

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-XOCHIMILCO

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

Estudio de los factores fisicoquímicos que influyen sobre la disponibilidad y distribución ambiental de semioquímicos de Apis mellifera que atraen a Varroa destructor

TESIS

**PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

PRESENTA:

M. en C. A. Lluvia de Carolina Sánchez Pérez

Comité Tutorial

Director

Dr. Gerardo Pérez Hernández

Asesora

Dra. Laura Guadalupe Espinosa Montaña

Asesor

Dr. Rafael Arturo Zubillaga Luna

CIUDAD DE MÉXICO, agosto 2021

ESTUDIO DE LOS FACTORES FÍSICOQUÍMICOS QUE INFLUYEN SOBRE LA
DISPONIBILIDAD Y DISTRIBUCIÓN AMBIENTAL DE SEMIOQUÍMICOS DE *Apis mellifera*
QUE ATRAEN A *Varroa destructor*

La presente tesis fue realizada bajo la supervisión del Comité Tutoral indicado a continuación
y aprobada como requisito en el plan de estudios para obtener el Grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

Comité Tutoral



Director: **Dr. Gerardo Pérez Hernández**



Asesora: **Dra. Laura Guadalupe Espinosa Montaña**



Asesor: **Dr. Rafael Arturo Zubillaga Luna**

CIUDAD DE MÉXICO, agosto 2021

El Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Programas de Calidad del CONACYT.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Gerardo Pérez Hernández y a la Dra. Laura G. Espinosa Montaña, por aceptarme sin conocer mucho sobre mí, por todo su apoyo, por guiarme y ayudarme siempre, por creer en mí y no dejarme cuando más los necesite, pero sobre todo por su rectitud y paciencia.

Dra. Laura mil gracias por su entusiasmo, empatía y por la paciencia que me ha tenido, por ayudarme a descubrir el hermoso mundo de las abejas. Por permitirme vivir un poco la experiencia de los apicultores. Por ser siempre sincera y siempre tener una gran sonrisa, por hacerme espacio a pesar de su apretada agenda

Dr. Gerardo, muchas gracias por enseñarme este mundo de la programación y de las cosas que yo nunca imagine que podíamos hacer en una computadora (un laboratorio virtual), sin necesidad de tener organismos vivos y de un laboratorio equipado... También le agradezco por toda su paciencia y todo el tiempo extra que tuvimos que usar, entre clases, asesorías, reuniones virtuales y días de descanso.

Al Dr. Rafel Arturo Zubillaga Luna por aceptar colaborar con nosotros, en estas "circunstancias", muchas gracias por sus comentarios, por aportarnos una luz y mayor claridad en el tema. Por su amabilidad y comprensión.

A la Dra. Elizabeth Del Moral Ramírez por sus valiosos comentarios, correcciones, por la traducción del artículo derivado de esta tesis y sobre todo por su voluntad y su colaborar en este trabajo.

Quiero agradecer profundamente al Sr. Federico Palma y a toda su familia, apicultores propietarios de la Abejita contenta, por permitirme realizar colectas en sus apiarios, por sus ganas de participar y de colaborar con todos los alumnos y personal de CEA Acuexcomatl, por su amabilidad, entusiasmo, por ser una inspiración para ser una mejor profesional y por recordarme para quien es nuestro trabajo.

Mi especial agradecimiento para el M. en C. Daniel Prieto Merlos, responsable por la UNAM en el CEA Acuexcomatl, para los MVZ. Nadia Albor y Rafael Navarrete Rayas por recibirme tan amablemente en Acuexcomatl, por las facilidades, tips y consejos que me dieron durante mi trabajo de colecta y enseñarme un poquito de lo que ellos dominan en la cría y cuidado de las abejas.

También a la jefa del Departamento de Medicina y Zootecnia de Abejas, Conejos y Organismos Acuáticos Adriana Correa Benítez a la Maestra en Ciencias de la Producción y de la Salud Anima Itzel Vasquez Valencia, por todas las facilidades que me proporcionaron para poder ingresar al apiario de Acuexcomatl

Al Coordinador del Doctorado en Ciencias Agropecuarias, el Dr. Germán Mendoza porque siempre me brindo su apoyo y comprensión, por siempre estar atento y colaborar en diferentes maneras para que pudiera desarrollar mi proyecto y por fin poder titularme.

A mi familia por siempre apoyarme, ser tan pacientes y comprensivos.

RESUMEN

Varroa destructor parásita a las larvas de *Apis mellifera* siguiendo la percepción de los semioquímicos implicados en la comunicación de las abejas; por tanto, la disponibilidad semioquímica y las vías de distribución tienen lugar dentro de diferentes entornos fisicoquímicos. La estructura de 172 moléculas con actividad semioquímica sobre *Varroa destructor* descriptores fisicoquímicos representativos de la partición termodinámica entre diferentes entornos fisicoquímicos: presión de vapor (V), coeficiente de Henry (H), constante de solubilidad en agua (W), coeficiente de partición octanol-agua (O) y coeficiente de partición de carbono orgánico (C); VHWOC. El análisis de componentes principales (PCA) y la agrupación jerárquica de los descriptores VHWOC nos permitió establecer la tendencia en disponibilidad y distribución de los semioquímicos dando como resultado un modelo de 4 clases de ambientes fisicoquímicos: Clase 1, Soluble / Volátil; Clase 2, soluble; Clase 3, contacto; Clase 4, adsorbido / volátil. Nuestros resultados sugieren que los semioquímicos pueden transitar entre diferentes fases de equilibrio termodinámico dependiendo de las condiciones ambientales. La predicción de clasificación del modelo se probó en 6 nuevas moléculas obtenidas del extracto cetónico de larvas de zánganos de *Apis mellifera* L5; ubicándolos en la clase 4, lo cual era consistente con su estructura molecular. Este estudio puede ser el punto de partida para el diseño de semioquímicos sintéticos o para el control de *Varroa destructor*. Además, el método se puede utilizar en el análisis de otros grupos semioquímicos.

ABSTRACT

Varroa destructor parasites *Apis mellifera* larvae following the interception of the semiochemicals involved in bee communication; thus, the semiochemical availability and distribution pathways take place within different physicochemical environments. The structure of 172 molecules with semiochemical activity on *Varroa destructor* was used to compute the representative physicochemical descriptors of the thermodynamic partition among different physicochemical environments: vapor pressure (V), Henry's coefficient (H), water solubility constant (W), octanol-water partition coefficient (O) and organic carbon partition coefficient (C); VHWOC. The principal component analysis (PCA) and hierarchical clustering of VHWOC descriptors allowed us to establish the trend in availability and distribution of the semiochemicals resulting in a 4 classes model of physicochemical environments: Class 1, Soluble/Volatile; Class 2, Soluble; Class 3, Contact; Class 4, Adsorbed/Volatile. Our results suggest that semiochemicals can transit between different thermodynamic equilibrium phases depending on environment conditions. The classification prediction of the model was tested on 6 new molecules obtained from ketonic extracts of L5 *Apis mellifera* drone larvae; locating them in class 4, which was consistent with their molecular structure. This study can be the starting point for the design of synthetic semiochemicals or for the control of *Varroa destructor*. In addition, the method can be used in the analysis of other semiochemical groups.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2. 1. Daños que provoca el ácaro <i>Varroa destructor</i> en <i>Apis Mellifera</i> Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae)	5
2. 2. 1. Ciclo de vida de <i>V. destructor</i>	6
2. 2. 2. Fisiología olfativa de <i>V. destructor</i>	7
2. 2. Los semioquímicos mediadores de la comunicación en interacciones bióticas ...	9
2. 3. Influencia de los semioquímicos en las interacciones de la Subclase Acari	12
2. 4. Distribución y disponibilidad de semioquímicos en el ambiente	15
2. 5. Descriptores moleculares	17
2. 6. Análisis Multivariante de Datos	22
III. HIPÓTESIS	29
3. 1 OBJETIVO GENERAL	29
3. 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	30
4. 1. Obtención extracto cetónico de L5 de zánganos de <i>A. mellifera</i>	30
4. 2. Análisis del extracto cetónicos de L5 mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)	30
4. 3. Identificación y cuantificación de compuestos orgánicos volátiles	31
4. 4. Generación de un conjunto de datos de semioquímicos	31
4. 5. Descriptores moleculares y métodos quimimétricos	32
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
5. 1. Análisis del extracto cetónicos de zánganos correspondientes a L5 de <i>A. mellifera</i> mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) ...	33
5. 2. Agrupación de Análisis de Componentes Principales de los descriptores VHWOC	34
5. 3. Clasificación de ambientes fisicoquímicos	37
5. 3. 1. Clase 1, soluble / volátil	37
5. 3. 2. Clase 2, soluble	39
5. 3. 3. Clase 3, contacto	40

5. 3. 4. Clase 4, adsorbida / volátil.....	40
5. 4. Alcance del modelo de análisis.....	42
VI. CONCLUSIÓN.....	43
VII. ANEXOS.....	44
VII. REFERENCIAS.....	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de semioquímicos basado en la respuesta que genera en el receptor y su papel en las diferentes interacciones específicas.....	10
Cuadro. 2. Clasificación de descriptores moleculares en base a su dimensionalidad y ejemplos de descriptores cada grupo.....	18
Cuadro 3. Clasificación de las técnicas de análisis multivariante en función de los objetivos de la investigación y de las características de los datos	22
Cuadro. 4. Objetivos del uso del Análisis de Componentes Principales y aplicaciones...	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de los descriptores moleculares con propiedades fisicoquímicas considerados indicados para analizar distribución y disponibilidad de moléculas en el ambiente, con información sobre su posible aplicación	21
Tabla 2. Moléculas identificadas a partir de muestras de extracto cetónico de larvas de zángano correspondientes a L5 de <i>A. mellifera</i> . MM, masa molar. Descriptores fisicoquímicos de VHWOC.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplificación del ciclo de vida de <i>V. destructor</i> dentro de una colmena de <i>A. mellifera</i>	6
Figura 2. Foso ubicado en el primer par de articulaciones de un macho <i>V. destructor</i> (A) . Micrografía de los pedipalpos (flecha roja) y quelíceros (flecha amarilla) de una hembra de <i>V. destructor</i> (B)	8
Figura 3. Posible reparto de semioquímicos entre las fases gaseosa, acuosa y orgánica.....	19
Figura 4. Gráfico de agrupación de los dos componentes principales del VHWOC.....	35
Figura 5. Agrupación jerárquica del conjunto de datos. A) SSE de pruebas de clústeres anteriores. B) Dendrograma de análisis del modelo de 4 conglomerados.....	36
Figura 6. Estructura de semioquímicos pertenecientes a la clase 1 (C1).....	38
Figura 7. Estructura de semioquímicos pertenecientes a la clase 2 (C2) y 3 (C3).....	39
Figura 8. Estructura de semioquímicos pertenecientes a la clase 4 (C4).....	41

I. INTRODUCCIÓN

La percepción de señales químicas puede llevarse a cabo por medio de dos vías; la olfacción o gustación, dependiendo de si la señal se capta por aire o mediante contacto físico (Guidobaldi y Guerenstein, 2012). Estas señales son semioquímicos y son fundamentales para la comunicación en artrópodos, pues son los responsables de modular el comportamiento intraespecífico (feromonas) e interespecífico (aleloquímicos) de múltiples organismos. El ácaro *Varroa destructor* es el artrópodo ectoparásito más dañino para las abejas *Apis mellifera* (Navajas *et al.*, 2010). Este es capaz de ubicar y seleccionar de entre diferentes individuos a su huésped idóneo; el ácaro ha desarrollado comportamientos tan sofisticados que ha logrado sincronizar su ciclo de vida con el de abejas obreras y zánganos sobre todo en la etapa de cría ya que prefiere larvas correspondientes al quinto estadio (L5) (Nazzi y Le Conte, 2016; Rosenkranz *et al.*, 2010). *Varroa destructor* parasita larvas de abejas gracias a que es capaz de determinar su estadio larval y condiciones de desarrollo, debido a la información que obtiene de hidrocarburos cuticulares (considerados como semioquímicos) de larvas y abejas (Cappa *et al.*, 2016). El parasitismo de *Varroa destructor* no solo ha provocado un grave impacto económico para la apicultura al mermar la producción de miel anualmente, sino que, además es el principal responsable de las pérdidas de miles de colonias de *Apis mellifera* a nivel mundial (Beaurepaire *et al.*, 2016; Roth *et al.*, 2020; Gupta y Sharma, 2014). Se ha estimado que su impacto ecológico al provocar la disminución de las poblaciones de abejas, pone en riesgo la conservación de la biodiversidad de plantas con flores silvestres. El 90% del total de ellas a nivel mundial dependen total o parcialmente de las abejas para ser polinizadas (Dietemann *et al.*, 2013).

Por otra parte, el hecho de analizar las rutas que rigen la disponibilidad y distribución de los semioquímicos que contribuye a su detección, puede llevarnos a encontrar nuevos principios activos y desarrollar innovadoras estrategias para implementar un MIP (Manejo Integrado de Plagas) sobre *V. destructor*. Por ejemplo cuando un semioquímico es liberado al medio ambiente por el organismo emisor y se mueve por efecto del aire hasta ser absorbido por las neuronas receptoras olfativas: antenas en las abejas y sensila en los ácaros, para posteriormente ser atrapado y solubilizado por proteínas de unión a odorantes donde se inicia

el procesamiento del estímulo que desencadenará un respuesta conductual (alimentación) o fisiológica (inhibición de órganos reproductivos) (Blum, 1996; Leal, 2013); también puede ocurrir que los semioquímicos se liberan en un medio oleoso en lugar de en aire, donde son adsorbidos y transportados por un organismo hasta que entran en contacto con otros organismos (Nazzi y Le Conte, 2016). Es importante resaltar que existen semioquímicos que no se liberan en el medio ambiente, es decir se adquieren por vía oral o al entrar en contacto con tejidos donde se almacenan permitiendo que se adhieran a un nuevo organismo (Sharma *et al.*, 2015). Estas rutas de dispersión y distribución permiten que los semioquímicos transiten de una fase de equilibrio termodinámico a otra, por lo que las propiedades fisicoquímicas de los semioquímicos deben ser favorables para que esto suceda. El objetivo de este trabajo fue establecer los factores fisicoquímicos que están involucrados en la disponibilidad y distribución de los semioquímicos que afectan a *V. destructor* utilizando descriptores fisicoquímicos que, al analizarlos con métodos estadísticos de componentes principales y métodos de agrupamiento jerárquico, permiten establecer las principales variables que influyen para que un semioquímico se mantenga en una fase de equilibrio o pueda pasar de una fase a otra. Nuestros resultados pueden contribuir a la creación de nuevas estrategias de control para esta plaga al visualizar y comprender el reparto de los semioquímicos que servirán para mejorar las técnicas de extracción de compuestos, es decir al saber en qué compartimiento ambiental estos estímulos se encuentran, si son volátiles, solubles en agua o hidrofílicos permitirá la reducción de pruebas biológicas, tiempo y costos para el control de la varroa una plaga que afecta el equilibrio ecológico y las actividades apícolas.

I. MARCO TEÓRICO

2. 1. Repercusiones de *Varroa destructor* Anderson y Truman 2000 (Acari: Mesostigmata) en la apicultura.

La apicultura es una actividad agropecuaria enfocada a la crianza de abejas (*Apis mellifera*), que proporciona los cuidados necesarios para obtener principalmente miel y comercializarla, también se puede producir polen, cera, jalea real, propóleo y veneno de abejas. De acuerdo con la FAO hoy en día existen 126 países dedicados a la producción de miel y anualmente en promedio se producía dos millones ciento sesenta y ocho mil Tm, resultado del trabajo y cuidado de 75 millones de colmenas de las cuales se obtuvieron en promedio 28.9 kg de miel por colmena (FAOSTAT, 2019). Por otro lado, la apicultura protege y fomenta la crianza de abejas melíferas, aumentando su población contribuyendo al mantenimiento de los ecosistemas pues las abejas poseen un papel fundamental en la conservación de la biodiversidad de plantas con flores silvestres. El 90% del total de ellas a nivel mundial dependen total o parcialmente de las abejas para ser polinizadas (Dietemann *et al.*, 2013).

Como podemos ver la polinización es un proceso vital, este servicio-beneficio es gratuito pero si tuviese que ser pagado el costo anual sería de \$153 mil millones de dólares; el costo que representaría para los ecosistemas gestionados por humanos como por ejemplo; la agricultura sería desorbitante ya que interviene directamente en la optimización de los rendimientos agrícolas y sólo se puede lograr cuando se cumple el requisito de polinización del cultivo que sólo ocurre con la presencia de abejas (Sharma y Abrol, 2014; van der Sluijs y Vaage, 2016). De la dieta humana, 87 cultivos que son considerados indispensables para el hombre necesitan ser polinizados por abejas. En conjunto representan el 35% del volumen mundial de producción de alimentos (Maxim y van der Sluijs, 2013). Estos datos nos muestran la importancia que tienen las abejas para el hombre, sin embargo, ha surgido una fuerte preocupación por la sostenibilidad de estos servicios de polinización, debido a que en los últimos años se ha observado la pérdida de miles de colonias de abejas melíferas a nivel mundial (Maggi *et al.*, 2016).

La causa de la disminución de colonias parece ser el resultado de la suma de varios factores como, el uso irracional de insecticidas, el cambio climático y la propagación de especies invasoras (van Lexmond *et al.*, 2015; Goulson *et al.*, 2015). Pero un número creciente de investigaciones señala que el ácaro ectoparásito *V. destructor* (Acari: Mesostigmata) desempeña un factor predisponente en el trastorno de colapso de colmena y se señala como el principal responsable de la disminución anual de producción de miel que va de un 20-40%. Actualmente el ácaro se encuentra distribuido alrededor de todo el mundo excepto en Australia (Pinto *et al.*, 2012; Gupta y Sharma, 2014).

Este ácaro es nativo de Asia Oriental donde es un parásito natural de la abeja asiática nativa *Apis cerana*, el problema se originó ante la introducción de la abeja europea (*Apis mellifera* L.) en Asia, pues entraron en contacto con parásitos y patógenos que infectaban a las abejas nativas, 80 años después se reportó que en Japón las colonias de *A. mellifera* fueron infestadas por un ácaro (Hepburn y Radloff, 2011). En ese tiempo el género varroa comprendía sólo tres especies: *Varroa rindereri*, *Varroa underwoodi* y *Varroa jacobsoni*, que para entonces había sido identificada como la especie que infestaba las colonias de abejas melíferas (Navajas *et al.*, 2010; Chantawannakul *et al.*, 2016). Fue el año 2000 cuando por medio del análisis del ADN mitocondrial se identificó una especie morfológica y genéticamente diferente a *V. jacobsoni* a la que nombraron *Varroa destructor*, la especie que más afecta a las abejas melíferas en todo el mundo (Anderson y Trueman, 2000; Roberts *et al.*, 2015).

La clasificación taxonómica del ácaro *Varroa* spp. de acuerdo con (Lindquist *et al.*, 2009) es la siguiente:

Reino----- Animalia
Filo -----Arthropoda
Arachnida
Mesostigmata
Varroidae
Varroa
V. destructor (Anderson and Trueman, 2000)
V. jacobsoni (Oudemans, 1904)
V. underwoodi (Delfinado-Baker and Aggarwal, 1987)
V. rindereri (De-Guzmán and Delfinado-Baker, 1996)

2. 1. Daños que provoca el ácaro *V. destructor* en *A. mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae).

Solo las hembras de *V. destructor* parasitan las colonias de abejas, en su hospedero original *A. cerana* no provoca daños considerables ya que sólo se reproduce en la cría de zánganos en determinadas épocas del año, es primordial destacar que no parasita la cría de obreras (Kumar y Sharma, 2014; Seeley y Smith, 2015). Gracias a que las obreras de *A. cerana* exhiben conductas particulares ante la presencia de varroa, por ejemplo, el aseo constante entre los individuos, la eliminación de crías infestadas y agresivos comportamientos de defensa que coadyuvan eficientemente en el control de la población de ácaros corroborando que *A. cerana* y *V. destructor* han estado co-evolucionando durante mucho tiempo (Anderson, 2001).

En contraste, *A. mellifera* no posee mecanismos naturales para defenderse de varroa ya que el ácaro se reproduce con gran éxito tanto en la cría de zánganos como en la de obreras, entonces puede permanecer en la colmena prácticamente todo el año provocando el deterioro de la colonia. Actualmente se ha confirmado que consume el tejido graso del cuerpo de su huésped y no la hemolinfa (Beaurepaire *et al.*, 2015; Ramsey *et al.*, 2019). Provocando la, reducción del peso corporal de abejas y larvas, disminución en la tasa de emergencia de zánganos, deterioro de las glándulas hipofaríngeas y deformación de abdomen (van Dooremalen *et al.*, 2013). Al mismo tiempo, es vector de 18 diferentes virus que atacan a las abejas y que antes de la aparición de la varroasis habían sido considerados como un problema menor. Los virus más graves son: el virus de la parálisis crónica (VPC) y parálisis aguda (VPA); que causan el hinchamiento del abdomen, cambios fenotípicos y alteran la capacidad de vuelo; el virus de las alas deformes (VAD), el virus de Cachemira (KBV), virus de la cría ensacada (SBV), virus de la parálisis aguda israelí (IAPV) (Genersch y Aubert, 2010; Evans y Schwarz 2011; de Miranda *et al.*, 2013; McMenamin y Genersch, 2015; Gisder y Genersch, 2015).

La infestación severa de *V. destructor* provoca la mortalidad del 100% de la población de la colmena cuando no se aplica algún tipo de control en las primeras semanas de infestación, en consecuencia, dicho ácaro es considerado la causa principal de las pérdidas de colonias de la abeja occidental en el mundo (Kanga *et al.*, 2010; Rosenkranz *et al.*, 2010; Roth *et al.*, 2020).

2. 2. 1. Ciclo de vida de *V. destructor* .

El ciclo de vida de *V. destructor* está perfectamente sincronizado al de las abejas y se divide en dos fases; forética donde el principal objetivo de las hembras es alimentarse y diseminarse (Ramsey *et al.*, 2019). Durante esta fase el ácaro prefiere abejas nodrizas en vez de las abejas forrajeras, logra diferenciarlas debido a la presencia del hidrocarburo insaturado (Z) -8-heptadeceno, que se encuentra en mayores cantidades en la cutícula de las forrajeras y provoca un efecto repelente. Este comportamiento reduce los riesgos relacionados con las actividades externas de las abejas forrajeras, que son peligrosas para la abeja y el ácaro (Del Piccolo *et al.*, 2010; Nazzi y Le Conte, 2016).

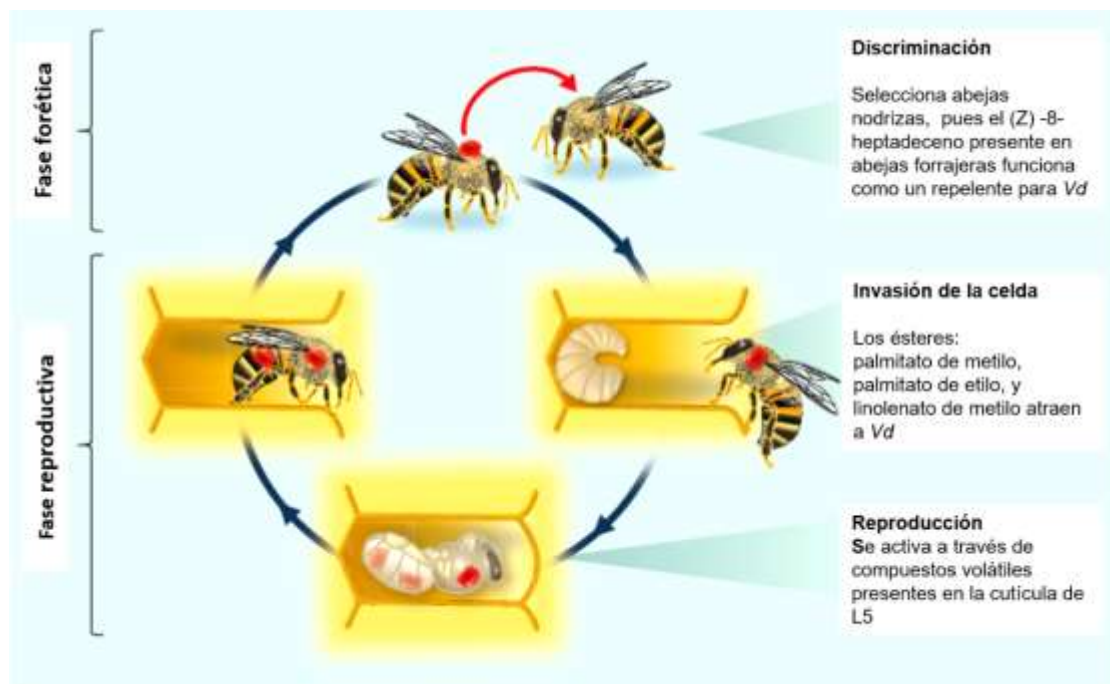


Figura 1. Ejemplificación del ciclo de vida de *V. destructor* dentro de una colmena de abejas melíferas, tanto en su fase reproductiva que lleva a cabo en el área de cría cerca de las larvas de abejas y por otro lado en la fase forética donde observamos su preferencia por parasitar abejas nodrizas (Le Conte *et al.*, 1989; Steiner *et al.*, 1993; Garrido *et al.*, 2000; Cabrera Cordon *et al.*, 2013; Piou *et al.*, 2016). Tomado y modificado de Nazzi y Le Conte (2016).

En la fase reproductiva, varroa invade las celdas que contienen larvas pertenecientes al quinto estadio (L5) algunas horas antes de que sean selladas por las obreras y se aloja en el fondo de la celda en el alimento de la larva (Boot *et al.*, 1994). La invasión es exitosa pues se suma el efecto de la combinación de tres ésteres alifáticos el palmitato de metilo, palmitato de etilo, y linolenato de metilo que provocan un efecto atrayente en el ácaro (Le Conte *et al.*, 1989). Para este momento la hembra fundadora ya ha iniciado la ovogénesis a través de la

estimulación que se desencadena cuando se alimenta, desencadenando además una respuesta fisiológica responsable de que siempre el primer huevo no fecundado de origen a un macho (Steiner *et al.*, 1994; Garrido y Rosenkranz, 2003). Los siguientes huevos han sido fecundados y dan origen a hembras, aquellas que logran llegar a estado adulto, copulan con el único macho, después de haber sido fecundadas por el macho, las hembras oviposita huevos cada 30h que se desarrollan a partir de huevo, larva, protoninfa y deutoninfa antes de mudar en adulto; todos los huevos darán origen a hembras que al eclosionar comienzan a alimentarse (Piou *et al.*, 2016). La hembra fundadora (la que invadió la celda) y su descendencia madura abandonan la celda sobre la abeja emergente y pasa a una abeja nodriza para continuar el ciclo (Le Conte y Arnold, 1987).

2. 2. 2. Fisiología olfativa de *V. destructor*

El sistema olfativo tiene la tarea de reconocer, discriminar, codificar y traducir la gran variedad de semioquímicos (odorantes) para informar si se trata de una mezcla, la pureza, sobre los componentes y las proporciones; también debe reportar la concentración de los compuestos percibidos y la frecuencia del estímulo, todo representado en un mapa neuronal preciso en el cerebro (Guidobaldi y Guerenstein, 2012). La sensibilidad y el rango químico de los sistemas olfatorios de los organismos es notable, permitiéndoles detectar y discriminar entre miles de moléculas de olor diferentes, es así como nos damos cuenta de que las señales químicas del medio ambiente son imprescindibles en la vida de muchos organismos (Termtanasombat *et al.*, 2016).

El sistema quimiosensorial de los ácaros es único y ha sido denominado órgano sensorial foretarsal (FSO por sus siglas en inglés foretarsal sensory organ) propuesto por Carr y Roe, (2016). Consta de tres estructuras, cuyas funciones incluyen olfato, gusto y detección de celo (Sonenshine *et al.*, 1985; Carr y Roe, 2016). Anatómicamente este órgano tiene poca similitud con su análogo las antenas de los insectos, aunque funcionalmente son homólogos el FSO está implicado en la detección de fuentes de alimento, feromonas sexuales, de agregación, kairomonas provenientes de huéspedes (atrayerentes) y alomonas que en algunos casos funcionan como repelentes de depredadores (Sonenshine, 2006). La primera estructura es el primer tarso frontal del primer par de patas, este primer par de articulaciones ocasionalmente

son usadas para moverse, pero es común que se alcen en el aire como las antenas de los insectos quizás como una estrategia para captar odorantes del ambiente. (Ramm y Böckeler, 1989. En el primer tarso frontal se localiza una depresión denominada foso y dentro de ella es posible encontrar sensilas (de entre 9 hasta 28) de diversas formas y longitud dependiendo de la especie de ácaro indispensables para la percepción de estímulos químicos, higrométricos y térmicos. En la **Figura 2B** se observa esta depresión que corresponde al foso de un macho de *V. destructor* (Dillier *et al.* 2006; Leonovich, 2013).

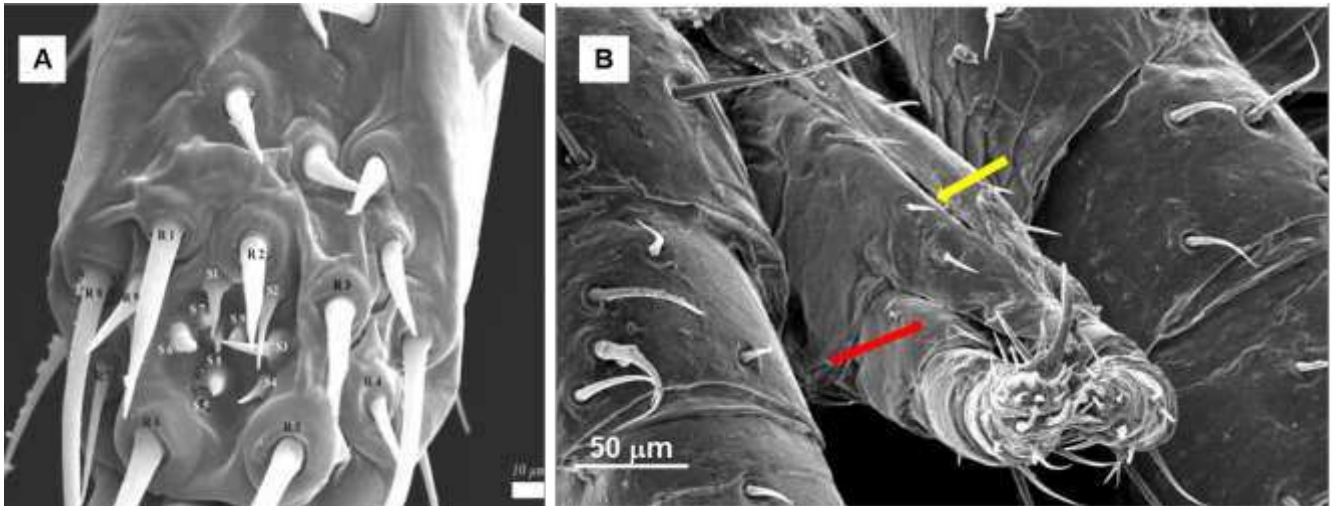


Figura 2. Foso ubicado en el primer par de artejos, del primer par de patas de un macho *V. destructor* donde se ubican dos grupos de sensilas (R1-R9) y (s1->s9) encargadas de la recepción de estímulos higrométricos, térmicos y de semioquímicos (A). Micrografía de los pedipalpos (flecha roja) y quelíceros (flecha amarilla) que coadyuban en la quimiorrecepción de estímulos pertenecientes a una hembra de *V. destructor* (B). Tomadas y modificadas de Montasser, (2006), Häußermann *et al.*, (2015) e Iovinella *et al.*, (2018)

En segundo lugar, se encuentran los quelíceros, son piezas bucales ubicadas inmediatamente antes de la boca, se usan para agarrar el alimento o hasta pellizcar para defenderse. Se ha documentado que en los dígitos de los quelíceros se alojan sensilas mecanosensoriales, quimiosensoriales y termosensibles en la **Figura 2B**. se señala con una flecha amarilla una sensila en los quelíceros de *V. destructor* que proporcionan información sobre las características bioquímicas del entorno del sitio de donde se alimenta (Dhooria, 2016). Finalmente están los pedipalpos que se encuentran inmediatamente después de los quelíceros y actúan como piezas bucales adicionales que ayudan a procesar el alimento, en ellos también existen sensilas quimiorreceptoras con distintas funciones, las sensilas que se han descrito en los pedipalpos se ubican en la parte superior del último segmento palpal tal como se observa en la **Figura 2. B** donde con una flecha roja se señala uno de los pedipalpos de una hembra

de *V. destructor*, todas las sensilas de esta estructura forman una especie de campo sensorial común con quimiorreceptores del órgano, este campo consta de 5 a 4 sensilas quimio-mecano-sensibles (Leonovich 1998). Gracias a estas estructuras especializadas los ácaros pueden procesar toda la información que obtienen de su ambiente, para generar una respuesta, el flujo constante de información es procesada en diferentes partes del cerebro (López-Riquelme, 2014). En general la percepción se organiza en tres etapas: 1) percepción quimiosensorial (olfativa o gustativa); 2) procesamiento de las señales en el sistema nervioso central (SNC), que conduce a una representación de la señal sensorial y 3) la traducción de las señales químicas a una señal eléctrica que desencadena una respuesta de comportamiento (Liu *et al.*, 2012; Cande *et al.*, 2013; Leal, 2013).

2. 2. Los semioquímicos mediadores de la comunicación en interacciones bióticas

La quimiorrecepción es la capacidad de un organismo (bacterias, hongos, animales y plantas) para detectar señales químicas, identificar, evaluar y transmitir la información que obtiene de moléculas del medio ambiente a través de la olfacción o gustación (Mollo *et al.*, 2014; Grabe y Sachse, 2018). Cuando estas señales químicas son percibidas por un organismo (receptor), es captado como un mensaje codificado, pero una vez que son descifrados provoca una modificación (respuesta) conductual o fisiológica ante dicha señal en el organismo que la recibe (Kaupp, 2010; Heuskin *et al.*, 2011; Mollo *et al.*, 2014).

Dicha respuesta depende de la naturaleza, calidad y cantidad del semioquímico emitido, debido a que todos los organismos (terrestres y acuáticos) emiten, detectan y responden a la presencia de kairomonas en su ambiente, el número y tipo de señales parecen ser ilimitadas (Meinwald y Eisner, 2008; Termtanasombat *et al.*, 2016; Grabe y Sachse, 2018). Estas moléculas pueden estar integradas por hidrocarburos de cadena larga, cetonas de ácidos grasos, colesterol esterificados o proteínas, emitidas por el excremento del huésped o el pegamento utilizado en la oviposición, las kairomonas secretadas por el cuerpo del huésped dan información de la idoneidad del huésped representadas por aminoácidos y sales presentes en la hemolinfa (El-Shafie y Faleiro, 2017). Algunos ejemplos de comportamientos regulados por señales químicas en los artrópodos son: la localización, selección de parejas y hospederos, la evasión de depredadores y parasitoides, o la elección de un nicho para ovipositar (Cande *et*

al., 2013; Renthal *et al.*, 2017). Estas señales denominadas semioquímicos básicamente son moléculas de una gran diversidad, que van desde: cetonas, alcoholes, hidrocarburos y ácidos grasos entre otros, en proporciones exactas de los distintos componentes, también incluyen péptidos, proteínas y gases tales como dióxido de carbono u oxígeno (El-Sayed, 2017). El espacio muestral de olor abarca un número de semioquímicos debido a que todos los organismos (terrestres y acuáticos) emiten, detectan y responden a ellos por lo que el tipo de interacciones también es gigante (Meinwald y Eisner, 2008; Termtanasombat *et al.*, 2016; Grabe y Sachse, 2018). Los semioquímicos del olor generalmente son volátiles y con bajas concentraciones en el ambiente, sin embargo, esta condición no siempre es verdadera como en el caso de las feromonas que no tienen que ser obligadamente volátiles ni olorosas (Touhara y Vosshall, 2009).

De acuerdo con su función biológica los semioquímicos se clasifican en dos grupos considerando si actúan como mediadores intraespecíficos o interespecíficos (Heuskin *et al.*, 2011). En el **Cuadro 1**. Podemos observar a quien van dirigidos los semioquímicos de cada grupo, por otro lado, también los subgrupos en los que se dividen los aleloquímicos.

Cuadro 1. Clasificación de semioquímicos basado en la respuesta que genera en el receptor y su papel en las diferentes interacciones específicas (Agelopoulos *et al.*, 1999; Kaupp, 2010; Norin, 2007; Mensah y Moore, 2011; Perna y Aksela, 2011).

SEMIOQUÍMICOS	Feromonas (intraespecífica)	
	Son secretadas y liberadas por un organismo, que evoca una respuesta específica en otro organismo receptor de la misma especie	
	Aleloquímicos (interespecífica)	Alomonas
	Son producidos por un individuo de cierta especie y causan una respuesta en una especie diferente	Favorable al emisor y perjudican al receptor
		Cairomonas
Favorecen al receptor, pero perjudica al emisor		
	Sinomonas	
	Beneficiosas tanto para el emisor como para el receptor	
	Apneumonas	
	Producidos por el entorno de un ser vivo que orientan a otro organismo dañino	

De hecho, las feromonas se subdividen en dos grupos más dependiendo del tipo de respuesta que desencadena en el receptor; feromonas cebadoras cuando provocan una respuesta y cambios fisiológicos a largo plazo y feromonas liberadoras cuando la respuesta es conductual inmediata de corto plazo (El-Shafie y Faleiro, 2017). Es así como las feromonas influyen profundamente en la supervivencia de especies de insectos eusociales ya que tienen efectos en su compleja organización, reproducción y en la organización social. La complejidad de las funciones sociales de los insectos es igual a la diversidad química que existe en los mensajes de señalización (Sharma *et al.*, 2015). Por ejemplo, las feromonas de abejas dan a cada colonia un olor específico, logrando que todos los miembros de la colonia se integren a la vida social, estableciendo diferencias entre los individuos que no comparten este olor, por lo tanto, logran excluirlos (Shorey *et al.*, 1974).

Ahora bien, cuando hablamos de aleloquímicos las interacciones pueden llegar a ser aún más complejas, las kairomonas es el subgrupo quizás más estudiado pues probablemente son las señales que mayormente intervienen en la ubicación de alimento y son aprovechadas por depredadores, parásitos, parasitoides, herbívoros y fungívoros durante su búsqueda de alimento y / o sitios de oviposición (Kost, 2008). Es necesario resaltar que existe una fuerte presión en los organismos huésped para minimizar la producción de estas señales, pero de igual manera existe fuertes procesos evolutivos para que los parásitos y depredadores logren percibir eficazmente estas señales por mínimas que sean y es quizás la razón por la cual las kairomonas que sirven para localizar fuentes de alimento frecuentemente son parte de funciones básicas (Rajchard, 2013).

Por ejemplo, el ácido úrico se encuentra en las heces de aves y atrae a la garrapata *Amblyomma americanum* (Yoder *et al.* 2003). O el caso de la mosca *Calliphora vicina* que es atraída por el olor a cadáver de ratón es decir oligosulfuros, producidos por la degradación bacteriana (Aak y Knudsen, 2012). En este mismo sentido, pero afectando humanos encontramos a los mosquitos del género *Anopheles* transmisores de graves enfermedades infecciosas como el dengue, el chikungunya y la malaria, estos mosquitos son fuertemente atraídos por el CO₂ exhalado en la respiración (Carde, 2010; Killeen, 2014). Por tal motivo los semioquímicos han adquirido mayor atención y actualmente se evalúan y manipulan cada vez

más como una estrategia para combatir plagas buscando interrumpir el apareamiento, la búsqueda de huéspedes y la oviposición (El-Shafie y Faleiro 2017).

2. 3. Influencia de los semioquímicos en las interacciones de la Subclase Acari

La clasificación de la subclase Acari comprende dos principales grupos relacionados por la evolución: los ácaros que se han adaptado a vivir en diferentes ambientes, como los ácaros herbívoros que representan un serio problema económico en la producción de cultivos, como en el caso de *Tetranychus urticae* que ataca al frijol, algodón, fresa, vid, etc. numerosos árboles frutales y ornamentales (Van Leeuwen *et al.*, 2015). En otro grupo encontramos a los ácaros depredadores de otros ácaros y son aprovechados para el control biológico de ciertas plagas, tal es el caso de los ácaros fitoseidos brasileños *Limonicus amblydromalus*, *Amblyseius herbicolus*, *Amblyseius largoensis*, *Amblyseius tamatavensis* y *Tunus neoseiulus* empleados para el control de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Cerqueira *et al.*, 2015).

Otro ejemplo es el de los ácaros parásitos que pueden representar un serio problema para animales de ganado como lo es el ácaro *Psoroptes ovis* causante de la sarna ovina una enfermedad contagiosa en ovejas domesticas que provoca lesiones en la piel y reduce la calidad de la lana y cuero; en los casos más graves el animal puede morir por septicemia, deshidratación o neumonía bacteriana (Boyce y Weisenberger, 2005). A pesar de que los ácaros producen importantes pérdidas económicas en los sectores agrícola y graves daños en las áreas médica y veterinaria, poco se sabe sobre los mecanismos de quimiorrecepción mediante el cual estos quelicerados detectan sus fuentes de alimento, feromonas y cairomonas provenientes de sus hospederos y aleloquímicos de plantas (Sonenshine, 2006). Sumado a los desafíos que se enfrenta al trabajar con estos organismos pues su morfología, biología y tamaño dificulta su crianza y estudio (Carr y Roe, 2016).

Cabe subrayar el papel fundamental que los semioquímicos desempeñan dentro del proceso de selección de un huésped por parte de los parásitos, pues al ser emanados por el huésped se han convertido en el factor clave para que un parasito pueda llegar hasta su objetivo, además se ha observado un comportamiento de preferencia, pues un parasito es capaz de elegir una presa cuando existe más de un organismo como potencial hospedero (Lewis *et al.*,

1976). Es importante agregar que los ácaros deben de reconocer, discriminar, codificar y traducir las señales cariomonales para informar sobre la identidad, pureza, si se trata de una mezcla, sobre los componentes y las proporciones (Guidobaldi y Guerenstein, 2012). Todo dentro de un espacio de olor gigante que comprende un número casi infinito de estímulos (semioquímicos) (Norin, 2007). Toda esta información es percibida, procesada y analizada en tres etapas: 1) percepción quimiosensorial (olfativa o gustativa); 2) procesamiento de las señales en el sistema nervioso central (SNC), que conduce a una representación de la señal sensorial y 3) la traducción de las señales químicas a una señal eléctrica que desencadena una respuesta de comportamiento (Liu *et al.*, 2012; Cande *et al.*, 2013; Leal, 2013).

Entonces para buscar y seleccionar un huésped los ácaros parásitos dependen en gran medida de la detección de kairomonas emitida por su huésped, como se ha documentado en diversos ensayos de comportamiento que demuestran la respuesta atrayente de algunos productos químicos en ácaros que parasitan a insectos y mamíferos (Carr y Roe, 2016). Como lo que ocurre con el ectoparásito *Dermanyssus gallinae* también llamado ácaro rojo que se alimenta de la sangre de aves de corral, pues es capaz de percibir variaciones de humedad y temperatura en ambiente, así como cambios de concentración de dióxido de carbono (CO₂) ocurridos en su huésped y así modificar sus hábitos reproductivos y comportamiento de búsqueda de alimento, pues generalmente es durante la noche cuando el ácaro se alimenta mientras que durante el día permanece recluso logrando; con esta estrategia alimentarse sin correr riesgos de ser desecado por altas temperaturas o de ser capturado por la propia gallina, pues durante el día son más activas (Pageat, 2005; Soler Cruz *et al.*, 2005).

También se ha demostrado que diolésteres obtenidos de la secreción de las glándulas uropigiales de gallinas estimularon la actividad de alimentación y agregación (la agregación de ácaros es la congregación de una gran población de estos en una zona particular), similar a los provocados por los lípidos naturales de la piel de las gallinas (Zeman, 1988). Otro tipo de interacción es la interrelación tritrófica es la que se presenta entre plantas, fitófagos y depredadores. Las plantas producen diferentes compuestos químicos como mecanismos de defensa contra la presencia de insectos fitófagos, inducidos por la presencia del insecto huésped provocando la atracción de enemigos naturales como depredadores o parasitoides (Sabelis *et al.*, 2011).

Curiosamente, las especies de ácaros depredadores han sido condicionadas para asociar ciertos volátiles de plantas inducidos por herbívora (HIPV) liberados al ambiente como resultado de la actividad alimentaria de organismos fitófagos. Dado que los HIPV se producen en mayores cantidades que las caimomas de los fitófagos (presas), pueden ser más fáciles de detectar y posiblemente se conviertan en la principal señal química que regula la caza de ácaros depredadores (Carr y Roe, 2016). Como ocurre con el ácaro *Neoseiulus womersleyi* que se emplea para controlar una plaga de importancia agrícola pues es depredador del ácaro *Tetranychus kanzawai* o araña roja quién se alimenta de la savia de la planta huésped, la planta libera volátiles como él (E) - β -ocimeno, (E) - 4,8-dimetil -1,3,7-nonatrieno (DMNT) y (E, E) - α -farneseno responsables de atraer al depredador *N. womersleyi* a la planta para alimentarse de *T. kanzawai* (Ishiwari *et al.*, 2007)

En la actualidad se han esclarecido múltiples y complejas interacción químicas entre organismos, lo que ha permitido un mayor entendimiento de la naturaleza y de los procesos biológicos de algunos casos, de ahí la necesidad de explicar los diferentes roles que los semioquímicos tienen y que constituye uno de los retos más importantes para ecología química (Mori y Noge, 2021). Es importante mencionar que, dependiendo del contexto, un mismo compuesto químico puede pertenecer a diferentes grupos de semioquímicos y por lo tanto su disponibilidad y distribución en diferentes ambientes y nichos ecológicos puede ser distinto, alterando su eficiencia y estabilidad; de ahí la importancia de poder elucidar el efecto que ciertas propiedades fisicoquímicas como la temperatura, volatilidad, solubilidad y la vida útil de las moléculas en el medio ambiente (Kallenbach *et al.*, 2014; Mollo *et al.*, 2017).

Por otro lado, existe un creciente interés en el uso semioquímicos como estrategia de control biológico de especies de importancia agrícola, médica, veterinaria y forestales por considerarlos como seguros por ser compatibles con ambiente, inocuos debido a su origen natural, de baja persistencia, alta especificidad y sin causar daños a organismos no blanco (Heuskin *et al.*, 2011; El-Shafie y Faleiro 2017). Hoy por hoy existen pocos estudios que evalúen el efecto de las propiedades fisicoquímicas que inciden en la distribución y disponibilidad de los semioquímicos a pesar del potencial que tienen.

2. 4. Distribución y disponibilidad de semioquímicos en el ambiente

Como ya se ha mencionado la transferencia de información química de un organismo emisor puede lograrse una vez que el semioquímico haya viajado hasta llegar al mecanismo de quimiorrecepción del organismo receptor y luego ser decodificado (Baker y Roelofs, 1981). Cuando un semioquímico es liberado al medioambiente no permanece estático en el lugar donde ha sido liberado, se dispersa o distribuye, debido a una serie de fenómenos físicos, químicos y biológicos que favorecen su tránsito en el ambiente. Los semioquímicos pueden estar formando parte de una mezcla compleja de otras sustancias, se ha propuesto que pueden distribuirse entre diferentes fases como, el aire, agua, suelo y biota (organismos vivos) aunque dependiendo de su naturaleza químicas pueden transitar en algún momento entre más de una de estas fases e incluso pueden llegar a sufrir cambios en su estructura afectando el modo de distribución y disponibilidad (Echarri, 1998; Tyler Miller, 2007; Speight, 2017).

Cuando un compuesto se introduce en el medio ambiente, tiende a difundirse de una fase a otra en dirección hacia el establecimiento del equilibrio entre todas las fases, todos los compuestos químicos, tanto orgánicos como inorgánicos, están formados por un conjunto de átomos variables en número y tipo, a su vez estas uniones atómicas adoptan una distribución en el espacio según las leyes de la química convencional (Speight, 2017). Estas características microscópicas se traducen en propiedades macroscópicas medibles, a las cuales se les puede atribuir un número y una unidad, al conjunto de esas magnitudes físicas medibles, producto de las características químicas microscópicas, se las denominan propiedades fisicoquímicas (Chang, 1997). Las cuales se obtienen de forma experimental o teórica como, por ejemplo: índices de retención cromatográfico, refractividad molar y punto de ebullición. Con frecuencia las propiedades fisicoquímicas del compuesto dictan cómo se distribuirá y cómo será la cinética en cada compartimento ambiental, diferente de aquel en la que ha sido liberado (Speight, 2017). El conocimiento de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos condiciona la dirección e intensidad de los procesos de disipación y si se consideran de manera conjunta estas propiedades podemos tener una primera aproximación del destino potencial de cada molécula en el ambiente, es decir podremos predecir su comportamiento ambiental (Klöpffer *et al.*, 1982; Aparicio *et al.*, 2015). Es importante resaltar que la distribución de

compuestos químicos en el medio ambiente se puede alterar por procesos físicos. Enseguida revisaremos los más importantes

➤ **Adsorción – Absorción**

La adsorción se define como la adhesión de una sustancia en una superficie. Por otro lado, la absorción consiste en difusión de masas en el que uno o más componentes de una mezcla gaseosa se disuelven en un líquido. La diferencia básica entre los dos conceptos es que mientras que la absorción implica que una sustancia, pasa de un medio a otro, en la adsorción quedarían retenidas en la superficie por alguna fuerza atractiva o de unión y no incluye la radiación (Alan, 2004).

➤ **Solubilidad acuosa**

La solubilidad en agua es la concentración del producto químico que se disuelve en la fase acuosa a una temperatura y presión específica (por ejemplo, 25 ° C, 1 atm) (Schwarzenbach *et al.*, 2005).

➤ **Volatilidad**

Es una medida de la tendencia de una sustancia para pasar a vapor. Es decir, mide la facilidad con que una sustancia se evapora, a unas condiciones de temperatura y presión, generalmente a condiciones estándar, las sustancias con mayor presión de vapor se evaporan más fácilmente que las sustancias con una menor presión de vapor, aunque por lo general se aplica a líquidos, la volatilidad se puede aplicar a materiales sólidos (Atkins, 1999).

➤ **Evaporación**

Es el paso de un compuesto en estado líquido a estado gaseoso, responde a una ley física llamada "Ley de Henry" de manera que para cada compuesto existe un coeficiente de reparto aire-agua constante, que depende de sus características químicas y determina lo volátil que es. Así, una sustancia con un bajo punto de ebullición tendrá más facilidad para pasar al estado

gaseoso y movilizarse desde la hidrosfera a la atmósfera. Por ejemplo, si el aire ya está saturado con otros productos químicos (o la humedad es alta), normalmente hay pocas posibilidades de que un líquido se evapore tan rápido como cuando el aire no está saturado (o la humedad es baja). Además, la presión del aire también afecta el proceso de evaporación ya que, a alta presión de aire, un químico orgánico es mucho más difícil de evaporar (Speight, 2017).

2. 5. Descriptores moleculares

En química computacional se suele trabajar con modelos estructurales representativos de las moléculas para establecer una relación matemática entre las características estructurales de las moléculas y una propiedad determinada, esta puede ser una propiedad química, fisicoquímica o biológica. Por ejemplo, el peso molecular es único de cada molécula y es representativo de la suma del peso atómico de cada átomo que la constituye, por lo que esta relación se considera un descriptor molecular del peso molecular, otro ejemplo, si la molécula tiene un grupo funcional que le aporte el carácter polar, entonces el descriptor sería la polaridad, Así una sola molécula puede presentar diferentes relaciones de varias propiedades, por lo que cada molécula se le podrá asignar tantos descriptores moleculares como tantas propiedades puedan explicar su naturaleza o su comportamiento.

La información que contiene un descriptor molecular depende del tipo de representación molecular que se utilice y del algoritmo definido para su cálculo, existen descriptores moleculares simples que se derivan del conteo de algunos tipos de átomos o fragmentos estructurales en la molécula, algunos otros provienen de algoritmos aplicados a una representación topológica (gráfico molecular) (Xue y Bajorath, 2000).

En particular, cada descriptor molecular codifica una pequeña parte de toda la información química contenida en la estructura molecular. Este enfoque, ha promovido el constante interés de la comunidad científica por incrementar el número de descriptores moleculares disponibles, con el fin de generar mayor conocimiento acerca del funcionamiento de los sistemas químicos y biológicos de difícil acceso experimental o aún desconocidos (Chandrasekaran *et al.*, 2018).

En general, los descriptores moleculares se clasifican principalmente en dos grupos, aquellos basados en aspectos conformacionales de la molécula o los descriptores independientes de la conformación molecular, que pueden generarse mediante diversos programas para calcular descriptores moleculares de acceso libre o comercial.

Particularmente los descriptores no conformacionales especifican las características invariantes de la estructura molecular; es decir, los aspectos atómicos, constitucionales y topológicos de una molécula (Saavedra, 2020). Los descriptores pueden clasificarse mediante las siguientes representaciones de acuerdo con su dimensionalidad, en el en el **Cuadro 2**. Se señalan las diferentes dimensiones de cada conformación que nos permiten elegir qué tipo de descriptor podemos usar para representar determinada información de una molécula.

Cuadro 2. Clasificación de descriptores moleculares en base a su dimensionalidad y ejemplos de descriptores cada grupo (Xue y Bajorath, 2000; Dudek *et al.*, 2006; Chandrasekaran *et al.*, 2018; Grisoni *et al.*, 2018; Saavedra, 2020).

Dimensionalidad		Usos	Ejemplos de descriptores
No conformacionales	0D	Permite identificar el tipo y la cantidad de elementos químicos que conforman una molécula de manera general	<ul style="list-style-type: none"> – número de átomos de cualquier elemento químico – el peso molecular (MW) – la suma o el promedio de las propiedades atómicas, volúmenes atómicos de van der Waals o la electronegatividad.
	1D	Permiten considerar las características estructurales basadas en los grupos funcionales o conjuntos de átomos que influyen en las respuestas biológicas de las moléculas.	<ul style="list-style-type: none"> – Refractividad molar – Logaritmo del coeficiente de reparto octanol / agua
	2D	Representan información molecular sobre el tamaño, la forma y la distribución electrónica en la molécula	<ul style="list-style-type: none"> – Número de átomos de nitrógeno en la molécula. – Número de enlaces dobles no aromáticos – Suma aproximada del área de superficie de Van der Waals de los aceptores de enlaces H
Conformacionales Geométricos	3D	Ofrecen información sobre la estructura y necesita la confirmación del compuesto a nivel experimental o técnicas de mecánica molecular	<ul style="list-style-type: none"> – LUMO - Energía orbital molecular ocupada más baja – Momento bipolar – Hf - Calor de formación – Polarización media – EA - Afinidad electrónica – IP: potencial de ionización

Todos los descriptores moleculares deben contener, en diversos grados, información química, deben satisfacer algunas propiedades de invariancia básicas, requisitos generales y deben derivarse de procedimientos bien establecidos que permitan calcular descriptores moleculares para cualquier conjunto de moléculas (Todeschini y Consonni, 2000).

Los descriptores moleculares permiten relacionar:

- Correlaciones estructura / actividad
- Realizar la búsqueda de similitudes
- Realizar la búsqueda de su estructura (Godden *et al.*, 2000).

El comportamiento ambiental y los efectos de las sustancias químicas están fuertemente influenciados por su comportamiento de reparto entre varias fases, es decir, las concentraciones relativas que las sustancias presentan en estas fases en equilibrio (Mackay *et al.*, 1985). El conocimiento de estas cantidades se puede predecir de modelos estructurales y modelos calibrados de dichas condiciones de fases fisicoquímicas, por lo que son útiles para predecir la tendencia de estas sustancias a volatilizarse o sedimentarse (Etchegoyen *et al.*, 2020). La transferencia de compuestos químicos entre fases fisicoquímicas se puede expresar en términos de un grupo relevante de constantes de intercambio. Estas pueden expresarse en función de las actividades de cada especie entre distintas fases como se muestra en la **Figura 3**. Entre las fases gaseosa, acuosa y orgánica, la transferencia se puede expresar en términos de un grupo relevante de constantes de intercambio.



Donde:

K_{AW} : Constante de reparto aire (A)-agua (W).
 K_{OW} : Constante de reparto octanol (O) - agua (W).
 K_{OA} : Constante de reparto octanol (O)-aire (A).
 K_p : Coeficiente de reparto aire/aerosol

En estos parámetros las propiedades como la presión P de líquidos, la constante de Henry (H o KH) y la solubilidad S en agua juegan un papel importante

Figura 3. Posible reparto de semioquímicos entre las fases gaseosa, acuosa y orgánica

Entonces determinados parámetros cualitativos experimentales o calculados junto a ciertas propiedades fisicoquímicas de un conjunto de moléculas pueden ser correlacionadas para explicar su distribución en el medioambiente o en determinado compartimiento ambiental como lo sugiere la propuesta de las constantes K_{AW} , K_{OA} y K_{OW} , por ejemplo, a los hidrocarburos se les puede calcular dichas constantes, pero la K_{AW} tendrá un efecto menor en el reparto sobre la fase acuosa y K_{OW} tendrá más peso estadístico hacia el reparto sobre la fase hidrófoba (Gramatica *et al.*, 2004). Cabe destacar que la distribución de una molécula en el ambiente puede ser influenciada por más de una característica fisicoquímica y por lo tanto se requiere calcular varios descriptores. Por ejemplo, sustancias muy hidrófobas, como los hidrocarburos suelen presentar bajas solubilidades en agua y altos coeficientes de reparto en octanol u otras fases orgánicas (Mackay *et al.*, 1985).

Desde el punto de vista ambiental, las propiedades básicas más relevantes que permiten inferir la distribución y el destino de los distintos compuestos en las diferentes fases, son el punto de ebullición (T_b) y la presión de vapor (P_v), ya que estas permiten evaluar el comportamiento de un compuesto en la atmósfera; la solubilidad en agua (S), para ponderar la interacción de los compuestos con la hidrosfera y el coeficiente de partición octanol-agua (K_{OW}) que mide la capacidad de reparto de un compuesto químico entre las fases acuosa y orgánica ayudando a estimar el grado de interacción que puede tener esa sustancia con el tejido vegetal y/o animal a la hora de atravesar membranas biológicas (Gramatica y Di Guardo, 2002).

Por otro lado, de acuerdo con Gramatica y Di Guardo(2002) y Gramatica *et al.*, (2004) los descriptores como el coeficiente de partición del carbono orgánico (K_{OC}) que se define como la razón entre la concentración de plaguicida en estado de adsorción (adherido a las partículas de suelo) y la fase de solución (disuelto en el agua del suelo), el coeficiente de partición n-octanol / agua (K_{OW}), la constante de solubilidad en agua (S_w), la constante de presión de vapor (VP) y la constante de Henry (H), poseen mayor significancia a la hora de determinar la distribución ambiental ya que capturan las características y propiedades estructurales de insecticidas empleados en la agricultura, por lo cual para efectos de nuestro análisis fueron considerados como referencia y que a continuación en la **Tabla 1**. Resumimos la información más importante de cada descriptor que puede ayudarnos a determinar su aplicabilidad cuando se busca obtener información en grupos de moléculas poco homogéneos

Tabla 1. Resumen de los descriptores moleculares con propiedades fisicoquímicas considerados indicados para analizar distribución y disponibilidad de moléculas en el ambiente, con información sobre su posible aplicación

Descriptor	Definición	Fórmula	Uso o aplicación	Referencia
Constante de Solubilidad Log W	Unidad de solubilidad común correspondiente al logaritmo basado en 10 de la solubilidad de una molécula medida en mol / L.	$\log W = 0.8 - \log P_{OW} - 0.01 (MP - 25)$ Donde: W = solubilidad $\log P_{OW}$ = coeficiente de partición octanol /agua MP = presión de vapor	Calcula la solubilidad en agua de un compuesto	(Yalkowsky and Banerjee, 1992)
Coficiente de reparto Octanol-Agua Log O	Se define como el cociente entre la concentración de un compuesto en octanol y su concentración en agua cuando las dos fases están en equilibrio	$\log K_{OW} = a \log t + b$ Donde: a = pendiente t = tiempo b = intercepto	Predice si un compuesto se particionará preferencialmente hacia fases orgánicas de tipo hidrofóbico o hacia la fase acuosa	(Meylan and Howard, 1995; Essington, 2005; Etchegoyen <i>et al.</i> , 2020).
Constante de Henry Log H	Es la relación entre la presión parcial de un compuesto en el aire y la concentración del compuesto en el agua a una temperatura dada	$\log K_H = 1.29 + 1.005\phi - 0.468^{\text{!}X^{\text{!}}} - 1.258 I$ Donde: ϕ = parámetro de polarizabilidad $^{\text{!}X^{\text{!}}}$ = índice de conectividad molecular I = índice de enlace de hidrógeno	Predice si un compuesto determinado es propenso a ser volátil a una temperatura dada. Se utiliza para valorar si un compuesto puede pasar a una fase gas al aumentar la temperatura	(Pimentel y Edwards, 1982; Schwarzenbach <i>et al.</i> , 1996)
Constante de Presión de vapor Log V	Es una estimación de la volatilidad de un compuesto .	$P_v = P_0 \left(1 - \frac{V_0 T}{T_0 V} \right)$ Donde: P_0 = presión inicial V_0 = volumen inicial T = Temperatura V = volumen	Estima la tendencia de un compuesto para volatilizarse y dispersarse en una fase gaseosa. Se aplica para determinar aquellos compuestos que se volatilizan pronto y se dispersan del sitio	(Rodgers and Hill, 1978;).
Coficiente de adsorción de carbono orgánico Log C	Medida del reparto de un compuesto entre las fases sólida (suelo o sedimento) y acuosa del medio ambiente normalizada a carbono orgánico	$\text{Log } K_{OC} = 1 \log K_{OW} - 0.21 (R^2=1)$ Donde: K_{OW} es el coeficiente de partición octanol/agua	Indica la movilidad de un compuesto a través de la interfaz agua/suelo.	(Hodson y Williams, 1988; Gawlik <i>et al.</i> , 1997; Tao y Lu, 1999; Gramatica <i>et al.</i> , 2007)

2. 6. Análisis Multivariante de Datos

Es un conjunto de técnicas estadísticas y de análisis de datos que estudia, examina, representa e interpreta los datos que resulten de observar un número $p > 1$ de variables estadísticas sobre una muestra de n individuos, mediante la construcción de modelos estadísticos complejos que permiten distinguir la contribución independiente de cada una de ellas en el sistema de relaciones, con el objetivo de analizar e interpretar las relaciones entre distintas variables de manera simultánea, y, de este modo, describir, explicar o predecir los fenómenos que son objeto de interés para la investigación (Cuadras, 2007; Meneses, 2019).

Como las variables representan atributos de la misma unidad de análisis, usualmente están correlacionadas; el análisis multivariado no solo describe, sino que toma ventaja de esta correlación para caracterizar los casos, también provee herramientas para comprender la relación (dependencia) entre las variables medidas simultáneamente sobre la misma unidad, para comparar, agrupar y/o clasificar observaciones multivariadas e incluso para comparar, agrupar y clasificar variables (Balzarini *et al.*, 2015). Para que un análisis se considere multivariado, todas las variables tienen que ser aleatorias y relacionadas de tal forma que, el efecto que producen no pueda ser interpretado de manera individual, ahora en el **Cuadro 3**. Presentamos una clasificación general de las diferentes técnicas disponibles conocer sus características y como pueden usarse.

Cuadro 3. Clasificación de las técnicas de análisis multivariante en función de los objetivos de la investigación y de las características de los datos (Meneses, 2019).

Objetivo	Aplicación	Características de los datos	Técnica multivariante
Analizar relaciones de interdependencia para describir la estructura de los datos	Identificación de grupos de características similares	Diversas variables cuantitativas	Análisis de componentes principales
		Diversas variables cualitativas	Análisis factorial
	Identificación de grupos de individuos similares	Diversas variables cuantitativas o cualitativas	Análisis de correspondencias
	Identificación de grupos de objetos similares	Diversas variables cuantitativas o cualitativas	Análisis de conglomerados
Analizar relaciones de dependencia para		Una variable dependiente cuantitativa	Escalamiento multidimensional
			Regresión múltiple

hacer explicaciones o predicciones	Explicación de la variabilidad de los individuos	Dos o más variables dependientes cuantitativas	Correlación canónica
	Explicación de la variabilidad de los grupos de individuos	Una variable dependiente cuantitativa	ANOVA de dos o más factores o ANCOVA
		Dos o más variables dependientes cuantitativas	MANOVA o MANCOVA
	Predicción de la pertinencia de los individuos a grupos	Una variable dependiente cualitativa	Análisis discriminante
Analizar relaciones de dependencia a interdependencia simultáneamente	Evaluación del ajuste de modelos concatenados	Diversas variables cuantitativas	Ecuaciones estructurales

Análisis de componentes principales

A menudo es útil medir los datos en términos de sus componentes principales en lugar de en un eje x-y normal. Entonces, ¿cuáles son los componentes principales?. Son la estructura subyacente de los datos, son las direcciones donde hay mayor variación, las direcciones cuando se tiene una cantidad de datos que corresponden a diferentes variables es deseable entender que variable o variables influyen en la distribución de datos y si esta distribución tiene un significado.

En estos términos cada variable se considera un componente del conjunto de variables y puede influir en la dirección donde haya mayor variación, es decir, las direcciones donde los datos están más dispersos. Mediante análisis de combinaciones lineales de los datos va a tratar de encontrar la combinación donde la varianza entre componentes sea mayor, o, dicho de otra forma, aquella en la que la dispersión de datos sea menor. El conjunto de datos en este método se puede pasar a un conjunto de autovalores y autovectores, ellos existen en pares: cada autovector (provee de una dirección) tienen un eigenvalor correspondiente o número que le dice cuánta varianza hay en los datos en esa dirección. El vector propio con el valor propio más alto es, por tanto, el componente principal (Peña, 2002; Lever *et al.*, 2017).

El PCA es una de las técnicas multivariantes, con mayor uso en la actualidad para el procesamiento de datos (Jolliffe, 2002). Como herramienta descriptiva no necesita supuestos de distribución y como tal, es en gran medida un método exploratorio adaptativo que se puede usar en datos numéricos de varios tipos (Jolliffe y Cadima, 2016). Además, es ideal para

disminuir la dimensionalidad de los datos, aumentar la interpretabilidad, pero al mismo tiempo minimizar la pérdida de información, ayuda a decidir cuántas nuevas variables podrían ser necesarias para representar idóneamente la información original (Balzarini *et al.*, 2015). En el **Cuadro 4**. Se resumen los propósitos del PCA y sus aplicaciones en términos prácticos

Cuadro 4. Objetivos del uso del Análisis de Componentes principales y aplicaciones (Wold, 1987; Abdi y Williams, 2010; Jolliffe y Cadima, 2016).

	Propósito	Aplicación
Análisis de Componentes Principales (PCA)	Extraer la información más importante de la matriz y comprimir el tamaño del conjunto de datos	Simplifica y Reduce datos
	Busca describir, más que inferir	
	Simplificar la descripción del conjunto de datos como un conjunto de nuevas variables ortogonales llamadas componentes principales	Selecciona variables Modela Clasifica
	Analizar la estructura de las observaciones y las variables, para mostrar un patrón de similitudes en las observaciones y de las variables como puntos en mapas	Predice

Por otro lado, a la hora de determinar el número óptimo de componentes principales no existe una respuesta o método único que permita identificar cuál es el número óptimo de componentes principales a utilizar, sin embargo, un método aceptado consiste en evaluar la proporción de varianza explicada acumulada y seleccionar el número de componentes mínimos a partir del cual el incremento deja de ser sustancial, por lo general, dada una matriz de datos de dimensiones $n \times p$, el número de componentes principales que se pueden calcular es como máximo de $n-1$ o p el menor de los dos valores es el limitante (Lever, 2017). Es necesario que el primer componente principal tenga la mayor varianza posible (es decir, inercia y, por lo tanto, este componente "explicará" la mayor parte de la inercia de la tabla de datos), el segundo componente se calcula bajo la restricción de ser ortogonal al primer componente y tener la mayor inercia posible (Balzarini *et al.*, 2015).

En términos generales la obtención de cada uno de los componentes principales puede realizarse por varios métodos alternativos, como, por ejemplo:

- a) Buscando el subespacio que idealmente se ajuste por el método de los mínimos cuadrados (Pearson, 1901).

- b) Buscando una combinación lineal de las variables que maximice la variabilidad (Hotelling, 1933).

Ahora con el establecimiento de los componentes principales que expliquen el modelo, surge un gráfico, donde los valores de estas nuevas variables para las observaciones se denominan puntuaciones de factores, y estas puntuaciones de factores pueden interpretarse geoméricamente como proyecciones de las observaciones sobre los componentes principales (Lever, 2017). Estos gráficos poseen pocas dimensiones para datos multivariados correspondientes a espacios de mayor dimensión, regularmente se consideran dos dimensiones y los datos se presentan en diagramas de dispersión donde los ejes son las nuevas variables construidas; denominados planos factoriales y los ejes que los conforman, "ejes factoriales"; la ordenación de las observaciones logradas a partir de estos gráficos puede luego ser correlacionada con información auxiliar; comúnmente se emplea para agrupamiento, clasificación, resumen de la información, formulación de modelos e hipótesis (Balzarini *et al.*, 2015).

Clustering jerárquico

Es un método de análisis para agrupar datos, su propósito es construir una jerarquía de grupos, basado en la distancia que hay entre cada uno de los datos, procurando que los datos que están dentro de un clúster tengan la mayor similitud entre sí y es adecuado para muestras pequeñas; Caver, 2015). El algoritmo básico de aglomeración es sencillo en primer lugar se debe:

1. Calcular la matriz de distancias ($n \times n$)
2. Dejar que cada punto de datos sea un clúster aplicando un procedimiento jerárquico tomando como referencia la mínima distancia entre ellas
3. Repetir: fusionar los dos clústeres más cercanos y actualizar la matriz de proximidad
4. Hacer la misma operación hasta que solo quede un único clúster (Thinsungnoen *et al.*, 2015).

Ahora para poder agrupar datos, es fundamental definir una forma de medir los datos y sus distancias entre sí para decidir qué elementos pertenecen a un grupo, también ayudará a interpretar las agrupaciones resultantes y a determinar cuál es el punto de corte más adecuado. Las medidas de similitud/distancia definen la proximidad y no covariación y vienen determinada por la escala de medida de las variables (ordinal o de intervalo-razón). El resultado de la técnica depende de la medida de asociación-similitud-distancia utilizada; así distintas medidas de proximidad pueden ofrecer resultados distintos, a continuación, a groso modo revisaremos las principales medidas de distancia para variables cuantitativas:

- **Euclídea** : Es la distancia en línea recta o la trayectoria más corta posible entre dos puntos, mide el parecido entre unidades de análisis que han sido evaluadas en un conjunto de variables métricas (cuantitativas).
- **Correlación de Pearson**: Por lo general se usa para calcular la asociación entre variables (rasgos) cuando la mayoría, si no es que todos, presentan más de dos estados, convirtiéndola en la más apropiada para cuantificar las distancias existentes entre columnas de la matriz.
- **Distancia métrica de Chebyshev**: Es una métrica definida en un espacio vectorial donde la distancia entre dos vectores es el mayor de sus diferencias a lo largo de cualquier dimensión de coordenadas.
- **Manhattan**: Define la distancia entre dos puntos p y q como la sumatoria de las diferencias absolutas entre cada dimensión. Esta medida es menos afectada por los valores atípicos que la distancia euclídea debido a que no eleva al cuadrado las diferencias.
- **Distancia de Minkowski**: Es una distancia en un espacio euclidiano que puede considerarse una generalización tanto de la distancia euclidiana como de la distancia de Manhattan (Demey *et al.*, 2011; Murtagh y Contreras, 2012; Vilà *et al.*, 2014).

Una vez iniciado el análisis debemos elegir la dirección con la que el algoritmo realiza el agrupamiento, de tal manera que tenemos dos opciones; a) métodos aglomerativos donde se comienza agrupando cada dato individualmente, es decir, cada dato está en su propio clúster, a cada paso los dos clústeres más cercanos se van uniendo y produciendo una jerarquía, el proceso termina cuando todos los datos están en un único clúster, b) métodos divisivos: es el proceso inverso al anterior, se parte de un único clúster que engloba todos los datos y a través de sucesivas divisiones se van formando clústeres cada vez más pequeños finalizando cuando se tienen tantas agrupaciones como datos (Vilà *et al.*, 2014).

Como resultado del análisis se puede obtener una representación gráfica del clustering jerárquico que recibe el nombre de dendrograma, básicamente es un diagrama de árbol que muestra los grupos que se forman al crear clústeres de observaciones en cada paso y sus niveles de similitud, el grado de similitud se aprecia en el eje vertical y las diferentes observaciones se especifican en el eje horizontal (Härdle y Simar, 2012; Bouza-Herrera, 2017). Se usa principalmente en una etapa exploratoria cuando se desconoce el número de grupos que se puedan formar o para encontrar el número de clústeres apropiados a partir de estos datos (Lebart *et al.*, 1997).

Las aplicaciones del uso del análisis clúster jerárquico son: el desarrollo de una tipología o clasificación (el más usado), para investigar esquemas conceptuales útiles para agrupar entidades, generar hipótesis a través de la exploración de los datos y contrastar hipótesis o intentar determinar si tipos definidos por otros procedimientos están de hecho presentes en un conjunto de datos (Thinsungnoen *et al.*, 2015). Finalmente, para determinar el número de clústeres no hay sino recomendaciones: no hay una considerada la mejor. De hecho, lo usual es fijar varios puntos iniciales (centroides, por ejemplo) y aceptar los que resulten conformados. Sin embargo, a partir de cuestiones teóricas, conceptuales o prácticas se puede establecer el número de clústeres, si existen dudas sobre el número de clústeres podemos correr un algoritmo de k-medias y aplicar una prueba estadístico para seleccionar la mejor partición (Bouza-Herrera, 2017).

Análisis de clústeres mediante el algoritmo K-medias

El algoritmo de K-medias es una operación de iteración simple y ubicable para clasificar grupos compactos. El principio es dividir n objetos de una base de datos para obtener k -clústeres; cada clúster se obtiene de evaluar la media de los objetos con la distancia más cercana, dicha media se conoce como centroide, no obstante, el número de grupos significativos no es completamente claro (Singh *et al.*, 2013) . Comúnmente se puede realizar el análisis de los grupos obtenidos de clustering jerárquico seguido de una verificación de los k -clústeres mediante k -medias. Thinsungnoen *et al.* (2015) ha demostrado que para validar los clústeres significativos se puede hacer uso del análisis de la Suma de los Errores Cuadrados (SSE del inglés, Sum of Squared Errors) obtenida al evaluar la media ponderada entre los miembros del clúster. Dado que los clústeres provienen de un clustering jerárquico donde inicialmente los datos están dispersos, al ir agrupándose en cada paso el valor SSE entre clúster debe ir disminuyendo de manera lineal, sin embargo, cuando se observa un punto de inflexión al graficar k -clúster vs SSE donde se pierde la linealidad, se considera que las variables involucradas o tipo de descriptor empiezan a influir de manera similar en la formación de clúster, mientras que los clústeres de la primera parte lineal pueden deberse a la influencia de uno o varios descriptores sobre el agrupamiento, estos resultados deben coincidir cuando se aplican al menos dos técnicas multivariadas, generalmente con los vectores obtenidos por PCA.

III. HIPÓTESIS

Si se emplea un análisis multivariado para correlacionar y comparar un grupo de descriptores fisicoquímicos de semioquímicos que estimulan a *Varroa destructor* y organismos filogenéticamente cercanos, entonces se obtendrá un modelo que permitirá clasificar su reparto ambiental y posteriormente predecir a qué clase corresponden nuevos compuestos de larvas de zánganos de *Apis mellifera* con posible actividad biológica

3. 1. Objetivo General

Construir una base de datos de semioquímicos que atraen a *V. destructor* y organismos filogenéticamente cercanos, e inferir la distribución y disponibilidad de los semioquímicos mediante el uso de descriptores moleculares fisicoquímicos y análisis multivariado

3. 2. Objetivos Específicos

1. Obtener larvas zánganos de *A. mellifera* en el estadio L5 a partir de muestreos en colmenas.
2. Obtener el extracto cetónico L5 de zánganos de *A. mellifera* y analizarlo mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
3. Construir una base de datos de semioquímicos que estimulan a *V. destructor* y a organismos filogenéticamente cercanos con hábitos parasitarios, incluyendo los obtenidos en el objetivo específico 2.
4. Modelar la estructura molecular de los semioquímicos con el software Avogadro.
5. Calcular los valores de los descriptores fisicoquímicos de las moléculas, por medio del software EPI-Suit® de la base de datos construida.
6. Realizar el análisis multivariado mediante componentes principales y agrupación jerárquica aplicado sobre la base datos de semioquímicos previamente construida.
7. Establecer el alcance del modelo de análisis para predecir el comportamiento de nuevas moléculas

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

4. 1. Obtención extracto cetónico de L5 de zánganos de *A. mellifera*

Se colectaron bastidores con cría de zánganos de abejas melíferas africanizadas de colmenas propiedad del apiario del centro de educación ambiental “Acuexcomatl” ubicado en San Luis Tlaxiátemalco, Xochimilco, CDMX, México, entre las coordenadas geográficas 19° 15' 29.66” y 19° 15' 35.06” de latitud norte; y 99° 01' 39.60” y 99° 01' 51.07” de longitud oeste (GACETA OFICIAL DEL DISTRITO FEDERAL, 2014). Se hizo un muestreo aleatorio durante los meses de abril y mayo de 2017, los bastidores seleccionados fueron envueltos en papel plástico de cocina, colocados en hieleras con gel refrigerante y fueron trasladados al laboratorio de larvas del final del quinto estadio (L5) usando como parámetro el cambio de posición que las larvas adoptan en la celda del panal. Desde L1 hasta L4 es posible tener una vista lateral de ellas, cuando llegan al final de L5 toman una posición semi-erguida; en la celda solo se puede observar una parte del dorso de ellas (Trouiller *et al.*, 1992; Carreck *et al.*, 2013).

Manualmente se rompió cuidadosamente el opérculo para extraer a las larvas sin provocar algún daño, esto con la ayuda de un pincel y pinzas entomológicas. En total se obtuvieron 120 larvas integra clasificadas como larvas de zánganos de final del quinto estadio (L5). Se introdujeron en 50 ml de acetona en un frasco de 100 ml, las larvas permanecieron sumergidas por 3 h a temperatura ambiente y posteriormente se retiraron del solvente. El volumen total de acetona se evaporó bajo una corriente constante de gas nitrógeno hasta obtener un volumen de 3 ml para su análisis por cromatografía de gases (Ferreira-Caliman *et al.*, 2012).

4. 2. Análisis del extracto cetónicos de L5 mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

El extracto cetónico de larvas de zángano L5 de *A. mellifera* fue analizado por GC-MS para identificar el número de compuestos presente en él, se usó el cromatógrafo de gases Agilent 6890 y el espectrómetro de masas 5975B en modo de detección de iones traza con un inyector de vaporizador de temperatura programable (PTV) para caracterizar metabolitos semioquímicos y compuestos oleo / aromáticos. La separación cromatográfica se realizó en una columna capilar de sílice fundida HP-5 m (0,25 mm x 30 m x 0,25 µm de espesor de

película). El extracto (2 μ L) se inyectó en modo dividido (1:50) mediante un revestimiento deflector vacío a 280° C (Agilent no. 5183-2037). La temperatura inicial fue de 50° C durante 2 min, que se elevó a 280 ° C a una velocidad de 5° C / min y finalmente se mantuvo a 280 ° C durante 3 min. La temperatura del inyector y del detector fue de 250° C y 280° C, respectivamente. Los elementos se detectaron en modo de ionización electrónica (EI) y el rango de exploración fue (m / z 40-1050) con un tiempo de ejecución de 45 min.

4. 3. Identificación y cuantificación de compuestos orgánicos volátiles

La interpretación del espectro cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se realizó utilizando la base de datos de National Institute Standard and Technology (NIST05) que consta de > 62.000 patrones. Solo los resultados con la coincidencia de calidad para compuestos individuales se informaron como el porcentaje del área total de picos en el cromatograma de iones total. El espectro del componente desconocido se comparó con el espectro del componente conocido inherente en la biblioteca NIST05 (<https://www.sisweb.com/software/ms/nist.htm>), Le Conte *et al.*, (1989) y Pherobase (<http://www.pherobase.com/>) lo que llevó a confirmar el nombre, el peso molecular y la estructura de los componentes en los extractos de *A. mellifera*.

4. 4. Generación de una base de datos de semioquímicos

Tomando en consideración el comportamiento de ectoparásito, como el que demuestra *V. destructor*, se hizo una búsqueda exhaustiva en literatura especializada para identificar y seleccionar aquellos compuestos que estimulan ya documentadamente a organismos filogenéticamente cercanos a dicho suborden Acari, entre ellos se encuentran ácaros y garrapatas. Además, se agregaron compuestos que ya han sido reportados como atrayentes para varroa provenientes de larvas de abejas obreras y zánganos de *A. mellifera*. Para realizar el análisis multivariado se utilizó la base de datos que se construyó con 159 compuestos provenientes de la literatura, de los cuales 19 de ellos también se identificaron en este trabajo. En este sentido, la información de cada uno de ellos fue consultada de la base de datos de la Pherobase (<https://www.pherobase.com/> último acceso diciembre de 2018) y su correspondiente estructura química fue descargada en formato de archivo en SDF (Estándar

Data File) o SMILE (Simplified Molecular Input Line Entry Specification) para su posterior análisis computacional. La optimización de energía se realizó con el software Avogadro (Hanwell *et al.*, 2012) utilizando el campo de fuerza MMFF94 y el método de pasos descendientes. Los archivos resultantes se guardaron en formato de archivo mol2.

4. 5. Descriptores moleculares y métodos quimimétricos

Los descriptores moleculares fisicoquímicos de las moléculas tratadas con Avogadro fueron calculados con el software EPI Suite (EPA, 2018), las constantes: log presión de vapor (V), coeficiente de Henry (H), constante de solubilidad acuosa (W), coeficiente de partición octanol agua (O) y coeficiente de partición en carbón orgánico (C) se calcularon a temperatura estándar (25 °C). En el caso del número de átomos donadores de puente de hidrógeno (nHDon), número de aceptores de puente de hidrógeno (nHacc), número de dobles enlaces (nDe) y volumen de Van der Waals (VdW) fueron obtenidos con el software openbabel (O'Boyle *et al.*, 2011).

El análisis de componentes principales, clustering jerárquico, k-media, regresiones parciales y análisis de discriminantes que se realizaron con el software OriginPro (OriginLab, 2018). El clustering jerárquico se realizó con una métrica de distancia Euclidiana de vecinos lejanos. Se probaron modelos de búsqueda de 2 a 7 clústeres principales a partir de las 5 variables fisicoquímicas, la búsqueda de centroides del clúster se realizó por suma de distancias y estos se utilizaron como punto de partida de verificación de los clústeres por análisis de k-media (k-means) en el cual cada observación es evaluada con su grupo más cercano, la distancia entre la observación y el clúster es calculado de la distancia euclidiana entre la observación y el centro del clúster de manera iterativa hasta encontrar las distancias mínimas que aglomeran los miembros de un clúster con el centroide. Se utilizó el análisis de regresión parcial del error estándar estadístico SSE (Statistic Standar Error) de los resultados de k-media para cada modelo de búsqueda de clúster principal para aclarar las clases de clústeres significativos.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. 1. Análisis del extracto cetónicos de zánganos correspondientes a L5 de *A. mellifera* mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS)

Los extractos cetónicos se analizaron por GC-MS y los picos más prominentes se analizaron semicuantitativamente. Se identificaron un total de 19 moléculas: 13 de ellas, de las que se informó anteriormente que tenían un efecto semioquímico sobre *V. destructor*. Por otro lado, se incluyeron en el conjunto de datos para el análisis de PCA; las 6 moléculas restantes que no tienen ningún efecto semioquímico previamente informado, se utilizaron para probar el potencial predictivo del PCA.

En la **Tabla 2**. se muestran los resultados de la masa molar y los descriptores fisicoquímicos de las 19 moléculas que se identificaron en este trabajo; La estructura se muestra en las **Figuras 6 y 8**. (numeración en color azul). La identificación y representación estructural de las moléculas estudiadas se realizó mediante SMILES para describir sin ambigüedades su estructura usando cadenas ASCII cortas, las SMILES pueden reconvertirse en dibujos bidimensionales o en modelos tridimensionales de las moléculas.

Tabla 2. Moléculas identificadas a partir de muestras de extracto cetónico de larvas de zángano correspondientes a L5 de *A. mellifera*. MW, masa molar. Descriptores fisicoquímicos de VHWOC: Log V, Log H, Log W, Log O, Log C, corresponden a logaritmos de la presión de vapor (V), coeficiente de Henry (H), constante de solubilidad en agua (W), coeficiente de partición octanol-agua (O) y el coeficiente de reparto del carbono orgánico (C), respectivamente. V, mm Hg; H, atm m³ / mol; W, mg / L. Todo a 25° C.

SMILE	Núm.	MW	Log V	Log H	Log W	Log O	Log C	Clúster	Referencia
<chem>CCC(C)(CC)CCCC</chem>	1	152.15	0.44	0.72	-0.01	5.10	3.04	4	Este trabajo
<chem>CCC(C)(C)CCCC(C)CC</chem>	2	142.28	-0.16	1.09	-1.40	6.50	3.74	4	Este trabajo
<chem>CCCCCCCCCCCC</chem>	3	184.36	-0.63	0.97	-0.96	6.20	3.68	4	Este trabajo
<chem>CC(C)CCCCCCC(C)C</chem>	4	170.34	0.09	0.97	-0.95	6.10	3.53	4	Este trabajo
<chem>CCCCCCC(C)CCCCCCCC</chem>	5	212.42	-1.74	1.46	-2.97	8.10	4.67	4	Este trabajo
<chem>CCCCCCC(C)CCCCCCCC</chem>	6	240.47	-1.74	1.46	-2.97	8.10	4.67	4	Este trabajo
<chem>CCC(C)CCC(C)CCCC(C)C</chem>	7	170.34	-0.89	1.34	-2.35	7.50	4.28	4	Vanhaelen <i>et al.</i> , 1980
<chem>C=CCCCCCCCCCCCC</chem>	8	226.44	-0.98	0.54	-1.92	7.10	4.20	4	Tuma <i>et al.</i> , 1980
<chem>CC(C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC</chem>	9	196.37	-2.01	1.71	-3.84	9.00	5.06	4	Ishiwari <i>et al.</i> , 2007
<chem>CC(C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC</chem>	10	254.49	-1.66	1.59	-3.34	8.50	4.80	4	Dmitryjuk <i>et al.</i> , 2015

CCCC(C)CCCCCCCCCCC	11	226.44	-1.74	1.46	-2.97	8.10	4.67	4	Ferreira- Caliman <i>et al.</i> , 2012
CC(C)CCCC(C)CCCC(C)C	12	412.69	-0.89	1.34	-2.35	7.50	4.26	4	Tuma <i>et al.</i> , 1990
SCCC(=O)CCCCCCCCCCCC	13	212.42	-4.19	-3.73	-1.07	6.20	3.89	4	Zahradníková and Bouman , 2006
O=C(O)CCCCCCCCCCC	14	242.40	-2.85	-5.03	1.11	5.00	2.50	1	Glass <i>et al.</i> , 2001
COC(=O)CCCCCCC/C=C\CCCCCCC	15	290.48	-3.94	-1.84	-2.25	8.00	4.68	4	Le Conte <i>et al.</i> , 1989
COC(=O)CCCCCCCCCCCCCCC	16	294.47	-3.32	-2.03	-2.04	7.30	4.16	4	Le Conte <i>et al.</i> , 1989
CCOC(=O)CCCCCCCCCCCCCCC	17	46.07	-3.58	-1.91	-2.43	7.70	4.42	4	Le Conte <i>et al.</i> , 1989
CCOC(=O)CCCCCCCCCCCCCCCC	18	284.48	-4.20	-1.66	-3.43	8.70	4.94	4	Le Conte <i>et al.</i> , 1989
CCOC(=O)CCCCCCC/C=C/C/C=C/C/C=C/C/CC	19	308.50	-4.89	-1.83	-2.85	8.10	4.94	4	Le Conte <i>et al.</i> , 1989

5. 2. Agrupación de PCA de los descriptores fisicoquímicos VHWOC

Como resultado de nuestro análisis se acuñó el acrónimo VHWOC que corresponde a los logaritmos de los cinco descriptores analizados, (V) corresponde al Log de la presión de vapor, (H) al coeficiente de Henry, (W) a la constante de solubilidad en agua, (O) al coeficiente de partición octanol-agua y (C) al coeficiente de reparto del carbono orgánico. Los componentes principales se calculan en función de la varianza total del conjunto de datos. La varianza acumulada mostró que los dos componentes principales, PC1=73,71% y PC2=22,77%, representan el 97% de la varianza total; lo que significa que los dos primeros componentes capturan la mayor cantidad de información de las variables usadas; la gráfica de puntuación de dos componentes principales se muestra en la **Figura 4**. Los coeficientes de correlación lineal para cada variable obtenida por PCA se pueden usar para construir una gráfica con vectores cuyos orígenes se encuentran en cero: la gráfica de carga (**Figura 4**). Esto permite realizar el análisis de la dependencia e interrelación entre las variables fisicoquímicas en un espacio dimensional, es importante señalar que el ángulo entre dos variables en una gráfica de carga es inversamente proporcional a su correlación; cuanto menor es el ángulo, mayor es la correlación. La **Figura 4**. muestra una alta correlación entre Log O y Log C, lo que significa que tales moléculas tienden a estar en un entorno fisicoquímico hidrofóbico, el entorno hidrófilo está representado por Log W, mientras que Log V y Log H son factores representativos de representan la volatilidad en un entorno gaseoso. Los puntos ubicados alrededor de los vectores se correlacionan con la propiedad; aquellos alrededor del vector Log W y que están lejos del centro de la gráfica de carga, representan moléculas solubles en agua. Aunque la

correlación con la propiedad fisicoquímica es clara para los puntos cercanos al vector, no lo es para los puntos dispersos.

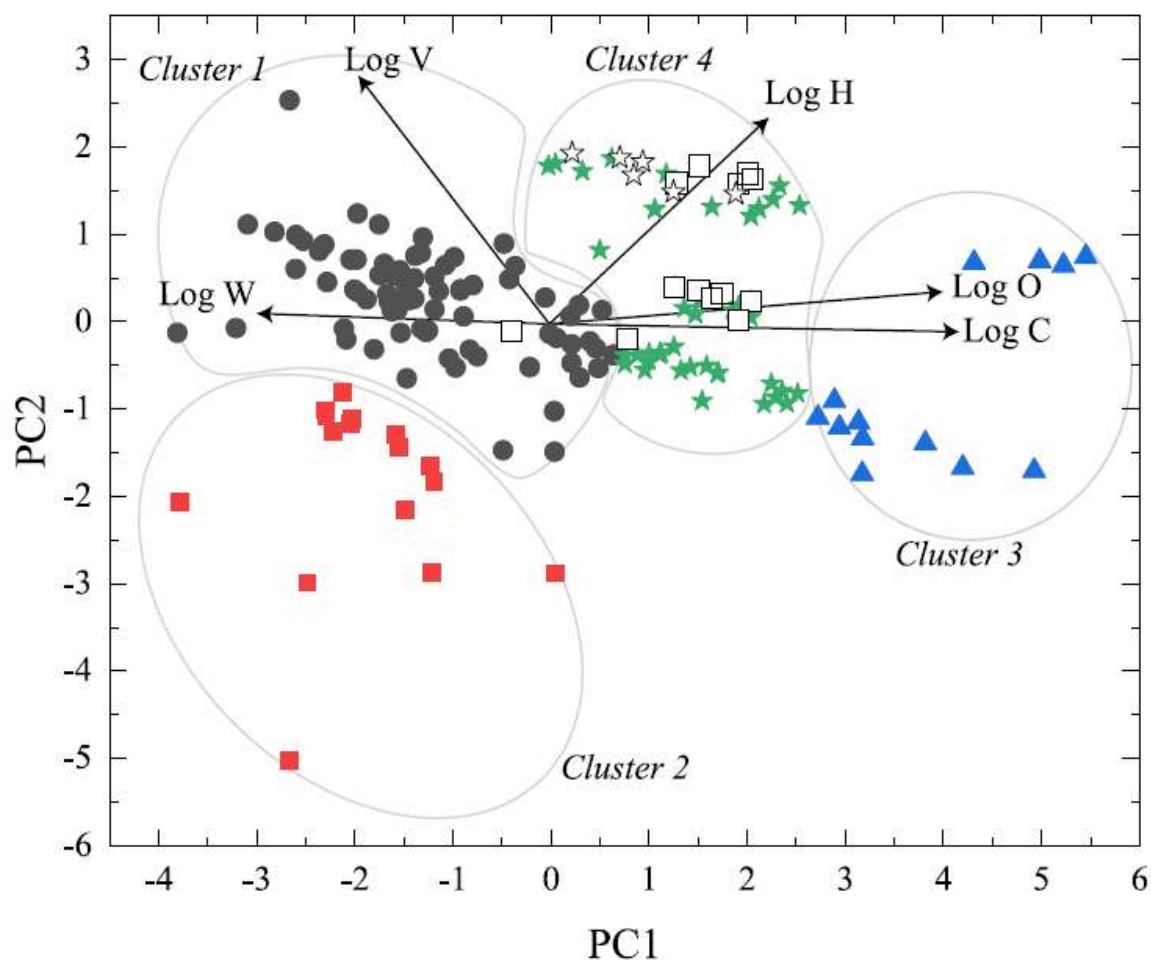


Figura 4. Gráfico de agrupación de los dos componentes principales del VHWOC PCA. Los vectores de la gráfica de carga se representan mediante flechas para cada propiedad fisicoquímica. Los círculos (negro), cuadrados (rojo), triángulos (azul) y estrellas (verde) corresponden a los grupos 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Cada grupo está encerrado con líneas grises. Los cuadrados sin relleno corresponden a los 13 semioquímicos previamente reportados, las estrellas sin relleno corresponden a las 6 nuevas moléculas; todos ellos identificados experimentalmente en este trabajo.

Por otro lado, para obtener una mejor descripción de la influencia de los factores fisicoquímicos en la distribución de PCA, se realizó un agrupamiento jerárquico seguido de un análisis de k-media de sus centroides anteriores. **La Figura 5A** muestra que, a medida que aumenta el número de agrupaciones, el análisis de la SSE disminuye, por lo que el corte de agrupamientos significativos se realizó en el grupo 4, donde se observó una inflexión de SSE (Mori *et al.*, 1995). El dendrograma de agrupamiento (**Figura 5B**) muestra que los grupos 1 y 4 contienen más miembros del conjunto de datos a diferencia de los grupos 2 y 3, que son subconjuntos más pequeños. Los miembros de los grupos 1 a 4 están enmarcados en un círculo en la

Figura 4. Estos resultados de agrupamiento permiten argumentar la correlación con los alrededores de los vectores de correlación del PCA.

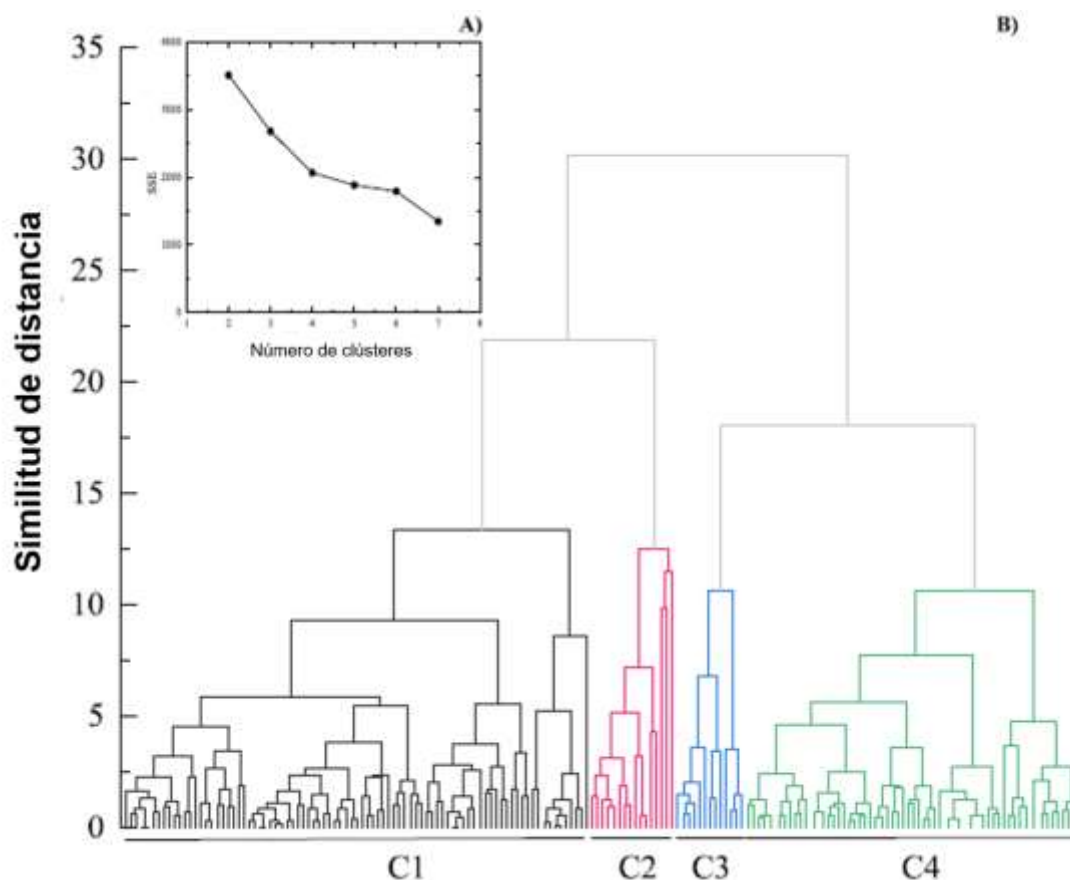


Figura 5. Agrupación jerárquica del conjunto de datos. **A)** SSE de pruebas de clústeres anteriores. **B)** Dendrograma de análisis del modelo de 4 conglomerados. C1 (negro), C2 (rojo), C3 (azul) y C4 (verde) son los grupos 1, 2, 3 y 4, respectivamente.

Dado que Log V y Log H se refieren a la volatilidad de los compuestos (**Figura 4**), se espera que pertenezcan al mismo grupo. El mismo comportamiento se observa en PCA que analizó insecticidas de acuerdo con los reportes de Gramatica *et al.*, (2004); esto se atribuye a la naturaleza química de las moléculas. Hansen *et al.*, (1993) determinaron para una serie de compuestos halogenados y anillos aromáticos que el coeficiente de Henry tiende a disminuir a medida que aumenta la solubilidad en agua, mientras que, en los alcanos, el coeficiente de Henry puede ser 10 veces mayor. Los compuestos con un coeficiente de Henry bajo y con átomos muy electronegativos, muestran una barrera energética alta para realizar un cambio de fase en un ambiente acuoso. Mientras tanto, las moléculas hidrófobas con alto coeficiente de Henry son más volátiles, lo que explica la gran cantidad de semioquímicos hidrófobos volátiles (Blum, 1996).

La **Figura 6** muestra que algunos de los miembros del grupo 1 tienen anillos únicos, anillos aromáticos y estructuras con diferentes grupos funcionales que contienen átomos muy electronegativos; en contraste con los del grupo 4, que es formado por moléculas de cadena alifática. Esto también muestra que el método de agrupamiento jerárquico que se utilizó en este trabajo da como resultado una clasificación adecuada para explicar cómo las propiedades fisicoquímicas afectan en un ambiente determinado, exhibiendo un error de asignación de miembros aceptable (**Fig. 5A**).

5. 3. Clasificación de ambientes fisicoquímicos

La agrupación de PCA del VHWOC utiliza descriptores fisicoquímicos para clasificar a los miembros de cada agrupación considerando su disponibilidad y distribución en diferentes entornos fisicoquímicos. Sobre esta base, se propone la siguiente clasificación para los semioquímicos que afectan a *V.destructor*.

5. 3. 1. Clase 1, soluble / volátil

Todos los miembros del grupo 1 están incluidos en esta clase, pueden estar en un medio acuoso o distribuidos en el aire, la clase 1 está influenciada por Log W y Log V, en este grupo se incluyen moléculas solubles en agua y volátiles, donde se pueden encontrar anillos simples, anillos aromáticos y grupos funcionales como alcoholes, ésteres, ácidos carboxílicos, aminas, amidas, cloro y bromo.

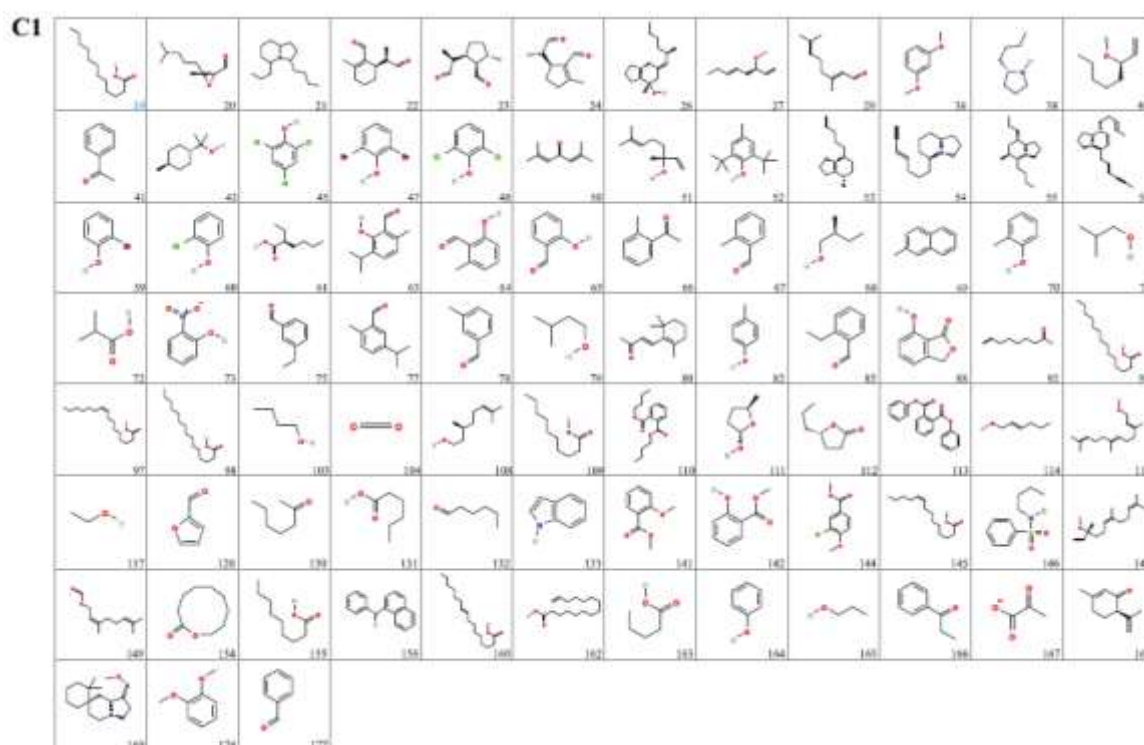


Figura 6. Estructura de semioquímicos pertenecientes a la clase 1 (C1), la molécula 14 es una nueva molécula sin actividad semioquímica reportada previamente.

En esta clase se incluye el CO_2 (104) y 2,6-diclorofenol (48), que son volátiles, pero parcialmente solubles en medios acuosos (Abrahamsson y Xie, 1983) ambas características permiten su difusión en el aire y favorecen la solubilidad en el medio acuoso de la hemolinfa y el reconocimiento por OBPs (Odorant Binding Protein) en el sistema olfatorio de ácaros. El CO_2 es un compuesto que provoca atracción a las garrapatas y les permite encontrar sitios de parasitismo y alimentación en aves de corral (Guedes *et al.*, 2005). Dado que la presión de vapor depende de la temperatura, las moléculas de CO_2 se pueden esparcir en diferentes entornos fisicoquímicos (Görgényi *et al.*, 2002) como se observa en aves de engorda, que son parasitadas por el ácaro rojo *Dermanyssus gallinae*, que detecta el aumento de CO_2 en la piel del ave durante la noche cuando lo parasita, más que durante el día cuando sube la temperatura y las aves están activas corren el riesgo de morir por desecación o por que las mismas gallinas las localicen en su cuerpo. Este efecto de la temperatura también se ha informado en garrapatas y ha permitido utilizar CO_2 en forma de hielo seco para atraer, capturar y monitorear sus poblaciones (Guedes *et al.*, 2005).

Por otro lado, 2-6, diclorofenol, un compuesto volátil, es una feromona producida por ácaros y garrapatas; se esparce en el aire y estimula la búsqueda de pareja sexual en 15 especies masculinas de garrapatas (De Bruyne y Guerin, 1994).

5. 3. 2. Clase 2, soluble

Conformado por todos los miembros del grupo 2 (C2), en el que la solubilidad favorece la distribución en un medio acuoso. Los miembros del grupo 2 incluyen bases nitrogenadas altamente solubles en agua (**Figura 7**). Otras moléculas de esta clase poseen grupos funcionales que favorecen su solubilidad, lo que concuerda con la ubicación del grupo en el vector Log W de la **Figura 5**. El ácido jasmónico (134) y la guanina (57) pertenecen a esta clase. La guanina es parte de la fase acuosa de las heces de las ninfas de garrapatas y se considera una feromona de agregación, que induce a las poblaciones de garrapatas a reunirse cerca de los nidos de los huéspedes (Grenacher *et al.*, 2001). Aunque el factor dominante en el grupo 2 es la solubilidad, el grado de certeza de los métodos de análisis se puede ver en las moléculas de los grupos " fronteras". El ácido jasmónico, volátil y parcialmente soluble en agua, se identificó en el jazmín y se propaga como una señal de que la planta está siendo atacada por insectos o ácaros fitófagos del género *Tetranychus*. En este caso, el ácido jasmónico actúa como un atrayente del ácaro depredador *Phytoseiulus persimilis* que se alimenta de *Tetranychus* (Gols *et al.*, 2001).

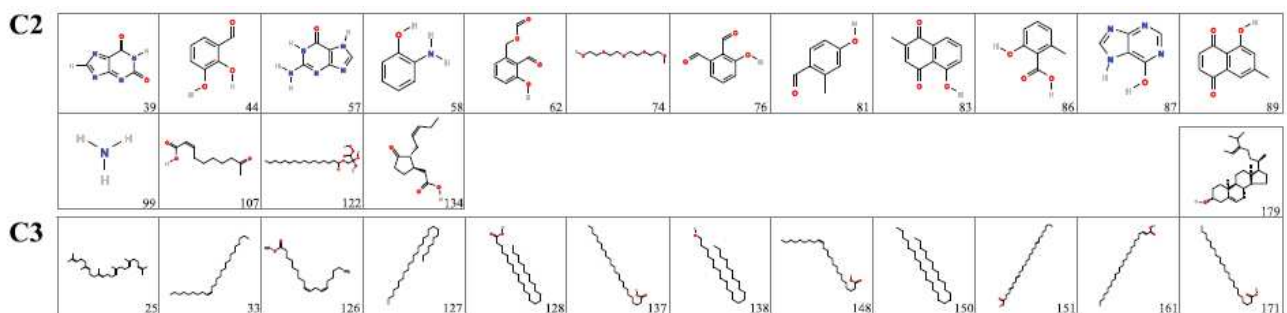


Figura 7. Estructura de semioquímicos pertenecientes a la clase 2 (C2) y 3 (C3)

5. 3. 3. Clase 3, contacto

Incluye a todos los miembros del clúster 3 (C3); estas moléculas pueden ser parte de un ambiente lipofóbico o estar incrustadas en una estructura biológica. Los semioquímicos oleosos pertenecen a esta clase. Las cadenas alifáticas lineales, algunas insaturadas, son parte de la clase 3 (**Fig. 7**). Todos los miembros de este grupo son altamente hidrofóbicos, lo cual es coherente con la influencia de las constantes de partición Log O y Log C en el PCA. La mayoría de ellos forman parte de las membranas y cutícula de los organismos involucrados en la comunicación por semioquímicos. El escualeno (25) y el linoleato de metilo (126) pertenecen a esta clase. El primero es un lípido alifático poliinsaturado conjugado que forma parte de la sangre y la piel de muchos mamíferos; actúa como un semioquímico que atrae a *Amblyomma americanum* y *Dermacentor variabilis* (Yoder *et al.*, 1993). La distribución de esta molécula es por contacto de la garrapata con la piel del mamífero y por ingestión de sangre. El linoleato de metilo es un alcano lineal alifático que se secreta en la cutícula de las larvas de *Apis mellifera* L5; actúa como un atrayente de abejas obreras para opercular la celda en la que se encuentra la larva. Sin embargo, la señal puede ser interceptada por *Varroa jacobsoni* (hoy definido como *V. destructor*), para ubicar a las larvas de este estadio y alimentarse de ellas, impidiendo que las abejas eliminen el parásito (Le Conte *et al.*, 1989).

5. 3. 4. Clase 4, adsorbida / volátil

Todos los miembros del grupo 4 son moléculas que se distribuyen por contacto entre organismos, incluye los semioquímicos que se adhieren a una estructura biológica o superficie hidrofóbica, consideramos que las condiciones del medio pueden favorecer su volatilidad. La mayoría de los miembros del grupo 4 están formados por cadenas alifáticas hidrófobas; sin embargo, algunos de ellos poseen grupos funcionales polares (**Figura 8**). La asignación de los miembros de este grupo está determinada por las propiedades hidrofóbicas y un alto coeficiente de Henry; este es un indicador de la volatilidad que deben tener los semioquímicos para su distribución (Hansen *et al.*, 1993).

Además, esto amplía la probabilidad de que las condiciones del medio permitan el tránsito entre fases de equilibrio termodinámico. El palmitato de etilo (17) y el palmitato de metilo (16) son ésteres de alquilo que están presentes en la cutícula de las larvas de zánganos L5 y se liberan al aire; atraen tanto a abejas como a su parasito *Varroa jacobsoni* (hoy *V. destructor* Anderson y Trueman, 2000) (Le Conte *et al.*, 1989). Otros miembros de esta clase son el undecano (173) y el 8 heptadeceno (13); ambas son moléculas hidrófobas y volátiles que se disipan en el aire (Garner *et al.*, 2007). Undecano es el componente principal de la feromona sexual femenina del ácaro, *Caloglyphus rodriguezi*, que induce la conducta de copulación masculina; también está presente en la cutícula del ácaro (Mori *et al.*, 1995). El 8-heptadeceno actúa como señal de alarma y / o defensa en el ácaro *Collohmannia gigantea* (Raspotnig *et al.*, 2001).

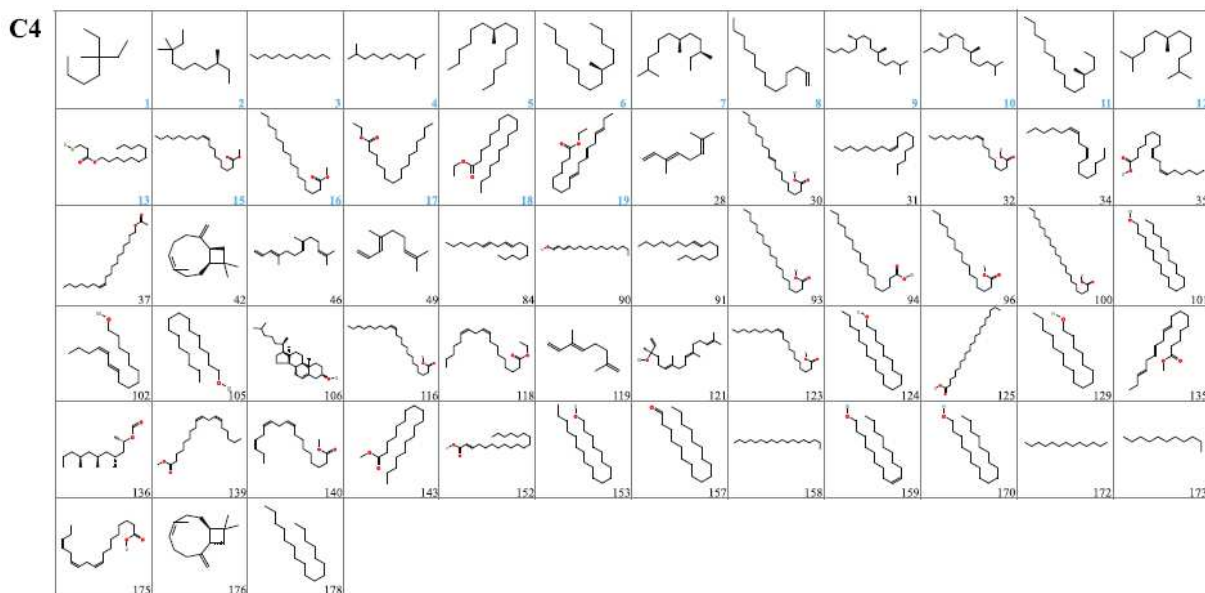


Figura 8. Estructura de semioquímicos pertenecientes a la clase 4 (C4) las moléculas 1-13 y 15-19 son moléculas nuevas sin actividad semioquímica previa.

5. 4. Alcance del modelo de análisis

Los descriptores moleculares se pueden calcular incluso usando moléculas nuevas y luego asignarlas en cualquiera de las clases propuestas, se calcularon descriptores fisicoquímicos de VHWOC para las 6 nuevas moléculas extraídas con acetona e identificadas por GC-MS en este estudio (**Tabla 2.** y **Fig. 6, 7 y 8**); luego, se clasificaron utilizando los coeficientes de PCA del conjunto de datos. Las estrellas sin relleno de la **Figura 7.** Representan las 6 nuevas moléculas y están ubicadas en el grupo 4; muestran una influencia principal del coeficiente de Henry. Según su estructura (**Figura 7**) estas moléculas alifáticas son estructuralmente similares a compuestos volátiles como el undecano o el 8-heptadeceno, 173 y 13, respectivamente (Mori *et al.*, 1995; Garner *et al.*, 2007); por lo tanto, se clasificaron como moléculas adsorbidas / volátiles. Esto sugiere que el análisis de agrupamiento de PCA del VHWOC es adecuado para ubicar las seis nuevas moléculas en una de las clases fisicoquímicas propuestas; sin embargo, se deben realizar más experimentos para determinar si existe actividad biológica del semioquímico en varroa. Los cuadrados sin relleno de la **Figura 7.** representan las 13 moléculas extraídas con acetona de las que se ha informado previamente que tienen actividad semioquímica; 12 de ellos pertenecen a la clase 4 y uno de ellos a la clase 1. A diferencia del disolvente habitual de extracción de semioquímicos, el diclorometano, en este trabajo utilizamos acetona. Su mayor índice polar nos permitió extraer 19 compuestos que recientemente fueron clasificados como hidrofóbico y seis más como volátiles. Esto demuestra la capacidad de nuestro modelo de análisis para proporcionar información adicional para la selección de solventes en extracciones semioquímicas.

VI. CONCLUSIÓN

Los semioquímicos que afectan a *V. destructor* pueden clasificarse de acuerdo con el entorno fisicoquímico en el que se pueden encontrar y distribuir utilizando el método de agrupación de PCA del VHWOC. Nuestro método tiene una capacidad predictiva para asignar nuevas moléculas a una clase fisicoquímica, pero se deben realizar bioensayos para determinar su actividad biológica. Este trabajo propone una clasificación novedosa de semioquímicos que contribuye a la descripción y comprensión de sus vías de distribución que puede extenderse a semioquímicos de diferentes organismos, incluso de plantas. Además, los resultados de este trabajo podrían usarse para diseñar nuevas estrategias de control de plagas mediante el uso de semioquímicos

VIII. ANEXOS

La base de datos de semioquímicos construida para la elaboración del análisis se puede encontrar en línea con el siguiente vínculo

[..\VarroasemDatabase.xlsx](#)

IX. REFERENCIAS

1. Aak, A., G. K. Knudsen. 2012. Egg developmental status and the complexity of synthetic kairomones combine to influence attraction behaviour in the blowfly *Calliphora vicina*. *Physiological Entomology* 37: 127-135.
2. Abdi, H. and Williams L. J. 2010. Principal component analysis. John Wiley & Sons, Inc. *WIREs Comp Stat* 2: 433–459
3. Abrahamsson, K.T. M. Xie. 1983. Direct determination of trace amounts of chlorophenols in fresh water, waste water and sea water. *Journal Chromatography* 279: 199–208.
4. Agelopoulos, N., M. A. Birkett., A. J. Hick., A. M. Hooper., J. A. Pickett., E. M. Pow., L. E. Smart., D. W. M. Smiley., L. J. Wadhams. and C. M. Woodcock. 1999. Exploiting semiochemicals in insect control. *Pesticide Science* 55: 225-235.
5. Alan, L. M. 2004. Thermodynamics of Adsorption. *Chemical Thermodynamics for Industry* – Ed. T.M. Letcher. Tercera edición. 4500 670 p.
6. Anderson, D. L y J. W. H. Trueman. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24: 165-89.
7. Anderson, D. L. 2001. Varroa-bee relationships -what they tell us about controlling varroa mites on the European honeybee. Apimondia. Proceedings of the 37th International Apicultural Congress, 28 October – 1 November 2001, to be referenced as: Proc. 37th Int. Apic. Congr. 28 Oct – 1 Nov 2001, Durban, South Africa Durban, South Africa. 5 p.
8. Aparicio, A., E. De Gerónimo., K. G. Hernández., D. Pérez., R. Portocarrero., C. Vidal. 2015. Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el Ambiente. Ediciones INTA. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria 1-73.
9. Baker, T. C and Roelofs, W. L. 1981. Initiation and termination of oriental fruit moth male response to pheromone concentrations in the field. *Environmental Entomology* 10(2): 211-218.
10. Balzarini, M., C. Bruno C., M. Córdoba y I. Teich. 2015. Herramientas en el Análisis Estadístico Multivariado. Escuela Virtual Internacional CAVILA. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina. Pp 200
11. Beaurepaire, A. L., T. A. Truong., A. C. Fajardo., T. Q. Dinh., C. Cervancia., R. F. A. Moritz. 2015. Host Specificity in the Honeybee Parasitic Mite, *Varroa* spp. in *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *PLoS ONE* 10(8): 12 p.
12. Blum, M. S. 1996. Semiochemical parsimony in the Arthropoda. *Annual Review of Entomology* 41: 353–374.

13. Boot, W. J., J. Beetsma b and Johan N. M. Calis. 1994. Behaviour of *Varroa* mites invading honey bee brood cells. *Experimental & Applied Acarology* 18: 371-379.
14. Bouza-Herrera, C. N. 2017. Una mirada a los métodos y algoritmos del análisis de clústeres. Facultad MATCOM. Universidad de La Habana. 1-19 pp.
15. Boyce, W. M and M. E. Weisenberger. 2005. The rise and fall of *Psoroptic scabies* in bighorn sheep in the San Andres Mountains, New Mexico. *Journal of Wildlife Diseases* 41(3): 525-31.
16. Bridges, C. C. Jr. 1966. Hierarchical cluster analysis. *Psychological Reporis*, 966(18): 851-854.
17. Cabrera Cordon, A. R., P. D. Shirk., A. J. Duehl., J. D. Evans., P. E. A. Teal. 2013. Variable induction of vitellogenin genes in the varroa mite, *Varroa destructor* (Anderson & Trueman), by the honeybee, *Apis mellifera* L. host and its environment. *Insect Molecular Biology* 22(1): 88–103.
18. Cande, J., B. Prud'homme and N. Gompel. 2013. Smells like evolution: the role of chemoreceptor evolution in behavioral change. *Current Opinion in Neurobiology*, 23:152–158.
19. Cappa, F., C. Bruschini., I. Protti., S. Turillazzi., R. Cervo. 2016. Bee guards detect foreign foragers with cuticular chemical profiles altered by phoretic varroa mites. *Journal of Apiculture Reserch*. 55: 268–277.
20. Carde, R. T. G. G. 2010. In *Ecology of Vector-Borne Diseases* (eds Knols, W. & Takken, B. G. J.). Wageningen Academic Publishers. 115–141.
21. Carr, A. L., M. Roe. 2016. Acarine attractants: Chemoreception, bioassay, chemistry and control. *Pestic Biochem Physiol* 131: 60–79.
22. Carreck, N. L., M. Andree., C. S. Brent., D. Cox-Foster., H. A. Dade., J. D. Ellis., F. Hatjina and D. van Englesdorp. 2013. Standard methods for *Apis mellifera* anatomy and dissection. *Standard methods for Apis mellifera anatomy and dissection*, *Journal of Apicultural Research* 52(4): 1-40.
23. Caver, R. 2015. *Systematic Trading: A unique new method for designing trading and investing systems*. HarrymanHouse. 326 p.
24. Cerqueira, C. A. C., V. L. Vicente dos Santos., L. C. Rossi., G. José de Moraes. 2015. Potential of Five Brazilian Populations of Phytoseiidae (Acari) for the Biological Control of *Bemisia tabaci* (Insecta: Hemiptera). *Journal of Economic Entomology* 108 (1): 29–33.
25. Chandrasekaran, B., S. N. Abed., O. Al-Attraqchi., K. Kuche and R. K. Tekade. 2018. Chapter 21 Computer-Aided Prediction of Pharmacokinetic (ADMET) Properties. In *Dosage Form Design Parameters Volume II*. 731-755

26. Chang, R., 1997. Química. McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A. 1098 p.
27. Chantawannakul, P., L. I. de Guzmán., J. Li., G. R. Williams. 2016. Parasites, pathogens, and pests of honeybees in Asia. *Apidologie* 47:301–324.
28. Cuadras, M. C. 2007. Nuevos Métodos de Análisis Multivariante. CMC Editions Barcelona. 241p.
29. De Bruyne, M and P. M. Guerin.1994 Isolation of 2,6-dichlorophenol from the cattle tick *Boophilus microplus*: receptor cell responses but no evidence for a behavioural response. *Journal of Insect Physiology* 40: 143–154.
30. de Miranda, J. R., L. Bailey., B. V. Ball., B. V. Blanchard., P. Budge., G. Chejanovsky., N. Chen., Y-P. Gauthier., L. Genersch., E. de Graaf., D. Ribière., M. Ryabov., E. de Smet., J. J. M. Van Der Steen. 2013. Standard methods for virus research in *Apis mellifera*. In: Dietemann, V., J. D. Ellis., P. Neumann (Eds) The COLOSS BEEBOO Volume II: Standard methods for *Apis mellifera* pest and pathogen research. *Journal of Apicultural Research* 52(4): 57p.
31. Del Piccolo, F., F. Nazzi., G. Della Vedova and N. Milani. 2010. Selection of *Apis mellifera* workers by the parasitic mite *varroa destructor* using host cuticular hydrocarbons. *Parasitology* 137: 967–973.
32. Demey, J. R., L. Pla., J. L. Vicente-Villardón., J. A. Di Rienzo., F. Casanoves. 2011. Medidas de distancia y de similitud. En: F. Casanoves., L. Pla., J. A. Di Rienzo. (Ed). Turrialba. *Valoración y análisis de la diversidad funcional y su relación con los servicios ecosistémicos*. 47-59. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE.
33. Dietemann, V., F. Nazzi., S. J. Martin., D. L. Anderson., B. Locke., K. S. Delaplane., Q. Wauquiez., C. Tannahill., E. Frey., B. Ziegelmann., P. Rosenkranz., J. D. Ellis. 2013. Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research* 52(1): 1-54.
34. Dillier, F. X., P. Guerin., P. Fluri., A. Imdorf., P. B. Meyre., M. Vlimant., P. A. Diehl. 2003. Odour-mediated transfer to brood cells of its honeybee host, *Apis mellifera*, and olfactory cell responses of *Varroa destructor* to volátiles. Schweizerisches Zentrum für Bienenforschung Centre suisse de recherches apicoles Centro svizzero di ricerche apicole. Swiss Bee Research Centre. Mitteilung Nr. 59. 14 pp.
35. Dmitryjuk, M., K. Zalewski., M. Raczkowski., K. Zóltwska. 2015. Composition of fatty acids in the *Varroa destructor* mites and their hosts, *Apis mellifera* drone-prepupae. *Annal of Parasitology* 61(1): 21–26.

36. Dhooria, M. S. 2016. *Fundamentals of Applied Acarology*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. Springer Nature. ISBN 978-981-10-1594-6 (eBook)
37. Dudek, A. Z., T. Arodz and J. Gálvez. 2006. Computational methods in developing quantitative structure-activity relationships (QSAR): a review. *Combinatorial chemistry & high throughput screening* 9(3): 213-228.
38. Echarri, L. 1998. *Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente*. Ed. Teide. 200 p.
39. El-Sayed, A. M. The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals. <http://www.pherobase.com> (accessed Feb 2017).
40. El-Shafie, H. A. F and R. Faleiro. 2017. Semiochemicals and Their Potential Use in Pest. *In: Biological Control of Pest and Vector Insects*. IntechOpen. Shields V. 1-22.
41. EPA de EE. UU. 2018. Programas de estimación Interface Suite TM para Microsoft® Windows, v 4.11 o inserte la versión utilizada]. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, Washington, DC, EE. UU.
42. Essington, M. E. 2005. *Soil and Water Chemistry: An Integrated Approach*. Crc Press. 522 p.
43. Etchegoyen, M. A., D, Marino., A. L. Capparelli. 2020. *Tópicos de química y fisicoquímica ambiental*. 1a ed. La Plata : Universidad Nacional de La Plata. EDULP. Libro digital, PDF - (Libros de cátedra) Archivo Digital: descarga ISBN 978-950-34-1879-6. 420 p.
44. Evans, J. D y R. S. Schwarz. 2011. Bee brought to their knees: microbes affecting honeybee health. *Trends in Microbiology* 19(12): 614-620.
45. FAO. 2014. *Anuario estadístico de la FAO. La Alimentación y la Agricultura en América Latina y el Caribe*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. 198 p.
46. FAOSTAT. 2014. Base de datos estadísticos. <http://faostat.fao.org/default.aspx?lang=es>.
47. Ferreira-Caliman, M. J., I. C. C. Turatti., N. P. Lopes., R. Zucchi and F. S. Nascimento. 2012. Analysis of Insect Cuticular Compounds by Non-lethal Solid Phase Micro Extraction with Styrene-Divinylbenzene Copolymers. *Journal of Chemical* 38:418–426.
48. GACETA OFICIAL DEL DISTRITO FEDERAL. 2014. Administración Pública del Distrito Federal. Corporación Mexicana de Impresión. Décima Séptima Época. No. 178. Pp 384

49. Garner, C. E., S. Smith., B. de Lacy Costello., P. White., R. Spencer., C.S.J. Probert and N. M. Ratcliffe. 2007. Volatile organic compounds from feces and their potential for diagnosis of gastrointestinal disease. *The FASEB Journal* 21: 1675–1688.
50. Garrido, C y P. Rosenkranz. 2003. The reproductive program of female *Varroa destructor* mites is triggered by its host, *Apis mellifera*. *Experimental and Applied Acarology* 31: 269–273.
51. Garrido, C., P. Rosenkranz., M. Stürmer., R. Rüksam., J. Büning. 2000. Toluidine blue staining as a rapid measure for initiation of oocyte growth and fertility in *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 31: 559–566.
52. Gawlik, B. M., N. Sotiriou., E. A. Feicht., S. Schulte-Hostede and A. Kettrup. 1997. Alternatives for the Determination of the Soil Adsorption Coefficient, Koc, of Non-Ionicorganic Compounds - A Review. *Chemosphere* 34(12): 2525-2551.
53. Genersch, E y M. Aubert. 2010. Emerging and re-emerging viruses of the honeybee (*Apis mellifera* L.) *Veterinary Research* 41(6): 54.
54. Gisder, S y E. Genersch. 2015. Special Issue: Honeybee Viruses. *MPDI. Viruses* 7: 5603–5608
55. Glass, E. V., G. R. Needham, J. A. Yoder. 2001. Evaluation of possible arrestant-aggregation pheromones in the American house dust mite, *Dermatophagoides farinae* Hughes (astigmata: Pyroglyphidae). *International Journal of Acarology* 27(1): 63–66.
56. Godden, J. W., F. L. Stahura, and J. Bajorath. 2000. Variability of Molecular Descriptors in Compound Databases Revealed by Shannon Entropy Calculations. *The*
57. Gols, R., M. Roosjen., H. Dijkman., M. Dicke. 2003. Induction of direct and indirect plant responses by jasmonic acid, low spider mite densities, or a combination of jasmonic acid treatment and spider mite infestation, *Journal of Chemical Ecology* 29(12): 2651–2666.
58. Görgényi, M., J. Dewulf., H. Van Langenhove. 2002. Temperature dependence of Henry's law constant in an extended temperature range, *Chemosphere* 48: 757–762.
59. Goulson, D., E. Nicholls., C. Botías., E. L. Rotheray. 2015. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science* 347(6229): 1-10.
60. Grabe, V., S. Sachse. 2018. Fundamental principles of the olfactory code. *BioSystems* 164: 94–101.
61. Gramatica, P and A. Di Guardo. 2002. Screening of pesticides for environmental partitioning tendency. *Chemosphere* 47: 947-956.

62. Gramatica, P., E. Giani., E. Papa. 2007. Statistical external validation and consensus modeling: A QSPR case study for Koc prediction. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 25: 755–766.
63. Gramatica, P., E. Papa and B. Francesca. 2004. Ranking and classification of non-ionic organic pesticides for environmental distribution: a qsar approach, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 84(1-3): 65-74.
64. Grenacher, S., T. Kröber., P.M. Guerin., M. Vlimant. 2001. Behavioural and chemoreceptor cell responses of the tick, *Ixodes ricinus*, to its own faeces and faecal constituents. *Experimental and Applied Acarology* 25(8):641–660.
65. Grisoni, F., D. Ballabio, R. Todeschini and V. Consonni. 2018. Molecular Descriptors for Structure–Activity Applications: A Hands-On Approach. In: Orazio Nicolotti (ed.). *Computational Toxicology: Methods and Protocols*, *Methods in Molecular Biology*, vol. 1800. Humana Press Pp 3-51.
66. Guedes, E., R. C. Leite., M. C. A. Prata., R. C. Pacheco., D. H. Walker., M. B. Labruna. 2005. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas gerais, *Mem. Instituto Oswaldo Cruz* 100: 841–845.
67. Guidobaldi, F. y P. Guerenstein. 2012. El Sistema Olfativo de los Insectos, 46-71. En: J. C. Rojas y E. A. Malo (eds.). *Temas Selectos en Ecología Química de Insectos*. El Colegio de la Frontera Sur. Mexico. 446 p.
68. Gupta, K. R y D. Sharma. 2014. Parasitology of Bees. In *Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security*. Vol. 1: Technological Aspects of Beekeeping. Kumar. G. R., W. Reybroeck., J.W. van Veen., A. Gupta. Springer. 649 p.
69. Hansen, K. C., Z. Zhou., C. L. Yaws., T. M. Aminabhavi. 1993. Determination of Henry's law constants of organics in dilute aqueous solutions. *Journal of Chemical and Engineering Data* 38: 546–550.
70. Hanwell, M. D., D. E. Curtis., D. C. Lonie., T. Vandermeersch., E. Zurek y G. R. Hutchison. 2012. Avogadro: An Advanced Semantic Chemical Editor, Visualization, and Analysis Platform. *Journal of Cheminformatics* 4:17.
71. Härdle, W. K and L. Simar. 2012. Cluster Analysis. In *Applied Multivariate Statical Analysis*. Springer, Berlin, Heidelberg. Pp 331-349
72. Häußermann, C. K., B. Ziegelmann., P. Bergmann., P. Rosenkranz. 2015. Male mites (*Varroa destructor*) perceive the female sex pheromone with the sensory pit organ on the front leg tarsi. *Apidologie* 46: 771–778.
73. Hepburn, H. R. y S. E. Radloff. 2011. Biogeography *In: Honeybees of Asia*. Hepburn, H. R. y S. E. Radloff. Springer Berlin Heidelberg. 51-67.

74. Heuskin, S., F. J. Verheggen., E. Haubruge., J.-P. Wathelet., G. Lognay. 2011. The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 15(3): 459-470.
75. Hodson and N. A. Williams. 1988. The estimation of the adsorption coefficient (K_{OC}) for soils by high performance liquid chromatography. *Chemosphere*, Vol.17(1): 67-77
76. Hotelling, H. 1933. Analysis of a complex of statistical variables into principal components. *Journal Educ. Psychol.* 24: 417- 441.
77. Iovinella, I., A. McAfee., G. Mastrobuoni., S. Kempa., L. J. Foster., P. Pelosi., F. R. Dani. 2018. Proteomic analysis of chemosensory organs in the honey bee parasite *Varroa destructor*. A comprehensive examination of the potential carriers for semiochemicals. *Journal of Proteomics* 181: 131-141.
78. Ishiwari, H., T. Suzuki., T. Maeda. 2007. Essential compounds in herbivore-induced plant volatiles that attract the predatory mite *Neoseiulus womersleyi*. *Journal of Chemical Ecology* 33: 1670–1681.
79. Jolliffe, I. T. 2002. *Principal component analysis*, 2nd edn. New York, NY: Springer-Verlag.
80. Jolliffe, I. T. and J. Cadima. 2016. Principal component analysis: a review and recent developments. *Phil. Trans. R. Soc. A* 374: 20150202. <http://dx.doi.org/10.1098/rsta.2015.0202>
81. Kallenbach, M., Y. Oh., J. E. Eilers., D. Veit., I. T. Baldwin., M. C. Schuman. 2014. A robust, simple, high-throughput technique for time-resolved plant volatile analysis in field experiments. *The Plant Journal* 78(6):1060-1072.
82. Kanga, L. H. B., J. Adamczyk., K. Marshall., R. Cox. 2010b. Monitoring for resistance to organophosphorus and pyrethroid insecticides in *Varroa* mite populations. *Journal Economic Entomology* 103: 1797–1802.
83. Kaupp, U. B. 2010. Olfactory signalling in vertebrates and insects: differences and commonalities. *Nature Reviews Neuroscience* 11: 188-200.
84. Killeen, G. F. 2014. Characterizing, controlling and eliminating residual malaria transmission. *Malaria Journal* 13(330): 1-22.
85. Klöpffer, W., G. Rippen and R. Frische. 1982. Physicochemical Properties as Useful Tool for Predicting the Environmental Fate of Organic Chemicals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 6: 294-301.

86. Kost, C. 2008. Chemical Communication. En Sven Erik Jørgensen y Sven Erik Jørgensen Brian D. Fath. Encyclopedia Ecology. 557-575.
87. Kumar, G. R y D. Sharma. 2014. Parasitology of Bees. *In*. Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security Vol. 1: Technological Aspects of Beekeeping. Gupta, R. K., Wim Reybroeck Johan W. van Veen Anuradha Gupta. Springer. pp 281-285.
88. Le Conte, Y and G. Arnold. 1987. The effects of the age and temperature of honeybees on the behaviour of *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 18: 305–320.
89. Le Conte, Y., G. Arnold. 1987. Influence de l'age des abeilles (*Apis Mellifera* L.) et de la chaleur sur le comportement de *Varroa jacobsoni* oud, *Apidologie* 18: 305–320.
90. Le Conte, Y., G. Arnold., J. Trouiller., C. Masson., B. Chappe., G. Ourisson, G. 1989. Attraction of the parasitic mite *Varroa* to the drone larvae of honeybees by simple aliphatic esters. *Science* 245: 638–639.
91. Leal, S. W. 2013. Odorant Reception in Insects: Roles of Receptors, Binding Proteins, and Degrading Enzymes. *Annual Review Entomology* 58: 373–91.
92. Lebart, L., A. Morineau., N. Tabard. 1977. *Techniques de la description statistique*. Dunod, Paris.
93. Lever, J., M. Krzywinski and N. Altman. 2017. Points of significance Principal component analysis. *Nature Methods* 14(7): 641-642.
94. Leonovich, S. A. 1998. Palpal receptor organ of gamasid mites. *Parazitologiya* 32: 258-263
95. Leonovich, S. A. 2012. The Main Evolutionary Trends in Sensory Organs and questing Behavior of Parasitiform Ticks and Mites. *Entomological Review* 93(9): 1190-1195
96. Lewis, W. J., I. Richard., H. R. Jones., Jr. Gross and D. A. Nordlund. 1976. The role of kairomones and other behavioral chemicals in host finding by parasitic insects. *Behavioral biology* 16: 267-289.
97. Lindquist, E. E., G. W. Krantz., D. E. Walter. 2009. Order Mesostigmata. *In*. A manual of acarology. Walter, G. W y D. E. Krantz (Eds). Texas Technical University Press. pp 124-232.
98. Linnaeus, C. 1758. ITIS Bees: World Bee Checklist in the Catalogue of Life in the Catalogue of Life Partnership: Catalogue of Life. doi:10.15468/rffz4x Accessed via <http://www.gbif.org/species/110189267> on 2016-11-06
99. Liu, R., X. He., S. Lehane., M. Lehane., C. Hertz-Fowler., M. Berriman., L. M. Field., J-J. Zhou. 2012. Expression of chemosensory proteins in the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans* is related to female host-seeking behaviour. *Insect Molecular Biology* 21:41–48.

100. López-Riquelme, G. O. 2014. Representación odotópica de la organización glomerular del lóbulo antenal en los cuerpos fungiformes de las hormigas (Hymenoptera: Formicidae): comparaciones entre dos especies. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 17(1):15-31.
101. Mackay, D., S. Paterson., B. Cheung., W. B. Neely. 1985. Evaluatin the Environmental Behavior of Chemical with a Level III Fugacity Model. *Chemosphere* 14(3/4): 335-374.
102. Maggi, M., K. Antúnez., C. Invernizzi., P. Aldea., M. Vargas., P. Negri., C. Brasesco., D. De Jong., D. Message., E. W. Teixeira., J. Principal., C. Barrios., S. Ruffinengo., R. Rodríguez Da Silva., M. Eguaras. 2016. Honeybee health in South America. *Apidologie* 20 p.
103. Maxim, L. y J. P. van der Sluijs. 2013. Seed-dressing systemic insecticides and honeybees. *In Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation.* 401–438, ed. European Environment Agency. European Environment Agency (EEA) report 1/2013, Copenhagen.
104. McMenamin, A. J y E. Genersch. 2015. Honey bee colony losses and associated virus. *Current Opinion in Insect Science* 8: 121–129.
105. Meinwald, J. y T. Eisner. 2008. Chemical ecology in retrospect and prospect. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 105: 4539 – 40
106. Meneses, J. 2019. Introducción al análisis multivariante. FUOC (ed.) Barcelona 55 p
107. Mensah, K. R y C. Moore. 2011. Exploitation of semiochemicals for the management of pest and beneficial insects with special emphasis on cotton cropping systems in Australia: A Review. *Journal of Biological Control* 25(4): 253-269.
108. Meylan, W. M and P. H. Howard. 1994. Atom / Fragment Contribution Method for Estimating Octanol-Water Partition Coefficients. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 84(1): 83-92.
109. Mollo, E., A. Fontana., V. Roussis., G. Polese., P. Amodeo., T. Ghiselin. 2014. Sensing marine biomolecules: smell, taste, and the evolutionary transition from aquatic to terrestrial life. *Frontiers in Chemistry* 2(92): 1-6.
110. Mollo, E., M. J. Garson., G. Polese., P. Amodeo., M. Ghiselin. 2017. Taste and smell in aquatic terrestrial environments. *Natural Product Reports* 34: 496-513.
111. Montasser, A. A. 2006. Scanning Electron Microscopic Observations on male *Echinolaelaps echidninus* (Berlese, 1887) (Dermanyssoidea: Laelapidae) with emphasis on its Gnathosoma, palpal organ and pulvilli. *International Journal of Zoological Research* 2(3): 204-212.

112. Mori, N and K. Noge. 2021. Recent advances in chemical ecology: complex interactions mediated by molecules. *Bioscience, Biotechnology And Biochemistry* 85(1): 33-41.
113. Mori, N., Y. Kuwahara., K. Kurosa., R. Nishida., T. Fukushima. 1995. Chemical Ecology of Astigmatid Mites XLI Undecane: the sex pheromone of the acarid mite *Caloglyphus rodriguezii* SAMSINAK (Acarina: Acaridae). *Applied Entomology and Zoology* 30: 415-423.
114. Murtagh, F and P. Contreras. 2012. Algorithms for hierarchical clustering: an overview. *WIREs Data Mining Knowl Discov* 2: 86-97.
115. Navajas, M., D. L. Anderson., L. I. de Guzmán., Z. Y. Huang., J. Clement., T. Zhou., Y. Le Conte. 2010. New Asian types of *Varroa destructor*: a potential new threat for world apiculture. *Apidologie* 41: 181-193.
116. Nazzi, F and Y. Le Conte. 2016. Ecology of *Varroa destructor*, the Major Ectoparasite of the Western HoneyBee, *Apis mellifera*. *Annual Review of Entomology* 61: 417-32.
117. Norin, T. 2007. Semiochemicals for insect pest management. *Pure and Applied Chemistry* 79 (12): 2129-2136.
118. O'Boyle, N. M., M. Banck., C. A. James., C. Morley., T. Vandermeersch and G. R. Hutchison. 2011. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics* 3(33): 1-14.
119. Origin(Pro), Version 2018). OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA.
120. Pageat, P. 2005. Allomone repulsive and kairomone attractive compositions for controlling arachnids. US Patent No. 20050137119 A1.
121. Pearson, K. 1901 On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *Phil. Mag.* 2: 559-572.
122. Peña, J. M., A.J. Lozano., P. Larrañaga. 1999. An empirical compararion of four initialization methods for the *K*-Means algorithm. *Pattern REcognition Letters* 20: 1027-1040.
123. Peña, D. 2002. *Análisis de datos multivariantes*. Madrid: McGraw-Hill. 539 p.
124. Perna, J y M. Aksela. 2011. Learning Organic Chemistry through a Study of Semiochemicals. *Journal of Chemical Education* 88: 1644-1647.
125. Pimentel, D and C. A. Edwards. 1982. Pesticides and Ecosystems. *BioScience*, 32 (7): 595-600.
126. Pinto, F. A., A. Puke., L. M. R. C. Barreto., D. Message. 2012. The ectoparasite mite *Varroa destructor* Anderson and Trueman in southeastern Brazil apiaries: effects of the hygienic behavior of Africanized honeybees on infestation rates. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 64(5):1194-1199.

127. Piou, V., J. Tabart., V. Urrutia., J-L. Hemptinne., A. Vétillard. 2016. Impact of the phoretic phase on reproduction and damage caused by *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) to its host, the European honeybee (*Apis mellifera* L.). PLOS ONE 11(4): 15 p.
128. Rajchard, J. 2013. Kairomones-importan substance in interspecific comunication in vertebrates: a review. Veterinari Medica 58(11): 561-566.
129. Ramsey, S. D., R. Ochoab., G. Bauchanc., C. Gulbronsond., J.D. Moweryc, A. Cohene., D. Lima., J. Joklika., J. M. Cicerof., J. D. Ellisf., D. Hawthornea and D. van Engelsdorpa. 2019. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. PNAS 116(5): 1792–1801.
130. Raspotnig, G., R. Schuster., G. Krisper., G. Fauler., H. J. Leis. 2001. Chemistry of the oil gland secretion of *Collohmannia gigantea* (Acari: Oribatida). Experimental and Applied Acarology 25: 933–946.
131. Renthall, R., L. Manghnani., S. Bernal., Y. Qu., W. P. Griffith., K. Lohmeyer., F. D. Guerrero., L. M. F. Borges and A. Pérez de León. 2017. The chemosensory appendage proteome of *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) reveals putative odorant-binding and other chemoreception-related proteins. Insect Science 24: 730–742
132. Roberts, J. M., D. L. Anderson., W. T. Tay. 2015. Multiple hosts shifts by the emerging honeybee parasite, *Varroa jacobsoni*. Molecular ecology 24: 2379–2391.
133. Rodgers, R. C and G. E. Hill. 1978. Equation for Vapor Pressure versus Temperature: Derivation and use of the Antoine Equation on a Hand- Held Programmable Calculator. Brotosh Journal of Anaesthesia 50: 415-424.
134. Rosenkranz, P., P. Aumeier y B. Ziegelmann. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. Journal of Invertebrate Pathology 103: 96–119.
135. Roth, M. A., J. M. Wilson., K. R. Tignor and A. D. Gross. 2020. Biology and Management of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies. Journal of Integrated Pest Management 11(1): 1–8.
136. Saavedra, R. L. M. 2020. Aplicaciones Biológicas de la Teoría QSAR en el control del mosquito *Aedes aegypti* L. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Exactas. Departamento de Química. Capítulo dos
137. Sabelis, M. W., A. Janssen., J. Takabayashi. 2011. Can plants evolve stable alliances with the enemies of enemies?. Journal of Plant Interact 6:71–75

138. Schwarzenbach, R. P., P. M. Gschwend., D. M. Imboden. 2005. Environmental Organic Chemistry, 2nd Edition Equilibrium Partitioning Between Gaseous, Liquid, and Solid Phases
139. Seeley, T. D and M. L. Smith. 2015. Crowding honeybee colonies in apiaries can increase their vulnerability to the deadly ectoparasite *Varroa destructor*. *Apidologie* 46: 716- 727.
140. Singh, A., A. Yadav., A. Rana. 2013. K-means with Three different Distance Metrics. *International Journal of Computer Applications* 67(10): 13-17.
141. Sharma, D. and D. P. Abrol. 2014. Role of Pollinators in Sustainable Farming and Livelihood Security. En R. K. Gupta, W. ReyBroeck, J. W. van Veen, y A. Gupta (Eds.), *Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security* (pp. 379-411). Netherlands: Springer.
142. Sharma, K. R., L. B. Enzmann., Y. Schmidt., D. Moore., G. R. Jones., J. Parker., S. L. Berger., D. Reinberg., L. J. Zwiebel., B. Breit., J. Liebig and A. Ray. 2015. Cuticular Hydrocarbon Pheromones for Social Behavior and Their Coding in the Ant Antenna. *Cell Reports* 12: 1261–1271.
143. Sharma, R. K., L. B. Enzmann., Y. Schmidt., D. Moore., G. R. Jones., J. Parker., S. L. Berger., D. Reinberg., L. J. Zwiebel., B. Breit., J. Liebig y A. Ray. 2015. Cuticular Hydrocarbon Pheromones for Social Behavior and Their Coding in the Ant Antenna. *Cell Reports* 12: 1261–1271.
144. Shorey, H. H., R. S. Kaae y L. K Gaston. 1974. Sex pheromones of Lepidoptera: development of a method for pheromonal control of *Pectinophora gossypiella* in cotton. *Journal of Economic Entomology* 67: 347–350.
145. Soler-Cruz, M. D., M. C. Vega Robles., J. B. Jespersen., O. Kilpinen., M. Birkett., S. Dewhirst., J. Pickett. 2005. Scanning electron microscopy of foreleg tarsal sense organs of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (DeGeer) (Acari:Dermanyssidae). *Micron* 36: 415–421.
146. Sonenshine, 2006. Tick pheromones and their use in tick control. *Annual Review of Entomology* 51:557–80.
147. Sonenshine, D. E., D. Taylor and K. A. Carson. 1985. Chemically mediated behavior in acari: Adapations for finding hosts and mates. Plenum Publishing Corporation. Pp 1091-1107.
148. Speight, J. G. 2017. Chapter 1 Chemicals and the Environment. *In Environmental Organic Chemistry for Engineers*. Butterworth-Heinemann, Elsevier. 1-41 pp.
149. Steiner, J. 1993. Verteilung von *Varroa jacobsoni* im drohnenfreien Bienenvolk (*Apis mellifera carnica*). *Apidologie* 24: 45–50.

150. Steiner, J., F. Dittmann., P. Rosenkranz and W. Engels W. 1994. The first gonocycle of the parasitic mite (*Varroa jacobsoni*) in relation to preimaginal development of its host, the honey bee (*Apis mellifera carnica*). *Inv. Reprod. Dev.* 25: 175–183.
151. Tao, S and X. Lu. 1999. Estimation of Organic Carbon Normalized Sorption Coefficient (*K_{oc}*) for soils by Topological Indices and Polarity Factors. *Chemosphere* 39(12): 2019-2034
152. Termtanasombat, M., H. Mitsuno., N. Misawa., S. Yamahira., T. Sakurai., S. Yamaguchi., T. Nagamune., R. Kanzaki. 2016. Cell-Based Odorant Sensor Array for Odor Discrimination Based on Insect Odorant Receptors. *Journal Chemical Ecology* 42:716–724.
153. Thinsungnoen, T., N. Kaoungku., P. Durongdumronchai., K. Kerdprasop., N. Kerdprasop. 2015. The clustering validity with silhouette and sum of squared errors. *Iciae2015*. The Institute of Industrial Applications Engineers, pp. 44–51.
154. Todeschini, R., Consonni, V., 2000. *Handbook of Molecular Descriptors*, Wiley-VCH. 667 p.
155. Touhara, K and L. B. Vosshall. 2009. Sensing Odorants and Pheromones with Chemosensory Receptors. *The Annual Review of Physiology* 71:307–32.
156. Trouiller, J., G. Arnold., B. Chappe., Y. Le Conte and C. Masson. 1992. Semiochemical basis of infestation of honey bee brood by *Varroa jacobsoni*, *Journal of Chemical Ecology* 18: 2041–2053.
157. Tuma, D., R. N. Sinha., W. E. Muir., D. Abramson. 1990. Odor volatiles associated with miteinfested bin-stored wheat. *Journal of Chemical Ecology* 16(3): 713–724.
158. Tyler Miller, G., 2007. *Ciencia Ambiental/ Environmental Science: Desarrollo sostenible, un enfoque integral*. Octava Edición. Cengage Learning Editores.
159. van der Sluijs, J. P y N. S. Vaage. 2016. Pollinators and Global Food Security: The Need for Holistic Global Stewardship. *Food ethics* 1: 75–91.
160. van Dooremalen, C., E. Stam., L. Gerritsen., B. Cornelissen., J. van der Steen., F. van Langevelde., T. Blacquiere. 2013. Interactive effect of reduced pollen availability and *Varroa destructor* infestation limits growth and protein content of young honeybees. *Journal Insect Physiology* 59: 487–493.
161. Van Leeuwen, T., L. Tirry., A. Yamamoto., R. Nauen., W. Dermauw. 2015. The economic importance of acaricides in the control of phytophagous mites and an update on recent acaricide mode of action research. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121:12-21.
162. van Lexmond, M. B., J. M. Bonmatin., D. Goulson., D. A. Noome. 2015. Worldwide integrated assessment on systemic pesticides. *Environmental Science and Pollution* 22: 1-4.

163. Vanhaelen, M., R. Vanhaelen-Fastré., J. Geeraerts.1980. Occurrence in mushrooms (Homobasidiomycetes) of cis- and trans-octa-1,5-dien-3-ol, attractants to the cheese mite *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Acarina, Acaridae), *Experientia* 36: 406–407.
164. Vega-Dienstmaier, J. M y J. M. Arévalo-Flores. 2014. Clasificación mediante análisis de conglomerados: un método relevante para la psiquiatría. *Revista de Neuro-psiquiatría* 77(1): 31-39.
165. Vilà-Baños, R. M. J. Rubio-Hurtado., V. Berlanga-Silvente y M. Torrado-Fonseca. 2014. Cómo aplicar un cluster jerárquico en SPSS. [En línea] REIRE, *Revista d'Innovació i Recerca en Educació*, 7 (1): 113-127. Accesible en: <http://www.ub.edu/ice/reire.htm>
166. Wold, S. 1987. Principal Component Analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2: 37-52.
167. www.agilent.com/chem/supplies: Agilent Zorbax ODS. <http://www.agilent.com/en-us/products/gas-chromatography/gc-systems>.
168. www.restek.com/gcinstall: RESTEK innovation chromatography solutions.
169. Xue, L. and J. Bajorath. 2000. Molecular Descriptors in Chemoinformatics, Computational Combinatorial Chemistry, and Virtual Screening. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* 3: 363-372.
170. Yalkowsky, S. H and S. Banerjee. 1992. *Aqueous Solubility: Methods of Estimation for Organic Compounds*. Marcel Dekker, Inc., New York, 1992, p. 142.
171. Yoder, J. A., J. L. Domingus., G. C. Luerman. 2003. Uric acid-induced arrestment as a possible bird host cue (kairomone) in nymphs and adults of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (L.). *International Journal of Acarology* 29: 399–402.
172. Yoder, J. A., R.J. Pollack., A. Spielman., D. E. Sonenshine., D. E. Johnstons. 1993. Secretion of squalene by ticks, *Journal of Insect Physiology* 39(4): 291–296.
173. Zahradnícková, H and E. A. P. Bouman. 2006. Optimization of the solid-phase microextraction method in the determination *ofloxodes ricinus* (L.) volátiles. *Journal of Separation Science* 29: 236–241.
174. Zeman, P. 1988. Surface skin lipids of birds – a proper host kairomone and feeding inducer in the poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae*. *Experimental and Applied Acarology* 5: 163–173.