



Identificación del ácaro *Varroa destructor* y el hongo *Ascosphaera apis*; patógenos causantes de enfermedades de impacto en apicultura con *Apis mellifera* en los municipios de Cajibío y Popayán, en el departamento del Cauca.

Alejandro Esteban Ramírez Trujillo

Universidad Antonio Nariño

Programa de Medicina Veterinaria

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Popayán - Cauca

Identificación del ácaro *Varroa destructor* y el hongo *Ascosphaera apis*; patógenos causantes de enfermedades de impacto en apicultura con *Apis mellifera* en los municipios de Cajibío y Popayán, en el departamento del Cauca.

Alejandro Esteban Ramírez Trujillo

Trabajo presentado como requisito para optar al título de:

Médico Veterinario

Director:

Fernando Favian Castro Castro. M.V. PhD.

Codirector:

Fredy Javier Angarita Alonso. M. V. y Z. Esp.

Línea de investigación:

Salud y Bienestar Animal

Universidad Antonio Nariño

Programa de Medicina Veterinaria

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Popayán - Cauca

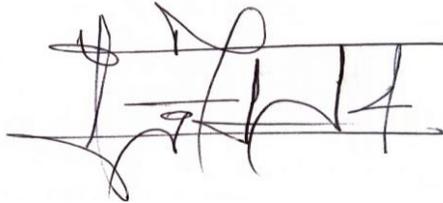
2023

Nota de aceptación

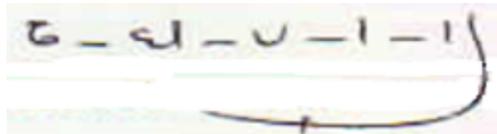
El presente trabajo de grado ha sido aceptado por el comité de trabajo de grado del programa de Medicina Veterinaria de la UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO, sede Popayán, como uno de los requisitos para optar el título de Médico Veterinario.



Director: Fernando Favian Castro Castro. M.V. PhD.



Codirector: Fredy Javier Angarita Alonso. M. V. - Z. - Esp.



Jurado Evaluador: Carlos Eduardo Valencia

Dedicatoria

Dedico este trabajo a aquellas personas que me orientaron a lo largo de esta travesía académica.

A mis padres, por apoyarme y ser esa inspiración que me motivó a alcanzar nuevas alturas

A mis profesores, cuya sabiduría y orientación han construido el camino de mi aprendizaje. Sus enseñanzas han dejado una huella en mi trayectoria académica.

A mis compañeros y seres queridos, quienes han compartido risas, paciencia y ánimo en los momentos de este desafío muchas gracias.

Tabla de contenido

1	10
2	11
3	12
3.1	12
3.2	12
4	13
5	17
5.1	17
5.2	18
5.3	20
5.4	22
6	23
6.1	23
6.2	23
6.3	23
6.4	24
6.5	24
6.5.1	24

6.5.2 25

7 28

8 34

9 35

10 36

Lista de Tabla

Tabla 1 <i>Apiarios Del Municipio De Cajibío – Cauca (Varroa destructor).</i>	28
Tabla 2 <i>Apiarios Del Municipio De Popayán - Cauca (Varroa destructor).</i>	29
Tabla 3 <i>Apiarios Del Municipio De Cajibío – Cauca (Ascosphaera Apis).</i>	30
Tabla 4 <i>Apiarios Del Municipio De Popayán - Cauca (Ascosphaera Apis).</i>	31

Resumen

La presencia de microorganismos patógenos, como hongos y ectoparásitos, afecta negativamente la producción y reproducción de las abejas (*Apis mellifera*), ocasionando pérdidas económicas en la apicultura rural; esto provoca desequilibrios ambientales debido al rol como agente polinizador y otros procesos ecológicos. El objetivo principal es identificar los niveles de (*Varroa destructor*) y evaluar la presencia de (*Ascosphaera Apis*) en la salud y producción de colmenas en los municipios de Cajibío y Popayán - Cauca. El estudio adopta un enfoque descriptivo y exploratorio, donde se muestrearon 10 fincas apícolas, recolectando 2 colmenas por finca, asimismo, se realiza la prueba de lavado con alcohol para evaluar la infestación de varroa, y el método de siembra y preparación de medios, para identificar *Ascosphaera Apis* en cría encalada o yesificada. La tasa de infestación registrada para el municipio de Cajibío es de 5,76%, y en Popayán del 6.76%. Al analizar todas las muestras en busca de esporas perteneciente a (*Ascosphaera Apis*), no se observa la presencia en ninguna de las muestras expuestas al protocolo de muestreo.

Palabras Claves: Abejas, Cría Encalada O Yesificada, Infestación, Presencia, Varroasis.

Abstract

The presence of pathogenic microorganisms, such as fungi and ectoparasites, negatively affects the production and reproduction of bees (*Apis mellifera*), causing economic losses in rural beekeeping; this causes environmental imbalances due to its role as a pollinating agent and other ecological processes. The main objective of the study is to analyze the levels of infestation (*Varroa destructor*) and evaluate the presence of (*Ascospaera Apis*) in the health and production of hives in the municipalities of Cajibío and Popayán - Cauca. The study adopts a descriptive and exploratory approach, where 10 beekeeping farms were sampled, collecting 2 hives per farm, likewise, the alcohol wash test is carried out to evaluate the varroa infestation, and the sowing method and media preparation, to identify *Ascospaera Apis* in limed or plastered brood. The infestation rate registered for the municipality of Cajibío is 5.76%, and in Popayán it is 6.76%. When analyzing all the samples in search of spores belonging to (*Ascospaera Apis*), the presence is not observed in any of the samples exposed to the sampling protocol.

Keywords: Bees, Whitewashed or Yesified Breeding, Infestation, Presence, Varroasis.

1 Introducción

En el mundo hay gran variedad de tipos de abejas, pero la *Apis Mellifera* es una de las especies de insectos polinizadores más importantes que se pueden encontrar en el medio ambiente, las múltiples funciones que cumplen estos insectos establecen un medio simbiótico del cual todos son beneficiados, ayuda a la germinación y fecundación de plantas y árboles, para así fomentar la biodiversidad de especies florales, mientras que en los humanos les aportan subproductos como miel, jalea real, polen, propóleo entre otros; también son empleadas para el mejorar el rendimiento de las cosechas de los cultivos agrícolas por su proceso de polinización (Khan & Ghramh, 2022).

Uno de los principales factores clave que incide en la producción y reproducción de la *Apis mellifera*, está relacionado con microorganismos patógenos tales como hongos y ectoparásitos. Estos agentes han estado ocasionando pérdidas económicas notables en las producciones apícolas en extensiones rurales, donde provocan un desequilibrio en el medio ambiente dada la importancia de estos animales en los procesos de polinización entre otros (Noël et al., 2020).

Con este trabajo de investigación se busca identificar el ácaro (*Varroa, destructor*) y analizar la presencia del hongo (*Ascosphaera, Apis*) los cuales pueden estar afectando el bienestar y la producción de las colmenas localizadas en el municipio de Cajibío y Popayán, pertenecientes al departamento del Cauca.

2 Justificación

La investigación en la sanidad apícola es de suma importancia debido al deterioro en la salud de las colonias con la presencia de agente productores de enfermedad como *Ascospaera Apis* y *Varroa destructor*, que debilitan y disminuyen la reproducción de crías y producción de miel, lo que impacta negativamente los ingresos recibidos por los apicultores, resaltando que la apicultura se ha convertido en una de las actividades primordiales que depende el sustento del campesino productor (Marques Da Silva, 2019).

La identificación de estos patógenos es esencial para el desarrollo de estrategias de manejo y control que puedan ayudar significativamente a identificar posibles factores de resistencia o estrategias de adaptación que tengan los agentes infecciosos (Noriega et al., 2023).

Los resultados de este estudio pueden servir para educar al apicultor en general sobre los desafíos que implica tener una producción apícola y sobre la importancia de su conservación. Este trabajo investigativo puede fomentar prácticas más sostenibles y responsables en la apicultura de las zonas rurales.

3 Objetivos

3.1 Objetivo General

Identificar la presencia del hongo (*Ascosphaera apis*) y la el (*Varroa destructor*) en los apiarios productivos en los municipios de Cajibío y Popayán, en el departamento del Cauca.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar la presencia del hongo *Ascosphaera apis* (Cría encalada o yesificada) en apiarios productivos de los municipios de Cajibío y Popayán, Cauca.
- Registrar la presencia de varroasis producida por el ácaro (*Varroa Destructor*) en los apiarios productivos de Cajibío y Popayán, Cauca.

4 Antecedentes

En el presente capítulo se exponen algunas investigaciones realizadas en contextos internacionales y nacionales, las cuales preceden este trabajo de grado.

Sanabria, et al. (2015) publican un estudio denominado *Infestation rates of Varroa destructor in not controlled surviving hives*, el cual analizó los diferentes porcentajes de infestación donde se estudiaron un total de 50.496 abejas y se encontraron un total de 1822 ácaros pertenecientes al género de *Varroa destructor*, el estudio se realizó en el municipio de san José de las Lajas, provincia Mayabeque en la Habana Cuba. La duración del estudio tuvo un tiempo de 13 meses, donde se evaluaron 162 colmenas donde la tasa de infestación en abejas adultas corresponde al 3.61%.

Díaz, et al. (2019) en su artículo *Evaluation of three alternatives for the control of varroasis (Varroa destructor) in Ecuadorian apiaries*, analizaron la infestación de *Varroa destructor*, en el cantón Riobamba perteneciente a la provincia de Chimborazo Ecuador, donde se estudiaron un total de 16 colmenas con un porcentaje de infestación del 10,84% lo cual demuestra que el estado de las colmenas tenía un grado alto de infestación.

Mora (2023), en el artículo *Infestación por Varroa destructor en tres apiarios del municipio de Arauca*, da cuenta de su estudio desarrollado en el municipio de Arauca perteneciente al departamento de Arauca Colombia, donde investigó el porcentaje de infestación de *Varroa destructor*; se estudiaron un total de 695 abejas y se encontraron un total de 20 ácaros. El porcentaje de infestación entre todos los apiarios estudiados corresponde entre el 3 al 4% lo que indica que su frecuencia es baja.

Graciano (2018), desarrolló una investigación en el Centro Apícola de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, ubicado en el Cerro el Volador a una altura 1600 metros sobre el nivel del mar, dicho estudio lleva como título: *Niveles de infestación de Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae) en abejas africanizadas (Apis mellifera scutellata hib)*, en este, se realizó un total de 9 muestreos en 8 apiarios, de procedencia de la Costa Atlántica se monitorean 3 colonias, del Suroeste de Antioquia 3 colonias y del Valle de Aburrá 2 colonias.

La infestación promedio de *Varroa destructor* en las colonias monitoreadas durante este estudio fue 6,16%. donde las colonias procedentes del Valle de Aburrá presentaron la mayor infestación promedio (6,3%), seguida de las colonias de la Costa Atlántica (6,1%) y de las colonias del Suroeste de Antioquia (5,9%).

Tapia, et al. (2020), en su artículo *Ascospheerosis in honey bees and its relationship to environmental factors in Jalisco, Mexico*, dan cuenta del primer estudio que se realizó en México donde se determina la presencia de (*Ascospheera apis*) en colonia de abejas mellieferas, se monitorearon 42 colonias distribuidas a lo largo de 12 km. El presente estudio incluyó 365 colonias en las dos regiones con mayor producción de miel en el estado de Jalisco. Donde se concluyó que el 74,1 % de las 365 muestras evaluadas resultaron positivas para (*Ascospheera apis*), esto constituye una alta frecuencia del hongo en las colonias de abejas del sur de Jalisco.

Es evidente que las bajas temperaturas y un alto nivel de humedad favorecen la aparición de ascosferosis. Otros investigadores han descubierto que también influyen otros factores, como la cera estampada y el polen.

Respecto al hongo *Ascospheera apis*, responsable de causar la enfermedad de cría enyesada, Castagnino, et al. (2020) realizan una revisión de la literatura, a través de la cual brindan información reciente y amplia sobre características etiológicas, morfológicas,

propagación, síntomas, diagnóstico y formas de prevención de esta enfermedad; en este sentido, respecto a la etiología y morfología se tiene que si bien existen diferentes géneros del hongo *Ascosphaera*, solamente la *Ascosphaera apis*, se asocia con la enfermedad en mención, la cual afecta a larvas de abejas obreras y zánganos principalmente, cuando estos se alimentan con alimentos contaminados por las esporas del hongo, así el micelio se desarrolla y crece en la porción terminal del intestino de la cría, impidiendo la eliminación de heces y de las esporas, esto causa lesiones en la membrana intestinal de la larva, lo cual favorece la formación de las hifas.

Sobre los factores que favorecen la propagación del hongo, estos autores encontraron que el descenso de la temperatura aumenta el desarrollo de quistes de esporas, pues su temperatura ideal de desarrollo es de 30 °C, por ello, en regiones tropicales la cría enyesada se puede desarrollar por las bajas temperaturas nocturnas, así como al abrir las colmenas en momentos de bajas temperaturas, la humedad y mala ventilación. Otros factores pueden ser la exposición a pesticidas, infección por virus, bacterias y por el ectoparásito *V. destructor*; el traspasar panales entre colonias, ubicar las colmenas demasiado cerca entre ellas, fuentes de alimento muy frecuentadas, así como bebederos y comederos colectivos.

Respecto a los síntomas, la revisión arroja que se observa la presencia de momias “frente a la entrada en el piso o en el suelo, debajo de la colmena” (p.5) Coronas perforadas y celdas vacías en los panales; el micelio blanco del hongo cubre la larva muerta, dando lugar a la presencia de pupas blancas (momias) semejantes al color yeso. El diagnóstico se realiza inicialmente a través del análisis microscópico donde se puede visualizar la presencia de hongos, para cultivar el hongo se sugieren medios con alto contenido de azúcar como el agar, sin embargo, también se hace mención de métodos más precisos como el método PCR. Se refiere

también que, en Sudamérica, esta enfermedad se ha reportado con gran frecuencia en Argentina (alrededor del 11% en las colonias), así como en Brasil.

En cuanto a las formas de prevención, se encontró que a la fecha no existe una forma eficaz para eliminar las esporas, pero se puede controlar a través de productos naturales como el uso de aceites esenciales y plantas aromáticas, con efecto inhibitorio en el hongo, por otro lado, el propóleo de Apis, debido a su acción antimicrobiana puede funcionar como un componente para controlar el crecimiento del patógeno, la radiación gamma para la inactivación del hongo también es una técnica útil.

5 Marco Teórico

5.1 Apicultura en Colombia

De acuerdo a los estudios de Claro et al. (2021), se estima que existen alrededor de 3.000 apicultores en el país manejando 120.000 colmenas, beneficiando a más de 12.000 familias y produciendo 3.300 toneladas de miel al año. Desde la africanización de la apicultura, el número de colmenas ha crecido en un 30 %, mientras que la producción de miel el 60 %. Pese a esto, el país importa miel en volúmenes que llegan al 12 % de la producción nacional. Siendo el consumo per cápita de 78 gr de miel al año, muy por debajo del promedio mundial de 386 gr por persona.

En términos de polinización inducida a través de la movilidad e instalación de colmenas de *Apis mellifera* en cultivos, en el país es una práctica poco común, donde se estima que tan solo el 0.5 % de las colmenas del país se disponen para este servicio. Lo anterior evidencia que la mayoría de los cultivos tradicionales que requieren polinización dependen de los polinizadores silvestres. Sin embargo, a nivel nacional hay múltiples evidencias de la polinización inducida con abejas melíferas sobre los rendimientos productivos e inciden cultivos con potencialidad de exportación como aguacate, café y cítricos (Claro et al., 2021).

A pesar de los beneficios inherentes a la actividad apícola, esta se ve confrontada con desafíos significativos entre los que se incluyen la incidencia de patologías adaptadas, y las alteraciones derivadas del cambio climático donde se busca mejorar los métodos de gestión apropiados, con el fin de salvaguardar la salud y estabilidad de los apiarios.

Las abejas melíferas (*Apis mellifera*) se enfrentan constantemente a amenazas de patógenos, plagas, pesticidas y mala nutrición. Es de vital importancia comprender cómo las respuestas inmunes naturales de las abejas (inmunidad individual) y las defensas conductuales

colectivas (inmunidad social) pueden mejorar la salud y la productividad de las abejas (Simone et al., 2017).

5.2 Varroasis (*Varroa destructor*)

El ácaro *Varroa destructor*, ha sido objeto de investigaciones exhaustivas desde la década de 1980, después de su introducción en Europa en las poblaciones de abejas *Apis mellifera*. *V. destructor* continúa su expansión mundial y ahora se ha informado en la mayoría de los países (Noël et al., 2020). Se resalta que el autor Tibatá et al. (2021) afirma que este ectoparásito llegó a Colombia en la década de 1980 y se extendió por todos los territorios continentales, excluyendo las islas aisladas de San Andrés ubicadas en el Océano Atlántico.

El ácaro en mención, es un ectoparásito que afecta a las abejas tanto en la etapa de cría como en la etapa adulta. Perforan el exoesqueleto de la abeja, succionan la hemolinfa de estos insectos y así aseguran su supervivencia y reproducción. Por otro lado, debilitan y acortan la vida de las abejas (Marques Da Silva, 2019).

La varroasis causa síntomas como disminución del funcionamiento del sistema inmunitario, disminución de la tolerancia a los plaguicidas, disminución de su vida productiva, descenso en el rendimiento de su vuelo, disminución del peso corporal, abdomen reducido, cría de abeja en mosaico, opérculos agujereados, signos de canibalismo, presencia de pupas de 5-7 días desoperculadas, aparición de momias de micosis, reducción del apareamiento por los zánganos, menor probabilidad de realizar enjambres y mortalidad (Cebrián, 2019).

La etapa predominante son las hembras adultas, ya que son las únicas que pueden sobrevivir fuera de las celdas de cría operculadas. La hembra de *Varroa Destructor* es de un color marrón rojizo oscuro y tiene un cuerpo plano y ovalado de aproximadamente 1,1 mm de

largo x 1,5 mm de ancho x menos de 0,5 mm de alto, cubierto de pelos cortos (setae). Los machos son más pequeños que las hembras, entre periformes y triangulares, y son de color blanco/amarillo claro. Las etapas inmaduras también son blancas/crema. Todas las etapas se pueden ver a simple vista (OIE, 2021).

En el período reproductivo se produce emisión de cairomonas, que son sustancias volátiles clasificadas como aleloquímicos, las cuales permiten al ácaro realizar un espionaje químico para seleccionar e invadir células larvarias debidamente envejecidas, preferentemente en células de zánganos, donde existe un mayor potencial reproductivo. Después de invadir la celda de cría, el ácaro se esconde y permanece inmóvil en el alimento larvario, respirando a través del peritremo, que se extiende entre el alimento líquido como una pajita. Esta estrategia de permanecer inmóvil dentro de la celda de cría, minimiza la posibilidad de que las abejas obreras eliminen el ácaro ya que, después de que la celda se cierra, el ácaro sube durante la pre-pupa a la abeja y perfora un agujero en la cutícula de la abeja, creando un lugar donde se alimentará el ácaro y su descendencia.

Los ácaros hembra constan de dos fases distintas: la fase de dispersión, en la que *V. destructor* parasita a las abejas adultas, aprovechando la oportunidad para usarlas como vehículo de transporte dentro de la colonia o entre colonias, y la fase reproductiva, en la cual los ácaros parasitan las larvas de zánganos u obreras justo antes de la operculación y se reproducen dentro de las celdas operculadas de zánganos y obreras (OIE, 2021).

Este hallazgo confirma que las hembras de Varroa no necesitan aparearse para poner huevos y, por lo tanto, tienen un sistema de reproducción partenogenético arrenotóxico. Si bien al principio se pensó que Varroa se alimentaba de la hemolinfa de la abeja melífera,

investigaciones recientes muestran que el parásito también se alimenta de la grasa corporal de la abeja melífera (Ramsey et al., 2019).

Aunque *Apis mellifera* ha sido estudiada extensamente, los ácaros *Varroa destructor* como huésped parásito destructivo, siguen siendo un problema importante en la apicultura en todo el mundo y se necesitan avances futuros en investigación básica y aplicada para crear soluciones sostenibles para el control de este parásito mortal. El diagnóstico se realiza mediante identificación macroscópica de parásitos en larvas y abejas obreras adultas, ya que es más probable que se detecte en estas en contraste con los zánganos en las abejas obreras.

5.3 Ascosferosis o cría enyesada: (*Ascosphaera apis*)

Es un hongo patógeno que de acuerdo a Ye et al. (2020) “infecta exclusivamente a las larvas de abejas, causando la enfermedad de la cría calcárea, que resulta en graves daños para la industria apícola” (p.1).

La cría enyesada debilita a las colonias de abejas melíferas y reduce la producción de miel debido a la pérdida de mano de obra (muerte de las larvas) y, en determinadas ocasiones mata a la en su totalidad colonia, por lo que se destaca como una enfermedad económicamente importante (Aize, 2009 citado en Evison, 2015).

Esta enfermedad afecta a larvas de abejas obreras, zánganos y con menor frecuencia, a la reina. Aunque las ascosporas pueden afectar a todas las crías, la susceptibilidad a la infección depende de la edad de la larva (Castagnino et al., 2020).

Las esporas ingresan a una colonia de abejas melíferas a través de momias esporuladas. Las esporas germinan en el tracto alimentario de larvas de 2 a 4 días. Si las larvas son susceptibles, las hifas penetran en el epitelio intestinal de las larvas de 4 a 6 días y crecen a través del cuerpo formando una micosis invasiva que convierte a las larvas en una momia

enyesadas, luego de iniciar el proceso de reproducción sexual las esporas abandonan la colonia a través del comportamiento higiénico de las abejas obreras que destapan y eliminan las larvas infectadas. (Evison, 2015).

Las larvas de abeja melífera se infectan inicialmente al ingerir alimentos contaminados con esporas sexuales de *A. Apis*. Las ascosporas germinan en el ambiente anaeróbico del tubo digestivo y las hifas del micelio penetran posteriormente en las paredes intestinales de las larvas y las privan de nutrientes (Iorizzo et al., 2020).

Las larvas de abeja en el quinto estadio son las más sensibles a la enfermedad, ya que tienen condiciones ambientales favorables en su intestino para la germinación de esporas. Una vez en el intestino de las larvas, las esporas son activadas por el CO₂ obtenido de las células. Luego, pueden germinar en el lumen, produciendo un micelio que perfora la cutícula de la larva, en esta fase, las larvas parecen pequeños trozos de tiza o “momias”, lo que le da el nombre de yeso a la enfermedad. A medida que avanza la enfermedad, las larvas se momifican y cambian de color blanco a gris oscuro o negro debido a la presencia de esporas en la cutícula de la larva (Pusceddu et al., 2021).

Las esporas de hongos confinadas en cera y alimentos almacenados dentro de la colmena son muy resistentes y siguen siendo infecciosas durante muchos años, proporcionando una fuente continua de infección. La propagación de la infección por *Ascospaera Apis* en el colmenar también puede verse facilitada por su interacción con otros patógenos o parásitos como el ectoparásito *Varroa destructor*. De hecho, la superficie del cuerpo de los ácaros puede contaminarse con esporas de hongos, pero quedan dudas sobre si estos pueden causar infección, ya que se requerirían muchas esporas para contaminar el alimento de las larvas y ser ingeridas por la cría de abejas melíferas en desarrollo, esto impediría la transmisión directa efectiva de

Ascospaera Apis por parte de los ácaros. Además, otros factores, como la cepa genética del patógeno o del huésped, pueden influir en la gravedad de la enfermedad (Pusceddu et al., 2021).

5.4 Salud de las abejas

Según la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2022), existe una relación fundamental entre la salud animal y el bienestar animal. El bienestar animal se expresa cuando una población crece, engorda y se reproduce. Un animal o una población animal está saludable cuando se acerca a su máximo potencial productivo (Verde M., 2021). Este criterio también es válido para la apicultura moderna e intensiva, como en el caso de las (*Apis mellifera*) manejadas.

Se debe considerar el papel vital que desempeñan las abejas en la conservación de la flora, la fauna y la seguridad alimentaria “Los polinizadores realizan una función ecológica crucial que sustenta la mayor parte de la diversidad de plantas del mundo, los organismos asociados y la agricultura global” (Ollerton J, 2017 p.353) además, como lo expone Isaacs et al., (2017) el rendimiento y la calidad de los cultivos dependen tanto de la abundancia como de la diversidad de los polinizadores. En el caso particular de la (*Apis mellifera*), estas pueden ser confinadas y manejadas en estructuras artificiales. Les permite ser transportados y sujetos a la selección, pero sin restricciones mientras se alimentan en el paisaje circundante (Pirk et al., 2016.). Los apicultores intentan optimizar la salud de la colonia, que a su vez depende en gran medida de las prácticas de manejo (Steinhauer et al., 2020).

6 Metodología

6.1 Localización de la zona de estudio

Popayán está ubicada al sur occidente colombiano y es la capital del departamento del Cauca, se encuentra a una altitud de 1.738 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura media de 19° C durante todo el año, alcanzando temperaturas máximas en los meses de julio, agosto y septiembre en horas del mediodía, hasta de 29 °C y mínimas de 10 °C en horas de la madrugada, en verano. Tiene una población estimada de 270.000 habitantes aproximadamente en su área urbana (Nuestra Geografía Popayán, 2022).

El municipio de Cajibío se encuentra localizado en el departamento del cauca ubicado entre las cordilleras occidental y central. Con una extensión total de 747 km², con una altura sobre el nivel del mar de 1765, una temperatura promedio entre los 19°C y distanciado a 28km de la ciudad de Popayán (*Geografía Cajibío Cauca*, 2015).

6.2 Tipo de estudio

Se realiza un estudio cuantitativo y descriptivo de tipo exploratorio.

6.3 Población y muestra

La población objeto de estudio es la *Apis mellifera* contenida en las colmenas de los apiarios localizados en el municipio de Popayán y Cajibío, donde se busca la participación de 5 fincas apícolas por cada municipio, en cada unidad apícola se recolectaron 2 colmenas (fuerte y débil). Por cada colmena la concepción en el muestreo se estimó en 150 a 350 abejas para estandarizar las pruebas de campo.

La fase de análisis de las muestras se realizó en las instalaciones de la universidad Antonio Nariño, los diagnósticos se realizaron clasificando al agente patógeno, según los parámetros y requerimientos de cada evento.

6.4 Muestreo

Se realizó un muestreo de tipo aleatorio simple. El estudio se centró en la selección de un número total de 10 fincas apícolas productoras, de cada finca, se recolectaron dos colmenas, y el tamaño de la muestra por colmena fue un rango ya establecido para realizar la prueba de campo. Este enfoque permitió obtener una mejor representación de las colmenas en diferentes condiciones en los municipios seleccionados.

6.5 Materiales y métodos

6.5.1 *Varroa destructor*

Se realizó la prueba del lavado con alcohol que según (OIE, 2021) consiste en sumergir rápidamente una parte de abejas en un frasco lleno con alcohol al 70 -75% A continuación se presenta el procedimiento llevado a cabo:

- Se selecciona cualquier marco de cría y se verifica que la reina no esté presente. Se sostiene el marco a aproximadamente 10 grados respecto a la vertical.
- Se toma una muestra de 150 - 350 abejas usando un frasco, deslizándose hacia arriba y hacia abajo para que las abejas caigan dentro.

Una vez realizada la fase de recolección, se inició el protocolo en los laboratorios de la universidad Antonio Nariño.

Protocolo efectuado: En primer lugar, se toma el recipiente que contiene las abejas recolectadas y se introduce un jabón líquido de preferencia para el lavado de manos. Esta acción, independientemente del tipo de detergente usado, nos ayuda a desprender el ácaro que está adherido en la abeja, se procede a mezclar el frasco con las abejas y se agita manualmente durante unos 5 minutos para hacer una solución más homogénea.

Seguidamente, se procede a depositar las abejas sobre un paño de color blanco, cuya tonalidad favorece la visualización de los ácaros en el proceso. Para facilitar el drenaje del líquido vertido, se coloca una malla tipo zaranda debajo del paño blanco. Una vez que las abejas han sido colocadas en este entorno, se lleva a cabo la observación y el conteo meticuloso de los ácaros desprendidos. Este conteo se realiza con el objetivo de determinar la cantidad exacta de abejas infestadas por ácaros en la muestra.

6.5.2 *Ascospaera Apis* (Cría encalada o yesificada)

El procedimiento de preparación de la muestra de cría encalada se realizó de acuerdo al protocolo planteado por Jensen et al. (2013) donde se ubican dos opciones para la preparación de medios, las cuales se relacionan a continuación:

Preparación de medios Agar potato-dextrose; para 1000 mL de agua destilada de medio artesanal:

1. Infusión de papa: hervir 200 g de papas en rodajas en 1 litro de agua destilada durante 30 minutos y luego decantar a través de una gasa. Añadir agua destilada hasta completar 1 litro.
2. Añadir 20 g de dextrosa.
3. Añadir 20 gramos de agar.
4. Esterilizar a 121°C/15 minutos.
5. Una vez preparado el medio se procede a depositar en las cajas de Petri para realizar la siembra.

Preparación de medio comercial a partir de agar base:

Se procede a mezclar 39 g del compuesto base de agar en 1 litro de agua destilada. La mezcla preparada es sometida a un proceso de esterilización a una temperatura de 121°C durante 15 minutos.

En la práctica de campo, se procedió a extraer un total de 20 crías de abejas del panal de cada una de las colmenas. Estas crías fueron seleccionadas en el estado de larvas que aún no han sido selladas con cera. Dichas larvas fueron depositadas en tubos de ensayo que contenían alcohol al 70%. Posteriormente, se trasladaron al laboratorio de la Universidad Antonio Nariño, donde se ejecutó el siguiente proceso:

1. Las larvas se sometieron a un lavado donde se utilizó solución salina con el propósito de eliminar impurezas, estas se colocaron en una centrífuga para someterse a tres ciclos de centrifugación de 5 minutos cada uno, a una velocidad de 4500 revoluciones por minuto (rpm).
2. La superficie de las larvas fue esterilizada utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 10% durante un período de 10 minutos. Este proceso garantiza que la superficie de las larvas esté libre de microorganismos contaminantes.
3. Las "momias", es decir, las larvas que han pasado por el proceso de esterilización, fueron enjuagadas dos veces con agua destilada en intervalos de 2 minutos cada uno. Este enjuague contribuye a eliminar residuos y químicos remanentes.
4. Las larvas, ahora en forma de momias, fueron trituradas en trozos de menor tamaño. Este paso facilita la preparación de las muestras para el proceso subsiguiente.
5. Se procedió a sembrar los fragmentos de larvas en el cultivo previamente preparado. Este medio proporciona las condiciones adecuadas para el crecimiento y desarrollo de los

organismos micóticos. En el momento de realizar la siembra se utilizó un mechero buchner y dos agujas esterilizadas, para finalizar el proceso de siembra se introducen pequeños trozos de la larva dentro del medio preparado que está en la caja de petri para posteriormente taparlo.

6. Las placas de cultivo, ahora con las muestras sembradas, son incubadas en un entorno oscuro, manteniendo una temperatura constante de 32°C, pues esta temperatura favorece el crecimiento.
7. A los 3 o 4 días de haber realizado la incubación de las muestras se realiza el proceso de tinción con lactofenol cotton blue. Para ello se utiliza un portaobjetos limpio y seco, dos agujas estériles calibre 21. Se realiza un corte en la parte de la colonia micótica que creció en la muestra incubada, se lleva al portaobjetos donde agregamos dos gotas de la tinción cotton blue y se empieza a macerar la muestra para que la tinción penetre la hifa del hongo.
8. Luego de haber realizado el proceso de maceración se cubre la preparación con un cubreobjetos y se observa al microscopio. El proceso de observación se inicia utilizando una ampliación de 10x, durante el proceso de análisis, la ampliación se incrementa progresivamente hasta llegar a 40x. El enfoque de esta observación microscópica permite la identificación y caracterización de las hifas específicas a la especie *Ascospaera Apis*.

En síntesis, este procedimiento de laboratorio involucró múltiples etapas, desde la selección de larvas hasta la incubación de las muestras en condiciones específicas. Cada paso fue diseñado para garantizar la integridad de las muestras y para proporcionar un entorno adecuado para el análisis posterior de los organismos de interés.

7 Resultados y Discusión

Los hallazgos del presente trabajo investigativo se sintetizan en las siguientes tablas de información. A continuación, se presenta la Tabla 1, en la cual se expone el porcentaje de infestación de (*Varroa destructor*) en los apiarios del municipio de Cajibío.

Tabla 1

Apiarios Del Municipio De Cajibío – Cauca (Varroa destructor).

Apiarios	Tipo de colmena	N° de Abejas	N° Varroas	% de Infestación
1	Fuertes	311	13	4.18
	Débil	242	10	4.13
2	Fuertes	342	25	7.31
	Débil	247	8	3.24
3	Fuertes	148	13	8.78
	Débil	258	14	5.43
4	Fuertes	161	11	6.83
	Débil	139	12	8.63
5	Fuertes	203	6	2.96
	Débil	194	12	6.19

Fuente: Elaboración propia

Nota: En general los resultados mostraron que en el municipio de Cajibío hay una frecuencia del 5.51%, se tomó una muestra total de 2,248 abejas (*Apis mellifera*), en las cuales se hallaron 124 ácaros de (*Varroa destructor*).

Relacionando el porcentaje de infestación entre colonias fuertes y débiles, se determina que el porcentaje más alto alcanzado en el estudio pertenece al apiario (3) colonia fuerte con un porcentaje de 8.78% y el menor porcentaje para el apiario (5) colonia fuerte con un porcentaje de 2.96%.

El porcentaje de infestación entre los 10 apiarios muestreados es igual a 5.76%, son casi similares dado que algunos apiarios en las colmenas fuertes presentan mayor grado de infestación.

Es importante aclarar que estos datos pueden variar de un apiario a otro dependiendo el manejo que cada productor aplica a sus apiarios, otros factores considerables son los ambientales, refiriéndose especialmente a los tipos de cultivos que se encuentre cerca de la zona y el estado de productividad de cada apiario. Se considera que para niveles de infestación en abejas adultas por encima entre el 8% al 10% se debe ejecutar control del ácaro con productos orgánicos o realizar protocolos para realizar cambio de reina.

En la Tabla 2 que se muestra enseguida, se expone el porcentaje de infestación de (*Varroa destructor*) en los apiarios del municipio de Popayán.

Tabla 2

Apiarios Del Municipio De Popayán - Cauca (Varroa destructor).

Apiarios	Tipo de colmena	N° de Abejas	N° Varroas	% de Infestación
6	Fuertes	247	15	6,07
	Débil	211	14	6,64
7	Fuertes	226	17	7,52
	Débil	278	17	6,12
8	Fuertes	242	14	5,79
	Débil	210	12	5,71
9	Fuertes	196	17	8,67
	Débil	276	23	8,33
10	Fuertes	259	17	7,34
	Débil	220	12	5,45

Fuente: Elaboración propia

Nota: Los resultados del estudio mostraron que en el municipio de Popayán hay una frecuencia de 6.76%, donde se tomó una muestra total de 1907 abejas (*Apis mellifera*), en las cuales se hallaron 129 ácaros de (*Varroa destructor*).

Relacionando el porcentaje de infestación entre colonias fuertes y débiles se determina que el porcentaje más alto alcanzado en el estudio pertenece al apiario (9) colonia fuerte con un porcentaje de 8.67% y el menor porcentaje para el apiario (10) colonia fuerte con un porcentaje de 5.45%. Es crucial señalar que en esta localidad el porcentaje de infestación es mucho mayor al municipio de Cajibío.

Respecto a la presencia del hongo *Ascosphaera Apis*, los resultados se condensan en la Tabla 3 para el municipio de Cajibío y en la Tabla 4 para el municipio de Popayán respectivamente.

Tabla 3

Apiarios Del Municipio De Cajibío – Cauca (Ascosphaera Apis).

Apiarios	Tipo de colmena	Presencia de esporas
1	Fuertes	Negativo
	Débil	Negativo
2	Fuertes	Negativo
	Débil	Negativo
3	Fuertes	Negativo
	Débil	Negativo
4	Fuertes	Negativo
	Débil	Negativo
5	Fuertes	Negativo

Débil

Negativo

Fuente: Elaboración propia

Nota: Los resultados extraídos de los diferentes análisis de las muestras recolectadas en los apiarios del municipio de Cajibío, arrojan que la presencia de la enfermedad de ascosferosis es de resultado negativo.

Esto significa que todas las muestras recolectadas de cada uno de los apiarios, no han mostrado indicios o evidencias de las esporas correspondientes a *Ascosphaera Apis* en las larvas de las abejas.

Tabla 4

Apiarios Del Municipio De Popayán - Cauca (Ascosphaera Apis).

Apiarios	Tipo de colmena	Presencia de esporas
6	Fuertes	Negativo
	Débil	Negativo
7	Fuertes	Negativo
	Débil	Negativo
8	Fuertes	Negativo
	Débil	Negativo
9	Fuertes	Negativo
	Débil	Negativo
10	Fuertes	Negativo
	Débil	Negativo

Fuente: Elaboración propia

Nota: Los hallazgos derivados en los procedimientos de las pruebas revelaron que, al analizar todas las muestras en busca de esporas perteneciente a *Ascosphaera Apis*, no se observaron resultados positivos en ninguna de las muestras expuestas al protocolo de muestreo.

En la revisión de literatura se encontraron estudios de infestación de *Varroa destructor* en los municipios de Cajibío y Popayán, los cuales no han sido publicados.

Los resultados del análisis de los porcentajes de infestación en los municipios de Cajibío y Popayán son reveladores y brindan un panorama sobre la situación de *Varroa destructor* en el departamento del Cauca.

La tasa de infestación registrada para el municipio de Cajibío es de 5,76%, y en Popayán del 6.76%, donde se refleja niveles de infestación que no son preocupantes.

Estos datos se pueden comparar con los hallazgos reportados por el autor Sanabria et al. (2015) en Cuba, donde la tasa de infestación registrada fue de un 3,61%, este valor se puede considerar como bajo en comparación con los datos obtenidos en nuestro estudio. Sin embargo, es importante tener en cuenta al interpretar y comparar los resultados, las diferencias en las condiciones climáticas y las prácticas de manejo de las colmenas que pueden variar e influir significativamente en las tasas de infestación.

Al analizar el estudio llevado por los autores Díaz et al. (2019) en Ecuador, un país geográficamente cercano a Colombia, se evidencia una tasa de infestación del 10.84%. Este valor cruza el umbral del 10%, que se ha señalado como el punto en el cual se debe considerar iniciar tratamientos para la enfermedad de varroasis. Estos resultados resaltan la importancia de no solo observar las tasas de infestación en sí, sino también comprender los umbrales críticos que indican la necesidad de intervenciones.

En el contexto colombiano, el estudio de Graciano (2018) en el departamento de Antioquia mostró una tasa de infestación de 6,11%. Estos resultados sugieren cierta consistencia

en las tasas de infestación en diferentes regiones del país, lo que podría ser influenciado por factores climáticos, genéticos y de manejo.

En los análisis derivados del muestreo efectuado en los municipios de Cajibío y Popayán, no se detectó la presencia de esporas atribuibles a (*Ascosphaera apis*). Esta observación en contraste con los resultados obtenidos por Tapia et al. (2020), quienes en su estudio registraron que el 74,1% de las 365 muestras evaluadas mostraron resultados positivos para (*Ascosphaera apis*). Estos hallazgos delimitan una prevalencia sustancial del hongo en las colonias de abejas en el sur de Jalisco, México.

Los resultados negativos pueden interpretarse de varias maneras, por un lado, se propone que en el momento del muestreo la población de los apiarios estudiados no estaba siendo afectada por las ascosferosis. Esto puede ser importante ya que indica que las abejas parecen estar libres de esta enfermedad entre los meses de mayo y agosto. Además, estos resultados podrían ser alentadores para los apicultores de la zona, dado que las prácticas de manejo que se están llevando a cabo son oportunas, asimismo, las condiciones ambientales podrían contribuir a la ausencia de la enfermedad.

La falta de resultados positivos no implica la ausencia permanente de la enfermedad en los apiarios de las zonas Cajibío y Popayán. La presencia de estos patógenos no es inmovil y puede experimentar variaciones a lo largo del tiempo debido a cambios climáticos, plantaciones de monocultivos cerca de la explotación apícola, o incluso el cambiar de técnicas de manejo en las colmenas podría repercutir en la aparición de ascosferosis.

También se debe tener en cuenta la sensibilidad de las técnicas de detección utilizadas en el muestreo y la hipótesis que la ascosferosis se encuentre presente en niveles bajos o en alguna

etapa muy temprana de la infección, pues de este modo podría no ser detectado por la técnica utilizada.

8 Conclusiones

En conclusión, el análisis exhaustivo de la presencia de varroasis y ascosferosis en los dos municipios estudiados arroja resultados alentadores y sugieren una situación favorable en términos de salud de la colonia de abejas.

De los resultados de los muestreos en los dos municipios, se puede inferir que las poblaciones de *Varroa destructor* se mantienen dentro de los rangos establecidos para considerar la presencia de una infestación acentuada en las colonias de abejas *Apis mellifera*.

Por otro lado, se fomenta la adopción de medidas preventivas en explotaciones donde el grado de infestación supera el 8%, ya que la literatura sugiere que se trata más de un déficit de manejo que de una infestación en la zona.

Por otro lado, la ausencia de esporas de *Ascosphaera apis* en los apiarios evaluados en ambos municipios es un resultado destacable y sugiere la posible ausencia o baja frecuencia de esta enfermedad en estas áreas específicas. Este hecho resalta la importancia de un seguimiento constante y detallado, ya que la detección temprana y el control eficaz son vitales para prevenir la propagación de enfermedades entre colonias.

Así, aunque no se evidenció la presencia de esporas correspondientes a *Ascosphaera apis*, no debe cesar la prevención y el refuerzo de prácticas de manejo y monitoreo. La salud de las abejas es esencial para la sostenibilidad de la apicultura y la preservación de la biodiversidad en los ecosistemas.

9 Recomendaciones

Dada la importancia de las abejas para la sostenibilidad de la apicultura y la biodiversidad en los ecosistemas locales, es recomendable continuar siguiendo rigurosamente los protocolos de manejo existentes.

Además, es crucial considerar la implementación de técnicas avanzadas de diagnóstico, como la prueba de Reacción en Cadena de la Polimeras (PCR) para la detección de esporas correspondiente a la enfermedad de ascosferosis. Se ha demostrado que esta metodología es más precisa y sensible en la identificación en comparación con otros enfoques tradicionales. Incorporar esta técnica en los programas de monitoreo podría proporcionar una evaluación más precisa y temprana de la presencia de la enfermedad, donde se recalca la utilización de pruebas de PCR múltiple, con la utilización de cebadores específicos para la *Ascosphaera apis*, permitiendo una respuesta más eficiente y efectiva.

10 Bibliografía

- Abad Corpa, E., Delgado Hito, P., & Cabrero García, J. (2010). La investigación-acción-participativa. Una forma de investigar en la práctica enfermera. *Investigación y Educación en Enfermería*, 28 (3), 464-474.
- Castagnino, G., Mateos, A., Meana, A., Montejó, L., Iturralde, L., & Cutuli de Simón, M. (2020). Etiology, symptoms and prevention of chalkbrood disease: a literature review. *Revista brasileira de saúde e produção animal*, 21, 1-16. <https://doi.org/10.1590/s1519-9940210332020>
- Cebrián, L. (2019). *Varroa destructor*, parásito de *Apis mellifera*. [Tesis de pregrado]. Universidad Zaragoza.
- Claro, R., A., Henao, J., & Medina, C. (2021). Abeja de la miel en Colombia. *Instituto Humboldt*. <http://reporte.humboldt.org.co/assets/docs/2020/4/408/reportes-bio-2020-20-09-2021-408.pdf>
- Díaz-Monroy, B. L., Moyón moyón, J., & Baquero-Tapia, M. F. (2019). Evaluación de tres alternativas para el control de varroasis (*Varroa destructor*) en apiarios ecuatorianos. *Ciencia y Agricultura*. <https://doi.org/10.19053/01228420.v16.n1.2019.8832>
- Evison, S. (2015). Chalkbrood: epidemiological perspectives from the host-parasite relationship. *Current opinion in insect science*, 10, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.04.015>
- Geografía Cajibío Cauca. (2015). <http://www.colombiaturismoweb.com/departamentos/cauca/municipios/cajibio/cajibio.htm>

- Graciano, L. (2018). *Niveles de infestación de Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae) en abejas africanizadas (Apis mellifera scutellata hib)*. [Tesis de maestría]. Universidad Nacional de Colombia.
- Iorizzo, M., Lombardi, S., Ganassi, S., Testa, B., Ianiro, M., Letizia, F., Succi, M., Tremonte, P., Vergalito, F., Cozzolino, A., Sorrentino, E., Coppola, R., Petrarca, S., Mancini, M., & De Cristofaro, A. (2020). Antagonistic activity against *ascosphaera apis* and functional properties of *lactobacillus kunkeei* strains. *Antibiotics*, 9(5), 2-16.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics9050262>
- Isaacs, R., Williams, N., Ellis, J., Pitts, T., Bommarco, R., & Vaughan, M. (2017). Integrated crop pollination: combining strategies to ensure stable and sustainable yields of pollination-dependent crops. *El servier*, 22, 44-60.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.baae.2017.07.003>
- Jensen, A., Aronstein, K., Flores, J., Vojvodic, S., Palacio, M., & Spivak, M. (2013). Standard methods for fungal brood disease research. *Journal of apicultural research*, 52(1), 1–20.
<https://doi.org/10.3896/ibra.1.52.1.13>
- Khan, K. A., & Ghramh, H. A. (2022). Evaluation of queen cell acceptance and royal jelly production between hygienic and non-hygienic honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *PLOS ONE*, 17(3), e0266145. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266145>
- Marques da Silva, H. (2019). Índice de infestación de ácaros *Varroa destructor* y comportamiento higiene en colonias de abejas *apis mellifera* en alagoas. Universidad federal de alagoas, 20.

- Mora, J. ((2023). *Infestación por Varroa destructor en tres Apíarios del Municipio de Arauca*. [Tesis de pregrado, Universidad Cooperativa de Colombia, Arauca]. *Repositorio Institucional UCC*.
- Noël, A., Conte, Y., Mondet, F. (2020). Varroa destructor: how does it harm apis mellifera honey bees and what can be done about it? *Emerging topics in life sciences*, 4(1), 45–57. <https://doi.org/10.1042/etls20190125>
- Noriega, A., Camacho, C., Ortega, R., Arroyo, J., & Gutiérrez, L. (2023). Varroa Destructor Classification Using Legendre–Fourier Moments with Different Color Spaces. *Journal of Imaging*, 9(7), 144. <https://doi.org/10.3390/jimaging9070144>
- Nuestra geografía popayán. (2022). <https://www.popayan.gov.co/mimunicipio/paginas/nuestra-geografia.aspx#gsc.tab=0>
- OIE (2021). Varroosis de las abejas melíferas (infestación de las abejas melíferas por varroa spp.). https://www.woah.org/fileadmin/home/esp/health_standards/tahm/3.02.07_varroosis.pdf
- OIE. (2022). Bienestar de los animales. En *Código Sanitario para los Animales Terrestres*. https://www.oie.int/fileadmin/home/esp/health_standards/tahc/current/chapitre_aw_introduction.pdf.
- Ollerton, J. (2017). Pollinator diversity: distribution, ecological function, and conservation. *Annual reviews*, 48, 353-376. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022919>
- Pirk, C., Crewe, R., & Moritz, R. (2016). Risks and benefits of the biological interface between managed and wild bee pollinators. *Functional ecology*, 11-14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1365-2435.12768>

- Pusceddu, M., Floris, I., Mangia, N., Angioni, A., & Satta, A. (2021). In vitro activity of several essential oils extracted from aromatic plants against *ascosphaera apis*. *Veterinary sciences*, 8(5), 80. <https://doi.org/10.3390/vetsci8050080>
- Ramsey, S., Ochoa, R., & Vanengelsdorp, D. (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *PNAS* 116(5)1792-1801. <https://doi.org/https://doi.org/10.1073/pnas.1818371116>
- Sanabria, J., Demedio, J., Pérez, T., Peñate, I., Rodríguez, D., & Lóriga, W. (2015). Índices de infestación por *Varroa destructor* en colmenas sin medidas de control. *Revista de Salud Animal*, 37(2), 118-124.
- Simone, M., Borba, R., Wilson, M., & Spivak, M. (2017). Propolis counteracts some threats to honey bee health. *Insects*, 8(2), 46. <https://doi.org/10.3390/insects8020046>
- Steinhauer, N., Vanengelsdorp, D., & Saegerman, C. (2020). Prioritizing changes in management practices associated with reduced winter honey bee colony losses for us beekeepers. *Sci total environ*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141629>
- Tapia González, J. M., Alcazar Ocegüera, G., Macías Macías, J. O., Contreras Escareño, F., Tapia Rivera, J. C., Petukhova, T., & Guzman Novoa, E. (2020). Ascospores in honey bees and their relationship with environmental factors in Jalisco, Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(2), 468-478. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i2.4926>
- Tibatá, V., Sánchez, A., Palmer-young, E., Junca, H., Solarte, V., Madella, S., Ariza, F., Figueroa, J., & Corona, M. (2021). Africanized honey bees in Colombia exhibit high prevalence but low level of infestation of varroa mites and low prevalence of pathogenic viruses. *Plos one*, 16(5), e0244906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244906>

Verde m., d. J. (february de 15 de 2021). Apicultura, salud y producción. Guía técnica para el apicultor. 1a ed. Instituto de medicina veterinaria, ministerio de agricultura: cuba.

https://eac.unr.edu.ar/wp-content/uploads/archivos/apicultores%20y%20salud%2013-11-2013%20digital_compressed.pdf.

Ye, Y., Fan, X., Long, Q., Wang, J., Zhang, W., Cai, Z., Sun, M., Gu, X., Zou, P., Chen, D., & Guo, R. (2022). Comprehensive investigation and regulatory function of lncrnas engaged in western honey bee larval immune response to *ascosphaera apis* invasion. *Front Physiol*, 13. Doi: 10.3389/fphys.2022.1082522.