significativa con diferentes coeficientes de correlación; Marcangeli (1997) encontró en Argentina, en abejas híbridas *A. mellifera mellifera* y *A. mellifera ligústica*, un  $r = -0,749$ ; Moretto (1996), citado por Araneda et al. (2008) determinó un  $r = -0,7$ ; mientras que Pinto et al. (2012) encontraron un  $r = -0,96$  en abejas africanizadas en Brasil; por otra parte Castagnino et al. (2016) hallaron en Brasil un  $r = -0,46$ ; de igual manera Masaquiza et al. (2017) en Ecuador hallaron un  $r = -0,547$ ; y Paco (2018) en la UNALM halló un  $r = -0,397$ . Sin embargo autores como Sanabria (2007); Araneda et al. (2008); Arechavaleta y Guzmán-Novoa (2001), citado por Masaquiza et al.

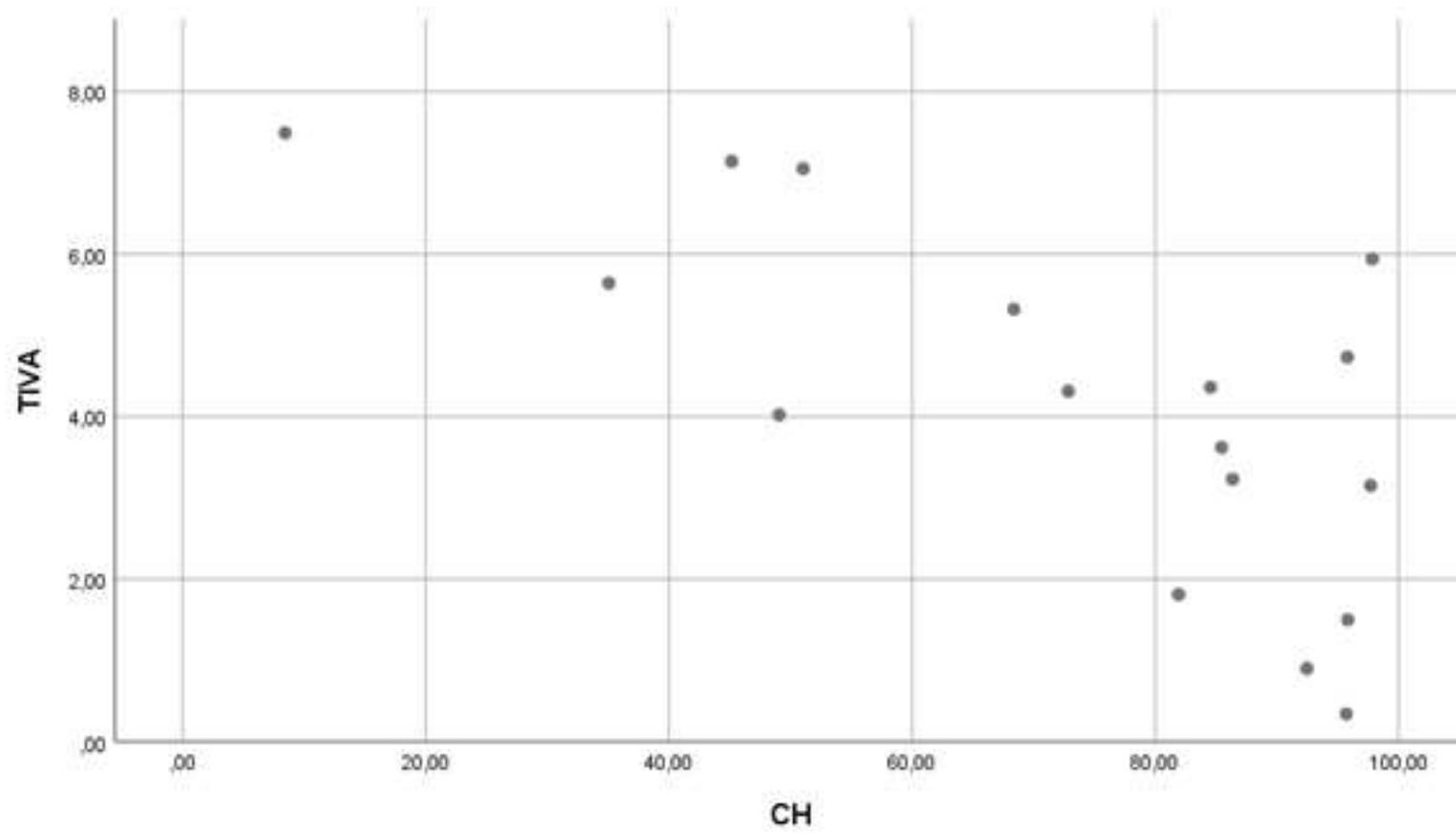


Figura 26: Dispersión simple de tasa de infestación de *V. destructor* por tasa remoción de pupas perforadas

(2017) no encontraron correlación entre la infestación de varroasis y la remoción de crías.

Las correlaciones diferentes obtenidas por los autores mencionados pueden deberse a la metodología, el tamaño de muestra, o por el origen de abeja. En ese sentido, Marcangeli (1997) evaluó 48 horas post perforación para determinar el CH, pero según Gramacho y Gonçalves (2001) y Palacio et al. (2005) mencionaron que no es necesario esperar 48 horas para probar el comportamiento higiénico de una colonia, porque después de 24 horas de la prueba todas las crías perforadas ya fueron eliminadas. Por otro lado, Pinto et al. (2012) encontraron una asociación casi perfecta ( $r = -0,96$ ) usando solo cinco colmenas en cada municipio estudiado en Brasil, sin embargo el tamaño de muestra puede que sea poco representativo para un estudio de correlación; además, las abejas estudiadas fueron de origen africano las cuales, según Correa-Marques y De Jong (1998), citado por De Mattos et al. (2016) son conocidas por su resistencia múltiple y buena higiene. Pinto y colaboradores obtuvieron correlaciones elevadas, y es probable que, por lo mencionado anteriormente, los resultados no sean del todo determinantes. Por otra parte, Araneda et al. (2008) hicieron estudios de colonias “no seleccionadas por CH” y obtuvieron alta variabilidad de este carácter y no encontraron asociación entre las variables TIVA y CH.

Masaquiza et al. (2017), Paco (2018) y el presente hallaron una correlación moderada. Estos resultados sobre cierta asociación entre el CH y la infestación de ácaros serían más coherente con el trabajo de Ibrahim et al. (2007), quienes encontraron que las colonias higiénicas reducen los niveles de ácaros en comparación con las colonias no seleccionadas para este carácter, pero, aun así, el grado de extracción de pupas infestadas por CH no es suficiente para mantener la población del ácaro por debajo del valor de daño. De la misma manera Ibrahim y Spivak (2006), Danka et al. (2013) encontraron que un mayor porcentaje de pupas infestadas de ácaros son eliminadas por las abejas VSH (Higiene Sensible a la *V. destructor*) seguido por las abejas higiénicas de Minnesota y luego de las colonias no seleccionadas por higiene.

Medina-Flores et al. (2014) encontraron, en abejas africanizadas, TIVA de  $5,3 \pm 0,03$  (media  $\pm$  s.d.) y  $6,7 \pm 0,08$  por ciento para colonias con comportamiento higiénico bajo y alto respectivamente, no encontrando diferencias estadísticas entre ambos tipos de colonias. Por otra parte, Ibrahim et al. (2007) hallaron una  $r^2$  (coeficiente de determinación) de 0,193 entre

el porcentaje de remoción y tasa de infestación de varroas en abejas adultas, lo cual indica que la relación lineal es explicada por el CH en un 19,3 por ciento. Y autores como Aumeier et al. (2000) concluyeron que el CH no es un mecanismo principal de tolerancia a la varroasis en abejas africanizadas del Brasil.

Sin embargo, la selección por higiene “permite reducir el impacto de enfermedades infecciosas de la cría” (Spivak y Gilliam, 1998a, b; Spivak y Reuter, 1998), incrementar la producción de miel (Spivak y Reuter, 1998, Medina-Flores et al., 2014), o no afectar sus rendimientos de miel (Pérez et al., 2015); y por lo tanto los beneficios del carácter higiene son altos a pesar de no ofrecer la solución absoluta a las infestaciones de ácaros. Es claro, para autores como Spivak y Reuter (1998) que el carácter higiene confiere cierta capacidad para eliminar varroas en apiarios comerciales, pero la respuesta directa a los ácaros puede ser inconsistente, ya que este carácter se selecciona para responder a situaciones más generales de la cría muerta y no específicamente para *V. destructor*, como es el caso de las abejas VSH.

En este estudio se halló un significativo  $r = -0,569$  entre las variables, lo cual quiere decir que hay una relación del tipo inversa entre la infestación por varroas y la conducta higiénica, pero eso no indica necesariamente que hay una relación causa efecto. Sin embargo cabe la posibilidad de que la baja tasa promedio de infestación por varroasis se deba a los buenos valores de higiene de las colmenas estudiadas. Aunque, la media del CH fue ligeramente menor a 80 por ciento la mayor parte de las colonias mantuvieron niveles de TIVA menor al umbral de tratamiento o valor de daño.

#### **4.4 Número de panales con crías, reservas y población de abejas**

##### **4.4.1 Número de panales de crías**

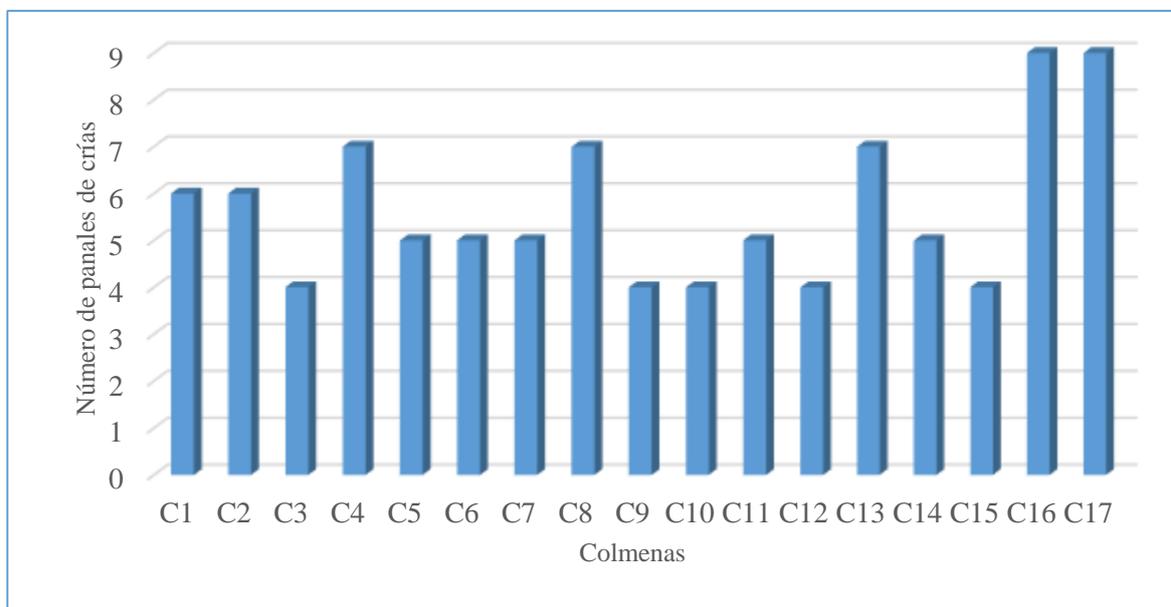
En la Tabla 3 se aprecia la cantidad total, el promedio y las medidas de dispersión; y en la Figura 27 se observa la cantidad de panales de crías que se observaron en las colmenas de estudio. Se encontró  $5,65 \pm 1,66$  (media  $\pm$  s.d.) panales con crías y con rango de cuatro a nueve (Tabla 3), estos panales contenían huevos, larvas y pupas (principalmente de cría de obrera). El coeficiente de variación fue de 35,9 por ciento y es aceptable porque no supera el 50 por ciento, ya que si lo harían los datos serían poco o nada representados por el

promedio. Esta variación se debe principalmente a dos colmenas que presentaron crías en abundancia, las colmenas C16 y C17. Las demás colonias presentaron una cantidad de crías muy similar.

**Tabla 3: Número de panales promedio de crías**

Colmena	Número de panales de crías
C1	6
C2	6
C3	4
C4	7
C5	5
C6	5
C7	5
C8	7
C9	4
C10	4
C11	5
C12	4
C13	7
C14	5
C15	4
C16	9
C17	9
<b>Promedio</b>	<b>5,65</b>
<b>Suma</b>	<b>96</b>
<b>Desviación estándar (s.d.)</b>	<b>1,66</b>
<b>Coficiente de variación</b>	<b>29,33</b>

Ciertamente el promedio hallado en este trabajo es inferior al encontrado por Paco (2018), 6,75 panales con crías en temporada de otoño, pero, aun así, el colmenar no presenta signos de enfermedad o mortalidad salvo algunas excepciones, pues la cantidad promedio de panales con crías fue apropiada y con buenos signos para la sobrevivencia al invierno.



**Figura 27: Número de panales de crías por cada colmena**

#### 4.4.2 Número de panales con reserva alimenticia

La cantidad de panales de reserva de alimento fue de  $4,35 \pm 1,66$  (media  $\pm$  s.d.) con un rango de uno a seis y un coeficiente de variación de 38,05 por ciento (Tabla 4), el cual indica que es variable, pero esta variación se debe principalmente a las colmenas C16 y C17, porque estas presentaron solo un panel de reserva alimenticia a comparación del resto que tuvieron entre 3 y 6 panales (Figura 28).

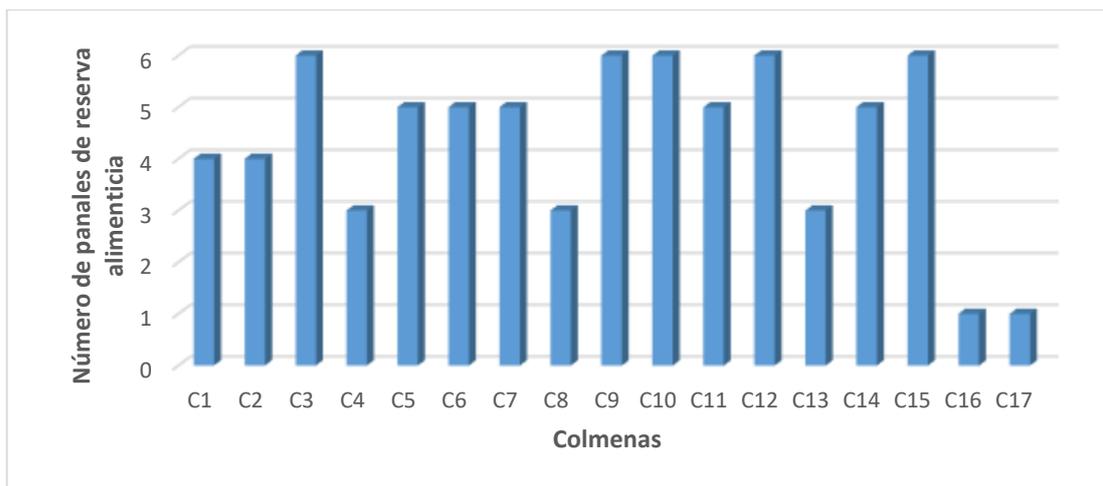
La reserva de alimento estuvo constituida por miel principalmente y poco polen, este tipo de alimento siempre ha sido escaso en la zona (urbana) donde está ubicado el apiario UNALM. Sin embargo, cabe mencionar que las colmenas a finales de otoño presentan menos reserva de alimento por la menor disponibilidad de néctar y polen en el área de pecoreo.

Los valores hallados en este estudio son mayores a los encontrados por Paco (2018), quien encontró, en este mismo apiario, un promedio de 3,25 panales de reserva de alimento en un

rango de uno a seis panales. Por otro lado, la cantidad de reserva fue muy próximo a lo hallado por Reyes (2016), quien encontró entre 4 a 6,75 panales de reserva alimenticia en el tiempo que el colmenar de la UNALM estaban siendo manejadas para varroas. Este indicador evidencia que las colmenas de la UNALM, a pesar de la suspensión de tratamiento químico para varroasis, no han mermado su producción.

**Tabla 4: Número de panales de reserva alimenticia**

Colmena	Número de panales de reserva alimenticia
C1	4
C2	4
C3	6
C4	3
C5	5
C6	5
C7	5
C8	3
C9	6
C10	6
C11	5
C12	6
C13	3
C14	5
C15	6
C16	1
C17	1
<b>Promedio</b>	<b>4,35</b>
<b>Suma</b>	<b>74</b>
<b>Desviación estándar (s.d.)</b>	<b>1,66</b>
<b>Coefficiente de variación</b>	<b>38,05</b>



**Figura 28: Número de panales de reserva alimenticia por cada colmena**

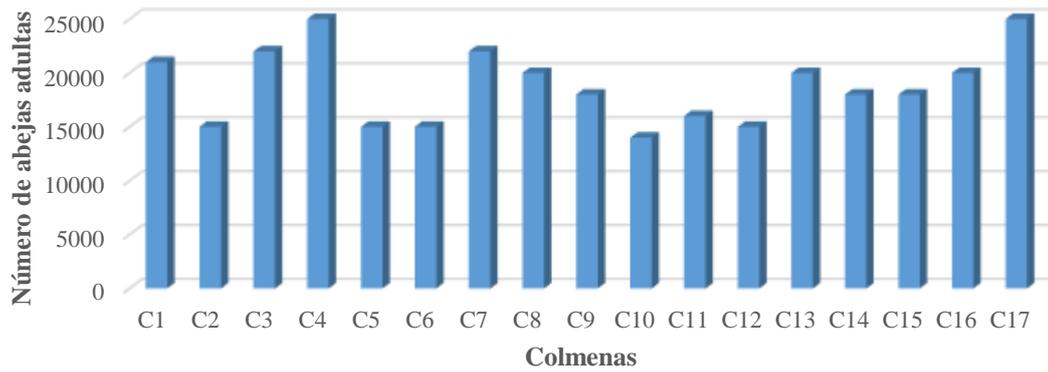
#### 4.4.3 Número de abejas adultas por colonia

La población promedio de abejas adultas estimada fue de 18 764,7 con un coeficiente de variación de 18,70 por ciento, y un rango entre 14 000 a 25 000 abejas por colonia (Tabla 5). El coeficiente de variación indica poca dispersión de los datos, por consiguiente las colmenas del presente estudio fueron uniformes con respecto a la población de abejas. En la Figura 29 se observa gráficamente la población estimada de abejas adultas del presente estudio.

En este trabajo se halló valores muy cercanos a lo hallado por Paco (2018); quien usando la misma referencia, de 2 000 abejas por marco lleno de abejas, encontró valores comprendidos entre 16 000 a 25 000 abejas por colonia. Esto indicaría que las colmenas no han variado drásticamente la población de abejas adultas luego de más de dos años sin ningún tratamiento para varroasis en el apiario de la UNALM.

Estos hallazgos contrastan con los de Fries et al. (2006), quienes encontraron que la mayor cantidad de colonias de abejas murieron en el segundo año y principalmente en el tercer año de estudio, pero las colonias restantes no colapsaron, conservándose en pequeñas poblaciones los siguientes años. A tener en cuenta que estas abejas fueron criadas en Suecia, donde los inviernos son muy fríos, y en consecuencia las abejas sufren más los estragos de las bajas temperaturas y la escasez de alimento; en cambio las abejas del apiario de la

UNALM viven en clima subtropical donde los inviernos son menos perjudiciales para las abejas. Por otro lado, estos resultados coinciden con Sanabria (2007), quien encontró, en Cuba, que las colmenas luego de cuatro años sin tratamiento estuvieron en buenas condiciones.



**Figura 29: Número de abejas adultas estimadas por cada colmena**

**Tabla 5: Población estimada de abejas adultas**

Colmena	Población estimada de abejas
C1	21 000
C2	15 000
C3	22 000
C4	25 000
C5	15 000
C6	15 000
C7	22 000
C8	20 000
C9	18 000
C10	14 000
C11	16 000
C12	15 000
C13	20 000
C14	18 000
C15	18 000
C16	20 000
C17	25 000
<b>Promedio</b>	<b>18 764,71</b>
<b>Suma</b>	<b>319 000</b>
<b>Desviación estándar (s.d.)</b>	<b>3 509,44</b>
<b>Coefficiente de variación</b>	<b>18,70</b>

#### **4.5 Categorización de las colmenas por comportamiento higiénico (CH)**

En la Tabla 6 y en la Figura 30 se observan que todas las colonias de abejas con alto CH presentaron niveles de TIVA menor al valor de daño, 5 por ciento, a excepción de la colmena C1.

La colonia C1 presentó el nivel de higiene más elevado del resto, además, mostró buena población de abejas adultas (Tabla 5), y sus niveles de crías y reserva alimenticia eran de similares características a las otras colonias estudiadas. Puede que su incremento de TIVA se deba a una mayor población de abejas y producción de crías, ya que se ha observado que una reducción de los mismos, sobre todo la disminución de crías de zánganos, reduce los niveles de ácaros. Esta única colmena que presenta buena higiene y un TIVA mayor a 5 por ciento, es una observación que coincide con lo reportado por De Mattos et al. (2016), quienes observaron que colmenas higiénicas tenían altas infestaciones por ácaros. Esta particularidad podría deberse a una posible tolerancia de huésped-parásito.

En la Tabla 7 y Figura 31 se observan la cantidad y porcentaje de colmenas por cada categoría de higiene. Se encontró un 58,8, 29,4 y 11,8 por ciento de colmenas de higiene alto, moderado y leve respectivamente.

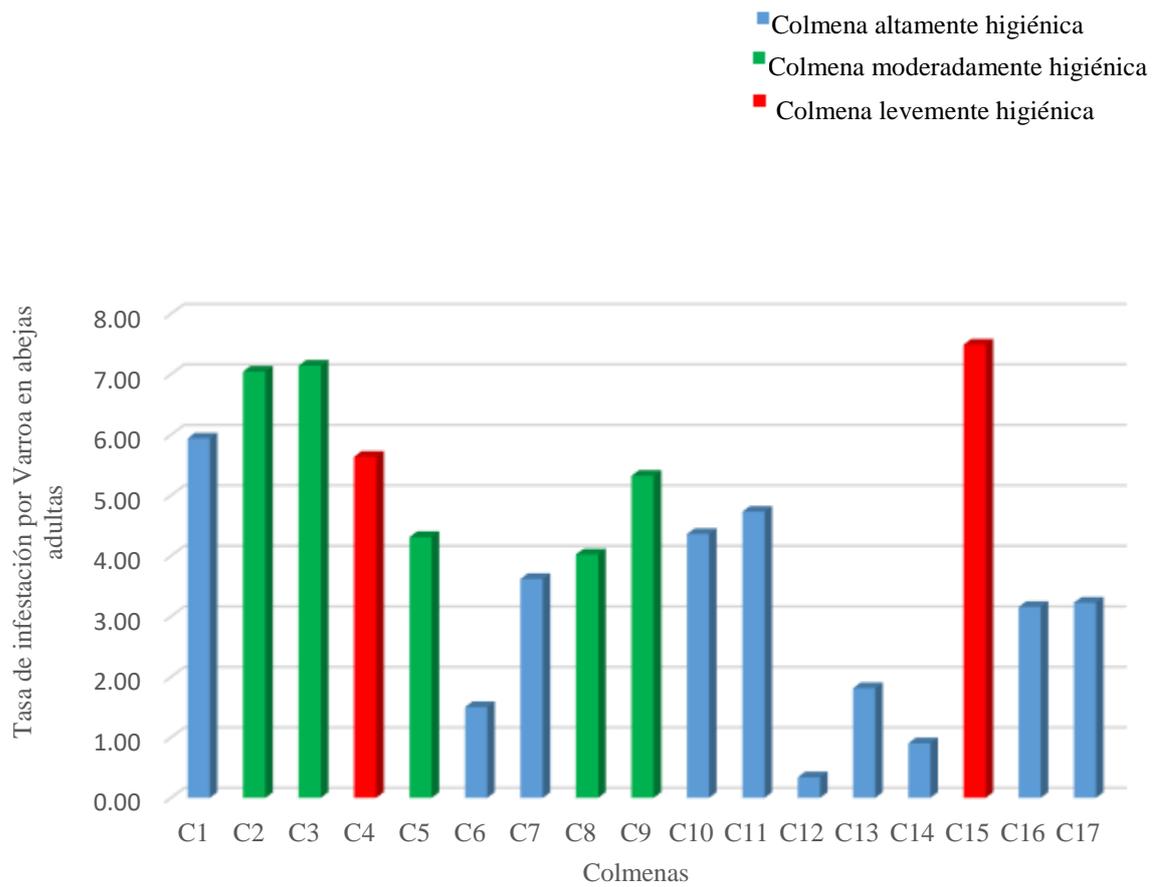
Más del 50 por ciento de las colonias del colmenar de la UNALM presentaron alto comportamiento higiénico, mayor a 80 por ciento de remoción de pupas perforadas (Tabla 7). Solo el 11,8 por ciento son levemente higiénicos, es decir aquellas colonias que removieron pupas perforadas menos del 40 por ciento; y según Castagnino et al. (2016), estas últimas colonias, deben ser descartadas del colmenar si se quieren seleccionar colonias con óptimos niveles de higiene. Además, se encontró un 29,4 por ciento de colmenas con conducta de higiene moderado. También estas últimas colonias podrían ser descartadas por no superar el 80 por ciento de remoción de pupas.

En la figura 30 se observa que más del 50 por ciento de las colonias tienen bajos niveles de infestación (menos del 5 por ciento) y esto es probable que se deba a los buenos niveles de CH encontrados en el apiario de la UNALM, pero, también, existen otros mecanismos de

resistencia de las abejas que pueden estar participando en la lucha contra la *V. destructor* (Rinderer et al. 2010, Sanabria 2007).

**Tabla 6: Categoría por comportamiento higiénico (CH)**

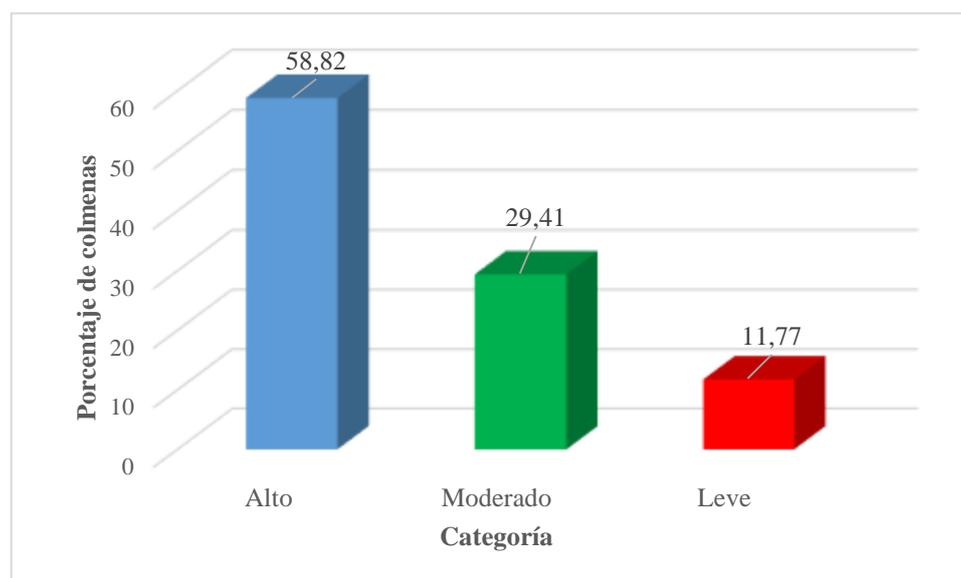
Colmena	% CH	Categoría por CH o nivel de higiene	%TIVA
<b>C1</b>	97,85	Alto	5,94
<b>C2</b>	51,04	Moderado	7,05
<b>C3</b>	45,16	Moderado	7,14
<b>C4</b>	35,05	Leve	5,64
<b>C5</b>	72,84	Moderado	4,31
<b>C6</b>	95,83	Alto	1,50
<b>C7</b>	85,44	Alto	3,62
<b>C8</b>	49,06	Moderado	4,02
<b>C9</b>	68,37	Moderado	5,32
<b>C10</b>	84,54	Alto	4,36
<b>C11</b>	95,79	Alto	4,73
<b>C12</b>	95,70	Alto	0,34
<b>C13</b>	81,91	Alto	1,81
<b>C14</b>	92,47	Alto	0,90
<b>C15</b>	8,43	Leve	7,49
<b>C16</b>	97,70	Alto	3,15
<b>C17</b>	86,36	Alto	3,23



**Figura 30: Tasa de infestación por varroas en abejas adultas según el nivel de higiene de cada colmena**

**Tabla 7: Cantidad y porcentaje de colmenas según su categoría de higiene**

Categoría de colmenas	Colmenas	
	Número	Porcentaje
<b>Altamente higiénicas (80% - 100%)</b>	10	58,8
<b>Moderadamente higiénicas (41% - 79%)</b>	5	29,4
<b>Levemente higiénicas (0% - 40%)</b>	2	11,8
<b>TOTAL</b>	<b>17</b>	<b>100</b>



**Figura 31: Categoría de las colmenas por comportamiento higiénico**

## V. CONCLUSIONES

- La tasa promedio general de remoción de pupas perforadas o comportamiento higiénico fue de 73,2 por ciento, es decir presentaron una conducta higiénica moderada.
- La tasa media de infestación por varroas en abejas adultas fue de 4,15 por ciento
- Se encontró una correlación inversa significativa,  $r = -0,569$ , entre el comportamiento higiénico o la tasa de remoción de pupas perforadas y la tasa de infestación por varroas en abejas adultas.
- Las colmenas presentaron valores promedio de 5,65, 4,35 y 18 764,71 panales de crías, panales de reserva alimenticia y población estimada de abejas adultas respectivamente.
- Se encontró 58,8, 29,4 y 11,8 por ciento de colmenas de conducta higiénica alta, moderada y leve respectivamente.

## VI. RECOMENDACIONES

- Los apicultores deben tomar en cuenta el comportamiento higiénico como un posible rasgo de mejoramiento genético de las abejas con respecto a la lucha natural frente a la enfermedad de varroasis.
- Elaborar un estudio comparativo entre el comportamiento higiénico por el método de perforación y congelamiento.
- Investigar sobre haplotipos de *V. destructor* en el Perú.
- Continuar con las investigaciones de resistencia o tolerancia de abejas retadas naturalmente por años a la *V. destructor*. Y estudiar otros tipos de mecanismos naturales de resistencia de las abejas melíferas.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Araneda, X., Perez, R., Castillo, C. y Medina L. (2008). Evaluación del comportamiento higiénico de *Apis mellifera* L. en Relación al nivel de infestación de *Varroa destructor destructor* Anderson & Trueman. *Idesia*, 26(2), 59-67.
- Arechavaleta-Velasco, M. E., Hunt, G., Spivak, M. y Camacho, C. (2011). Loci de rasgos binarios que influyen en la expresión del comportamiento higiénico de las abejas melíferas. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2(3), 283-298.
- Aumeier, P., Rosenkranz, P. y Gonçalves, L. S. (2000). A comparison of the hygienic response of Africanized and European (*Apis mellifera carnica*) honey bees to *Varroa*-infested brood in tropical Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 23(4), 787-791. doi: 10.1590/S1415-47572000000400013
- Badii, M. H., A. Guillen, O. P., Lugo Serrato & J.J. Aguilar Garnica. (2014). Correlación No-Paramétrica y su Aplicación en la Investigaciones Científica. *International Journal of Good Conscience*, 9(2), 31-40.
- Berry, J. A., Hood, W. A., Pietravalle, S. y Delaplane, K. S. (2013). Field-level sublethal effects of approved bee hive chemicals on honey bees (*Apis mellifera* L.). *PLoS ONE*, 8(10), e76536. doi: 10.1371/journal.pone.0076536
- Bigio, G., Schürch, R. y Ratnieks, F. L. W. (2013). Hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae): effects of brood, food, and time of the year. *Journal of Economic Entomology*, 106(6), 2280-2285. doi: 10.1603/EC13076

- Boecking, O., Bienefeld, K. y Drescher, W. (2000). Heritability of the *Varroa*-specific Hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 117, 417-424. Recuperado de <https://www2.hu-berlin.de/bienenkunde/Bilder-Downloads/Publikationen/2000/1-boecking.pdf>
- Castagnino, G. L. B., Pinto, L. F. B. y Carneiro, M. R. L. (2016). Correlação da infestação de *Varroa destructor* sobre o comportamento higiênico de abelhas *Apis mellifera*. *Archivos de Zootecnia.*, 65(252), 549-554.
- Corrêa-Marques, M. H., De Jong, D., Rosenkranz, P. y Gonçalves, L. S. (2002). *Varroa*-tolerant Italian honey bees introduced from Brazil were not more efficient in defending themselves against the mite *Varroa destructor* than Carniolan bees in Germany. *Genetics and Molecular Research*, 1(2), 153-158.
- Crane, E. (1978). The *Varroa* mite. *Bee World*, 59(4), 164-167. Recuperado de <https://www.evacranetrust.org/uploads/document/7d403256314245e8be4c900be16f31430ec9d7fc.pdf>
- Danka, R. G., Harris, J. W., Villa, J. D. y Dodds G. E. (2013). Varying congruence of hygienic responses to *Varroa destructor* and freeze-killed brood among different types of honeybees. *Apidologie*, 44, 447-457. doi: 10.1007/s13592-013-0195-8
- De Jong, D., Soares, A. E. E. (1997). An isolated population of Italian bees that has survived *Varroa jacobsoni* infestation without treatment for over 12 years. *Am. Bee J.*, 137(10), 742-745.
- De Jong, D., De Roma, A. y Gonçalves, L. S. (1982). A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honey bees. *Apidologie*, 13(3), 297-306. Recuperada de <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00890575/document>
- De Mattos, I. M., De Jong, D. y Soares, A. E. E. (2016). Island population of European honey bees in Northeastern Brazil that have survived *Varroa* infestations for over 30 years. *Apidologie*, 47(6), 818-827. doi: 10.1007/s13592-016-0439-5

- Espinosa-Montaño, L. G., Guzmán-Novoa, E., Sánchez-Albarrán, A., Montaldo, H. H. y Correa-Benítez, A. (2008). Estudio comparativo de tres pruebas para evaluar el comportamiento higiénico en colonias de abejas (*Apis mellifera* L.). *Veterinaria México*, 39(1), 39-54.
- Fries, I., Imdorf, A. y Rosenkranz, P. (2006). Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apidologie*, 37, 564-570. doi: 10.1051/apido:2006031
- Fries, I. y Lindström, A. (2010). A manual on Breeding disease resistant honeybees. Swedish University of Agricultural Sciences, Box 7044, SE-75007 Uppsala. Recuperado de [http://www2.biologie.uni-halle.de/zool/mol\\_ecol/bee-shop/publ/papers/Fries\\_Lindstroem\\_2010\\_Breeding%20disease%20resistant%20honeybees.pdf](http://www2.biologie.uni-halle.de/zool/mol_ecol/bee-shop/publ/papers/Fries_Lindstroem_2010_Breeding%20disease%20resistant%20honeybees.pdf)
- Gliński, Z. y Jarosz, J. (2001). Infection and immunity in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apiacta*, 36(1), 12-24.
- Gramacho, K. P. (1995). Estudio do comportamento higiênico em *Apis mellifera*, como subsídio a programas de seleção e melhoramento genético em abelhas (Tesis de maestría, Universidad de São Paulo). Recuperado de <https://repositorio.usp.br/item/000743041>
- Gramacho, K. P. (2004). Considerações sobre o melhoramento de abelhas com base no comportamento higiénico. XV Congresso brasileiro de apicultura-1º Congresso brasileiro de meliponicultura. Natal/RN, Brasil. Recuperado de <https://docplayer.com.br/24564008-Consideracoes-sobre-o-melhoramento-de-abelhas-com-base-no-comportamento-higienico.html>
- Gramacho, K. P., Gonçalves L. S., Rosenkranz, P. y De Jong, D. (1999) Influence of body fluid from pin-killed honey bee pupae on hygienic behavior. *Apidologie*, 30(5), 367-374.

- Gramacho, K. P. y Gonçalves L. S. (2001). The sequences of the hygienic behavior process of carniolan worker honey bees (*Apis mellifera carnica*). In: Proceedings of the 37th International apicultural congress, Durban, South Africa. Recuperado de <https://www.apimondia.com/congresses/2001/Papers/202.pdf>
- Harris, J. W. (2007). Bees with *Varroa* sensitive hygiene preferentially remove mite infested pupae aged  $\leq$  five days post capping. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 46(3), 134-139. doi: 10.3896/IBRA.1.46.3.02
- Harris, J., Rinderer, T., Kuznetsov, V., Danka, R., Delatte, G., De Guzman, L. y Villa, J. (2002). Imported Russian honey bees: Quarantine and initial selection for *Varroa* resistance. *American Bee Journal*, 142(8), 591-596.
- Honey Bee Health Coalition. (2015). Tools for *Varroa* management a guide to effective *Varroa* sampling & control. USA. Recuperado de [https://honeybeehealthcoalition.org/wp-content/uploads/2015/08/HBHC-Guide\\_Varroa-Interactive-PDF.pdf](https://honeybeehealthcoalition.org/wp-content/uploads/2015/08/HBHC-Guide_Varroa-Interactive-PDF.pdf)
- Ibrahim, A., Reuter, G. y Spivak, M. (2007). Field trial of honey bee colonies bred for mechanisms of resistance against *Varroa destructor*. *Apidologie*, 38, 67-76.
- Ibrahim, A. y Spivak, M. (2006). The relationship between hygienic behavior and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. *Apidologie*, 37, 31-40. doi: 10.1051/apido:2005052
- INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática). (2012). Recuperado de <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/>
- Invernizzi, C. (2001). Resistencia a la enfermedad de Cría Yesificada por colonias de *Apis mellifera* con eficiente comportamiento higiénico (Hymenoptera, Apidae). *Iheringia, Série Zoologia*, (91), 109-114.

- Kurze, C., Routtu, J., Moritz, R. F. A. (2016). Parasite resistance and tolerance in honeybees at the individual and social level. *Zoology*, 119(4), 290-297. doi: 10.1016/j.zool.2016.03.007
- Marcangeli, J. A. (1997). Relación entre el comportamiento higiénico de la abeja *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) y el tamaño poblacional del ácaro *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *Natura Neotropicalis*, 28(2), 125-129. doi: 10.14409/natura.v2i28.3706
- Masaquiza, D., Curbelo, L., Díaz, B., Pilataxi, R. y Andrade-Yucailla, V. (2017). Comportamiento higiénico y nivel de infestación con *Varroa destructor* de *Apis mellifera* en la zona centro del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Investigaciones Agropecuarias*, 2(1), 25-30. doi: 10.31164/reiagro.v2n1.5
- Medina-Flores, C. A., Guzmán-Novoa, E., Aréchiga, C. F., Gutiérrez, H. y Aguilera, J. I. (2014). Producción de miel e infestación con *Varroa destructor* de abejas africanizadas (*Apis mellifera*) con alto y bajo comportamiento higiénico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5(2), 157-170.
- Nates-Parra, G. (2011). Genética del comportamiento: abejas como modelo. *Acta Biológica Colombiana*, 16(3), 213-230.
- Paco, A. (2018). Evaluación del comportamiento higiénico de la abeja melífera, (*Apis mellifera* L.) en el apiario de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM) (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco). Recuperado de [http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/4202/253T20180373\\_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/4202/253T20180373_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Padilla, F. y Flores, J. M. (2011). La selección de abejas tolerantes a *Varroa destructor* (2). *El Colmenar*, 105, 5-18.
- Palacio, M. A., Figini, E. E., Ruffinengo, S. R., Rodriguez, E. M., Del Hoyo, M. L. y Bedascarrasbure, E. L. (2000). Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected

for hygienic behaviour and its relation to brood disease tolerance. *Apidologie*, 31, 471-478. doi: 10.1051/apido:2000139

Palacio, M. A., Flores, J. M., Figini, E., Ruffinengo, S., Escande, A., Bedascarrasbure, E., Rodriguez, E. y Gonçalves L. S. (2005). Evaluation of the time of uncapping and removing dead brood from cells by hygienic and non-hygienic honey bees. *Genetics and Molecular Research*, 4(1), 105-114.

Pérez, A. (Alejandro), Pérez, A. (Adolfo) y Jiménez, A. (2015). Relación de los hábitos higiénicos de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) con la producción de miel. *Apiciencia*, 17(2), 18-29. Recuperado de <http://www.actaf.co.cu/revistas/apiciencia/2015-2/2015202.pdf>

Pinto, F. A., Puker, A., Barreto, L. M. R. C. y Message, D. (2012). The ectoparasite mite *Varroa destructor* Anderson and Trueman in southeastern Brazil apiaries: effects of the hygienic behavior of Africanized honey bees on infestation rates. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64(5), 1194-1199. doi: 10.1590/S0102-09352012000500017

Principal, J., D'Aubeterre, R., Barrios, C. J., Puzzar, S., García de la Rosa, S. B. y Fuselli, S. R. (2008). Comportamiento higiénico de las abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) en apiarios del estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 26(2), 167-173.

Ramsey, S., Gulbranson, C. J., Mowery, J., Ochoa, R., Engelsdorp van, D. y Bauchan, G. (2018). A Multi-Microscopy Approach to Discover the Feeding Site and Host Tissue Consumed by *Varroa destructor* on Host Honey Bees. *Microscopy Microanalysis Research*, 24(1), 1258-1259. doi: 10.1017/S1431927618006773

Rath W. y Drescher W. (1990). Response of *Apis cerana* Fabr towards brood infested with *Varroa jacobsoni* Oud and infestation rate of colonies in Thailand. *Apidologie*, 21, 311-321.

- Reyes, F. R. (2016). Efectividad de cuatro acaricidas en el control del ácaro (*Varroa destructor*) en abejas (*Apis mellifera* L.) (Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria la Molina). Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2755/L72-R4-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rinderer, T. E., De Guzman, L. I., Delatte, G. T., Stelzer, J. A., Lancaster, V. A., Kuznetsov, V., Beaman, L., Watts, R. y Harris, J. W. (2001). Resistance to the parasitic mite *Varroa destructor* in honey bees from far-eastern Russia. *Apidologie*, 32, 381-394.
- Rinderer, T. E., Harris, J. W., Hunt, G. J., De Guzman, L. I. (2010). Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America. *Apidologie*, 41, 409-424. doi: 10.1051/apido/2010015
- Rothenbuhler, W. C. (1964) Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F1 and backcross generations to disease-killed brood. *American Zoologist*, 4, 111-123.
- Sanabria, J. L. (2007). Índices de infestación, estatus racial y expresión de mecanismos de resistencia en colmenas sin control antivarroa (Tesis doctoral). Universidad Agraria de La Habana, La Habana, Cuba.
- Sanabria, J. L., Demedio, J., Pérez, T., Peñate, I., Rodríguez, D. y Lóriga, W. (2015). Índices de infestación por *Varroa destructor* en colmenas sin medidas de control. *Revista de Salud Animal*, 37(2), 118-124.
- Spivak, M. (1996). Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 27, 245-260.
- Spivak, M. y Downey, D. L. (1998). Field Assays for hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 91(1), 64-70. Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/1a2e/70b3fdc9ef6406592da21579cbd01c31b5eb.pdf>

- Spivak, M. y Gilliam, M. (1993) Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. *Journal of Apicultural Research*, 32(3/4), 147-157. doi: 10.1080/0005772X.1998.11099394
- Spivak, M. y Gilliam, M. (1998a). Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and *Varroa*. *Bee World*, 79(3), 124-134.
- Spivak, M. y Gilliam, M. (1998b). Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and *Varroa*. *Bee World*, 79(4), 169-186. doi: 10.1080/0005772X.1998.11099408
- Spivak, M. y Reuter, G. S. (1998). Performance of hygienic honey bee colonies in a commercial apiary. *Apidologie*, 29, 291-302.
- Spivak, M. y Reuter, G. S (2001a). Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. *Apidologie*, 32, 555-565.
- Spivak, M. y Reuter G. S. (2001b) *Varroa destructor* infestation in untreated honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies selected for hygienic behavior. *Journal of Economic Entomology*, 94, 326–331. doi: 10.1603/0022-0493-94.2.326
- Spivak, M. y Reuter, G. S. (2008). New direction for the Minnesota hygienic line of bees. *American Bee Journal*, 148(12), 1085-1086. Recuperado de <http://beelab.umn.edu/sites/beelab.umn.edu/files/new-direction.pdf>
- Spivak, M., Reuter, G. S., Lee, K. y Ranum, B. (2009). The future of the MN hygienic stock of bees is in good hands!. *American Bee Journal*, 149, 965-967. Recuperado de <https://www.beelab.umn.edu/sites/beelab.umn.edu/files/good-hands.pdf>
- Surlis, C. (2015). Mitocidal resistance in the ectoparasitic mite, *Varroa destructor*, and the relationship with its host *Apis mellifera* (Tesis doctoral, National University of Ireland Maynooth). Recuperado de <http://mural.maynoothuniversity.ie/7584/1/Post%20VIVA%20thesis%20May%202016%20PDF.pdf>

Vandame, R. (2000). Control Alternativo de *Varroa* en Apicultura. 2.2 ed.

Vásquez, O., Mestanza, B., Alarcón, R. (2016). Características morfométricas, comportamiento higiénico y agresividad de abejas criollas *Apis mellifera* sp. *UCV-HACER: Revista de Investigación y cultura*, 5(1). Recuperado de <https://www.redalyc.org/jatsRepo/5217/521753139003/html/index.html>

Wagoner, K. M., Spivak, M. y Rueppell, O. (2018). Brood Affects Hygienic Behavior in the Honey Bee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 20(10), 1-11. doi: 10.1093/jee/toy266

## **VIII. ANEXOS**

**Anexo 1. Datos meteorológicos durante el desarrollo de la investigación, según la estación meteorológica Alexander Von Humboldt, de la Universidad Nacional Agraria La Molina.**

Día/mes/año	Temperatura (Celsius)			Humedad (%)
	Promedio	Máximo	Mínimo	
11/05/2018	19,05	27,9	15,7	79,96
12/05/2018	18,62	27,9	15,8	80,33
13/05/2018	17,61	27,9	15,1	82,92
14/05/2018	19,37	27,9	14,3	74,54
15/05/2018	20,48	27,9	15,3	71,88
16/05/2018	20,24	27,9	16	73,63
17/05/2018	18,73	27,9	15	78,13
18/05/2018	17,47	27,9	14,1	80,5
19/05/2018	18,45	27,9	13,8	76,71
20/05/2018	18,79	27,9	14,7	76,79
21/05/2018	18,25	27,9	13,9	77,5
22/05/2018	17,75	27,9	13,7	79,67
23/05/2018	18,36	27,9	15,1	80
24/05/2018	18,45	27,9	15,9	79,83
25/05/2018	17,53	27,9	15,6	83,21
26/05/2018	17,61	27,9	14,6	81,04
27/05/2018	17,91	27,9	13,4	77,67
28/05/2018	16,64	27,9	12,6	82,54
29/05/2018	17,56	27,9	14	80,96
30/05/2018	16,85	27,9	13,5	83,71
31/05/2018	16,74	27,9	14,7	84,25
01/06/2018	16,46	27,9	13,7	82,13
02/06/2018	16,66	27,9	13,6	80,67
03/06/2018	17,05	27,9	13,3	82,04
04/06/2018	17,25	27,9	15,2	85,63
05/06/2018	16,57	27,9	15,5	86,58
06/06/2018	16,41	27,9	15,6	88,13
07/06/2018	16,65	27,9	15,3	86,08
08/06/2018	17,16	27,9	15,3	83,96
<b>Promedio total</b>	<b>17,82</b>	<b>27,90</b>	<b>14,63</b>	<b>80,72</b>

## **Anexo 2. Prueba de normalidad bivariada**

Para comprobar normalidad de trabajo de ambas variables de estudio (CH y TIVA) se usó una prueba de normalidad bivariada con el programa “R”. Se usó la prueba de Shapiro-Wilk y el resultado fue un p valor de 0,03659 (significativa). Por lo tanto, las variables no cumplieron los supuestos de normalidad.

### Anexo 3. Análisis de correlación de Spearman

		Correlaciones		
			TIVA	CH
Rho de Spearman	<b>TIVA</b>	Coefficiente de correlación	1,000	-,569*
		Sig. (bilateral)	.	,017
		N	17	17
	<b>CH</b>	Coefficiente de correlación	-,569*	1,000
		Sig. (bilateral)	,017	.
		N	17	17

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).