

Biometric parameters of newborn drones of honeybee (*Apis mellifera* L.) and factors that affect them, in hives from Mayabeque, Cuba

Parámetros biométricos de zánganos neonatos de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.) y factores que los afectan en colmenas de Mayabeque, Cuba

Leyanis Ocaña, Anisley Pérez, Tamara Fernández and J. Demedio

Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez" (UNAH). Apartado Postal 18-19, CP 32700, San José de Las Lajas, Mayabeque, Cuba
Email: demedio@unah.edu.cu

In order to determine biometric parameters of newborn drones of *Apis mellifera* L. and factors that affect them, a study was conducted in three apiaries from San José de las Lajas municipality, which included a monthly sampling of 10 hives/apiary, in November and December, 2015 and in January, 2016. An amount of 50 newborn individuals were examined, and their birth weight and body length were determined, as well as their fore right wing and body color. Infestation extension and intensity by *Varroa destructor* was evaluated. Weight and dimensions of drones were in correspondence with those of European breeds, and were influenced by the apiary of origin, sampling month and intensity of infestation.

Key words: *Apis mellifera*, drones, biometrics, varroosis

The honeybee (*Apis mellifera* L.), as a pollinating insect, plays an essential role in ecosystems. Approximately 90 % of wild plants and a third of food plants consumed by humans depend on their pollination. It has been estimated that the economic value of bee pollination, for agriculture alone, could be around US \$ 500 billion annually worldwide. This activity represents an important source of food and natural medicines for humans, without underestimating the commercial value of honey, wax, pollen, propolis and royal jelly (MITECO 2019).

In Cuba, the technology of pollination of crops with bees is hardly practiced, and the fundamental objective of beekeeping is to obtain the products of the hive, especially honey. Its importance as an export-generating activity has promoted cutting-edge technical advances worldwide, based on the professionalism of beekeepers, land use planning and integrated health management, which excludes the use of drugs and has developed, for years, a national genetic selection and improvement program (MINAG 2002, 2013 and Pérez-Morfi and Pérez-Piñeiro 2018).

This progress has been made with a hybrid bee from European breeds, especially *A. mellifera* mellifera and *A. mellifera* ligustica, despite the presence of the dangerous mite *Varroa destructor* for 25 years. However, the possibilities of its improvement are not exhausted and the risk of introduction of the Africanized bee is permanent, and not only accidental, so it constitutes

Para determinar los parámetros biométricos de los zánganos de *Apis mellifera* L. al nacer y los factores que los afectan, se desarrolló un estudio en tres apiarios del municipio San José de las Lajas, que comprendió un muestreo mensual de 10 colmenas/apiario en noviembre y diciembre de 2015 y en enero de 2016. En cada colmena se examinaron 50 individuos al nacer, a los que se les determinó el peso en el nacimiento, la longitud del cuerpo y del ala anterior derecha y el color. Se precisó la extensión e intensidad de invasión por *Varroa destructor*. El peso y las dimensiones de los zánganos coincidieron con los de razas europeas, y en ellos influyó el apiario de procedencia, mes de muestreo e intensidad de infestación.

Palabras clave: *Apis mellifera*, zánganos, biometría, varroosis

La abeja melífera (*Apis mellifera* L.) como insecto polinizador desempeña una función esencial en los ecosistemas. Aproximadamente, 90 % de las plantas silvestres y un tercio de las alimenticias que consume el hombre dependen de su polinización. Se ha calculado que el valor económico de la labor de polinización de las abejas, solo para la agricultura, podría estar en torno a los 500 mil millones de USD anuales en todo el mundo. Esta actividad representa una fuente importante de alimento y medicamentos naturales para el hombre, sin subestimar el valor comercial que alcanzan la miel, la cera, el polen, el propóleo y la jalea real (MITECO 2019).

En Cuba, la tecnología de polinización de cultivos con abejas apenas se practica, y el objetivo fundamental de la apicultura es la obtención de los productos de la colmena, sobre todo de la miel. Su importancia como actividad generadora de exportaciones ha impulsado avances técnicos de vanguardia a nivel mundial, sobre la base de la profesionalidad de los apicultores, el ordenamiento territorial y el manejo integrado de la salud, que excluye el uso de medicamentos y desarrolla desde hace años un programa nacional de selección y mejoramiento genético (MINAG 2002, 2013 y Pérez-Morfi y Pérez-Piñeiro 2018).

Estos progresos se han obtenido con una abeja híbrida procedente de razas europeas, sobre todo de *A. mellifera* mellifera y *A. mellifera* ligustica, a pesar de la presencia del peligroso ácaro *Varroa destructor* desde hace 25 años. No obstante, las posibilidades de su mejora no están agotadas y el riesgo de introducción de la abeja

an environmental, social and economic threat that requires constant monitoring. Morphometric studies are quick and effective diagnostic methods to discard the presence of these bees, especially in Cuba, which is surrounded by territories where these highly defensive hybrids, with great expansion power, exist (Moreira *et al.* 2017, Graciano 2018 and Urbina *et al.* 2019). Despite speculation about its presence on the island (Galindo-Cardona 2013), there is no report that supports this assumption.

Drones provide the highest percentage of genotypic and phenotypic characteristics. They develop in cells larger than the workers, and are born 24 days after laying. For them, the queen bee breeding center is key, of which there are more than 60 in Cuba (APICUBA 2019). However, these drones have received little attention from the research point of view (Bande *et al.* 2008 and Ocaña-Nápoles 2014). European drones have a very bulky body and their weight can reach 230 mg, and between 15 and 17 mm in length (Pasini and Falda 2003). The Africanized ones are smaller (Guzmán-Novoa *et al.* 2011), but faster. They are present throughout the year and produce almost 30 % more sperm (Hernández 2019).

It has been reported that among the most important environmental factors that can reduce size and weight of bees at birth is the decrease in the capacity of brood cells due to aging of honeycombs (Sanabria *et al.* 2015) and parasitization by *Varroa destructor* mite during the capping period (Guzmán-Novoa and Correa 2012 and Ramsey 2018). Although Cuba has maintained an efficient program for the integrated management of bee health for years, which excludes the use of chemical treatments (APICUBA 2019), varroosis continues to be the main problem worldwide (OIE 2015). From this background, this research set out to determine biometric parameters of drones at birth and the factors that affect them.

Materials and Methods

The study was developed in three apiaries in Mayabeque province. One from San José de las Lajas municipality (SJ) and two from Tapaste town (T1 and T2), belonging to this municipality. SJ apiary is an auxiliary apiary of the Centro de Cría de Reinas “Los Pinos” (CCR, in Spanish). It has 20 hives with two bodies, in good condition, which supply honeycombs with pollen or brood when required. T1 and T2 apiaries have maintained a composition of 20 hives each, which objective is honey production.

Although these apiaries yielded a mean productivity of 40 kg/hive, the state of their brood chambers showed blackened honeycombs due to aging. These apiaries were chosen for not being sources of infectious diseases and for having access and protection facilities. The annual change of queens takes place in all hives.

africanizada es permanente, y no solo accidental, por lo que constituye una amenaza ambiental, social y económica que requiere un constante monitoreo. Los estudios morfométricos son métodos de diagnóstico rápidos y eficaces para descartar la presencia de dichas abejas, más aún en Cuba, que está rodeada de territorios en los que existen estos híbridos altamente defensivos con gran poder de expansión (Moreira *et al.* 2017, Graciano 2018 y Urbina *et al.* 2019). A pesar de las especulaciones acerca su presencia en la isla (Galindo-Cardona 2013), no existe informe alguno que avale dicha suposición.

Los zánganos aportan el mayor porcentaje de características genotípicas y fenotípicas. Se desarrollan en celdas más grandes que las obreras, y nacen a los 24 días de la puesta. Para ellos es clave el centro de crianza de abejas reinas, de los que existen más de 60 en Cuba (APICUBA 2019). No obstante a lo anterior, estos sementales han recibido escasa atención desde el punto de vista investigativo (Bande *et al.* 2008 y Ocaña-Nápoles 2014). Los zánganos europeos poseen un cuerpo muy voluminoso y su peso puede alcanzar los 230 mg, y entre 15 y 17 mm de longitud (Pasini y Falda 2003). Los africanizados son más pequeños (Guzmán-Novoa *et al.* 2011), pero más veloces. Están presentes durante todo el año y producen casi 30 % más de espermatozoides (Hernández 2019).

Se ha informado que entre los factores ambientales más importantes que pueden reducir las dimensiones y el peso de las abejas al nacer está la disminución de la capacidad de las celdas de cría por envejecimiento de los panales (Sanabria *et al.* 2015) y la parasitación por el ácaro *Varroa destructor* durante el período de operculación (Guzmán-Novoa y Correa 2012 y Ramsey 2018). Aunque Cuba mantiene desde hace años un eficiente programa de manejo integrado de la salud apícola, que excluye el uso de tratamientos químicos (APICUBA 2019), la varroosis sigue siendo el problema principal a nivel mundial (OIE 2015). A partir de estos antecedentes, esta investigación se propuso determinar parámetros biométricos de zánganos al nacer y los factores que los afectan.

Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló en tres apiarios de la provincia Mayabeque. Uno del municipio San José de las Lajas (SJ) y dos de la localidad de Tapaste (T1 y T2), de dicho municipio. El apiario SJ es un apiario auxiliar del Centro de Cría de Reinas “Los Pinos” (CCR). Cuenta con 20 colmenas a dos cuerpos, en buen estado, que suministran panales con polen o cría cuando se requiere. Los apiarios T1 y T2 han mantenido una composición de 20 colmenas cada uno, cuyo objetivo es la producción de miel.

Aunque estos apiarios tuvieron como rendimiento una productividad media de 40 kg/colmena, el estado de sus cámaras de cría evidenció panales ennegrecidos por envejecimiento. Estos apiarios se escogieron por no ser focos de enfermedades infecciosas y por tener facilidades de acceso y protección. En todas las colmenas se realiza el cambio anual de reinas.

From each apiary, 10 hives were analyzed, in two bodies and with a good strength state. As a requirement, hives had to have a brood of drones with pink eyes, about four or five days after hatching. In each hive, the diameter of the cells of drone was measured and a honeycomb fragment (10x10 cm) of this brood was cut for transfer to the laboratory and to conclude its development in an incubator.

A total of 50 drones per hive were evaluated at birth. A monthly sampling was carried out during November and December 2015 and January 2016. Body length (LZ) and forewing, weight (PZ), color and extension and invasion intensity (E.I. and I.I.) were determined to newly emerged drones for *Varroa destructor*. For this, the surface of individuals and the interior of the corresponding cells were examined in a stereoscopic microscope.

Cell diameter. One honeycomb per one of the 10 analyzed hives from the center of the brood chamber was selected. An amount of 10 cells were measured on both sides in line to average and reduce the error to result in four measurements per hive. Measurements were carried out with a special methodology of the program for controlling the Africanized bee (SARH-USDA 1986).

Drone length. A mechanical Vernier caliper was used to determine body length of drones.

Right forewing length. A group of 25 drone wings were taken per hive. They were detached with the fingers and fixed with transparent commercial enamel on slides on each sheet, and measured with the aid of the caliper.

Weighing. The analyzed drones were numbed with ether and individually placed with the help of a tweezers on a Sartorius scale, BSA 124S model, on filter paper.

Coloration. It was carried out by visual appreciation and the criteria of Pérez Hernández (2009) were considered, which establish the categories of drones: with totally yellow (A), totally black (N) and intermediate (I) segments. The latter are yellow in one or two segments.

Invasion extent and mean invasion intensity by V. destructor. A 10x10 cm honeycomb fragment was cut from each hive, with young in the pupal stage (16-17 d of age). They were brought to the laboratory in identified glass flasks, with perforated lids (NC 2010). They were placed in 30x20x10 cm cardboard boxes and placed in a total visibility incubator (Stuart Scientific Incubator SI60) at 34 °C. At the beginning of the hatching process, cells were opened and the interior and drones were examined with the help of a tweezer and a simple magnifying glass with 4x magnification. These indexes were calculated following Verde *et al.* (2013) using the following formula:

Mean invasion extension (E.I.m) = (Total parasitized cells/total examined cells) x 100

Mean invasion intensity (I.I.m) = (Total mites/total parasitized cells).

De cada apiario se trabajaron 10 colmenas, a dos cuerpos y con buen estado de fortaleza. Como requisito las colmenas debían poseer cría de zánganos con ojos rosados, a unos cuatro o cinco días de su eclosión. En cada colmena se midió el diámetro de las celdas de zángano y se cortó un fragmento de panal (10x10 cm) de esta cría para su traslado al laboratorio y concluir su desarrollo en una incubadora.

Se trabajó con un total de 50 zánganos por colmena al momento de nacer. Se llevó a cabo un muestreo mensual durante noviembre y diciembre de 2015 y enero de 2016. A los zánganos recién emergidos se les determinó la longitud del cuerpo (LZ) y del ala anterior, el peso (PZ), el color y la extensión e intensidad de invasión (E.I. e I.I.) por *Varroa destructor*. Para ello se examinó la superficie de los individuos y el interior de las celdas correspondientes en un microscopio estereoscópico.

Diámetro de las celdas. Se seleccionó un panal por colmena de las 10 utilizadas del centro de la cámara de cría. Se midieron 10 celdas por ambas caras en línea para promediar y reducir el error hasta resultar cuatro mediciones por colmena. La medición se realizó con una regla especial del Programa Nacional para el Control de la Abeja Africanizada de México (SARH-USDA 1986).

Longitud de los zánganos. Para determinar la longitud del cuerpo de los zánganos se utilizó un pie de rey mecánico.

Longitud del ala anterior derecha. Se tomaron 25 alas de zánganos por colmena. Se desprendieron con los dedos y se fijaron con esmalte comercial transparente en portaobjetos en cada lámina y se midieron con el auxilio del pie de rey.

Pesaje. Se trabajó con los zánganos adormecidos con éter y se colocaron individualmente con la ayuda de una pinza en una balanza Sartorius, modelo BSA 124S sobre papel filtro.

Coloración. Se realizó por apreciación visual y se tuvieron en cuenta los criterios de Pérez Hernández (2009), que establecen las categorías de zánganos: con segmentos amarillos totalmente (A), totalmente negros (N) e intermedios (I). Estos últimos presentan color amarillo en uno o dos segmentos.

Extensión de invasión e intensidad de invasión media por V. destructor. De cada colmena se cortó un fragmento de panal de 10x10 cm, con cría en estadio de pupa (16-17 d de edad). Se llevaron al laboratorio en frascos de vidrio identificados, con tapas horadadas (NC 2010). Se introdujeron en cajas de cartón de 30 x 20 x10 cm y se colocaron en una incubadora de visibilidad total (Stuart Scientific Incubator SI60), a 34 °C. Al comenzar el proceso de eclosión se realizó la apertura de las celdas y el examen de su interior y de los zánganos con la ayuda de una pinza y lupa simple con aumento 4x. Estos índices se calcularon siguiendo a Verde *et al.* (2013) mediante la fórmula siguiente:

Extensión de invasión media (E.I.m) = (Total de celdas parasitadas / total de celdas examinadas) x 100.

Intensidad de invasión media (I.I.m) = (Total de ácaros / total de celdas parasitadas).

Los datos se procesaron por Statgraphics Versión 5.1

Data was processed by Statgraphics, version 5.1 (Statistical Graphics Corp 2000):

- Descriptive statistics, for morphometric indicators and infestation indexes
- Comparison of means for the weight of parasitized and non-parasitized drones
- Multiple range test (Duncan 1955) to compare all biometric parameters among the three apiaries
- Simple regression analysis (cell diameter - PZ; I.I. - PZ; I.I. - LZ).

To compare the percentage values, a comparison of proportions was performed (Compaprop).

Results and Discussion

Mean diameter of cells in SJ apiary was superior to that of the commercial apiaries (table 1). As in addition to geographical proximity, most of the queens of the latter come from the CCR, it is unlikely that this difference and that between the T1 and T2 apiaries is due to genetic factors. Rather, it can be attributed to the way bees are forced to build these cells. In the CCR, drone rearing is favored in parental hives with naturally manufactured drone combs. However, in commercial apiaries, this type of cell is built on sheets for workers of less stamping and less, in lower marginal areas of these combs.

Table 1. Mean diameter of drone cells in the three apiaries

Indicators	SJ apiary	T1 apiary	T2 apiary
Number of cells, N*	40.00	40.00	40.00
Means, mm	6.77 ^a	6.48 ^b	6.61 ^c
SD	0.16	0.36	0.31
SE ±	0.02	0.06	0.05
CV (%)	2.33	5.64	4.62

* Each measuring (40) corresponded to four segments of 10 cells

Multiple range test (Duncan 1955): $P < 0.05$

Different letters indicate significant differences

These measures could be taken as a baseline for comparison in the absence of antecedents. Although reduction and variability has been reported in the diameter of worker cells, when bees are induced to work on sheets that do not have their own stamping dimensions (Hall *et al.* 2015 and Sanabria *et al.* 2015), cell by cell measurement and knowing its origin is required, as well as more precise instruments. The external diameter has, in addition of an identifying value, the advantages of being a highly heritable genetic trait, like other morphological ones (Guzmán-Novoa 2012) and easy to measure. Meanwhile, the environmental influence on cell capacity, caused by aging and the accumulation of residues in each rearing cycle, has been routinely evaluated based on the management of the rearing chamber and the coloration of combs (Verde *et al.* 2013).

Body mean lengths drones at birth (table 2) are

(Statistical Graphics Corp 2000):

- Estadística descriptiva, para los indicadores morfométricos y los índices de infestación
- Comparación de medias para el peso de zánganos parasitados y no parasitados
- Test de rangos múltiples (Duncan) para comparar todos los parámetros biométricos entre los tres apiarios (Duncan 1955)
- Análisis de regresión simple (diámetro de las celdas - PZ; I.I. - PZ; I.I. - LZ).

Para comparar los valores porcentuales se realizó comparación de proporciones (Compaprop).

Resultados y Discusión

El diámetro medio de las celdas en el apiario SJ resultó mayor que el de los apiarios comerciales (tabla 1). Como además de la proximidad geográfica, la mayoría de las reinas de estos últimos provienen del CCR, resulta poco probable que esa diferencia y la que existe entre los apiarios T1 y T2 se deba a factores genéticos. Más bien es atribuible al modo en que las abejas son forzadas a construir estas celdas. En el CCR se favorece la crianza de zánganos en las colmenas paternas con panales zanganeros fabricados de modo natural. Sin embargo, en los apiarios comerciales, este tipo de celda se construye sobre láminas para obreras de menor estampado y menos,

en áreas marginales inferiores de dichos panales.

Estas medidas se pudieran tomar como línea base de comparación a falta de antecedentes. Aunque se ha señalado reducción y variabilidad en el diámetro de las celdas de obreras, cuando las abejas son inducidas a obrar sobre láminas que no tienen las dimensiones de estampado propias (Hall *et al.* 2015 y Sanabria *et al.* 2015), se requeriría la medición celda a celda y conocer su origen, además de instrumentos más precisos. El diámetro externo tiene, además de un valor identificativo, las ventajas de ser un rasgo genético de alta heredabilidad, como otros morfológicos (Guzmán-Novoa 2012) y de fácil medición. En tanto, la influencia ambiental en la capacidad de las celdas, provocada por el envejecimiento y la acumulación de residuos en cada ciclo de cría, se ha evaluado habitualmente sobre la base del manejo de la cámara de cría y la coloración de los panales (Verde *et al.* 2013).

Las longitudes medias del cuerpo de los zánganos

between 15.40 ± 0.70 mm and 15.57 ± 0.66 mm, the highest value corresponding to samples obtained from the SJ apiary.

al nacer (tabla 2) se encuentran entre 15.40 ± 0.70 mm y 15.57 ± 0.66 mm, correspondiendo las mayores a las muestras obtenidas del apiario SJ.

Table 2. Mean length of drone body at birth, in each apiary

Indicators	SJ apiary	T1 apiary	T2 apiary
Number of drones, n	028.00	982.00	1006.00
Mean length, mm	15.57 ^a	15.40 ^b	15.44 ^b
SD	0.66	0.70	0.70
SE±	0.020	0.022	0.022
CV, %	4.26	4.52	4.53

Multiple range test (Duncan 1955)

Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$)

There is little history of this indicator in drone rearing. Arias *et al.* (2006) reported a range of 15-17 mm in hives in Spain, in which the values of the present study are included. Ocaña-Nápoles (2014) determined, in the same area, a minimum value of 14 mm in yellow and intermediate color flying drones, and a maximum of 18 mm, in intermediate and black ones. These results agree with the European origin of the Cuban native bee (Pérez-Morfi and Pérez-Piñero 2018) and show no clear difference between months. On the other hand, the effects overlap, so that samples for each month, to a large extent, must correspond to cells taken in the previous month, a fact that is often obviated when trying to establish cause-effect relationships.

The greater mean body lengths of drones in the SJ apiary in comparison with the T1 and T2 apiaries contribute to the greater dimensions of cells and a better zootechnical management in the former. T1 and T2 apiaries are the subject of poor zootechnical attention, appreciated in the darker and aged combs. This factor results in a reduction in the size of individuals raised in their cells. A similar effect was manifested in wings and has been recognized in the breeding of workers (Verde *et al.* 2013). In this same SJ apiary, Pérez-Hernández (2009) determined means of 5.37 ± 1.5 mm and 5.35 ± 1.1 mm in cells of workers, all in correspondence with values described for European bees. When analyzing the factors that influenced these results, these authors refer to honeycomb aging as the main environmental component that reduced the dimensions of the emerging individuals. However, a similar effect cannot be discarded, reported by Hall *et al.* (2015) in cells infested by *V. destructor*.

In the same way that cell dimensions (Sanabria 2007) are influenced by the fact that the bee must act on sheets with different patterns to their measurements, their cells do not correspond to the natural ones (Sanford and Hall 2005). In the SJ apiary (CCR), drone cells are found in naturally constructed combs, without having stamped sheets as a base. This helps to explain why they reach larger dimensions with respect to commercial apiaries

Existen escasos antecedentes de este indicador en cría de zánganos. Arias *et al.* (2006) informan un rango de 15-17 mm en colmenas de España, en el que están comprendidos los valores del presente estudio. Ocaña-Nápoles 2014 determinó en la misma área un valor mínimo de 14 mm en los zánganos voladores de color amarillo e intermedio, y un máximo de 18 mm, en intermedios y negros. Estos resultados están en correspondencia con el origen europeo de la abeja criolla de Cuba (Pérez-Morfi y Pérez-Piñero 2018) y no evidenciaron una clara diferencia entre meses. Por otra parte, los efectos se solapan, de manera que las muestras de cada mes, en buena medida, deben corresponder a celdas obradas en el mes anterior, hecho que con frecuencia se obvia al intentar establecer relaciones causa-efecto.

A las mayores longitudes medias del cuerpo de los zánganos en el apiario SJ en comparación con los apiarios T1 y T2 tributan las mayores dimensiones de las celdas y un mejor manejo zootécnico en el primero. Los apiarios T1 y T2 son objeto de una pobre atención zootécnica, apreciada en los panales más oscuros y envejecidos. Este factor tiene como consecuencia una reducción de las dimensiones de los individuos criados en sus celdas. Similar efecto se manifestó en las alas y ha sido reconocido en la cría de obreras (Verde *et al.* 2013). En este mismo apiario SJ, Pérez-Hernández (2009) determinó medias de 5.37 ± 1.5 mm y 5.35 ± 1.1 mm en celdas de obreras, todas en correspondencia con valores descritos para abejas europeas. Al analizar los factores que influyeron en dichos resultados, estos autores refieren el envejecimiento del panal como el principal componente ambiental que redujo las dimensiones de los individuos emergentes. No obstante, no se puede descartar un efecto similar, señalado por Hall *et al.* (2015) en celdas infestadas por *V. destructor*.

Del mismo modo que influye en las dimensiones de las celdas (Sanabria 2007) el hecho de que la abeja debe obrar sobre láminas con estampado diferente a sus medidas, sus celdas no se corresponden con las naturales (Sanford y Hall 2005). En el apiario SJ (CCR), las celdas de zánganos se encuentran en panales contruidos naturalmente, sin tener por base láminas estampadas. Esto contribuye a explicar por qué alcanzan mayores dimensiones con

(T1 and T2).

When comparing the results in the three months of study, differences were appreciated between December and January. However, both months did not differ from November (table 3), which is attributed to the age of the combs.

respecto a los apiarios comerciales (T1 y T2).

Al comparar los resultados en los tres meses de estudio, se apreciaron diferencias entre diciembre y enero. Sin embargo, ambos meses no difirieron de noviembre (tabla 3), lo que se atribuye a la edad de los panales.

Table 3. Mean length of drones per months

Statistics	November	December	January
Number of drones, N	980.00	991.00	1045.00
Mean length, mm	15.48 ^{ab}	15.49 ^a	15.42 ^b
SD	0.72	0.67	0.68
CV, %	4.64	4.30	4.43

Multiple range test (Duncan 1955)

Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$)

Pérez Hernández (2014) observed that the forewing length of Cuban worker bees (9.55-9.70 mm) exceed those reported for American ecotypes of European ancestors (Uribe *et al.* 2003), which confirms the first and most important observations made in Cuba (Díaz-Millán 1981). Similar performance is to be expected in drones, clearly larger than Africanized ones. Despite the high heritability of this trait (Guzmán-Novoa 2012), possible environmental influences are not excluded, especially the aging of the brood chamber and the reduction of body and its appendages (Verde *et al.* 2013 and Hall *et al.* 2015).

Table 4 shows the mean length of the right forewing between 11.31 ± 0.46 mm and 11.37 ± 0.48 mm, without a significant superiority, in the SJ apiary.

Pérez Hernández (2014) observó que las longitudes de las alas anteriores de abejas obreras cubanas (9.55-9.70 mm) sobrepasan las informadas para ecotipos americanos de ancestros europeos (Uribe *et al.* 2003), lo que confirma las primeras y más importantes observaciones realizadas en Cuba (Díaz Millán 1981). Es de esperar un comportamiento similar en los zánganos, claramente mayores que los africanizados. A pesar de la alta heredabilidad de este rasgo (Guzmán-Novoa 2012) no se excluyen las posibles influencias ambientales, sobre todo el envejecimiento de la cámara de cría y la reducción del cuerpo y sus apéndices (Verde *et al.* 2013 y Hall *et al.* 2015).

La tabla 4 muestra las longitudes medias del ala anterior derecha entre 11.31 ± 0.46 mm y 11.37 ± 0.48 mm, sin una superioridad significativa en el apiario SJ.

Table 4. Mean length of the right forewing of drones at birth per apiaries

Indicators	SJ apiary	T1 apiary	T2 apiary
Total wings	500.00	500.00	500.00
Mean length, mm	11.37	11.35	11.31
SD	0.48	0.48	0.46
SE \pm	0.021	0.021	0.021
CV, %	4.24	4.21	4.10

Multiple range test (Duncan 1955): $P < 0.05$ (n.s.)

In Cuba, there is no history of published studies, in which wing dimensions of drones are determined. Díaz-Millán (1981) carried out the most extensive and documented morphometric evaluations in Cuba, but all were conducted in worker bees. Studies of Voroshilov (2008) and Pérez Hernández (2014) did not considered the males either. It is significant that, in all these studies, the wings of workers reached dimensions in the range of those of Europe (Arias *et al.* 2006) or exceeded them. This result contributes to refute the speculation about the presence of the Africanized bee in Cuba (Galindo-Cardona 2013).

The mean weight of drones at birth (table 5) is between 190.67 mg and 200.13 mg, with the lowest values in the T1 apiary and the tendency to supremacy in SJ.

En Cuba no existen antecedentes de estudios publicados, en los que se determinen las dimensiones del ala en zánganos. Díaz Millán (1981) realizó las más extensas y documentadas evaluaciones morfométricas en Cuba, pero todas fueron en abejas obreras. Tampoco en los trabajos de Voroshilov (2008) y de Pérez Hernández (2014) se consideran los machos. Es significativo que en todos estos estudios las alas de las obreras alcanzaron dimensiones en el rango de las europeas (Arias *et al.* 2006) o las superaron. Este resultado contribuye a refutar la especulación sobre la presencia de la abeja africanizada en Cuba (Galindo Cardona 2013).

El peso medio de los zánganos al nacer (tabla 5) se encuentra entre 190.67 mg y 200.13 mg, con los menores valores en el apiario T1 y la tendencia a la supremacía en SJ.

Table 5. Mean weight of drones at birth per apiaries

Indicators	SJ apiary	T1 apiary	T2 apiary
Number of drones, N	1027.00	982.00	1065.00
Mean weight, mg	200.13 ^a	190.67 ^b	198.14 ^a
SD	27.44	30.05	31.98
SE±	0.86	0.96	0.98
CV, %	13.71	15.76	16.14

Multiple range test (Duncan 1955)

Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$)

It is recognized that, as the size of the brood comb cell increases, an increase of the weight of the emerging drone is obtained under the given conditions. A positive correlation ($P < 0.10$), but weak, was observed between the diameter of the brood cells and the weight of drones at birth (table 6), mainly attributed to the mentioned environmental effects. The greatest weight differences were observed between the SJ and T1 apiaries, but it was not possible to determine the number of cycles developed in the sampled combs. In Spain, Arias *et al.* (2006) reported a mean similar to November (200 mg), also in drones at birth. Meanwhile, Bande *et al.* (2008), in Cuba, obtained a mean of 280.12 mg, but from already fed individuals. This result is superior to that indicated by Ocaña-Nápoles (2014), also for flying drones (233 mg) in the area of San José de las Lajas.

Se reconoce que en la medida que aumenta el tamaño de la celda del panal de cría, se obtiene un incremento en el peso del zángano emergente en las condiciones dadas. Se observó una correlación positiva ($P < 0.10$), pero débil entre el diámetro de las celdas de cría y el peso de los zánganos al nacer (tabla 6), atribuible sobre todo a los efectos ambientales señalados. Las mayores diferencias de peso se observaron entre los apiarios SJ y T1, pero no fue posible determinar la cantidad de ciclos desarrollados en los panales muestreados. En España, Arias *et al.* (2006) comunican una media similar a noviembre (200 mg), también en zánganos al nacer. En tanto, Bande *et al.* (2008), en Cuba, obtuvieron media de 280.12 mg, pero de individuos ya alimentados. Este resultado es superior al señalado por Ocaña-Nápoles (2014), también para zánganos voladores (233 mg) en la zona de San José de las Lajas.

Table 6. Relationship between cell diameter and drone weight

Independent variable	Cell diameter
Dependent variable	Drone weight
ANOVA	$P = 0.086 (< 0.10)$
Coefficient of correlation	0.091
R^2	0.83%
SE±	21.60

Although in appearance, this result would be in contradiction with the previous ones, it should be considered that it includes all cells, where different effects overlap, and some are opposite. Since it is not possible to determine the internal diameters, larger cells may be older and, therefore, have their capacity decreased. In addition, the intensity of parasitization by *Varroa* also interacts and results in a distorting effect.

There does not seem to be a clear explanation for the differences in mean weight of drones between November and December-January (table 7).

It is probable that this difference expresses the result of interactions among several factors, such as the quantity and quality of food. In turn, they depend, for their production, on the reserves of bee bread, the entry of freshly harvested pollen and the availability of honey or nectar. At the same time, the production of these foods is conditioned by the numbers of foraging and

Aunque en apariencia este resultado estaría en contradicción con los anteriores, se debe tener en cuenta que incluye todas las celdas, donde se solapan diferentes efectos, algunos opuestos. Al no ser posible determinar los diámetros internos, celdas mayores pueden ser más viejas y, por tanto, tener su capacidad disminuida. En adición, la intensidad de parasitación por *Varroa* también interactúa y resulta un efecto distorsionante.

No parece existir una clara explicación para las diferencias de peso medio de los zánganos entre noviembre y diciembre-enero (tabla 7).

Es probable que esta diferencia exprese la resultante de interacciones entre varios factores, como la cantidad y calidad del alimento. A su vez, estas dependen para su producción de las reservas de pan de abejas, de la entrada de polen recién cosechado y de la disponibilidad de miel o néctar. A la vez, la producción de estos alimentos está condicionada por las cantidades de abejas pecoreadoras

Table 7. Mean weight of drones at birth per months

Indicators	November	December	January
Number of drones	979.00	991.00	1104.00
Mean weight, mg	203.56 ^a	191.57 ^b	194.44 ^c
SD	32.56	28.60	28.13
SE ±	1.04	0.91	0.85
CV, %	15.99	14.93	14.46

Multiple range test (Duncan 1955)

Different letters indicate significant differences (P < 0.05)

nurse bees. As all these factors are highly variable and their status may reflect prior deficiencies or imbalances, it is extremely difficult to determine the causes in a short-term, specific study. To this should be added the fact that the production of drones does not follow the same patterns as that of workers and is more dependent on the abundance of food and the time of year (Verde *et al.* 2012).

All drones examined at birth (3 071) were black. It is surprising that Ocaña-Nápoles (2014) has determined, in the same area, 60 % intermediate color, 18 % black and 22 % yellow, but in individuals captured at random within the hive. In the absence of paternal inheritance in drones, the explanation should be in the change of queens, which is carried out at least once a year, although it is necessary to deepen the matter.

The extent of invasion in this brood was high, to the extent that its mean values exceeded 70%, in SJ as in the hives of T1 and T2 (table 8). These values are at the level of those determined in 1996-1997 by Demedio (2001) at the beginning of the epizooty of varroosis, in San José de las Lajas municipality. They are also consistent with reports by Sanabria (2007) and Sanabria *et al.* (2015), also in the same area. Apparently, the situation is unusual because then, the first contact of the local bee with the parasite occurred. Meanwhile, by 2016, there was a history of coexistence. According to some criteria (Pérez-Morfi and Pérez-Piñeiro 2018), the current bees are descendants of those that survived the initial impact of the mite, a result of natural selection, and the subsequent work of the selection and improvement program that continues today. Apparently, it is not appropriate to talk about natural selection in intensive beekeeping.

y nodrizas. Como todos estos factores son muy variables y su estado puede reflejar carencias o desequilibrios anteriores, resulta en extremo difícil determinar las causas en un estudio puntual de corta duración. A lo anterior habría que agregar el hecho de que la producción de zánganos no sigue los mismos patrones que la de obreras y presenta mayor dependencia de la abundancia de alimentos y de la época del año (Verde *et al.* 2012).

Todos los zánganos examinados al nacer (3 071) eran de color negro. Resulta sorprendente que Ocaña-Nápoles (2014) haya determinado, en la misma zona, 60 % de color intermedio, 18 % negros y 22 % amarillos, pero en individuos capturados al azar dentro de la colmena. A falta de herencia paterna en los zánganos, la explicación debe estar en los cambios de reinas, que se realizan, al menos, una vez al año, aunque se requiere profundizar al respecto.

La extensión de invasión en esta cría resultó alta, al extremo que sus valores medio superaron 70 %, en SJ como en las colmenas de T1 y T2 (tabla 8). Estos valores están al nivel de los determinados en 1996-1997 por Demedio (2001) a principios de la epizootia de la varroosis, en el propio municipio de San José de las Lajas. Son también coincidentes con los informes de Sanabria (2007) y Sanabria *et al.* (2015) también en la misma zona. En apariencia, resulta inusitada la situación porque entonces ocurría el primer contacto de la abeja local con el parásito. En tanto, para 2016 existía una historia de convivencia. Según algunos criterios (Pérez-Morfi y Pérez-Piñeiro 2018), las actuales son descendientes de aquellas que sobrevivieron al impacto inicial del ácaro, resultado de la selección natural, y del trabajo posterior del programa de selección y mejora que continúa hoy. Al parecer, no resulta apropiado hablar de selección natural en una apicultura intensiva.

Se podrían explicar los altos valores actuales por la

Table 8. Extent and invasion intensity per apiaries

Indicators	SJ	T1	T2	Total
Examined cells	1025.00	1000.00	1046.00	3071.00
Parasitized cells	749.00	756.00	787.00	2292.00
Mean E.I., % - Compaprop	73.07	75.60	75.24	74.63
Total mites	1979.00	2168.00	2306.00	6453.00
I.I. (Mean) – Duncan test	2.64 ^a	2.87 ^b	2.93 ^b	2.81

Comparison of proportions: F= 1.01 n.s.

Multiple range test (Duncan 1955): P < 0.05

Different letters indicate significant differences

The current high values could be explained by the scarcity of this type of breeding in the evaluated months, which, together with its greater and longer attractiveness for the founding females (Granadillo 2009), results in a high percentage of parasitized cells. Drijfhout *et al.* (2005) observed that varroa mites show a preference for drone brood up to nine times greater, and that royal jelly exerts a deterrent effect on queen cells. Especially for CCR, these situations should call attention to the need to apply an organic treatment strategy that, due to its safety and efficacy (Reyes 2016), allows these indexes to be reduced.

In the search for a possible effect of the parasite on the morphological parameters of drones at birth, invasion intensity is the quantitative indicator that allows determining a possible influence. However, the combination of both offers an evaluative criterion of the severity of the parasitic manifestation, as it is a cloistered host that is affected, at this stage, only by the founding females and their offspring.

As can be observed, invasion intensity was lower in the SJ apiary, although it should be considered that the mean difference does not exceed unity, that is, an individual. Something similar can be seen in the analysis per months (table 9). Despite a specific drop that is difficult to explain, in December (one sampling), November and January, the same values and mean invasion intensity are presented, although with statistical differences. Due to the effect, they should not significantly differ, as they do not even reach half a unit.

escasez de este tipo de cría en los meses evaluados, lo que unido a su mayor y más prolongado atractivo para las hembras fundadoras (Granadillo 2009) resulta en un elevado porcentaje de celdas parasitadas. Drijfhout *et al.* (2005) observaron que los ácaros Varroa muestran preferencia por la cría de zánganos hasta nueve veces mayor, y que la jalea real ejerce un efecto disuasorio en las celdas de reinas. En especial para el CCR, estas situaciones deberían llamar la atención hacia la necesidad de aplicar una estrategia de tratamientos orgánicos que por su inocuidad y eficacia (Reyes 2016) permita reducir estos índices.

En la búsqueda de un posible efecto del parásito en los parámetros morfológicos de los zánganos al nacer, la intensidad de invasión resulta el indicador cuantitativo que permite determinar una posible influencia. No obstante, la combinación de ambos ofrece un criterio evaluativo de la gravedad del cuadro parasitario, por tratarse de un hospedero enclaustrado que se afecta en esta etapa solo por las hembras fundadoras y su descendencia.

Como se puede observar, la intensidad de invasión fue inferior en el apiario SJ, aunque se debe considerar que la diferencia media no supera la unidad, es decir, un individuo. Algo similar se aprecia en el análisis por meses (tabla 9). A pesar de una caída puntual de difícil explicación, en diciembre (un muestreo), noviembre y enero, se presentan los mismos valores y la intensidad de invasión media, aunque con diferencias estadísticas. Por el efecto no deben diferir de manera significativa, al no alcanzar siquiera media unidad.

Al tomar la intensidad de invasión como variable independiente y los parámetros morfométricos de los

Table 9. Invasion extension (mean) and invasion intensity (mean) of *V. destructor* per months

Indicators	November	December	January	Quarterly Totals
Examined cells	980.00	1008.00	1083.00	3071.00
Parasitized cells	752.00	711.00	828.00	2291.00
Mean E.I., %	76.73 ^a	70.53 ^b	76.45 ^a	74.60
Total mites	2224.00	1853.00	2376.00	6453.00
I.I. (Mean)	2.96 ^a	2.61 ^b	2.87 ^a	2.82

Comparison of proportions: F= 6.55**

Multiple range test (Duncan 1955): P < 0.05

Different letters in the same line indicate significant differences

By taking invasion intensity as an independent variable and the morphometric parameters of drones at hatching (body length and weight) as dependent variables, a weak or non-significant relationship was determined (tables 10 and 11).

It is evident that the relatively low general mean load of parasites per cell did not significantly influence mean weight and length of newborn individuals. However, Getchev (1995) observed a weight loss between 11 and 19 % according to the infestation rate, which causes a decrease in their flight capacity. This situation depends on the number of mother mites, although Rosenkranz *et al.* (2010) stated that a single female of *V. destructor*

zánganos al eclosionar (peso y longitud del cuerpo) como variables dependientes, se determinó una relación débil o no significativa (tablas 10 y 11).

Se evidencia que la carga media general relativamente baja de parásitos por celda no llegó a influir de manera significativa en el peso medio y la longitud de los individuos neonatos. Sin embargo, Getchev (1995) observó pérdida de peso entre 11 y 19 % de acuerdo con la tasa de infestación, lo que provoca disminución en su capacidad de vuelo. Esta situación depende de la cantidad de ácaros madre, aunque Rosenkranz *et al.* (2010) aseguran que una sola hembra de *V. destructor* puede producir una pérdida promedio de 7 % del peso de

Table 10. Correlation between invasion intensity and drone weight at hatching

Independent variable	Invasion intensity
Dependent variable	Drone weight at hatching
ANOVA	P=0.48 (>0.10) non-significant relationship among variables
Coefficient of correlation	0.013
R ²	0.016%
SE±	30.17

Table 11. Correlation between invasion intensity and drone length

Independent variable	Invasion intensity
Dependent variable	Drone length
ANOVA	P= 0.64 (> 0.10)
Coefficient of correlation	= 0.008
R ²	= 0.007 %
SE±	= 0.069

can produce a mean loss of 7 % of the bee weight. Although mites cause a significant reduction of weight and size of workers, a similar loss was not observed in the results with the drones of the current study. Likewise, it was manifested when comparing mean values of this parameter (table 12) with the inclusion of all the parasitized cells.

la abeja. Si bien el ácaro realiza acciones que provocan reducción significativa del peso y tamaño de las obreras, en los resultados de este estudio no se observó en el conjunto de los zánganos una pérdida análoga. De igual modo se manifestó al comparar los valores medios de este parámetro (tabla 12), con la inclusión de todas las celdas parasitadas.

Table 12. Comparison between mean weight of hatched drones from parasitized and non-parasitized cells

Indicators	Parasitized cells	Non-parasitized cells
Mean weight, mg	204.00	200.00
SD	18.62	26.57
SE±	2.34	2.53

Comparison of means: N= 180; p = 0.41. (n.s.)

The result was different when comparing the weights of hatched individuals from cells with 5-6 mites, but not with 3-4 mites and those not parasitized (tables 13 and 14).

El resultado fue otro cuando se compararon los pesos de individuos eclosionados de celdas con 5-6 ácaros, pero no con 3-4 ácaros y los no parasitados (tablas 13 y 14).

Table 13. Comparison between mean weight of cells parasitized with 3-4 mites and the non-parasitized ones

Indicators	Parasitized cells (3-4 mites)	Non-parasitized cells
Mean weight, mg	199.75	200.00
SD	21.19	21.69
SE±	1.92	1.96

Comparison of means: N= 122; p= 0.54 n.s.

Table 14. Comparison between mean weight of drones parasitized with 5-6 mites and the non-parasitized ones

Indicators	Parasitized cells (5-6 mites)	Non-parasitized cells
Mean weight, mg	188.04 ^a	200.00 ^b
SD	22.45	17.09
SE±	3.64	2.77

Comparison of means: N= 38; p= 0.005

It was confirmed that, to produce a significant effect of reduction in the morphometric parameters under the conditions of this study, there must be an invasion intensity superior to 4. However, it is likely that the concurrence of other factors of a nutritional or biological nature may promote measurable quantitative effects, with lower infestation rates.

An already known effect of reducing the weight of worker bees when they hatch is visible, which is the result, among other factors, of the spoilage action of adult females and juvenile stages of the mite. In this case, it is evident in drones, which breeding is more attractive and leads to greater reproductive success (Granadillo 2009), in addition to a proven harmful action on the immune system (Ramsey 2018 and Larsen *et al.* 2019). This fact is of special interest in the paternal hives from the CCR, and this is because, besides drone breeding is favored, the application of varroicidal treatments is prohibited, even those accepted by the requirements of organic beekeeping (MINAG 2013).

Morphological determinations indicate that they are drones of European lineage and a negative influence of parasitism by *V. destructor* mite was verified. High infestation rates were found in commercial hives, and most alarming, in paternal hives of a CCR. They were favored by their naturally abundant presence and the non-application of organic treatment, despite being accepted by the rigorous requirements established by the beekeeping production of this category.

The studied area lacks studies that are in correspondence with the value that must be restored to male bees. These results are just one step on the path to biometric characterization of drones and the factors that affect them. A larger-scale study is required, in which drones of the country are characterized, including physiological parameters such as sperm counts and their relationship with the quality of the queens produced in multiplying centers, without omitting their subsequent performance in the production hives.

Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interests among them

Author's contribution

Leyanis Ocaña Nápoles: Experimental design, conducting the experiment, writing the manuscript

Anisley Pérez Hernández: Conducting the experiment, manuscript revision

Tamara Fernández Gómez: Data analysis, bibliography review

Jorge Demedio Lorenzo: Original idea, experimental design, writing the manuscript

Se comprobó que para que en las condiciones de este estudio se produzca un efecto significativo de reducción en los parámetros morfométricos, debe existir una intensidad de invasión superior a 4. No obstante, es probable que la concurrencia de otros factores de naturaleza nutricional o biológica pueda propiciar efectos cuantitativos medibles, con menores índices de infestación.

Se visibiliza un efecto ya conocido de reducción del peso de las obreras al eclosionar, que es resultado, entre otros factores, de la acción expoliatriz de las hembras adultas y estadios juveniles del ácaro. En este caso, se evidencia en zánganos, cuya cría es más atractiva y le propicia un mayor éxito reproductivo (Granadillo 2009); además de una acción pernicioso comprobada sobre el sistema inmune (Ramsey 2018 y Larsen *et al.* 2019). De especial interés resulta este hecho en las colmenas paternas del CCR. Y esto es porque además de que se favorece la cría de zánganos, se prohíbe la aplicación de tratamientos varroicidas, incluso de aquellos aceptados por las exigencias de la apicultura orgánica (MINAG 2013).

Las determinaciones morfológicas indican que se trata de zánganos de estirpe europea y se constató una influencia negativa del parasitismo por el ácaro *V. destructor*. Se determinaron altos índices de infestación en crías de colmenas comerciales, y lo más preocupante, en colmenas paternas de un CCR. Estuvieron favorecidos por su presencia naturalmente abundante y la no aplicación de tratamiento orgánico, a pesar de ser aceptado por los rigurosos requisitos que establece la producción apícola de esa categoría.

El área estudiada adolece de estudios que estén en correspondencia con el valor que se debe restituir a los sementales apícolas. Estos resultados son apenas un paso en el camino de la caracterización biométrica de los zánganos y los factores que los afectan. Se requiere un estudio a mayor escala, donde se caractericen los zánganos del país, incluidos parámetros fisiológicos como conteos espermáticos y su relación con la calidad de las reinas producidas en los centros multiplicadores, sin omitir su desempeño posterior en las colmenas de producción.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses

Contribución de los autores

Leyanis Ocaña Nápoles: Participó en el diseño experimental y realizó la parte práctica y redacción del artículo.

Anisley Pérez Hernández: Conducción del experimento, revisión del manuscrito.

Tamara Fernández Gómez: Búsqueda de literatura, análisis de datos.

Jorge Demedio Lorenzo: Idea original, diseño de experimentos, redacción.

References

- APICUBA (Empresa Apícola Cubana). 2019. Informe Resumen Balance de Trabajo del Año 2019 y Objetivos 2020. Ministerio de la Agricultura, La Habana, Cuba, p. 17.
- 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: <https://doi.org/10.1080/00218839.2006.11101346>.
- Bande, J.M., Verde, M. & Leal, A. 2008. Manual de Apicultura. Curso Consejo Científico Veterinario. La Habana, Cuba, p. 38.
- Demedio, J.L. 2001. La Varroosis de las abejas en una zona de la provincia de La Habana. Agente etiológico, índices de infestación y control biotécnico y químico. PhD Thesis. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria de La Habana, San José de las Lajas, Mayabeque.
- Díaz-Millán, M.E. 1981. "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.
- Drijfhout, K., Kochansky, J., Lin, F. & Calderone, N.W. 2005. "Components of Honeybee Royal Jelly as deterrents of the Parasitic Varroa Mite, *Varroa destructor*". *Journal of Chemical Ecology*, 31(8): 1747-1764, ISSN: 1573-1561, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10886-005-5925-6>.
- Duncan, D.B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". *Biometrics*, 11(1): 1-42, ISSN: 0006-341X, DOI: <https://doi.org/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.
- Getchev, I. 1995. "Effects of parasitism by *Varroa jacobsoni* on morphometrics of *Apis mellifera* worker honey bees". *Veterinarski Archiv*, 65(6): 193-197.
- Graciano, L.A. 2018. Niveles de infestación de *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) en abejas africanizadas (*Apis mellifera* scutellata hib). MSc. Thesis. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia, p. 87.
- Granadillo, N. 2009. Índices de infestación y reproducción del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas. Diploma Thesis. Venezuela.
- Guzmán-Novoa, E. 2012. Manual para la cría de abejas reinas. Programa Nacional de Apicultura del INIFAP, SAGARPA. p. 39, Available: <https://www.buenastareas.com/ensayos/Manual-Para-La-Cria-De-Abejas/2175540.html>.
- Guzmán-Novoa, E. & Correa, B. 2012. Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas. Ed. Imagen Editorial Yire. Ciudad de México, México, p. 165.
- Guzmán-Novoa, E., Correa, B.A., Espinosa, M.L.G., Guzmán, N.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. Electronic Data Information Source Publication ENY-114 (MG113), Institute of Food and Agricultural Sciences Extension, University of Florida, U.S.A., Available: <https://edis.ifas.ufl.edu/mg113>, [Consulted: July 4th, 2017].
- Hernández, C.U. 2019. Determinación de la africanización de las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) de la Comarca Lagunera. Diploma Thesis. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Coahuila, México, p. 51.
- Larsen, A., Reynaldi, F.J. & Guzmán-Novoa, E. 2019. "Bases del sistema inmune de la abeja melífera (*Apis mellifera*). Revisión Bibliográfica". *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(3): 705-728, ISSN: 2448-6698, DOI: <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i3.4785>.
- MINAG (Ministerio de la Agricultura). 2002. Programa de mejoramiento genético de la abeja *Apis mellifera* L. con abejas localmente adaptadas al ácaro *Varroa destructor* I. CIAPI, Cuba, p. 8.
- MINAG (Ministerio de la Agricultura). 2013. Programa de mejoramiento genético de la abeja *Apis mellifera* con abejas localmente adaptadas al ácaro *Varroa destructor* II. CIAPI, Cuba, p. 22.
- MITECO (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, España). 2019. Borrador de plan de acción nacional para la conservación de los polinizadores. Versión 18 de enero de 2019, p. 73, Available: https://www.miteco.gob.es/es/biodiversidad/participacion-publica/borradorplanpolinizadores_tcm30-487605.pdf.
- Moreira, S.B.L.C., Sampaio, G., Alcântara, H., Alves, E., Santiago, D. & De Holanda J. 2017. "Infestação do ácaro *Varroa destructor* em colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) no Semiárido potiguar, Nordeste do Brasil". *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 12(1): 143-149, ISSN: 1981-8203, DOI: <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v12i1.4845>.
- NC (Norma Cubana). 2010. Apicultura. Varroosis. Diagnóstico Veterinario. Oficina Nacional de Normalización, La Habana, Cuba.
- Ocaña-Nápoles, L. 2014. Caracterización morfobiométrica de zánganos de *Apis mellifera* L. en un apiario de producción de la provincia de Mayabeque. Trabajo de Curso. Universidad Agraria de La Habana, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, p. 27.
- OIE (World Organisation for Animal Health). 2015. Infestación de las abejas melíferas por *Varroa spp.* (Varroosis). In: Código Sanitario para los Animales Terrestres. 15th Ed. Ed. Organización Mundial de Sanidad Animal. Paris, Francia, ISBN: 92-9044-679-X.
- Pasini, B. & Falda, M.T. 2003. L'allevamento d'apiregine. Una per tutte...tutte per una. Unione Nazionale Associazione Apicoltori Italiani (U.N.A.API.), pp. 31-53.
- Pérez Hernández, A. 2009. Índices de infestación por *Varroa destructor* y su relación con las características biométrico moleculares de *Apis mellifera* y el mecanismo defensivo ANF, en un CCR. MSc. Thesis. Universidad Agraria de La Habana,

- San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, p. 60.
- Pérez Hernández, A. 2014. Índices de infestación por *Varroa destructor* y mecanismos de defensa, y su correspondencia con la supuesta condición de "europeas" y selectas de las colmenas en un Centro Genético de Producción de abejas reinas. PhD Thesis. Universidad Agraria de La Habana, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, p. 101.
- Pérez-Morfi, A. & Pérez-Piñero, A. 2018. Experiencias sobre crianza y selección en la apicultura cubana. Memorias del XIII Congreso de la Federación Latinoamericana de Apicultura (FILAPI). 2-5 de agosto de 2018, Montevideo, Uruguay, p. 278.
- Ramsey, S. 2018. The acari varroa feeds mainly of the fatty corporal fabric of the melliferous bee. PhD Thesis. University of Maryland, Maryland, U.S.A., p. 143.
- Reyes, F. 2016. Efectividad de cuatro acaricidas en el control del ácaro (*Varroa destructor*) en abejas (*Apis mellifera* L.). MSc. Thesis. Universidad Nacional Agraria, Lima, Perú, p. 88.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P. & Ziegelmann, B. 2010. "Biology and control of *Varroa destructor*". Journal of Invertebrate Pathology, 103: S96-S119, ISSN: 0022-2011, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>.
- Sanabria, J. L. 2007. Índices de infestación, estatus racial y expresión de mecanismos de resistencia en colmenas sin control antiVarroa. PhD Thesis. Universidad Agraria de La Habana, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, p. 115.
- 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: 2224-4700.
- Sanford, M. & Hall, H. 2005. African Honey Bee: What You Need to Know. Available: http://edis.ifas.ufl.edu/BODY_MG113, [Consulted: March 13th, 2011].
- SARH-USDA. 1986. Regla para la medición del diámetro de las celdas de cría de obreras. Programa Conjunto México-EE.UU para el control de la abeja africanizada. Available: http://www.sat.gob.mx/sitio_internet/asistencia_contribuyente/información.
- Statgraphics Plus. 2000. Version 5.1 [Windows], Available: <http://www.statgraphics.com/statgraphics/statgraphics.nsf/pd/pdpricing>.
- Urbina, R.A., Utrera-Quintana, F., Castillo-González, F., Livera-Muñoz, M., Benítez-Riquelme, I., Villa-Mancera, A.E., Hernández-Hernández, J.E. & Silva-Rojas, H.V. 2019. "Valoración del origen africanizado en la integración de una población experimental de *Apis mellifera* L". Revista Fitotecnia Mexicana, 42(2): 111-118, ISSN: 0187-7380.
- Uribe, R., Guzmán-Novoa, G., Hunt, G., Correa, B. & Zozaya, R. 2003. "Efecto de la africanización sobre la producción de miel, comportamiento defensivo y tamaño de las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) en el Altiplano Mexicano". Veterinaria México, 34(1): 47-59, ISSN: 0301-5092
- Verde, M., Demedio, J. & Gómez, T. 2013. Apicultura. Salud y Producción. Tomo II. Guía técnica para el apicultor. 1st Ed. ISBN: 978-959-7190-21-9, p. 208.
- Verde, M., Gómez, T. & Demedio, J. 2012. Salud Apícola. Tomo I. Generalidades. 1st Ed. ISBN: 978-959-7190-15-8, p. 207.
- Voroshilov, U. 2008. Determinación del estatus racial y parasitológico (varroosis) de colmenas (*Apis mellifera* L.), ante la amenaza de la africanización. Diploma Thesis. Universidad Agraria de La Habana, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, p. 71.

Received: December 22, 2020

Accepted: February 17, 2021