

Racial status and index of hive (*Apis mellifera* L.) infestation by *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) in Mayabeque, Cuba

Estatus racial e índices de infestación de colmenas (*Apis mellifera* L.) por *Varroa destructor* (Anderson y Trueman) en Mayabeque, Cuba

Anisley Pérez and J. Demedio

Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez". Apartado Postal 18-19, CP 32700, San José de Las Lajas, Mayabeque, Cuba

Email: anisley_perez@unah.edu.cu

In order to evaluate the racial status and index of hive infestation (*Apis mellifera* L.) and infestation rates of *Varroa destructor* in adult bees, important phenotypic and genotypic traits of the honeybee were evaluated in the Centro de Cría de Abejas Reinas (CCR) in Mayabeque, Cuba. For this purpose, the coloration of worker bee samples was determined according to yellow, intermediate and black scale. Using the fixed rule method, a biometric study of workers from these same hives and the diameter of cell for workers was carried out and infestation rates of *Varroa destructor* were evaluated. The variables coloration, length of the right forewing and diameter of the worker cells, together with the usual defensive behavior, indicated that the phenomenon of Africanization is not present in the studied hives. Taking studies of the 80s as a reference, there is a reduction of the forewing and a blackening of these bees as a result of being subjected to a selection process for "tolerance to Varroa", developed by humans and the influence of nature. This last characteristic comes, obviously, from the most ancient original breed *Apis mellifera mellifera*. Evaluated traits and infestation rates of Varroa, which showed values over 5 %, correspond to those of European breeds that gave origin to the current Cuban bee.

Key words: *Apis mellifera*, racial status, varroosis, Africanization

The western honeybee, *Apis mellifera*, native from Europe, Africa and South-East Asia, was classified by Carolus Linnaeus in 1758. Due to the different environmental factors in each region, groups of individuals appeared which, although they belong to the same species, adapted to a particular environment and originated other groups, called geographic breeds, subspecies or ecotypes. German black bee (*Apis mellifera mellifera*), Italian bee (*Apis mellifera ligustica*), Carniolan honeybee (*Apis mellifera carnica*) and Caucasian honeybee (*Apis mellifera caucasia*) are the main geographical breeds introduced to the new world by the colonizers (Civantos *et al.* 2012).

Due to a program for the development of beekeeping in Brazil by Warwick Kerr, bees from the African breed *Apis mellifera scutellata* were introduced in 1956 and a year later, some swarms escaped and freely crossed with the existing population of European bees. This originated the aggressive hybrid, known as Africanized bee, which has been spread throughout almost all the America (Verde *et al.* 2012).

Con el objetivo de evaluar el estatus racial e índices de infestación de colmenas (*Apis mellifera* L.) y las tasas de infestación por *Varroa destructor* en abejas adultas (TIA), se evaluaron rasgos fenotípicos y genotípicos importantes de la abeja melífera en un Centro de Cría de Abejas Reinas de Mayabeque, Cuba. Para ello se determinó la coloración de muestras de abejas obreras por la escala de amarillas, intermedias y negras. Mediante el método de la regla fija se realizó un estudio biométrico de las obreras de esas mismas colmenas y del diámetro de las celdas de obreras y se evaluaron las tasas de infestación por el ácaro *Varroa destructor* (TIA). Las variables coloración, longitud del ala anterior derecha y diámetro de las celdas de obreras, en conjunto, unidas al comportamiento defensivo habitual indicaron que el fenómeno de la africanización no está presente en las colmenas estudiadas. Al tomar como referencia los trabajos de los años 80, se percibe reducción del ala anterior y ennegrecimiento de estas abejas como consecuencia de estar sometidas a un proceso de selección para "tolerancia a Varroa", desarrollado por el hombre y la influencia de la naturaleza. Esta última característica procede, obviamente, de la más rústica raza original *Apis mellifera mellifera*. Los rasgos evaluados y las tasas de infestación por Varroa, que presentaron valores por encima de 5 %, se corresponden con los de las razas europeas que dieron origen a la actual abeja cubana.

Palabras clave: *Apis mellifera*, estatus racial, varroosis, africanización

La abeja melífera occidental *Apis mellifera*, originaria de Europa, África y Asia Sudoriental, fue clasificada por Carolus Linnaeus en 1758. Debido a los diferentes factores ambientales existentes en cada región, se originaron conjuntos de individuos que, aunque pertenecen a la misma especie, se adaptaron a un medio particular y originaron grupos, denominados razas geográficas, subspecies o ecotipos. La abeja negra o alemana (*Apis mellifera mellifera*), la italiana o amarilla (*Apis mellifera ligustica*), la carniola o cárnica (*Apis mellifera carnica*) y la caucásica o *Apis mellifera caucásica* son las principales razas geográficas introducidas al nuevo mundo por los colonizadores (Civantos *et al.* 2012).

En un programa para el desarrollo de la apicultura de Brasil a cargo de Warwick Kerr, se introdujeron en 1956 abejas de la raza africana *Apis mellifera scutellata* y un año después, se escaparon algunos enjambres que se cruzaron libremente con la población de abejas europeas existente. Se originó así el agresivo híbrido, conocido como abeja africanizada, que se ha extendido por casi toda América (Verde *et al.* 2012).

The spreading of this hybrid introduced important changes in beekeeping. Initially, there was a decrease in honey production due to the abandonment of beekeepers by the African contribution (Ratcliffe *et al.* 2011), explained by the defensive behavior (aggressive) of these hybrids. Later, when better management programs of these new bees were produced, superior productive results to those obtained so far with their European relatives were obtained. Therefore, it is essential to know the degree of Africanization of bees in order to take appropriate management measures. Morphometry is an instrument that helps to recognize different species and breeds (Pereira *et al.* 2013).

In order to determine the Africanization degree of bees, different morphometric analyzes have been proposed (Rinderer *et al.* 1993). Some, such as the Fabis method (Sylvester and Rinderer 1987), become difficult from the economic and practical point of view, since they take into account many characteristics. Instead, another simpler method has been proposed, which includes only the right fore wing length, being this the only feature that differentiates European from Africanized bees (Rinderer *et al.* 1986). It has been reported that means of the right fore wing length are inferior in Africanized bees (Souza *et al.* 2009).

Since Cuba is located in a geographical area where these hybrids are widely spread, and since there are antecedents of intentional introduction of harmful biological material, it is logical to expect the presence of this hybrid in the country (Demedio 2001). Therefore, it is evident the need to determine, at least, morphological variables (Medina-Flores *et al.* 2014) that allow to discard the possible presence of these hybrids in Cuba and that, together with coloration, serve as a basis for comparison among hives of different hygienic, grooming and defensive behavior, and some others, in correspondence with the rates of infestation of the Varroa mite. Based on these premises, the objective of this study was to determine the racial status and infestation rates of *V. destructor* of hives (*Apis mellifera* L.) from Mayabeque, Cuba.

Materials and Methods

This research was conducted in 15 hives (10 maternal and 5 paternal) from the Centro de Cría de Abejas reinas in Mayabeque, Cuba, during February, March, April and May, 2007, and February and May, 2008. Three studies were carried out: 1) determination of coloration in samples of worker bees, based on yellow, intermediate and black color categories (Voroshilov 2008); 2) biometrical study of workers bees of the same hive due to the length of the right forewing (Rinderer *et al.* 1986 and Souza *et al.* 2009) and the diameter of the hive cells of the young workers; and 3) determination of infestation rates of *V. destructor* in adult bees. This center produces around 2 600 queen bees per year and covers more than 50 % of the provincial demand.

La dispersión del híbrido introdujo cambios importantes en la apicultura. Inicialmente se produjo un descenso en la producción de miel, debido al abandono de los apicultores por el aporte africano (Ratcliffe *et al.* 2011) que se explica por el comportamiento defensivo (agresivo) de estos híbridos. Más tarde, cuando se elaboraron mejores programas de manejo de estas nuevas abejas se lograron resultados productivos superiores a los obtenidos hasta el momento con sus parientas europeas. Es esencial entonces conocer el grado de africanización que tienen las abejas para poder tomar mediadas de manejo adecuadas. La morfometría es un instrumento que ayuda a reconocer las diferentes especies y razas (Pereira *et al.* 2013).

Con el propósito de determinar el grado de africanización de las abejas, se han propuesto diferentes análisis morfométricos (Rinderer *et al.* 1993). Algunos, como el método Fabis (Sylvester y Rinderer 1987), se tornan difíciles desde el punto de vista económico y práctico, pues tienen en cuenta muchas características. En su lugar, se ha propuesto otro método más sencillo, que incluye solo la longitud del ala anterior derecha, por ser el rasgo único que mejor discrimina entre europeas y africanizadas (Rinderer *et al.* 1986). Se ha informado que las medias de la longitud del ala anterior derecha son inferiores para las abejas africanizadas (Souza *et al.* 2009).

Al estar Cuba ubicada en un área geográfica donde están ampliamente extendidos estos híbridos, y al existir antecedentes de introducción intencional de material biológico dañino, es ilógico esperar la presencia de este híbrido en el país (Demedio 2001). Por ello, es evidente la necesidad de determinar, al menos, variables morfológicas (Medina-Flores *et al.* 2014) que permitan descartar la posible presencia de esos híbridos en Cuba y que, unido a la coloración, sirvan de base para la comparación entre colmenas de diverso comportamiento higiénico, de acicalamiento, defensivo y otros, en correspondencia con los índices de infestación del ácaro Varroa. A partir de estas premisas, el objetivo de este estudio fue determinar el estatus racial y los índices de infestación por *V. destructor* de colmenas (*Apis mellifera* L.) provenientes de Mayabeque, Cuba.

Materiales y Métodos

La investigación se llevó a cabo en 15 colmenas (10 maternas y 5 paternas) del Centro de Cría de Abejas Reinas de Mayabeque durante febrero, marzo, abril y mayo de 2007, y febrero y mayo de 2008. Se efectuaron tres estudios: 1) determinación de la coloración de muestras de obreras, basada en las categorías amarilla, intermedia y negra (Voroshilov 2008); 2) estudio biométrico de obreras de esas mismas colmenas por la longitud del ala anterior derecha (Rinderer *et al.* 1986 y Souza *et al.* 2009) y del diámetro de las celdas de sus panales de cría de obreras; 3) determinación de las tasas de infestación por *V. destructor* en abejas adultas (TIA). Este Centro produce aproximadamente 2 600 reinas por año y cubre más del 50 % de la demanda provincial.

In each trial, 50 bees per hive were taken at random (Morales-Pérez 2012), deposited in flasks with pierced tops, previously identified. Samples were frozen as a method of slaughtering the bees. Subsequently, their coloration was determined based on three categories (yellow, black and intermediate), for which a simple magnifying glass was used. The colors of bee breeds that originated the bees currently existing in Cuba were used as base. Hives were always worked with the protection means commonly used in the country.

In order to measure the right forewing, it was detached from the bee and put in a laminar microscope slide with Canadian balm, at a rate of 25 wings per slide. They were let to dry for 48-72 h for measuring them later in a stereoscopic microscope with micrometric ocular.

During the months of evaluation, a diagnosis was performed to infestation rates of *Varroa* in adult bees, according to the classical method of De Jong *et al.* (1982), from samples of ≥ 200 adult bees per hive (OIE 2008), taken at random, to establish their possible relation with coloration patterns of workers of these hives.

Data were processed with descriptive statistics and means were compared with the Multiple Range Test (Duncan 1955) and the test of proportion comparison from Statgraphics Plus 5.1 package (Statistical Graphics Crop 2000).

Results and Discussion

Hives showed their usual defensive activity, acknowledged by beekeepers. It was verified a predominance of black color in the CCR, almost as the only pure, with almost null frequency of the yellow and a great population of individuals classified as intermediate due to the presence of both colors in the abdominal segments (figure 1). It calls the attention the maintenance of proportions of black color of bees, between 62 % and 70 %, in maternal hives during the studied months. Something different happened in the paternal hives, native from the area, with a significant decrease of black color to 38 % in May 2008. This is likely to explain by substitutions of original bees and it is less likely by attributing it to alternation in the use of spermatozoids of different drones by the queens (Verde *et al.* 2012).

There were fluctuations within paternal and maternal groups. This performance was observed by Sanabria (2004) and Díaz-Rieumont (2006) in a selection apiary of the area and it can be considered as an evidence of use alternation of spermatozoid packages from different drones. It is not rejected the participation of individuals from handled or wild apiaries in a range that, according to Pérez-Piñero (2007), may surpass 10 km.

In another study, Sanabria (2007) observed between 36 and 42 % of black bees, but in an

En cada ensayo se tomaron muestras al azar de 50 abejas por colmena (Morales-Pérez 2012), depositadas en pomos con tapas horadadas, previamente identificados. Las muestras se sometieron a congelación como método de sacrificio de las abejas. Posteriormente, se determinó su coloración sobre la base de tres categorías (amarillo, negro e intermedio), para lo que se utilizó una lupa simple. Se tomaron como base los colores de las razas de abejas que dieron origen a las abejas existentes en Cuba en la actualidad. Las colmenas siempre se trabajaron con los medios de protección utilizados habitualmente en el país.

Para medir el ala anterior derecha, se desprendió y se montó en láminas portaobjetos con bálsamo de Canadá, a razón de 25 alas por lámina. Se dejaron secar durante 48-72 h para medirlas posteriormente en un microscopio estereoscópico con ocular micrométrico.

En correspondencia con los meses de evaluación, se realizó el diagnóstico de las tasas de infestación por *Varroa* en abejas adultas, según el método clásico de De Jong *et al.* (1982), a partir de muestras de ≥ 200 abejas adultas por colmena (OIE 2008) tomadas al azar, para establecer su posible relación con los patrones de coloración de las obreras de estas colmenas.

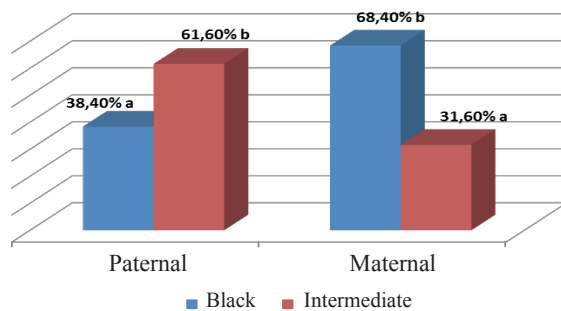
Los datos se procesaron mediante estadística descriptiva y las medias se compararon por el Test de Rangos Múltiples (Duncan 1955) y el de comparación de proporciones del paquete Statgraphics Plus 5.1 (Statistical Graphics Crop 2000).

Resultados y Discusión

Las colmenas mostraron su actitud defensiva habitual reconocida por los apicultores. Se constató en el CCR un claro predominio del color negro, prácticamente como único puro, con casi nula frecuencia del propiamente amarillo y gran población de individuos que clasifican como intermedios por la presencia de ambos colores en los segmentos abdominales (figura 1). Llama la atención el mantenimiento de las proporciones de abejas de color negro, entre 62 % y 70 %, en las colmenas maternas durante los meses estudiados. Algo diferente ocurrió en las paternas, originarias de la zona, entre las que el color negro cayó significativamente a 38 % en mayo de 2008. Lo más probable es que esto se pueda explicar por sustituciones de las reinas originales y, es menos posible, que se pueda atribuir a la alternancia en la utilización por parte de las reinas de espermatozoides de diferentes zánganos (Verde *et al.* 2012).

Se observaron fluctuaciones dentro de los grupos paternos y maternos. Este comportamiento fue observado por Sanabria (2004) y Díaz-Rieumont (2006) en un apiario de selección de la zona y se puede considerar una evidencia de la alternancia de utilización de paquetes de espermatozoides de diferentes zánganos. No se descarta la participación de individuos de apiarios manejados o silvestres en un radio que, según Pérez-Piñero (2007), puede superar los 10 km.

En otro estudio, Sanabria (2007) observó porcentajes



F = 6.24*** (P < 0.001) Duncan (P < 0.05; EE = 0.07)

Figure 1. Comparison of proportions of black and intermediate color bees between paternal and maternal hives from CCR

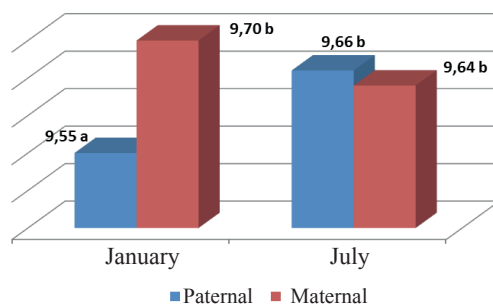
experimental without treatment apiary, these values were inferior to 48 and 59 %. The presence of black bees in this CCR is significant, especially in maternal hives, but also in paternal. This could be explained from the preservation of original maternal queens (black) from the selection apiary from the Centro de Investigaciones Apícolas.

There are also differences between means of right forewing length of workers from maternal and paternal hives (figura 2). The smaller dimensions, from January, may have their origin in the environmental effect imposed by hive aging (Aguirre 2005), which is more probable than causes of genetic origin. The delay in renovation of chamber provokes a reduction of breeding cell capacity and, as a consequence, the development of smaller bees (Verde *et al.* 2013), although in this case, they are superior to values in Africanized bees (Sanabria 2007).

The first biometric studies conducted in Cuba, more

de abejas negras entre 36 y 42%, pero en un apiario experimental sin tratamiento, claramente inferiores al 48 y 59 %. Es significativa la presencia de abejas negras en este CCR, especialmente en las colmenas maternas, pero también en las paternas. Esto se pudiera explicar a partir de la preservación de las reinas maternas originales (negras) procedentes del apiario de selección del Centro de Investigaciones Apícolas.

Se observan además diferencias entre las medias de la longitud del ala anterior derecha de las obreras provenientes de colmenas maternas y paternas (figura 2). Las menores dimensiones correspondientes a enero deben tener su origen en el efecto ambiental que impone el envejecimiento de panales (Aguirre 2005), más que causas de origen genético. El retraso en la renovación de la cámara provoca reducción de la capacidad de las celdas de cría y en consecuencia, el desarrollo de abejas más pequeñas (Verde *et al.* 2013), aunque en este caso, muy superiores a los valores en abejas africanizadas (Sanabria 2007).



Different letters indicate significant difference (P < 0.05)

Figure 2. Comparison of lengths of the right forewing (mm) of workers from maternal and paternal hives at the CCR

than 20 years ago (Díaz-Millán 1981a,b and Díaz-Millán and Domínguez 1981), determined a national mean of 9.60 mm for black bees and a minimal of 9.50 mm for yellow bees in areas of the central region, as well as 9.70 mm in Sagua de Tánamo, Guantánamo.

It was considered that they were above the measures reported for the breeds originally introduced in Cuba. Due to the current means that appear in the previous

En los primeros trabajos biométricos realizados en Cuba hace más de 20 años (Díaz-Millán 1981a,b y Díaz-Millán y Domínguez 1981), se determinó una media nacional de 9.60 mm para abejas negras y para las amarillas, con mínimo de 9.50 mm en zonas de la región central y 9.70 mm en Sagua de Tánamo, Guantánamo. Se tuvo en cuenta que estuvieran por encima de las medidas informadas para las razas que introducidas originalmente en Cuba. Si hoy se obtuvieron las medias que aparecen en

figure, there has been an evident shortening of this variable, which could be explained by two factors. In the first place, the age of honeycomb from the breeding chamber was not taken into account, because the older they are, smaller bees produce (Piccirillo and De Jong 2003 and Sanabria 2007). Another factor to be considered, on which there are no previous studies, is related to the effect of varroosis and its safe modification of population genetic background. This is caused by the high number of hives that perished in the initial stage and with selection processes that have been developed based on tolerance to the parasite, expressed by low infestation rates, and productivity, which occupies the prime place (MINAG 2014).

Despite the pointed reductions, even the lowest mean of paternal of CCR is above those found in Latin America in Africanized populations. In Colombia, Salamanca *et al.* (2001, 2004) reported means of 8.50-8.74 mm. Ruttner (1988) obtained in Spain values of 9.41 mm and 9.82 mm in *A. mellifera iberica*. In localities of La Palma, Canary Islands, and the Iberian Peninsula, Padilla *et al.* (2001a,b) reported means of 9.41-9.82 mm. In Mexico, Aguirre (2005) considered not yet Africanized bees with means from 9.19 to 9.29 mm. These relatively low measures were attributed to the aging of the breeding chamber. Means of 9.22 mm (Portugal and Spain), 9.09 mm (Morocco) and 9.28 mm (France), determined by Arias *et al.* (2006), did not belong to Africanized bees when they were compared by electrophoresis tests (MDH-1) or mtDNA tests.

It has long been known that African breeds such as *A. mellifera adansonii* and *A. mellifera scutellata* create smaller cells (Guzmán-Novoa *et al.* 2011), so this characteristic has been considered in the Africanized Bee Control Program in Mexico. This study shows evidence (table 1) that all mean lengths are above the level corresponding to European bees (5.20 mm), and above those corresponding to Africanized or African bees (4.90 mm).

Other results obtained in Brazil (De Jong 2001, Piccirillo 2001 and Piccirillo and De Jong 2003) and by American authors (Hall *et al.* 2015) support the above mentioned, since the African ones do not exceed 4.90 mm in natural honeycombs and 5.20 mm on wax printed sheets for European bees, which are the ones used in Cuba. Precisely in this area of the country, Sanabria *et al.* (2015) determined a mean superior to 5.27 mm, which, together with other characteristics, allowed them to conclude that there was no Africanization.

The mean infestation rate in adult bees from maternal hives (270 mites/5,224 bees) did not differ from those from paternal hives (574 mites/10 780 bees) (figure 3). The explanation for this behavior is difficult, due to the preference of female founders of Varroa mite for drone cells and for their better reproductive success here. In addition, the paternal hives are responsible for bringing the males for fertilization in the CCR,

la figura anterior, se ha producido un evidente acortamiento de esta variable, lo que pudiera explicarse por dos factores. En primer lugar, no se tuvo en cuenta la edad de los panales de la cámara de cría, ya que cuanto más viejos producen abejas de menor tamaño (Piccirillo y De Jong 2003 y Sanabria 2007). El otro factor a considerar, sobre el que no se han localizado estudios precedentes, está relacionado con el efecto de la varroosis y su segura modificación del genofondo poblacional, debido al gran número de colmenas que perecieron en la etapa inicial y también con los procesos de selección que se han desarrollado sobre la base de la tolerancia al parásito, expresada por bajas tasas de infestación, y la productividad, que ocupa el lugar primordial (MINAG 2014).

A pesar de las reducciones señaladas, aún la media menor de las paternas del CCR está por encima de las halladas en Latinoamérica en poblaciones africanizadas. En Colombia, Salamanca *et al.* (2001, 2004) informaron medias de 8.50 mm – 8,74 mm. Ruttner (1988) obtuvo en España valores de 9.41 mm y 9.82 mm en *A. mellifera iberica*. En localidades de La Palma, Islas Canarias, y la Península Ibérica, Padilla *et al.* (2001a, b) refirieron medias de 9.41 mm – 9.82 mm. En México Aguirre (2005) consideró no africanizadas aún a abejas con medias de 9.19 mm a 9,29 mm. Estas medidas, relativamente bajas, las atribuyó al envejecimiento de la cámara de cría. Las medias de 9.22 mm (Portugal y España), 9.09 mm (Marruecos) y 9.28 mm (Francia), determinadas por Arias *et al.* (2006), no correspondieron a africanizadas cuando se contrastaron por pruebas de electroforesis (MDH-1) o ADNmt.

Desde hace tiempo, se sabía que razas africanas como *A. mellifera adansonii* y *A. mellifera scutellata* construyen celdas más pequeñas (Guzmán-Novoa *et al.* 2011), por lo que esta característica se ha considerado en el Programa de Control de la Abeja Africanizada en México. Resulta evidente en este trabajo (tabla 1) que todas las longitudes medias estén por encima del nivel correspondiente a las abejas europeas (5.20 mm), y por encima de las que corresponden a las africanizadas o africanas (4.90 mm).

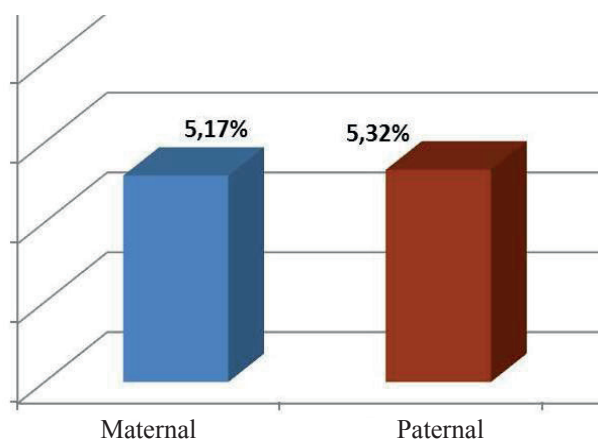
Otros resultados obtenidos en Brasil (De Jong 2001, Piccirillo 2001 y Piccirillo y De Jong 2003) y por autores norteamericanos (Hall *et al.* 2015) apoyan lo antes referido, por cuanto las africanas no sobrepasan los 4.90 mm en panales naturales y 5.20 mm en obra sobre láminas de cera estampada para europeas, que son las utilizadas en Cuba. Precisamente en esta zona del país, Sanabria *et al.* (2015) determinaron una media superior a 5.27 mm, lo que unido a otras características le permitió concluir que no existía africanización.

La tasa media de infestación en abejas adultas de las colmenas maternas (270 ácaros/5 224 abejas) no difirió respecto a las de colmenas paternas (574 ácaros/10 780 abejas) (figura 3). La explicación a este comportamiento resulta difícil, debido a la preferencia de las hembras fundadoras del ácaro Varroa por las celdas de zánganos

Table 1. Means of diameters of young worker cells in paternal (P) and maternal (M) hives from CCR. (six measurements belonged to each mean per hive).

Hives	Diameter measurements of 10 cells of workers (cm)					
	02/07	03/07	04/07	05/07	02/08	04/08
P1	5.47	5.33	5.10	5.30	5.30	5.25
P2	5.25	5.28	5.30	5.30	5.40	5.35
P3	5.30	5.21	5.20	5.50	5.26	5.40
P4	5.45	5.21	5.20	5.30	5.48	5.40
P5	5.48	5.26	5.20	5.40	5.37	5.40
P6	5.41	5.31	5.30	5.50	5.36	5.35
P7	5.48	5.31	5.30	5.30	5.42	5.30
P8	5.40	5.27	5.20	5.30	5.38	5.30
P9	5.42	5.24	5.20	5.26	5.38	5.35
P10	5.38	5.31	5.30	5.30	5.37	5.35
Sub-total	$X_{p1} = 5.37 \pm 0.15$			$X_{p2} = 5.37 \pm 0.10$		
M1	5.45	5.33	5.30	5.30	5.22	5.30
M2	5.42	5.31	5.30	5.38	5.38	5.37
M3	5.53	5.36	5.30	5.40	5.38	5.40
M4	5.63	5.35	5.40	5.30	5.37	5.35
M5	5.40	5.28	5.30	5.30	5.38	5.35
Sub-total	$X_{m1} = 5.38 \pm 0.15$			$X_{m2} = 5.35 \pm 0.11$		

Multiple Range Test (Duncan): $X_{p1} = X_{p2} = X_{m1} = X_{m2}$ ($P > 0.05$) n.s.



Proportion comparisons $F = 0.17$ n.s. ($SE = 0.00$)

Figure 3. Mean infestation rates (%) of maternal and paternal hives of the CCR, in four months of 2007 and two of 2008.

implying a high amount of drone breeding in them (Verde *et al.* 2013).

This situation, which at first sight could be evaluated as favorable, is due to the low presence of drone breeds in the paternal hives, which naturally should experience a faster increase in parasitism. In addition, the maternal hives come from a selection apiary, which takes as principle the maintenance of low infestation rates, without the aid of treatments.

Mean infestation rates above 5 %, considered the

y por su mayor éxito reproductivo aquí; además de que son precisamente las colmenas paternas las encargadas de aportar los machos para la fecundación en el CCR, lo que supone una elevada cantidad de cría de zánganos en ellas (Verde *et al.* 2013).

Esta situación, que a primera vista podría evaluarse como favorable, se debe a la poca presencia de cría de zánganos en las colmenas paternas, que de modo natural deben experimentar un incremento más acelerado del parasitismo. A esto se añade que las maternas provienen

danger threshold in Cuba (Verde *et al.* 2013), indicate the existence of hives with values above that level. This does not correspond to the situations reported for Africanized hives in continental America (Maggi *et al.* 2012 and Galindo-Cardona 2013), so it constitutes an additional element in correspondence with the racial status of European origin of the current Cuban bee. Biometric features, the appreciated defensive behavior and the infestation rate of *Varroa destructor* are in accordance to the European origin status of the studied hives.

de un apiario de selección, en el cual se toma como criterio el mantenimiento de bajas tasas de infestación, sin el auxilio de tratamientos.

Las tasas medias de infestación por encima de 5%, considerado el umbral de peligro en Cuba (Verde *et al.* 2013) indican la existencia de colmenas con valores por encima de ese nivel. Esto no se corresponde con las situaciones informadas para colmenas africanizadas de América Continental (Maggi *et al.* 2012 y Galindo-Cardona 2013), de manera que constituye un elemento adicional en correspondencia con el estatus racial de origen europeo de la abeja cubana actual. Los rasgos biométricos, la conducta defensiva apreciada y la tasa de infestación por *Varroa destructor*, están en correspondencia con el estatus de origen europeo de las colmenas estudiadas.

References

- Aguirre, J. L. 2005. La varroasis en colmenas de Baja California Sur. El agente etiológico y opciones para su control. Ph.D. Thesis, Universidad Autónoma de Baja California Sur – Universidad Agraria de La Habana, México - Cuba, 113 p.
- Arias, M. C., Rinderer, T. E. & Sheppard, W. S. 2006. "Further characterization of honey bees from the Iberian Peninsula by allozyme, morphometric and mtDNA haplotype analyses". *Journal of Apicultural Research*, 45(4): 188–196, ISSN: 0021-8839, DOI: 10.1080/00218839.2006.11101346.
- Civantos, E., Thuiller, W., Maiorano, L., Guisan, A. & Araújo, M. B. 2012. "Potential Impacts of Climate Change on Ecosystem Services in Europe: The Case of Pest Control by Vertebrates". *BioScience*, 62(7): 658–666, ISSN: 0006-3568, DOI: 10.1525/bio.2012.62.7.8.
- De Jong, D. 2001. "Genética aplicada a los programas de selección". In: VII Congreso Internacional de Actualización Apícola - I Foro de Vinculación Apícola, Veracruz, México: Asociación Nacional de Médicos Veterinarios Especialistas en Abejas (ANMVEA) – Universidad Veracruzana, pp. 83–87.
- De Jong, D., Roma, D. de A. & Goncalves, L. S. 1982. "A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honeybees". *Apidologie*, 13(3): 297–306, ISSN: 0044-8435, 1297-9678.
- Demedio, J. 2001. La varroasis de las abejas en una zona de la provincia de La Habana. Agente etiológico, índices de infestación y control biotécnico y químico. Ph.D. Thesis, Universidad Agraria de La Habana, La Habana, Cuba, 107 p.
- Díaz-Millán, M. 1981a. "Características morfológicas de la abeja (*Apis mellifera*) en las diferentes regiones de Cuba, donde se seleccionarán colmenas para constituir apiarios de reserva". *Agrotecnia de Cuba*, 13(1): 8–17, ISSN: 2414-4673, 0568-3114.
- Díaz-Millán, M. 1981b. "Estudio morfométrico de la abeja (*Apis mellifera*) en la antigua provincia de Las Villas". *Agrotecnia de Cuba*, 13(2): 14–22, ISSN: 2414-4673, 0568-3114.
- Díaz-Millán, M. & Domínguez, D. A. 1981. "Estudio morfométrico de la abeja (*Apis mellifera*) en la antigua provincia de Las Villas". *Agrotecnia de Cuba*, 13(2): 121–131, ISSN: 2414-4673, 0568-3114.
- Díaz-Rieumont, S. 2006. Estudio del comportamiento de los índices de infestación por *Varroa destructor*, su relación con dos mecanismos conductuales de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.) y sus características morfológicas. Graduated Thesis, Universidad Agraria de La Habana, La Habana, Cuba, 71 p.
- Duncan, D. B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". *Biometrics*, 11(1): 1–42, ISSN: 0006-341X, DOI: 10.2307/3001478.
- Galindo-Cardona, A. 2013. "Especies Invasoras. *Apis mellifera* L., de África vinieron todas". *Boletín de la Sociedad Entomológica Argentina*, 23(1): 3–4, ISSN: 1666-4612, 1515-1557.
- Guzmán-Novoa, E., Correa-Benítez, A., Espinosa-Montaña, L. G. & Guzmán-Novoa, G. 2011. "Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México". *Veterinaria México*, 42(2): 149–178, ISSN: 0301-5092.
- Hall, H. G., Zettel-Nalen, C. & Ellis, J. D. 2015. African Honey Bee: What You Need to Know. EDIS, University of Florida, Available: <<http://edis.ifas.ufl.edu/mg113>>, [Consulted: July 4, 2017].
- Maggi, M., Medici, S., Quintana, S., Ruffinengo, S., Marcángeli, J., Martínez, P. G., Fuselli, S. & Eguaras, M. 2012. "Genetic structure of *Varroa destructor* populations infesting *Apis mellifera* colonies in Argentina". *Experimental and Applied Acarology*, 56(4): 309–318, ISSN: 0168-8162, 1572-9702, DOI: 10.1007/s10493-012-9526-0.
- Medina-Flores, C. A., Guzmán-Novoa, E., Hamiduzzaman, M. M., Aréchiga-Flores, C. F. & López-Carlos, M. A. 2014. "Africanized honey bees (*Apis mellifera*) have low infestation levels of the mite *Varroa destructor* in different ecological regions in Mexico". *Genetics and Molecular Research*, 13(3): 7282–7293, ISSN: 1676-5680.
- MINAG (Ministerio de la Agricultura de Cuba) 2014. Programa de mejoramiento genético de la abeja *Apis mellifera* con abejas localmente adaptadas al ácaro *Varroa destructor*. Cuba: CIAPI.
- Morales-Pérez, G. E. 2012. Detección de Abeja Africana (*Apis mellifera* scutellata) en la Comarca Lagunera. Graduated Thesis, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Coahuila, México, 46 p.
- OIE (Office International des Épizooties) 2008. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals: mammals, birds, and bees. 6th ed., Paris: Office International des Épizooties, 1343 p., Available: <<http://books.google.com/books?id=xmZWAAAAYAAJ>>, [Consulted: July 4, 2017].

- Padilla, A. F., Hernández, F. R. & Reyes, L. J. 2001a. “Estudio biométrico de la abeja melífera (*Apis mellifera*, Linneo 1758) (Hymenoptera, Apidae) de la isla de La Palma del Archipiélago Canario. II. Ángulos y longitudes de las alas.”. *Zoología Baética*, 12: 23–35, ISSN: 1130-4251.
- Padilla, F., Valerio, M. J., Campano, F., Jiménez, E., Puerta, F., Flores, J. M. & Bustos, M. 2001b. “Estudio biométrico de poblaciones de abejas (*Apis mellifera* L.) del centro de Portugal y de Madeira”. *Archivos de Zootecnia*, 50(190): 67–77, ISSN: 0004-0592.
- Pereira, R. A., Morais, M. M., Francoy, T. M. & Gonçalves, L. S. 2013. “Hygienic Behavior of Africanized Honey Bees *Apis mellifera* Directed towards Brood in Old and New Combs during Diurnal and Nocturnal Periods”. *Insects*, 4(4): 521–532, ISSN: 2075-4450, DOI: 10.3390/insects4040521.
- Pérez-Piñeiro, A. 2007. *Manual de Apicultura*. La Habana, Cuba: Agrinfor, 154 p., ISBN: 959-246-130-9.
- Piccirillo, G. A. 2001. Efeito do tamanho da célula do favo de cria sobre a variabilidade morfológica das abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) e sobre a infestação e reprodução do ácaro *Varroa jacobsoni*. M.Sc. Thesis, Universidade de São Paulo, Brasil, 133 p.
- Piccirillo, G. A. & De Jong, D. 2003. “The influence of brood comb cell size on the reproductive behavior of the ectoparasitic mite *Varroa destructor* in Africanized honey bee colonies”. *Genetics and Molecular Research*, 2(1): 36–42, ISSN: 1676-5680.
- Ratcliffe, N. A., Mello, C. B., Garcia, E. S., Butt, T. M. & Azambuja, P. 2011. “Insect natural products and processes: New treatments for human disease”. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41(10): 747–769, ISSN: 0965-1748, DOI: 10.1016/j.ibmb.2011.05.007.
- Rinderer, T. E., Buco, S. M., Rubink, W. L., Daly, H. V., Stelzer, J. A., Riggio, R. M. & Baptista, F. C. 1993. “Morphometric identification of Africanized and European honey bees using large reference populations”. *Apidologie*, 24(6): 569–585, ISSN: 0044-8435, DOI: 10.1051/apido:19930605.
- Rinderer, T. E., Sylvester, H. A., Brown, M. A., Villa, J. D., Pesante, D., Collins, A. M., Spencer, R., Kleinpeter, S. & Lancaster, V. 1986. “Field and simplified techniques for identifying africanized and european honey bees”. *Apidologie*, 17(1): 33–48, ISSN: 0044-8435, DOI: 10.1051/apido:19860104.
- Ruttner, F. 1988. *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, ISBN: 978-3-642-72651-4, Available: <<http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-72649-1>>, [Consulted: July 4, 2017].
- Salamanca, G. G., Benítez, R., Montes, M. & Fernández, K. 2001. Estudio puntual del nivel de defensividad en colmenas de abejas *Apis mellifera* medido en distintas horas del día. Apiservices, Available: <<http://www.apiservices.biz/es/articulos/ordenar-por-popularidad/729-estudio-puntual-del-nivel-de-defensividad>>, [Consulted: July 4, 2017].
- Salamanca, G., Tello, D. J. & Alentar-Arnaut, V. 2004. “25 años de la abeja africanizada a su paso por Colombia (1978-2003)”. In: I Congreso Cubano de Apicultura, La Habana, Cuba: APICUBA - MINAG.
- Sanabria, J. L. 2004. Evaluación de dos mecanismos de defensa de las abejas *Apis mellifera* frente al ácaro *Varroa destructor*. M.Sc. Thesis, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), La Habana, Cuba, 54 p.
- Sanabria, J. L. 2007. Índices de infestación, estatus racial y expresión de mecanismos de resistencia en colmenas sin control antivarroa. Ph.D. Thesis, Universidad Agraria de La Habana, La Habana, Cuba, 121 p.
- Sanabria, J. L., Demedio, J., Pérez, T., Peñate, I., Rodríguez, D. & Lóriga, W. 2015. “Índices de infestación por *Varroa destructor* en colmenas sin medidas de control”. *Revista de Salud Animal*, 37(2): 118–124, ISSN: 0253-570X.
- Souza, D. L., Evangelista-Rodrigues, A., Ribeiro, M. N., Padilla-Álvarez, F., Farias, E. S. L. & Pereira, W. E. 2009. “Análises morfométricas entre *Apis mellifera* da mesorregião do sertão paraibano”. *Archivos de Zootecnia*, 58(221): 65–71, ISSN: 0004-0592.
- Statistical Graphics Crop 2000. STATGRAPHICS® Plus. (ser. Profesional), version 5.1, [Windows], Available: <<http://www.statgraphics.com/statgraphics/statgraphics.nsf/pd/pdpricing>>.
- Sylvester, H. A. & Rinderer, T. E. 1987. “Fast Africanized bee identification system (FABIS) manual”. *American Bee Journal*, 127: 511–516, ISSN: 0002-7626.
- Verde, M., Demedio, J. & Gómez, T. 2013. *Apicultura. Salud y Producción. Guía técnica para el apicultor*. 1st ed., vol. 2, Cuba: ACPA, 208 p., ISBN: 978-959-7190-21-9.
- Verde, M., Gómez, T. & Demedio, J. 2012. *Salud Apícola. Generalidades*. 1st ed., vol. 1, Cuba: ACPA, 207 p., ISBN: 978-959-7190-15-8.
- Voroshilov, U. 2008. Determinación del estatus racial y parasitológico (varroosis) de colmenas (*Apis mellifera* L.), ante la amenaza de la africanización. Graduated Thesis, Universidad Agraria de La Habana, La Habana, Cuba, 72 p.

Received: February 3, 2017