



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

METODO *IN VITRO* DE REPRODUCCION Y MANTENIMIENTO DE  
POBLACIONES DEL PEQUEÑO ESCARABAJO DE LA COLMENA  
(PEC) *AETHINA TUMIDA* PARA SU USO Y ESTUDIO EN EL  
LABORATORIO

Trabajo de investigación que presenta  
CASTELLANOS DOUNIS ALEJANDRO

En opción al título de

MAESTRO EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: Recursos Naturales)

Mérida, Yucatán, México

2021




CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



**RECONOCIMIENTO**

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Alejandro Castellanos Dounis** titulado “**METODO IN VITRO DE REPRODUCCION Y MANTENIMIENTO DE POBLACIONES DEL PEQUEÑO ESCARABAJO DE LA COLMENA (PEC) *Aethina tumida* PARA SU USO Y ESTUDIO EN EL LABORATORIO**”, fue realizado en el laboratorio de Fisiología Ambiental de Plantas de la Unidad de Recursos Naturales, en la línea Servicios Ambientales de la Biodiversidad, del **Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.** bajo la dirección de la **Dra. María Azucena Canto Aguilar**, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas dentro de la opción de Recursos Naturales de este Centro.

**Atentamente**



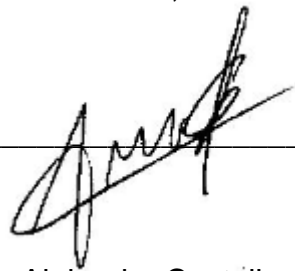
---

**Dra. Cecilia Hernández Zepeda**  
**Directora de Docencia**

Mérida, Yucatán, México, a 18 de junio de 2021

## DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de investigación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.



---

Alejandro Castellanos Dounis

---

Este trabajo se llevó a cabo en la Unidad de **Recursos Naturales** del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y forma parte del proyecto titulado “Nutrición y sanidad de las colonias de *Apis mellifera* a través de los aceites esenciales de la flora nativa y de levaduras simbióticas” (CONACYT 219922), bajo la dirección de la **Dra. María Azucena Canto Aguilar** y con apoyo técnico de la **Biol. María Rosalina Rodríguez Román**.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT - México) por la beca recibida (CVU: 932751) durante la maestría, así como los múltiples eventos y oportunidades de apoyos, estancias, congresos y financiamiento para la formación de investigadores.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), al personal de posgrado y del departamento de Recursos Naturales por aceptarme en la institución, por las prestaciones de las instalaciones de laboratorio (RNA23) y a todos los profesores del área de docencia por sus invaluable conocimientos.

Agradezco la valiosa asesoría y el apoyo incondicional de mi directora de tesis, la Dra. María Azucena Canto Aguilar y la Biol. María Rosalina Rodríguez Román, quienes siempre creyeron en mis capacidades y el valor de mi trabajo, impulsándome a seguir adelante sin importar las adversidades. Agradezco el apoyo de los técnicos y los apicultores que prestaron sus habilidades para hacer posible este proyecto. Agradezco a mis asesores de tesis, la Dra. Rocío Borges Argáez y el Dr. Luis Medina Medina, así como al resto de los miembros del comité de revisión, el Dr. Ricardo X. Álvarez Espino y el Dr. Denis Magaña, por su conocimiento y experiencia para mejorar la calidad de mi trabajo.

---

## **DEDICATORIAS**

En especial me gustaría dedicar este trabajo a mis padres Elizabeth y Alfredo e igualmente a mi abuela Victoria por ser el cimiento de mi desarrollo, por todo el amor que me han dado, por enseñarme a no darme por vencido, por todos los principios y valores que me han inculcado y por motivarme siempre a perseguir mis sueños y la felicidad. Agradezco infinitamente a Dios por haberme bendecido con la familia y los amigos que tengo.

Quiero dedicarlo también a Claudia por ser mi mejor amiga y pareja quien me ha ayudado a dar siempre lo mejor de mí, enseñándome a ser una persona más abierta y afectuosa.

Gracias a todos por su gran apoyo y su paciencia ayudándome a concluir mi proyecto de tesis





---

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPITULO I.</b> .....	<b>3</b>
ANTECEDENTES.....	3
1. ESPECIE DE ESTUDIO.....	4
1.1 CICLO DE VIDA DE <i>AETHINA TUMIDA</i> .....	5
1.2 DISTRIBUCIÓN E IMPACTO .....	7
1.3 METODOS DE CONTROL.....	8
1.4 ASOCIACIÓN CON <i>KODAMAEA OHMERI</i> .....	9
JUSTIFICACIÓN.....	11
OBJETIVO GENERAL .....	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	11
<b>CAPITULO II</b> .....	<b>13</b>
CRECIMIENTO DE PEC BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO .....	13
2.1 INTRODUCCIÓN .....	13
2.1.1 <i>AETHINA TUMIDA</i> .....	13
2.1.2 RECOLECCIÓN.....	14
2.1.3 DIETA .....	16
2.1.4 MANTENIMIENTO .....	16



---

---

2.1.5 ESTIMACIÓN DE LA EXPECTATIVA DE VIDA DE LAS POBLACIONES RECOLECTADAS DE PEC Y LAS PRODUCIDAS EN EL LABORATORIO .....	17
2.2 MATERIALES Y METODOS .....	18
2.3 RESULTADOS.....	21
<b>CAPITULO III.....</b>	<b>24</b>
3. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS .....	24
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>26</b>



---

## LISTADO DE ABREVIATURAS

*A. mellifera*: *Apis mellifera*, la abeja melífera o abeja europea, especie de la familia de los Ápidos. (Apidae)

*A. tumida*: *Aethina tumida*, especie de escarabajo perteneciente a la familia de los nitidúlidos. (Nitidulidae)

g: Gramo.

*K. ohmeri*: *Kodamaea ohmeri*, especie de levadura fermentativa.

PEC: Pequeño Escarabajo de la Colmena. (*Aethina tumida*)

mg: Miligramo.

mm: Milímetro.

RNA: Ácido Ribonucleico.



---

## LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1. Pequeño escarabajo de la colmena <i>Aethina tumida</i> en fase adulta.....	4
Figura 1.2. Diagrama del ciclo de vida del pequeño escarabajo de la colmena.....	5
Figura 1.3. Larva de Pequeño escarabajo de la colmena ( <i>Aethina tumida</i> ), vista por estereoscopio.....	6
Figura 2.1. Larva de <i>Aethina tumida</i> . Foto tomada con estereoscopio.....	14
Figura 2.2. Dispositivo aspirador de PEC.....	15
Figura 2.3. Recolección de adultos del pequeño escarabajo de la colmena en el apiario.	15
Figura 2.4. Dieta base de PEC.....	16
Figura 2.5. Contenedores de mantenimiento. ....	19
Figura 2.6. Bandejas para larvas .....	19
Figura 2.7. Tubos de pupación.....	20
Figura 2.8. Curvas de sobrevivencia de poblaciones de <i>A. tumida</i> manejadas .....	23





---

## **LISTADO DE TABLAS**

Tabla 2.1. Tabla de vida de escarabajos adultos de la primera recolecta.....	22
Tabla 2.2. Tabla de escarabajos criado en laboratorio de la primera recolecta .....	22
Tabla 2.3. Tabla de vida de escarabajos adultos de la segunda recolecta. ....	22
Tabla 2.4. Tabla de escarabajos criado en laboratorio de la primera recolecta .....	22



---

## RESUMEN

El presente trabajo es una propuesta para el desarrollo de un método de crianza y mantenimiento de poblaciones de *Aethina tumida* en laboratorio adecuado a las condiciones climáticas tropicales de la península de Yucatán y realizar una revisión de la literatura existente sobre esta especie con el fin de proveer una herramienta de introducción y guía a su manejo en el laboratorio para investigaciones en futuros trabajos. Se hace también una revisión sobre la literatura que discute la posible relación mutualista del escarabajo con la levadura *Kodamaea ohmeri*, un organismo fúngico patógeno que puede facilitar la infestación de colmenas al condicionar los recursos del medio a beneficio del escarabajo.

## **ABSTRACT**

The present thesis proposes a method of breeding and maintenance of individuals of *Aethina tumida* in laboratory conditions appropriate to the subtropical conditions of Yucatán. This thesis also reviews the existing literature on this beetle species to provide a guiding tool for its laboratory handling for future experimental studies. A literature review is also made that discusses the possible mutualistic relationship between this beetle and the yeast *Kodamaea ohmeri*. This yeast is an opportunistic pathogenic microorganism that can facilitate the beetle infestation of hives.

---

## INTRODUCCIÓN

La apicultura en México es una de las actividades de mayor importancia socioeconómica y ecológica del medio rural, donde representa una fuente de empleo y comercio con otros países, ocupando el sexto lugar a nivel mundial en volumen de exportación de miel y noveno lugar como productor de miel. La península de Yucatán se ubica como la región principal dentro de la actividad apícola del país (Magaña et al, 2016). Sin embargo, la apicultura a nivel global ha tenido que enfrentar diversos problemas que se han identificado en las últimas décadas. Entre las posibles causas del problema de colapso de colonias destaca la contaminación por residuos derivados de pesticidas y sustancias químicas, patógenos como *Mellisococcus pluton* y *Paenibacillus larvae*, la presencia de parásitos externos como el ácaro *Varroa destructor* y parásitos internos como las especies de microsporidios *Nosema apis* y *Nosema ceranae*, causantes de la nosemosis en las abejas (Kluser & Peduzzi, 2007). Otros problemas incluyen la deforestación, el embate de huracanes y tormentas tropicales, la africanización de las colonias y la presencia de ciertas plagas como la invasión de colmenas por poblaciones del escarabajo *Aethina tumida*, conocido por su nombre común como el Pequeño Escarabajo de la Colmena (PEC). Todos estos factores han tenido un impacto adverso en la productividad y competitividad de la actividad apícola en la región (Echazarreta et al.1997).



## CAPITULO I.

### ANTECEDENTES

En este capítulo se explicará brevemente la situación actual de la actividad apícola de la región, las amenazas que enfrenta esta actividad en la actualidad, y la problemática que representa el aumento de poblaciones de *Aethina tumida*. Se detalla el ciclo de vida y la distribución de la especie, el comportamiento y los mecanismos que le permiten al escarabajo realizar invasiones a colmenas de *Apis mellifera*, así como los métodos de control que se emplean en la actualidad para mitigar el impacto de esta plaga. También se revisa la literatura enfocada al estudio de la relación mutualista entre el escarabajo y la levadura *Kodamaea ohmeri* como un factor que facilita las invasiones a las colmenas.

### 1. ESPECIE DE ESTUDIO

*Aethina tumida* (Figura 1.1), una especie identificada por Andrew Dickson Murray en 1867 (Murray 1867), y originaria de la región subsahariana de África (Lundie, 1940), es un miembro del orden *Coleoptera* (lo que conocemos comúnmente como escarabajos) de la familia de los nitidúlidos que pueden vivir de una variedad de fuentes de alimentos (mayormente consumen materia vegetal fermentada por levaduras). Se les puede encontrar cerca de árboles con hongos, frutas frescas y podridas, granos, flores y, por supuesto, también pueden ser encontrados invadiendo nidos de diversas especies de abejas aprovechando los recursos que almacenan para su alimentación, desarrollo y reproducción (Neumann et al. 2016). La naturaleza invasiva de la especie y, por ende, los daños que provoca a la apicultura en las regiones fuera de África son los puntos de mayor interés detrás del estudio del PEC (Neumann 2003, Neumann & Ellis 2008). El interés por el estudio del escarabajo aumentó a finales de la década de 1990 con su llegada a Europa y América donde se ha convertido en una plaga de importancia económica para los apiarios. Los escarabajos pueden llegar a afectar negativamente a otras especies de polinizadores como son los abejorros silvestres *Bombus impatiens* y *Bombus pensylvanicus* (Graham et al. 2011).

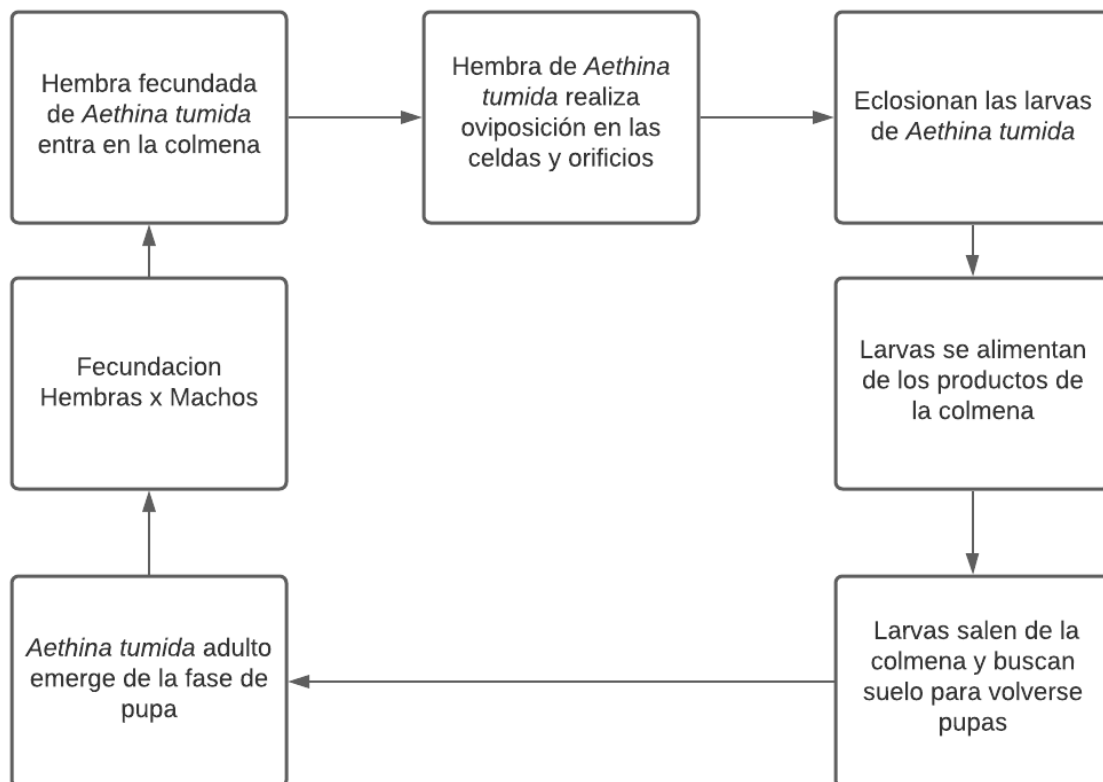


**Figura 1.1.** Pequeño escarabajo de la colmena *Aethina tumida* en fase adulta.

Dentro del área nativa de su distribución en África, se considera al PEC como una plaga menor por solo presentar amenaza contra colonias estresadas o debilitadas. Se ha encontrado que las colonias silvestres de *A. mellifera* y otras especies de antofilos han desarrollado mecanismos de defensa y control contra la infestación mientras la salud de la colonia se mantenga robusta.



Durante del ciclo de vida del escarabajo que se ha infiltrado en una colonia de abejas *A. mellifera*, las hembras maduras depositan sus huevecillos en las grietas que encuentran dentro de la colonia y también hacen huecos en las celdas de cría para depositar sus huevos en el interior de la celda. Cuando las larvas emergen, se alimentan de miel, polen y crías de abeja contaminando los productos en el proceso y dejando atrás una gran masa fermentada. Una vez alimentadas, las larvas salen de las colmenas en busca de suelo adecuado para entrar a fase de pupa y desarrollarse hasta su fase adulta (Neuman et al. 2013) (Figura 1.2).



**Figura 1.2.** Diagrama del ciclo de vida del pequeño escarabajo de la colmena.

## 1.1 CICLO DE VIDA DE *AETHINA TUMIDA*

1. Huevecillos de color blanco opaco de 1.4 mm de longitud y 0.26 mm de anchura. Normalmente se encuentran en racimos (“clutches”) y toman de 3 a 6 días para que la larva eclosione. Suelen encontrarse dentro de las colmenas ya que son los huevos son depositados en grietas y huecos por las hembras, aunque igual han sido encontrados dentro de las celdas operculadas conteniendo cría y miel.

2. Larvas de color blanco suave cuyas longitudes van de los 1.3 mm cuando eclosionan hasta 10.5 mm cuando terminan su desarrollo (Figura 1.3). Este proceso toma de 10 a 14 días, pero puede variar según las fuentes de alimento y la temperatura ambiente. Tienen 3 pares de patas delanteras cerca de la cabeza y poseen hileras de picos dorsales en su cuerpo. Pueden ser encontradas arrastrándose dentro de la colmena donde rompen los opérculos de las celdas para alimentarse. Las larvas maduras pueden encontrarse en el suelo alrededor de la colonia infestada donde buscan tierra adecuada para pupar.



**Figura 1.3.** Larva de Pequeño escarabajo de la colmena (*Aethina tumida*), vista por estereoscopio.

3. Pupas: La pupa de *A. tumida* es una *pupa libera* o pupa libre, lo que significa que puede mover sus extremidades, piernas y aberturas de las alas, a diferencia de los organismos con *pupa obtecta*, cuyas extremidades están pegadas al cuerpo en pupa. En los primeros días de desarrollo, la pupa tiene un color blanco opaco que se va oscureciendo a medida que se desarrolla y su exoesqueleto se endurece. El tiempo de desarrollo varía entre 15 y 74 días dependiendo de la temperatura (Neumann et al. 2001). Se encuentran dentro de la tierra a una leve profundidad (< 20cm).

4. Los adultos tienen una forma ovalada y varían en tamaño (de 5 a 7 mm de longitud, y de 3 a 4.5 mm de anchura). Tienen un color rojizo-café al salir de su etapa de pupa, pero se vuelven de color café oscuro o negro al llegar a la madurez. Poseen unas características antenas pequeñas con forma de garrote (club) (Neuman et al. 2013). Los adultos pueden encontrarse en cualquier sitio dentro de la colmena, preferentemente en lugares donde pueden evitar las densidades altas de las obreras de *A. mellifera*, en espacios pequeños, y a veces siendo acorralados por abejas.

## 1.2 DISTRIBUCIÓN E IMPACTO

La primera detección del PEC en México fue en octubre del 2007. Desde entonces se ha dispersado a varias regiones del país causando daños que varían según el ambiente y el manejo que se le ha dado. Actualmente, *A. tumida* se encuentra en más de 14 estados de la república, convirtiéndose en un problema a nivel nacional por el crecimiento poblacional de escarabajos, principalmente en áreas tropicales y subtropicales, en donde la humedad relativa del suelo es apta para su reproducción. Al día de hoy, se ha detectado en Coahuila (2007), Guanajuato (2008), Nuevo León (2010), Tamaulipas (2010), San Luis Potosí (2012), Quintana Roo (2012), Yucatán (2012), y además existen nuevos reportes en Tamaulipas y Michoacán, lo que ha llevado a que esta especie ser considerada una plaga endémica a nivel nacional (SEGOB, 2018; Bayona et al. 2018). A pesar de que existen formas de controlar al escarabajo, cuya efectividad ha sido probada en la literatura, como son las trampas de captura (Peterson, 2012), todavía no se han desarrollado métodos prácticos que sean adecuados para las condiciones y recursos que tienen los apicultores de medios rurales para controlar infestaciones del PEC. Es necesario fomentar la investigación y experimentación con esta especie en la región para lo cual este trabajo ofrece un modelo base para facilitar las investigaciones futuras (Hood, 2004). Además de los métodos de mantenimiento y crianza del PEC hay un enfoque en la influencia que tiene el suelo o sustrato donde el escarabajo entra a la fase de pupa para seguir con su ciclo de vida. Se ha encontrado que el PEC se desarrolla mejor dentro de suelos húmedos que en sustratos secos y es uno de los factores que determina el éxito de la pupación del PEC (Meikle & Diaz, 2012; Ellis et al. 2004). Se ha estudiado la dispersión que tiene el PEC sobre colonias de *A. mellifera* con lo que se ha encontrado que el escarabajo realiza vuelos lejanos para dispersar sus poblaciones lo que encaja con la forma en que las poblaciones de escarabajo pueden consumir una gran cantidad de recursos y afirma la preocupación que existe con la propagación de la especie fuera de su región nativa en África (Neumann et al. 2012). Cabe resaltar que la mayoría de los estudios que se han realizado sobre el comportamiento y manejo del PEC han sido en el territorio norteamericano en

condiciones estándar de laboratorio y en climas templados en el campo. Los requerimientos para la supervivencia y desarrollo del ciclo de vida del PEC están disponibles dentro de un gran rango de distribución de *A. mellifera*, y con su capacidad de adaptarse a climas templados y a una variedad de suelos para su pupación se asume que la introducción de poblaciones de PEC a regiones apicultoras ocurre rápidamente con fuertes implicaciones para la actividad (Neumann & Elzen, 2004).

### 1.3 METODOS DE CONTROL

Solo mediante métodos de prevención y detección temprana es posible la erradicación completa de una infestación por PEC; Si las poblaciones de escarabajos ya están establecidas en la región, su eliminación completa se vuelve imposible, por lo que las medidas de cuarentena y control de fronteras de cada país y región son la primera línea de defensa ante la distribución de esta especie a nivel global (Schäfer et al. 2019). Existen métodos de control de plagas para el escarabajo que pueden ser usados tanto dentro como fuera de la colmena. Entre los recursos más empleados para el control de las infestaciones del PEC, está el uso de trampas, dispositivos diseñados para restringir el movimiento de la plaga y exponerla a un agente nocivo. La trampa mecánica son dispositivos de plástico colocados en los cuadros dentro de las colonias y que cuentan con un compartimiento central donde se añade un atrayente, y otros compartimientos adjuntos que tienen un agente nocivo para eliminar al invasor (Peterson 2012; Nolan 2008; Torto et al. 2007). Dentro del manejo de trampas para el PEC, se ha encontrado que la iluminación juega una parte fundamental en el éxito de captura de adultos y larvas, ya que aprovechan la atracción a la luz que tienen (Duehl et al. 2011), y el ácido bórico ha sido probado en el control químico del PEC como agente nocivo en la búsqueda de un método de control eficaz contra esta plaga (Reyes-Escobar 2015). La exploración de los métodos de control posibles ha llegado hasta la investigación del uso de ARN interferente para el control de poblaciones mediante la supresión de sus genes (Powell, 2016). Se ha observado en la literatura la posible aplicación de levaduras como agentes fúngicos de biocontrol para tratar el suelo donde las larvas pupan, pero estos métodos todavía están en desarrollo (Leemon, 2012; Cuthbertson et al. 2013). Así como otros miembros de la familia *Nitidulidae*, el PEC se encuentra a cercanía de frutos fermentados por lo que entre los agentes atrayentes utilizados en previas investigaciones, se ha encontrado que el vinagre de manzana tiene un efecto atrayente bastante efectivo (Nolan & Hood, 2008). Estos estudios de olores y volátiles se han vuelto un enfoque importante dentro del control del

escarabajo ya que se ha descubierto que el PEC es atraído a los volátiles producidos por las abejas adultas, cría, polen y cera, y estos hallazgos se lograron gracias a bioensayos de preferencia de olores con uso de dispositivos como el olfatómetro (Graham et al. 2011).

#### **1.4 ASOCIACIÓN CON *KODAMAEA OHMERI***

*Kodamaea ohmeri* es una levadura comúnmente encontrada en la fermentación de frutas y vegetales, y es causante de infecciones inusuales en humanos, reportándose casos de fungemia en neonatos (Taj-Aldeen et al. 2006). Es un hongo que ha dado que hablar en la literatura médica, pero cuyas interacciones biológicas con otros organismos, particularmente con el PEC, no se han definido por completo (Brogan 2018). Se ha reportado la asociación entre *A. tumida* y la levadura *Kodamaea ohmeri* (Torto et al. 2007, Benda et al. 2008, Neumann et al. 2016) y se ha llamado a profundizar la investigación del tema. La fermentación de los productos de la colmena, ocasionada por la levadura es la parte destructiva significativa del impacto de *A. tumida* en las colonias de abejas con comerciales. Los intentos para limpiar un enjambre pueden ser costosos y tardados con riesgos potenciales a la salud debido al efecto patógeno de las levaduras en la masa fermentada por el PEC (Leemon, 2012). Se ha reportado que la levadura incrementa la reproducción del PEC, aunque los mecanismos todavía no han sido explicados por completo. Si las hipótesis que asumen la importancia de la asociación entre el escarabajo y la levadura son acertadas, el control de *K. ohmeri* puede proveer un método efectivo para el control del PEC. Se ha comprobado que *K. ohmeri* está presente y es la levadura predominante en el limo o 'slime' que se genera cuando poblaciones de *A. tumida* se alimentan de los productos de la colmena y las larvas se desarrollan en estos. También es detectable en todas las etapas del ciclo de vida del escarabajo aun después de haber sido esterilizados superficialmente lo que puede ser producto de una transmisión vertical. (Conklin, 2012; Hayes, 2015; Brogan et al., 2018). La fermentación de la miel dentro de la colmena está estrechamente asociada con la infestación en masa del PEC. Desde los muestreos iniciales de colmenas infestadas y del PEC, se ha aislado e identificado la levadura *K. ohmeri* que crece prolíficamente en las colmenas infestadas por el PEC, y este crecimiento produce volátiles atrayentes para el PEC que tienen una acción similar a los componentes de feromonas de alarma de las abejas (Torto et al. 2007). Se requieren procedimientos confiables para detectar e identificar a *K. ohmeri* en muestras biológicas para definir las interacciones de esta levadura con el PEC y las abejas. *K. ohmeri* no es el único microorganismo que puede estar asociado al PEC, ya que también existen estudios que sugieren que el escarabajo puede ser un hospedero y vector de virus que afectan a *A. mellifera* cuando comparten las mismas fuentes de alimento. (Eyer et al. 2009). De las diversas especies de

levadura identificadas de muestras de escarabajos, solo *K. ohmeri* se considera estrechamente asociada con el PEC. Esta levadura se aisló de la mayoría de los escarabajos colectados en la colmena, y se considera un simbiote secundario de *A. tumida*. La invasión del PEC en apiarios de la región sureste de México ha generado la expansión y distribución de *K. ohmeri* a nuevas zonas en las que no se había detectado previamente. Ninguna otra levadura que haya sido aislada del PEC se puede definir como simbiote y se asume que el escarabajo las obtiene de fuentes externas durante sus movimientos a través de los panales con cría, alimentadores y otras estructuras dentro de la colmena (Canto et al. 2020).

La levadura ha sido aislada del PEC producidos por medio de métodos estériles y en PEC adultos vírgenes, así como también se han encontrado clones de *K. ohmeri* de diferentes etapas del ciclo de vida del PEC, lo que sugiere una íntima asociación entre la levadura y el escarabajo. La levadura está presente internamente en las larvas, pupas y escarabajos adultos. También se ha reportado que durante la infestación en masa por larvas de PEC, la única especie de levadura presente resultó ser *K. ohmeri*, lo cual sugiere que puede competir mejor que otras especies de levaduras en este medio (Benda et al 2008). Las estrategias de oviposición de *A. tumida* en conjunto con su asociación con la levadura *K. ohmeri* pueden ser un factor en el éxito de *A. tumida* como plaga. El interés por el estudio de la relación entre la levadura y el escarabajo ha resultado en el surgimiento de proyectos que buscan proveer información y métodos para la investigación de las interacciones tripartitas de abeja, escarabajo y levadura. Estos trabajos contribuyen con información fundamental y herramientas para las siguientes generaciones de estudios del PEC. Desde ensayos biológicos que prueban el efecto atrayente de los volátiles de *K. ohmeri* para el PEC, el crecimiento de la levadura en productos de la colmena, hasta las primeras secuenciaciones del genoma de la levadura. La caracterización, detección y prevalencia de *K. ohmeri* dentro de cada una de las etapas del ciclo de vida del escarabajo asociado a las infestaciones de colmenas de *A. mellifera* es uno de los hallazgos que sugieren la existencia de una asociación del PEC y la levadura a nivel mutualista o de simbiotes. Esta asociación no solo se ha observado dentro de colmenas de *A. mellifera*, sino que también se encuentra en infestaciones de otros miembros de la familia de los *Ápidos*, como *Bombus impatiens* Cresson y *Bombus pensylvanicus* DeGeer (Benda et al. 2008; Tauber et al. 2019; Graham et al. 2011; Conklin 2012).

## **JUSTIFICACIÓN**

El propósito de este trabajo es contribuir a la preservación de la actividad apícola de la región y la investigación de la especie *A. tumida*, el desarrollo de nuevos métodos de control para esta plaga, mitigar las pérdidas ocasionadas por infestaciones, y ser usado como un manual de crianza del escarabajo y guía para orientar la investigación en futuros trabajos sobre la especie.

## **OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar un método adecuado a las condiciones tropicales de la región para la recolección, mantenimiento y reproducción de poblaciones de *A. tumida* en el laboratorio, así como presentar los resultados del uso de este método.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Comprobar los métodos actuales para la recolección de PEC en apiarios locales, y su transporte y mantenimiento en el laboratorio.
- Reproducir nuevos individuos a partir de esta población en el laboratorio.
- Estimar la expectativa de vida de las poblaciones recolectadas y las producidas en el laboratorio.

## **ESTRATEGIA EXPERIMENTAL**

Los escarabajos usados en este estudio fueron colectados en una de las colmenas del apiario experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán y una segunda colecta se realizó en un apiario particular ubicado entre las localidades de Hunucmá y Ucú en el estado de Yucatán. Los PEC adultos recolectados fueron transportados al campus del Centro de Investigación Científica de Yucatán donde los especímenes fueron mantenidos y observados para el fin de estudiar su comportamiento en el laboratorio. Se ha reportado que El PEC se alimenta de miel, polen y cría de abeja, así como también se reproduce sobre estas sustancias (Ellis et al., 2002). Una dieta que contenga cría de abeja es poco práctica ya que se necesitan muchas colonias para sustentar un programa de crianza del PEC, además de que sería destructivo para la colonia. Se ha reportado que el PEC tiene una baja tasa de fecundidad cuando es alimentado solamente con frutas, por lo que ese tipo de dieta tampoco sería práctica (Ellis et al. 2002; Buchholz et al. 2008). Una dieta que ha sido adecuada consiste de polen granulado seco, miel y suplementos de proteína para abeja (Neumann et al. 2013), y

para hacer la dieta se requiere: Añadir en un recipiente mezclador los 3 ingredientes, 2000 ml de polen, 2000 ml de miel y 4000 ml de suplemento de proteína; Mezclar por 20 minutos aproximadamente hasta obtener una consistencia firme y moldeable; Si la mezcla esta pegajosa, añadir suplemento de proteína a la mezcla de forma incremental hasta que deje de estarlo. La dieta no debe ser pegajosa al tacto ya que las larvas que se alimenten del sustrato quedan cubiertas del mismo y se vuelven capaces de arrastrarse por superficies verticales, lo que las hace difíciles de recolectar y propensas a escapar.



---

## CAPITULO II.

### CRECIMIENTO DE PEC BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO

En este capítulo se detalla el principal método para la recolección de *A. tumida* en apiarios, así como la forma adecuada de transportar poblaciones al laboratorio, las condiciones para su almacenamiento y la preparación de la dieta básica para sustentar estas poblaciones.

#### 2.1 INTRODUCCIÓN

La naturaleza invasiva del PEC hacia las colmenas de *A. mellifera* ha llamado la atención de la comunidad científica que en las últimas décadas ha hecho esfuerzos y avances en la investigación del comportamiento de la especie con el fin de controlar la amenaza que la especie representa para la apicultura. *A. tumida* comparte su naturaleza como plaga con otras especies de escarabajos que también han sido estudiados en el laboratorio, algunos ejemplos son *Ips typographus* un escarabajo europeo que representa una amenaza para los bosques de abetos de su región (Štefková et al. 2017) y *Leptinotarsa decemlineata*, el escarabajo plaga de la patata que se alimenta de las hojas de los cultivos (Ertürk et al. 2017). Existen otras especies de escarabajos que no son consideradas como plagas que también han sido criadas en laboratorio: *Microdera punctipennis* Kasz, escarabajo del desierto estudiado por su función como indicador de desertificación (Wang et al. 2011), *Coccinella Septempunctata*, la catarina de siete puntos que actúa como agente de biocontrol y depredador de otras plagas de invernadero (Ashraf et al. 2010), o las especies de Cicindelinae, conocidos como escarabajos tigre cuyas poblaciones están en decline (Gwiazdowski et al. 2011). Un plan de manejo estándar para poblaciones de insectos en el laboratorio generalmente contempla métodos de recolección, transporte, manejo, observación y crianza de la especie. En el siguiente capítulo se presenta la información pertinente al PEC como se encuentra en los apiarios a medida que invade las colmenas de *A. mellifera* y se presenta la información de las metodologías que fueron comprobadas para establecer un método para el crecimiento de *A. tumida* bajo condiciones de laboratorio.

##### 2.1.1 AETHINA TUMIDA

*Aethina tumida*, (Figura 2.1) una especie de escarabajo de la familia *Nitidulidae*, que se ha vuelto una plaga invasiva para colonias de *Apis mellifera* en América y en Europa desde la década de los 90s. Bajo las condiciones ideales, las poblaciones del escarabajo pueden llegar a densidades extremadamente elevadas dentro de colonias de abejas, causando problemas que van desde la contaminación de los productos de la colmena, hasta la debilitación y el colapso de la misma.

Las pérdidas monetarias de apicultores en América, debidas a infestación por PEC, han sido estimadas de hasta 3 millones de dólares durante los primeros años de su descubrimiento en el territorio americano (Elzen et al. 2001).



**Figura 2.1.** Larva de *Aethina tumida*. Foto tomada con estereoscopio.

### 2.1.2 RECOLECCIÓN

Para la recolección manual del PEC se empleó un aspirador sencillo que puede ser fabricado con un frasco de plástico con dos mangueras de nivel conectadas. (Figura 2.2) Una de estas mangueras o tubos permite la aspiración dentro el contenedor por succión de la boca del recolector. El tubo de succión se cubrió de malla protectora para evitar la aspiración accidental del espécimen. Las paredes de los frascos fueron humedecidas con una mezcla de agua y miel para evitar la deshidratación y muerte de los especímenes durante el transporte al laboratorio.



**Figura 2.2.** Dispositivo aspirador de PEC

La recolección se realizó con el equipo de protección personal, de preferencia en parejas con la supervisión de un apicultor abriendo las cajas de las colmenas y operando el ahumador para ahuyentar a las abejas y darle al investigador que use el dispositivo aspirador la oportunidad de recolectar los escarabajos presentes en los panales (Figura 2.3).



**Figura 2.3.** Recolección de adultos del pequeño escarabajo de la colmena en el apiario.

Se recomienda usar una malla poliéster durante el manejo de los escarabajos en el laboratorio a fin de evitar su escape ya que son propensos a volar de manera rápida y errática. Un espécimen que haya salido de algún contenedor puede ser capturado de nuevo con el dispositivo aspirador usado en la recolección en el apiario. Cuando se mantienen o transportan PEC adultos

individualmente o en masa para propósitos experimentales, se debe evitar la exposición directa a la luz solar, mantener a temperatura ambiente y permitir suficiente circulación del aire, así como el suministro de agua *ad libitum*. Las condiciones inadecuadas de almacenamiento y transporte ocasionan la muerte de los especímenes.

### 2.1.3 DIETA

Se proporcionó la dieta definida por Neumann et al. (2013) de una mezcla de miel, polen granulado y suplemento de proteína, (se usó proteína de harina de soya y de suero de leche) dividida en porciones pequeñas (<2g) en los contenedores. La mezcla se refrigeró mientras no estuvo en uso. (Figura 2.4).



**Figura 2.4.** Dieta base de PEC.

### 2.1.4 MANTENIMIENTO

Para el mantenimiento de los especímenes adultos en el laboratorio puede optarse por el manejo individual o en masa:

Mantenimiento individual:

1. Suministrar una pequeña porción de la dieta (<0.5g) en un tubo de reacción Eppendorf de 1.5 ml.
2. Colocar los tubos en bandejas de laboratorio y hacer huecos en las tapas con una aguja o alfiler para permitir la circulación del aire.

3. Introducir los PEC adultos en los tubos Eppendorf con utensilios como pinzas suaves y varillas delgadas.
4. Almacenar las bandejas a temperatura ambiente en ausencia de luz.
5. Suministrar en cada tubo una mezcla de agua con miel diariamente con el uso de una pipeta o gotero.

Mantenimiento en masa:

1. Colocar una porción de la dieta y agua *ad libitum* en un contenedor de vidrio previamente esterilizado.
2. Colocar los PEC adultos en los contenedores de vidrio.
3. Ajustar los números de acuerdo a las necesidades del experimento.
4. Almacenar los contenedores a temperatura ambiente y en ausencia de luz.

### **2.1.5 ESTIMACIÓN DE LA EXPECTATIVA DE VIDA DE LAS POBLACIONES RECOLECTADAS DE PEC Y LAS PRODUCIDAS EN EL LABORATORIO**

En esta sección se recopila la información de la literatura referente al crecimiento poblacional y ciclo de vida de *A. tumida* y otras especies de escarabajo manejado en laboratorio. Se presenta la información sobre las generaciones de PEC recolectadas y las que se obtuvieron por su crianza con los métodos de manejo en el laboratorio que se detallaron en el capítulo anterior. Se detallan las actividades de manejo y crianza y las condiciones de laboratorio recomendadas para el crecimiento de las poblaciones.

Es posible producir poblaciones en masa de *A. tumida* en laboratorio dentro de un corto periodo de tiempo de manera sencilla y sin requerir herramientas sofisticadas; la especie tiene un enorme potencial reproductivo cuando se alimenta de productos de la colmena como demuestran trabajos como Murrle & Neumann, 2004 donde se obtuvieron más de 30,000 adultos después de un periodo de dos meses con una población inicial de 80. La temperatura es uno de los factores que tiene mas influencia en el desarrollo de la especie en el laboratorio, afectando su tiempo en cada etapa, tamaño y peso. El tiempo de incubación de huevos de *A. tumida* es de dos días en altas temperaturas (34°C) y tres días a temperatura ambiente (25-28°C); El tiempo de desarrollo de las larvas puede extenderse hasta 15 días a temperaturas bajas, con una media de 36 días hasta que llegan a su etapa adulta comparada a la media de 20 días cuando están expuestas a altas temperaturas (34°C). Las altas temperaturas favorecen el desarrollo de individuos más

grandes y de mayor peso, obteniendo especímenes con una media de 6.30mm de longitud, 3.48mm de ancho y 12.95mg de peso a 34°C contra individuos en temperaturas bajas (25-28°C) de 5.30mm de longitud, 3.39mm de ancho y 11.4mg de peso en promedio (de Guzman & Frake, 2007). Cabe resaltar que las temperaturas bajas pueden fomentar el crecimiento poblacional de poblaciones de otros escarabajos como *Ips typographus*, que experimentan una emergencia en masa de adultos en sus poblaciones al pasar periodos fríos (Bleiker & Meyers, 2018). La humedad del suelo en que las larvas se desarrollan a la etapa de pupa también tiene una alta influencia en el éxito de la pupación, reportándose un 91.5% de probabilidad de éxito de pupación en tratamientos de suelo húmedo (10% de su peso en humedad) comparado a los tratamientos de suelo seco donde las larvas no pueden completar su fase de pupa. (Ellis et al. 2004) Al momento de criar *A. tumida in vitro* es importante no permitir el flujo de aire libre en los contenedores de pupación para evitar su deshidratación y la mortalidad de las pupas (Lundie, 1940). Otra variable que se ha estudiado con la crianza de PEC en laboratorio son las proporciones de macho-hembra que se dan en las poblaciones de escarabajos encontrándose una tendencia hacia la generación de más hembras que machos, reportándose relaciones desde 1.31:1 hasta 1.52:1, sin encontrarse diferencias cuando la crianza se hace en masa o individualmente. En estos estudios también se observa que la longevidad de las hembras se ve reducida, posiblemente por el costo energético de la oviposición que realizan (Spiewok & Neumann, 2012; Papach et al. 2019).

### **2.2 MATERIALES Y METODOS**

Se colocaron los adultos recolectados dentro de contenedores de plástico para su apareamiento con una porción de la dieta y agua disponible y se mantuvieron estos contenedores a 25-30°C con una humedad en el ambiente menor al 80% por 14 días en ausencia de luz para promover la reproducción y oviposición de las hembras del PEC (Figura 3.1). Después del periodo de oviposición de dos semanas, los adultos se removieron del contenedor con el dispositivo aspirador, dejando las larvas y huevos. Los adultos se transfirieron a otro contenedor bajo las mismas condiciones con una porción nueva de dieta para producir más larvas para continuar con el programa de crianza. El contenedor antiguo que contiene huevos de *A. tumida*, larvas y dieta antigua se mantuvo por dos semanas bajo las mismas condiciones de manera que las larvas tuvieran tiempo de desarrollarse en la ausencia de adultos.



**Figura 2.5.** Contenedores de mantenimiento.

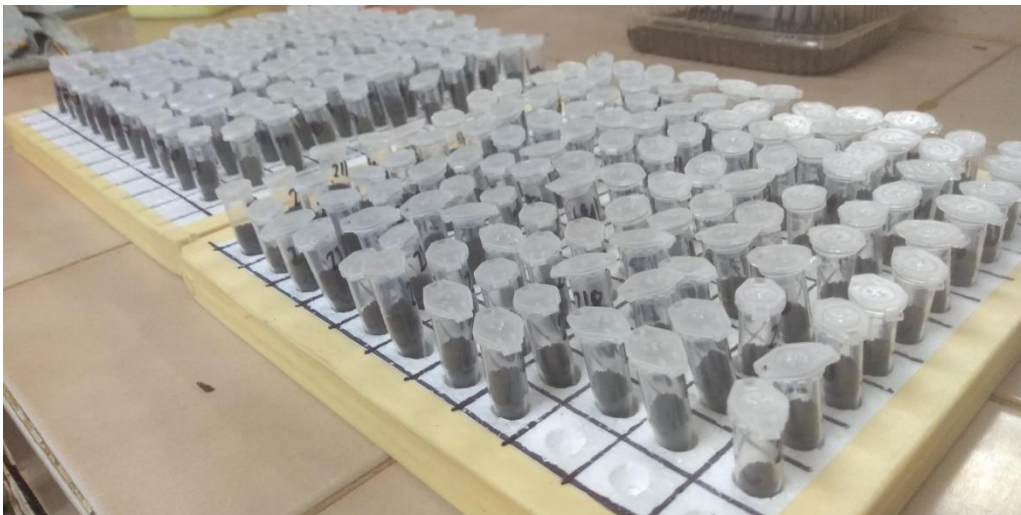
Después de las dos semanas de crecimiento larval se transfirieron junto con la porción de dieta a un extremo de una bandeja con bordes elevados para evitar su escape. En el extremo opuesto de la bandeja se cortó un pequeño orificio (~5cm) en el fondo. Se colocó otra bandeja con las mismas dimensiones debajo de la primera para recolectar las larvas que fueron cayendo. Se mantuvieron las bandejas en ausencia de luz por 5 días. (Figura 3.2) Después de este tiempo, las larvas que cayeron por el orificio o que se encontraron alejándose de la comida (fase errante), se consideraron como aptas para entrar a la fase de pupa.



**Figura 2.6.** Bandejas para larvas

En tubos Eppendorf de 1.5 ml de capacidad se agrega tierra (K'aan Kaab, tomada de los mismos apiarios) esterilizada por autoclave hasta un tercio de su capacidad. Los tubos se disponen en una bandeja de laboratorio con 3 pequeños (<2 mm) agujeros en la tapa para permitir la

circulación del aire. Se toman las larvas recolectadas y se introducen individualmente en la tierra de cada tubo. Se agrega tierra hasta otro tercio de la capacidad del tubo para cubrir a las larvas y después de esto se sellan los tubos. Se siguen las medidas de temperatura y humedad de almacenamiento que se usaron durante el apareamiento hasta que los adultos emerjan (Figura 3.3). Los adultos producidos son transferidos a nuevos tubos y son proveídos de una pequeña cantidad de mezcla de agua y miel (1:1) por medio de un gotero. Estos nuevos adultos se mantienen en condiciones de temperatura ambiente y ausencia de luz por una semana para garantizar su madurez sexual. En ese momento, los escarabajos pueden ser usados para pruebas de laboratorio o para seguir con el programa de crianza.



**Figura 2.7.** Tubos de pupación

La herramienta fundamental de análisis demográfico es la tabla de vida, donde se representa la distribución de los individuos de una población por edades, y a cada edad se le asignan datos específicos de mortalidad. Los parámetros de tiempo de desarrollo, la tasa de supervivencia, y el número de adultos emergidos fueron usados para el cálculo de las tablas de vida, con las cuales se busca estimar la tasa intrínseca de decesos de la población de escarabajos mantenidos en el laboratorio. Los componentes de las tablas son los siguientes:

**- $N_x$**  es el número de individuos encontrados en el tiempo  $x$



- LX** son los datos estandarizados para compararse con otras poblaciones. es el producto de la división del número de individuos sobrevivientes de cada clase (NX) entre la cantidad de individuos en la primera clase de edad ( $a_1$ )
- DX** es el número de individuos que murieron en el intervalo  $x$  a  $x+1$
- QX** es la tasa de mortalidad específica a cada tiempo  $x$ . Se obtiene al dividir DX entre LX
- TX** es el tiempo estimado de vida de los individuos hasta la muerte del ultimo
- EX** Representa el tiempo promedio de vida que le queda a los individuos en un tiempo  $x$ . De todos los parámetros en la tabla de vida, este es el más usado para comparar la tasa de mortalidad general. Se obtiene del producto de TX/NX

Las tablas de vida sirven además como base para representar las curvas de supervivencia y de crecimiento individual de las poblaciones. La curva de supervivencia representa el número de individuos supervivientes en las distintas clases de edad identificables en una población. (Begon et al. 1988)

### **2.3 RESULTADOS**

De los 60 escarabajos recolectados en la primera colecta se produjeron alrededor de 500 larvas errantes de las cuales 320 fueron recolectadas y colocadas en tubos para entrar a la fase de pupa, de estos, 84 (26%) larvas lograron transformarse en pupas y de estas 67 (20.93%) adultos emergieron en el transcurso de 25 días. Se introdujeron en los tubos Eppendorf con la tierra esterilizada y fueron almacenados en ausencia de luz hasta que emergieron 67 adultos en un periodo de 25 días. Los escarabajos adultos que emergieron fueron contados, mantenidos y observados a lo largo de su ciclo de vida hasta la muerte del último. Se repitió el procedimiento, esta vez con los 36 escarabajos recolectados en Ucú, produciendo un número similar de larvas de las cuales 250 fueron seleccionadas para entrar a la etapa de pupa. En esta ocasión, se obtuvieron 121 pupas, de las cuales 79 individuos emergieron.

**Tabla 2.1.** Tabla de vida de escarabajos adultos de la primera recolecta.

PEC ADULTO - PRIMERA RECOLECTA							
SEMANAS	ESCARABAJOS (NX)	SOBREVIVENCIA (LX)	DECESOS (DX)	MORTALIDAD (QX)	PROMEDIO DE VIDA (LX)	TX	EXPECTATIVA DE VIDA (EX)
0	60	1	14	4.285714286	53	127	2.116666667
1	46	0.766666667	13	3.538461538	39.5	74	1.608695652
2	33	0.55	15	2.2	25.5	34.5	1.045454545
3	18	0.3	18	1	9	9	0.5
4	0	0	0		0	0	

**Tabla 2.2.** Tabla de escarabajos criado en laboratorio de la primera recolecta

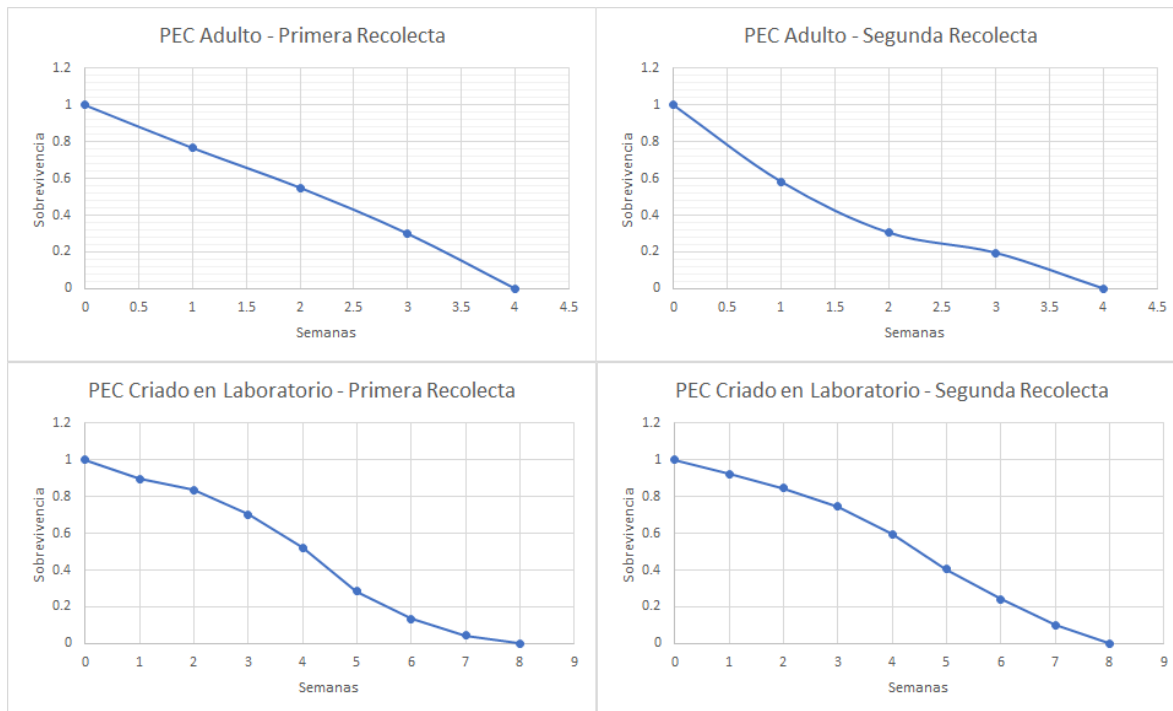
PEC CRIADO EN LABORATORIO - PRIMERA RECOLECTA							
SEMANAS	ESCARABAJOS (NX)	SOBREVIVENCIA (LX)	DECESOS (DX)	MORTALIDAD (QX)	PROMEDIO DE VIDA (LX)	TX	EXPECTATIVA DE VIDA (EX)
0	67	1	7	9.571428571	63.5	214	3.194029851
1	60	0.895522388	4	15	58	178	2.958333333
2	56	0.835820896	9	6.222222222	51.5	134	2.383928571
3	47	0.701492537	12	3.916666667	41	88	1.872340426
4	35	0.52238806	16	2.1875	27	48.5	1.385714286
5	19	0.28358209	10	1.9	14	21.5	1.131578947
6	9	0.134328358	6	1.5	6	7.5	0.833333333
7	3	0.044776119	3	1	1.5	1.5	0.5
8	0	0	0		0	0	

**Tabla 2.3.** Tabla de vida de escarabajos adultos de la segunda recolecta.

PEC CRIADO EN LABORATORIO - SEGUNDA RECOLECTA							
SEMANAS	ESCARABAJOS (NX)	SOBREVIVENCIA (LX)	DECESOS (DX)	MORTALIDAD (QX)	PROMEDIO DE VIDA (LX)	TX	EXPECTATIVA DE VIDA (EX)
0	79	1	6	13.16666667	76	262	3.316455696
1	73	0.924050633	6	12.16666667	70	226	3.089041096
2	67	0.848101266	8	8.375	63	181	2.701492537
3	59	0.746835443	12	4.916666667	53	132	2.228813559
4	47	0.594936709	15	3.133333333	39.5	82.5	1.755319149
5	32	0.405063291	13	2.461538462	25.5	43	1.34375
6	19	0.240506329	11	1.727272727	13.5	17.5	0.921052632
7	8	0.101265823	8	1	4	4	0.5
8	0	0	0		0	0	

**Tabla 2.4.** Tabla de escarabajos criado en laboratorio de la primera recolecta

PEC ADULTO - SEGUNDA RECOLECTA							
SEMANAS	ESCARABAJOS (NX)	SOBREVIVENCIA (LX)	DECESOS (DX)	MORTALIDAD (QX)	PROMEDIO DE VIDA (LX)	TX	EXPECTATIVA DE VIDA (EX)
0	36	1	15	2.4	28.5	57	1.583333333
1	21	0.583333333	10	2.1	16	28.5	1.357142857
2	11	0.305555556	4	2.75	9	12.5	1.136363636
3	7	0.194444444	7	1	3.5	3.5	0.5
4	0	0	0		0	0	



**Figura 2.8.** Curvas de sobrevivencia de poblaciones de *A. tumida* manejadas

## CAPITULO III.

### 3. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Este protocolo de recolección, mantenimiento y crianza puede ser usado para proporcionar al investigador de una muestra poblacional significativa de especímenes de *Aethina tumida* para la experimentación, observación e investigación en el laboratorio. La información de estas tablas de vida sirve para ayudar a las siguientes generaciones de estudios in vitro de PEC al ofrecer un punto de comparación para la crianza de poblaciones de *A. tumida*. También se espera que el investigador interesado en el estudio de esta especie pueda darse una idea del tamaño de las poblaciones y la expectativa de vida que tienen en el laboratorio para que puedan desarrollar sus propios métodos de crianza y mantenimiento. En el tiempo que se realizó este trabajo, no se encontró en la literatura datos de tablas de vida sobre poblaciones de *A. tumida* manejadas en el laboratorio; Aun dentro de los estudios de bioensayos y manuales de métodos enfocados en esta especie. Este trabajo reúne toda la información relevante al manejo en laboratorio de esta especie y proporciona datos sobre la expectativa de vida de los individuos muestreados de manera que se pueda avanzar el estudio de la especie. También se ha puesto a prueba el método a las condiciones de clima tropical de la península de Yucatán., una región donde la investigación del impacto que tiene *A. tumida* en la apicultura y la ecología apenas está siendo evaluado.

Entre algunas de las dificultades que se encontraron durante el desarrollo de este trabajo, la más significativa fue la alta mortalidad de pupas por almacenar los contenedores de pupación en lugares con un flujo de aire que deshidrató la tierra de los contenedores, como se ha observado desde los primeros años del estudio de la especie (Lundie, 1940). Se recomienda que el presente trabajo sea usado como guía de manera que investigadores con poco o nulo conocimiento del tema o manejo previo de insectos, puedan empezar su propio programa de crianza y mantenimiento de PEC, con lo que se espera fomentar un interés general en el estudio de esta especie a fin de conseguir más información sobre ella y como afecta la producción y salud de una colmena.

Durante la redacción del trabajo también se realizó una revisión de la literatura sobre las interacciones benéficas entre el escarabajo y la levadura *K. ohmeri* y se puede concluir que se necesita de una mayor comprensión de esta supuesta asociación mutualista para desarrollar métodos de controlar y evitar las infestaciones. Esto no solo supone evitar pérdidas económicas y de colmenas ocasionadas por el escarabajo, también serviría para fomentar la aplicación de métodos naturales de control de plagas y en las comunidades rurales de Yucatán, que es donde

radican los principales productores de miel y colmenas en la región. Se recomienda profundizar los estudios experimentales para la comprobación de esta hipótesis para asumir que la asociación entre el PEC y la levadura *K. ohmeri*, es más estrecha que una simple asociación incidental por compartir el medio y que en realidad puedan ser determinadas como especies mutualistas que provocan la infestación de colmenas. La actividad de propagación y fermentación de la levadura no solo condiciona el medio y los recursos de la colmena para el escarabajo, donde se especula que existe un beneficio nutricional significativo, sino que también los volátiles liberados por la fermentación facilitan la llegada de nuevos escarabajos a la colmena, lo que a su vez facilita la propagación de la levadura, de esta forma la levadura también es beneficiada al tener los tejidos y excreciones del PEC como un medio locomotivo y de propagación.

**BIBLIOGRAFÍA**

Ashraf, M., Ishtiaq, M., Asif, M., Adrees, M., Ayub, M. N., Mehmood, T., & Awan, M. N. (2010).

A study on laboratory rearing of lady bird beetle (*Coccinella septempunctata*) to observe its fecundity and longevity on natural and artificial diets. *International Journal of Biology*, 2(1), 165.

Bayona, A., Valdovinos-Flores, C., Dorantes, J., & Saldaña, L. (2018). Land Suitability Potentials and Major Reproduction Risk of the Small Hive Beetle, *Aethina tumida* Murray (Coleoptera, Nitidulidae) in Mexico. diciembre 19, 2019, de realidad, datos y espacio revista internacional de estadística y geografía Sitio web: <https://rde.inegi.org.mx/index.php/2018/11/07/potenciales-aptitud-del-territorio-riesgo-mayor-reproduccion-del-pequeno-escarabajo-la-colmena-aethina-tumida-murray-coleoptera-nitidulidae-en-mexico/>

Begon, M., Harper, J.L., & Townsend, C.R. (1988). *Ecología: Individuos, poblaciones y comunidades*. Reino Unido: Omega.

Benda, N.D. (2008). Detection and characterization of *Kodamaea ohmeri* associated with small hive beetle *Aethina tumida* infesting honey bee hives. *Journal of apicultural research*, 47, 194-201.

Bleiker, K. P., & Meyers, K. J. (2018). Cold requirements to facilitate mass emergence of spruce beetle (Coleoptera: Curculionidae) adults in the laboratory. *Journal of the Entomological Society of British Columbia*, 114, 68-72.

Brogan, A., Leemon, D., Hayes, R.A., Cribb, B.W., & Furlong, M.J. (2018, agosto 3). Associations between the small hive beetle and the yeast *Kodamaea ohmeri* throughout the host life cycle. *Journal of economic entomology*, 111, 1501 - 1508.

Brogan, A. (2018). Associations Between the Small Hive Beetle and the Yeast *Kodamaea ohmeri* Throughout the Host Life Cycle. *BioOne Complete*, 111, 1501-1508.

Canto, A., Medina-Medina, L.A., Chan, E., & Rodríguez, R. (2020). Presencia de la levadura *Kodamaea ohmeri* en escarabajos *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) colectados de colonias de abeja melífera africanizada en dos apiarios en Yucatán, México.

- Revista mexicana de ciencias pecuarias, 11, 4. 2021, febrero 10, De SciELO Base de datos.
- Conklin, T.M. (2012). Investigations of small hive beetle-yeast associations. Abril, 04, 2019, de ProQuest Sitio web: <https://search.proquest.com/docview/1272368350?pq-origsite=summon>
- Cuthbertson, A. G., Wakefield, M. E., Powell, M. E., Marris, G., Anderson, H., Budge, G. E., ... & Brown, M. A. (2013). The small hive beetle *Aethina tumida*: A review of its biology and control measures. *Current Zoology*, 59(5), 644-653.
- Duehl, A.J., Arbogast, R.T., Sheridan, A.B. & Teal, P.E. (2011, noviembre 9). The influence of light on small hive beetle (*Aethina tumida*) behavior and trap capture. *Apidologie*, 43, 417 - 424.
- Echazarreta, C.M., Quezada-Euán, J.J.G., Medina-Medina, L.A., & Pasteur, K.L. (1997). Beekeeping in the Yucatan peninsula: development and current status. *Bee world*, 74, 115 - 127.
- Ellis Jr, J. D., Hepburn, R., Luckman, B., & Elzen, P. J. (2004). Effects of soil type, moisture, and density on pupation success of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae). *Environmental Entomology*, 33(4), 794-798.
- Elzen, P.J., Baxter, J.R., Neumann, P., Solbrig, A., Pirk, C., Hepburn, H.R., Westervelt, D., & Randall, C. (2001). Behaviour of African and European Subspecies of *Apis Mellifera* Toward the Small Hive Beetle, *Aethina Tumida*. *Journal of apicultural research*, 40, 40 - 41. 2020, mayo 6, De ResearchGate Base de datos.
- Ertürk, Ö., & Sarıkaya, A. (2017). Effects of various plant extracts on the development of the potato beetle under laboratory and field conditions: a combined study. *Journal of the Entomological Research Society*, 19(2), 101-112.
- Eyer, M., Chen, Y.P., Schäfer, M.O., Pettis, J., & Neumann, P. (2009). Small hive beetle, *Aethina tumida*, as a potential biological vector of honeybee viruses. *Apidologie*, 40, 419 - 428. 2019, febrero 10, De Springer Link Base de datos.

- Graham, J.R., Ellis, J.D., Carroll, M.J., & Teal, P.E. (2011, abril 12). *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) attraction to volatiles produced by *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Apidologie*, 42, 326 - 336.
- Graham, J.R., Ellis, J.R., Benda, N.D., Kurtzman, C.P., & Boucias, D.G. (2011, mayo 11). *Kodamaea ohmeri* (Ascomycota: Saccharomycotina) presence in commercial *Bombus impatiens* Cresson and feral *Bombus pensylvanicus* DeGeer (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Journal of apicultural research*, 50, 218 - 226. 2020, septiembre 2, De Taylor & Francis Online Base de datos.
- de Guzman, L. I., & Frake, A. M. (2007). Temperature affects *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) development. *Journal of Apicultural Research*, 46(2), 88-93.
- Gwiazdowski, R. A., Gillespie, S., Weddle, R., & Elkinton, J. S. (2011). Laboratory rearing of common and endangered species of North American tiger beetles (Coleoptera: Carabidae: Cicindelinae). *Annals of the Entomological Society of America*, 104(3), 534-542.
- Hayes, R.A., Rice, S.J., Amos, B.A., & Leemon, D.M. (2015, abril 24). Increased attractiveness of honeybee hive product volatiles to adult small hive beetle, *Aethina tumida*, resulting from small hive beetle larval infestation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 155, 3. 2019, enero 4, De Wiley Online Library Base de datos.
- Hood, W. M. (2004). The small hive beetle, *Aethina tumida*: a review. *Bee world*, 85(3), 51-59.
- Kluser, S., & Peduzzi, P. (2007). Global Pollinator Decline: A Literature Review. agosto 24, 2018, de ResearchGate Sitio web: [https://www.researchgate.net/publication/239903454\\_Global\\_Pollinator\\_Decline\\_A\\_Literature\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/239903454_Global_Pollinator_Decline_A_Literature_Review)
- Leemon, D.M. (2012). In-hive Fungal Biocontrol of Small Hive Beetle. diciembre 17, 2018, de Rural Industries Research and Development Corporation Sitio web: <http://era.daf.qld.gov.au/id/eprint/5646/>



- Lundie, A. E. (1940). The small hive beetle, *Aethina tumida*. Science Bulletin. Department of Agriculture and Forestry, Union of South Africa, (220).
- Magaña, M.A., Tavera, M.E., Salazar, L.L., & Sanginés, J.R. (2016). Productividad de la apicultura en México y su impacto sobre la rentabilidad. Revista mexicana de ciencias, 7, 5. 2019, enero 30, De SciElo Base de datos.
- Meikle, W.G., & Diaz, R. (2012. octubre 1). Factors Affecting Pupation Success of the Small Hive Beetle, *Aethina tumida*. *Journal of Insect Science*, 12, 1 - 9. 2020, junio 15, De BioOne Complete Base de datos.
- Murrle, T., & Neumann, P. (2004). Mass production of small hive beetles (*Aethina tumida*, Coleoptera: Nitidulidae). *Journal of Apicultural Research*, 43(3), 144-145.
- Neumann, P., Pirk, C.W.W., Hepburn, R., Elzen, P.J., & Baxter, J.R. (2001). Laboratory Rearing of Small Hive Beetles *Aethina Tumida* (Coleoptera, Nitidulidae). *Journal of apicultural research*, 40, 111 - 112. 2019, marzo 22, De Taylor & Francis Online Base de datos.
- Neumann, P., & Elzen, P. J. (2004). The biology of the small hive beetle (*Aethina tumida*, Coleoptera: Nitidulidae): Gaps in our knowledge of an invasive species. *Apidologie*, 35(3), 229-247.
- Neumann, P., Hoffmann, D., Duncan, M., Spooner-Hart, R., & Pettis, J.S. (2012, marzo 1). Long-range dispersal of small hive beetles. *Journal of apicultural research*, 51, 214 - 215. 2018, diciembre 12, De Taylor & Francis Online Base de datos.
- Neumann, P., Evans, J.D., Pettis, J.S., Pirk, C.W.W., Schäfer, M.O., Tanner, G., & Ellis, J.D. (2013, marzo 28). Standard methods for small hive beetle research. *Journal of apicultural research*, 52, 1 - 32. 2018, diciembre 14, De Taylor & Francis Online Base de datos.
- Neumann, P., Pettis, J.S. & Schäfer, M.O. (2016, febrero 5). Quo vadis *Aethina tumida*? Biology and control of small hive beetles. *Apidologie*, 47, 427 - 466.

- Nolan, M. (2008). Trapping small hive beetles, *Aethina tumida* Murray, inside honey bee colonies. diciembre 12, 2018, de ProQuest Sitio web:  
<https://search.proquest.com/docview/304673516?pq-origsite=summon>
- Nolan, M.P., & Hood, W.M. (2008). Comparison of two attractants to small hive beetles, *Aethina tumida*, in honey bee colonies. *Journal of apicultural research*, 47, 229 - 233. 2018, diciembre 20, De Taylor & Francis Online Base de datos.
- Papach, A., Gonthier, J., Williams, G. R., & Neumann, P. (2019). Sex ratio of small hive beetles: the role of pupation and adult longevity. *Insects*, 10(5), 133.
- Peterson, S.M. (2012). Trapping and control of the small hive beetle, *Aethina tumida*, an invasive parasite of honey bees. diciembre 14, 2018, de ProQuest Sitio web:  
<https://search.proquest.com/docview/1039262714?pq-origsite=summon>
- Powell, M.E. (2017, enero 1). Systemic RNAi in the small hive beetle *Aethina tumida* Murray (Coleoptera: Nitidulidae), a serious pest of the European honey bee *Apis mellifera*. *Pest management science*, 73, 53 - 63. 2020, diciembre 2, De Wiley Online Library Base de datos.
- Reyes-Escobar, O. (2015, mayo 27). Lethal effect of boric acid and attractants against the small hive beetle, *Aethina tumida* Murray (Coleoptera: Nitidulidae). *Journal of apicultural research*, 54, 226 - 232. 2019, marzo 26, De Taylor & Francis Online Base de datos.
- Schäfer, M. O., Cardaio, I., Cilia, G., Cornelissen, B., Crailsheim, K., Formato, G., ... & Neumann, P. (2019). How to slow the global spread of small hive beetles, *Aethina tumida*. *Biological invasions*, 21(5), 1451-1459.
- SEGOB. (2018). Diario Oficial de la Federación. diciembre 18, 2019, de SEGOB Sitio web:  
[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5545304&fecha=29/11/2018](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5545304&fecha=29/11/2018)
- Spiewok, S., & Neumann, P. (2012). Sex ratio and dispersal of small hive beetles. *Journal of Apicultural Research*, 51(2), 216-217.

- Štefková, K., Okrouhlik, J., & Doležal, P. (2017). Development and survival of the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) at low temperatures in the laboratory and the field. *European Journal of Entomology*, 114.
- Taj-Aldeen, S.J., Doiphode, S.H., & Han, X.Y. (2006, febrero 1). *Kodamaea* (*Pichia*) *ohmeri* fungaemia in a premature neonate. *Journal of medical microbiology*, 55, 2. 2019, enero 18, De Microbiology society Base de datos.
- Tauber, J.P., Childers, A.K., & Evans, J.D. (2019, junio 4). Draft Genome Sequence of the Yeast *Kodamaea ohmeri*, a Symbiont of the Small Hive Beetle. *Microbiology resource announcements*, 8, Numero 26. 2019, diciembre 7, De American Society for Microbiology Base de datos.
- Torto, B., Arbogast, R.T., Alborn, H., Suazo, A., Van Engelsdorp. D., Boucias, D., Tumlinson, J.H., & Teal, P.E. (2007). Composition of volatiles from fermenting pollen dough and attractiveness to the small hive beetle *Aethina tumida*, a parasite of the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie*, 38, 380 - 389. 2018, diciembre 18, De Springer Link Base de datos.
- Wang, Y., Liu, X., Zhao, J., Rexili, K., & Ma, J. (2011). The rearing and biology of the desert beetle, *Microdera punctipennis*, under laboratory conditions. *Journal of Insect Science*, 11(1).