

MECANISMOS DE TOLERANCIA DE LAS ABEJAS MELIFERAS A LA VARROOSIS

Fernando Calatayud Tortosa

Frederick Sabaté Arocas

Servicios Técnicos de apiADS

2025



INTRODUCCION.

A finales del siglo XIX, abejas pertenecientes a la especie occidental *Apis mellifera* ya fueron llevadas a Japón con el objetivo de aumentar la producción de miel. Durante la primera mitad del siglo XX, estas abejas alóctonas llegaron a otras zonas de Asia y Oceanía, entrando en contacto con especies de abejas nativas de estas regiones, sobre todo con *Apis cerana*, la más ubicua y con una biología similar a *Apis mellifera*^{84,90}. Hay que tener en cuenta que, de forma natural, no se hubiera producido este contacto por lejanía geográfica y por impedimentos orográficos. En particular, la especie de abejas asiáticas *Apis cerana* albergaba ácaros ectoparásitos que no existían en las abejas occidentales y uno de ellos, perteneciente al género *Varroa*, se adaptó progresivamente a un huésped inesperado. En 1952, se produjo el primer salto de

huésped de este ácaro parásito de *A. cerana* a *A. mellifera* en el este de Rusia, cerca de la península de Corea⁶⁹. Se asume que un suceso similar ocurrió por segunda vez en Japón en 1957⁶⁹. En principio, el nuevo parásito que saltó de la especie *A. cerana* a *A. mellifera* fue descrito como *Varroa jacobsoni*, aunque posteriormente, después de aplicar análisis morfométrico y de ADN mitocondrial, se estableció que los ácaros encontrados pertenecían a otra especie de morfología y biología muy similar que también parasitaba a las abejas asiáticas, denominada *Varroa destructor* a partir del año 2000^{2,90}. Desde mediados del siglo XX, el ácaro *V. destructor* se ha difundido progresivamente por todo el mundo, con predominancia del haplotipo más nocivo, el Coreano². En la siguiente Tabla se expone una secuencia cronológica de la difusión de *V. destructor* sobre la especie *A. mellifera*.

ASIA:	Primera detección
JAPON	1957
CHINA	1959
INDIA	1961
AMERICA:	
PARAGUAY	1971
BRASIL	1972
ARGENTINA	1976
ESTADOS UNIDOS	1987
VENEZUELA	1991
MEJICO	1992
EUROPA:	
ALEMANIA	1977
FRANCIA	1982
ESPAÑA	1985
INGLATERRA	1992
AFRICA:	
LIBIA	1976
ARGELIA	1981
EGIPTO	1983
KENIA	1997
SUDAFRICA	2009
OCEANIA:	
NUEVA ZELANDA	2000
AUSTRALIA	2022

TABLA 1.- Difusión mundial de *V. destructor* sobre *A. mellifera*^{9,29,48,80,84,91}.

Los efectos de la parasitación por varroa en la mayoría de las subespecies pertenecientes a *A. mellifera* han sido traumáticos, debido a que estas abejas no tenían mecanismos para defenderse eficazmente de este ácaro. Este ectoparásito se alimenta de las pupas de las abejas en su fase reproductiva^{43,92}, actúa como vector de virus^{18,27}, expolia el cuerpo graso de las abejas adultas⁷⁷ y, con el tiempo, provoca una elevada mortalidad de cría y abejas que acaba con el colapso de la colonia en 1 a 3 años, dependiendo de la presencia anual de cría que viene marcada por el clima de cada área geográfica^{9,26,54}. Como consecuencia, la práctica de la apicultura ha sufrido una profunda conmoción al ritmo de la difusión de la varroosis, con mayor impacto en las regiones donde las subespecies de abejas melíferas son de origen europeo. A su paso, el ácaro *Varroa destructor* ha ido provocando unos niveles inusualmente elevados de mortalidad en las colmenas de cada país, así como una drástica disminución del rendimiento de la actividad apícola^{62,84,88,91}.

Para atenuar los efectos graves de este parásito de las abejas, los apicultores han recurrido reiteradamente a tratamientos acaricidas, que suponen una carga económica y de trabajo adicional, sobre todo para los profesionales, cuya renta familiar depende del rendimiento de sus colmenas. Con el tiempo, el uso periódico de los acaricidas de síntesis ha provocado la presencia de residuos de estos contaminantes en los productos apícolas, sobre todo en la cera, lo que ha derivado en una cierta devaluación de su imagen^{5,6,12,65,70}. Estos acaricidas presentes en el ambiente de la colmena inducen inevitablemente ciertos efectos tóxicos crónicos sobre las larvas y abejas adultas^{1,97}. El uso sistemático de estos acaricidas de síntesis ha generado fenómenos de resistencia y ha impedido que afloren los mecanismos de tolerancia frente a varroa⁹¹.

Sin embargo, la presión ejercida por la varroosis ha resaltado la existencia de algunas poblaciones de abejas con diversos grados de tolerancia y/o resistencia natural. Es el caso de estirpes de abejas europeas y de abejas africanizadas en América Latina y el sur de Estados Unidos^{29,83}; de las subespecies de abejas africanas *A.m. scutellata*, *A.m. capensis* y *A.m. intermissa*, o de algunas estirpes de abejas del este de Rusia próximas al hábitat natural del huésped original de varroa, *Apis cerana*, que han convivido durante más tiempo con el ácaro^{49,52,59}. En otros casos han sido colonias que sobrevivieron después de años sin recibir tratamiento contra varroa, con ejemplos en Francia, Suecia o Estados Unidos^{48,86,51}. Por último, mediante procesos de selección y mejora genética también se han conseguido estirpes de abejas resistentes a varroa, como es el caso de las abejas VSH, obtenidas en Estados Unidos después de un programa iniciado en 1995 y que se prolongó durante más de 10 años³⁰.

REPRODUCCION DE *Varroa destructor* EN *Apis mellifera*.

Para comprender y analizar los mecanismos de tolerancia a *Varroa* de las abejas melíferas es primordial conocer el ciclo biológico de este parásito. Básicamente, se pueden distinguir dos fases diferenciadas del ciclo, la **fase reproductiva** y la **fase de dispersión o forética**^{33,37,53,80,84,91}.

La **fase reproductiva** tiene lugar en el interior de las celdas de cría operculada, que queda, por tanto, restringida a la duración de este periodo de desarrollo de obreras y zánganos en cada especie o subespecie de abejas melíferas.

Las hembras de *varroa* buscan celdas de cría de obrera o zánganos próximas a la operculación^{3,13}. Una vez en el interior, la **hembra fundadora** se instala en el fondo de la celda, sumergida en los restos de la papilla larval, con los órganos respiratorios o peritrema proyectados verticalmente para poder respirar en estas condiciones. Cuando la larva consume toda la papilla, la hembra de *varroa* comienza a alimentarse de la larva^{38,53}.

La reproducción de las hembras del ácaro comienza con la puesta del primer huevo a las 60-70 horas después de la operculación de la celda de cría, cuando la abeja en desarrollo está todavía en fase de prepupa^{9,37,53}. Este primer huevo, depositado en la parte superior de la pared de la celda, es haploide y se convierte en el único macho de la descendencia de cada hembra fundadora⁸¹. Posteriormente, con una cadencia de unas 30 horas, deposita hasta 4 huevos diploides en las celdas de obrera o hasta 5 en las de zángano, que serán hembras. La hembra fundadora (F₀) abre una herida permanente en la zona ventral de la pupa para facilitar la alimentación de su descendencia^{21,43}.

El desarrollo de los descendientes pasa sucesivamente por los estadios de **huevo-larva, protoninfa, deutoninfa y adulto (Figura 1)**. El macho llega a adulto en unos 6 días y las hembras en alrededor de 5,5 días. El macho copula con las hembras que han mudado recientemente a adultas, bien de forma consanguínea, si son descendientes de una sola hembra fundadora, o promiscua si son celdas de infestación múltiple (**Figura 4**). En el fondo de las celdas suelen coincidir los descendientes, cerca de la zona donde realizan la deposición de los excrementos, que destacan en un lateral del fondo de la celda. Eventualmente, se observan excrementos en la pared de la celda o en el cuerpo de la pupa, que se relacionan con hembras no reproductivas^{9,37,38,53}.

La cadencia reproductiva implica un desfase en el desarrollo de los descendientes de *varroa*. Así, al finalizar la fase de cría operculada, momento en el que nace la abeja o el zángano adulto, solo las descendientes adultas (F₁) que en este momento han

llegado al estadio óptimo, con la pigmentación típica de la cutícula (rojo cobrizo), son viables (**Figura 2**). El resto de las descendientes adultas poco pigmentadas, las inmaduras y el macho mueren en la celda o poco después porque se desecan o no soportan la presión de los roces entre las abejas^{9,37,38,53}. En las siguientes Figuras (**1 a 4**) se describe la evolución de los descendientes y se incluyen fotografías de los distintos estadios de desarrollo.

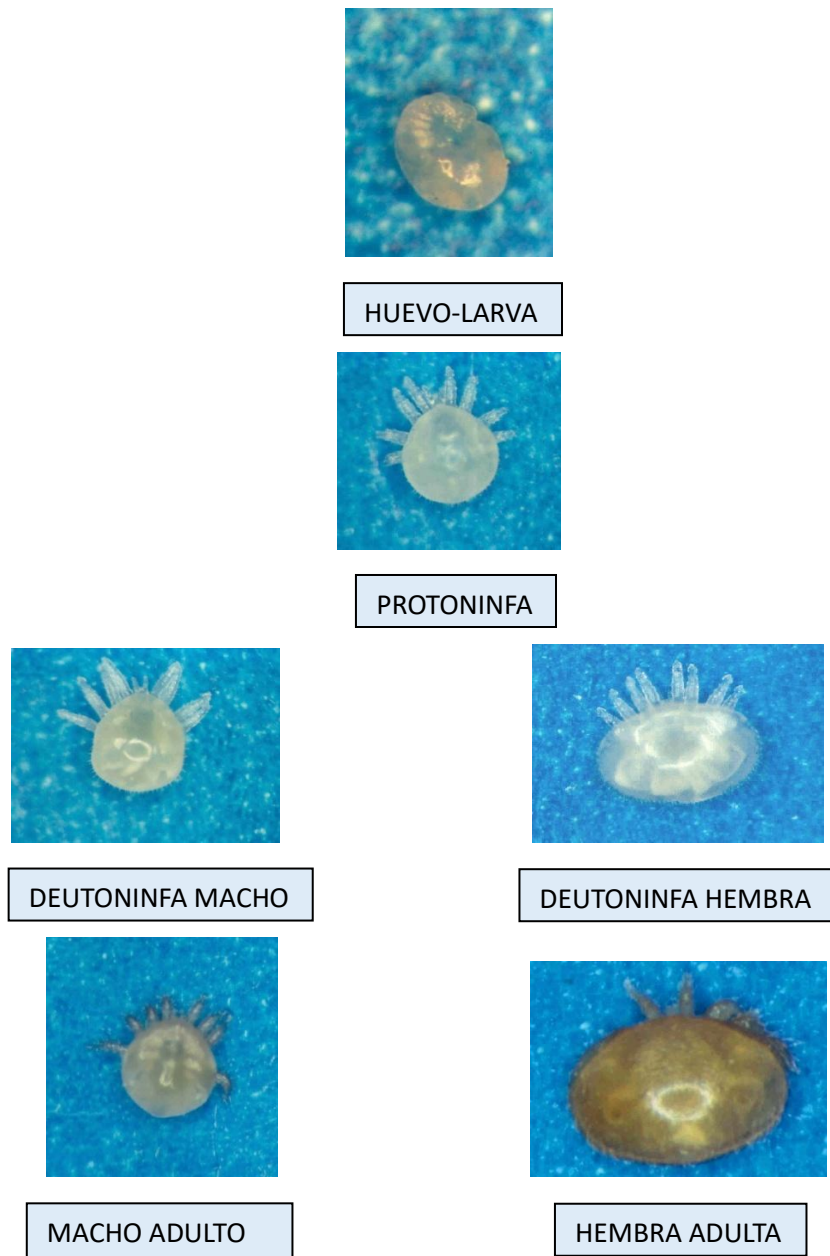


FIGURA 1: Desarrollo de los descendientes de una hembra fundadora desde huevo a adulto. IZQUIERDA: Fases del desarrollo del macho; DERECHA: Fases del desarrollo de las hembras¹¹.



FIGURA 2. HEMBRAS ADULTAS: Hijas adultas en sucesivas fases de pigmentación de la cutícula. ARRIBA: Hija adulta con la pigmentación óptima característica y viable. ABAJO: Hijas con cutícula insuficientemente esclerotizada.



FIGURA 3. Descendientes de una varroa fundadora en una celda de cría de obrera próxima al nacimiento, unos 12 días después de la operculación: 3 hijas adultas, una deutoninfa hembra y un macho adulto¹¹.

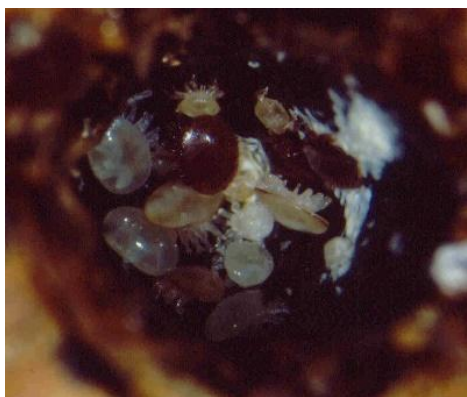


FIGURA 4. IZQUERDA: Descendientes en el fondo de una celda de cría en la que se ha extraído una pupa de 9 días. Se observan las 3 varroas infestantes (madres) y todos sus descendientes. DERECHA: Celda en la que se ha abierto el opérculo de una prepupa de zángano con 4 hembras fundadoras y 4 huevos puestos en las paredes de la celda¹¹.

En la **Figura 4** podemos observar celdas con varias hembras fundadoras y sus descendientes. Los casos de infestación múltiple aparecen a medida que aumenta el nivel de infestación⁷⁵. A partir de una densidad de unas 5 varroas por cada 100 celdas de cría, suele detectarse alguna celda con 2 hembras fundadoras; más allá de este nivel pueden aparecer celdas con 3, 4 o más hembras fundadoras en la cría de obrera. En la cría de zánganos hemos llegado a detectar hasta 9 hembras fundadoras en una celda⁹. La distribución de varroas en las celdas de cría muestra una ligera tendencia a la agregación, es decir, suelen registrarse más celdas no infestadas de las que cabría esperar en una distribución al azar (Poisson), en beneficio de las celdas infestadas que suelen ser ligeramente más frecuentes⁹. Como es lógico, la viabilidad de los descendientes en las celdas con varias hembras fundadoras decae por la degeneración rápida de la pupa, excepto en el caso de las celdas con 2 hembras fundadoras^{9,75}.

En la **Figura 5** se expone de forma esquemática el ciclo reproductivo típico de una hembra fundadora de varroa en la cría de obrera, detallando el estado de los descendientes de varroa que podríamos encontrar según la edad de la pupa parasitada^{9,11,40,41}.

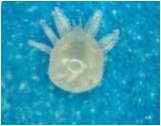
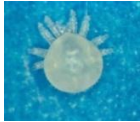
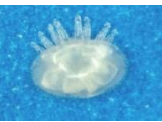
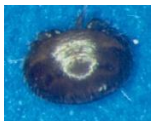
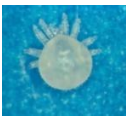
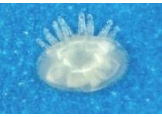
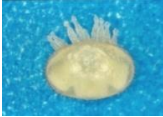
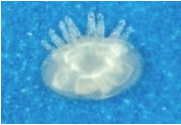
	Prepupa 3d	Pupa 4d	Pupa 5d	Pupa 6d	Pupa 7d	Pupa 8d	Pupa 9d	Pupa 10d	Pupa 11-12d
♀ Fundadora									
F ₁ ♂									
F ₁ : 1ª ♀									
F ₁ : 2ª ♀									
F ₁ : 3ª ♀									
F ₁ : 4ª									

FIGURA 5. Descendientes de una hembra fundadora durante el desarrollo de la cría de obrera parasitada. Símbolos: F₁ ♂ es el primer y único descendiente macho que se desarrolla a partir del primer huevo puesto a las 60-70 horas después de la operculación; F₁ 1^a, 2^a, 3^a y 4^a ♀ son las 4 sucesivas descendientes hembras desarrolladas a partir de los restantes huevos puestos por la hembra fundadora con una cadencia de unas 30 horas a partir del primer huevo; “Prepupa 3d” = Prepupa a los 3 días desde la operculación de la celda; “Pupa 11-12d” = Pupa entre 11 y 12 días después de la operculación^{9,11}.

Cuando finaliza el ciclo reproductivo, las hembras que han adquirido la condición de adultas viables se adhieren a las abejas adultas y comienza la **fase forética o, más formalmente, de dispersión**, cuya duración es variable, aunque actualmente se asume que en *A. mellifera* se prolonga hasta los 4-6 días^{26,54}. El significado biológico de esta fase forética no se ha desvelado totalmente. No cumple estrictamente la función de dispersión, como ocurre con otros ácaros ectoparásitos, hasta que la colonia de abejas colapsa y los ácaros sí que se dispersan. Además, las hembras de varroa pueden alimentarse de las abejas adultas durante esta fase⁷⁷, lo que no se ajusta formalmente a la definición de la forosis en acarología⁹¹. Se asume que la duración mínima de esta fase permite la óptima maduración del esperma en el interior de las hembras recientemente fecundadas, pero la prolongación de esta fase incide negativamente en la reproducción de varroa⁷⁴. Gracias a su facilidad para adherirse a las abejas, las hembras adultas son dispersadas en el interior de la colmena para facilitar la búsqueda de celdas de cría susceptibles de ser parasitadas. Como hemos comentado anteriormente, cuando el nivel de parasitación es alto, la colonia colapsa y los ácaros se dispersan a otras colmenas cercanas, viajando sobre las abejas que desertan de la colmena desahuciada o bien mediante las abejas pilladoras. La posibilidad de alimentarse del cuerpo graso de las abejas adultas⁷⁷, permite al ácaro varroa sobrevivir durante más tiempo, por ejemplo, cuando se produce una renovación de reina, durante la enjambrazón o incluso cuando la ausencia de cría se prolonga 2-3 meses debido a la invernada⁸.

Para hacernos una idea aproximada de la **dinámica poblacional** necesitamos contemplar otros factores, además del patrón reproductivo de varroa que hemos expuesto. La esperanza de vida durante periodos reproductivos suele situarse alrededor de los 30 días, en los que el ácaro puede completar 1 o 2 ciclos reproductivos. En ausencia de cría, las hembras adultas de varroa pueden llegar a vivir alrededor de 3 meses, de esta forma pueden perdurar en las colonias de abejas situadas en climas fríos⁸. En varios estudios de seguimiento de la multiplicación del parásito en campo, se han hecho estimaciones bastante coincidentes de la tasa intrínseca de crecimiento poblacional de varroa, cuyo valor aproximado es $r = 0,021$, que equivale a decir que la población de varroa se duplica cada 30-35 días, asumiendo la presencia continua de cría en la colonia de abejas y un crecimiento exponencial definido por la ecuación $N_t = N_0 \cdot e^{rt}$ (N_t : Población a tiempo t ; N_0 : Población inicial; r : Tasa intrínseca de crecimiento poblacional)^{10,14,16,44,54}. Estas condiciones propicias que se dan en climas templados y cálidos permiten el crecimiento continuo de la

población de varroa hasta llegar a producir el colapso de la colonia en poco más de un año, si no media la intervención del apicultor. En este punto, el crecimiento exponencial del parásito se ve alterado por la elevada infestación de la cría y comienza a decaer junto con la decadencia de la colonia. En climas fríos, el crecimiento poblacional del parásito se ralentiza porque su reproducción se detiene durante los periodos de ausencia de cría invernal.

El colapso de las colmenas implica un debilitamiento progresivo de la colonia. Aumenta la tasa de mortalidad de abejas, se produce un deterioro de la cría a causa de la deficiente alimentación de las larvas y la dificultad para regular la temperatura el nido, llegando a un estado compatible con el denominado “Síndrome idiopático de la cría”⁹². En un apiario, se produce una difusión de ácaros varroa mediante la deriva de abejas desde las colmenas más parasitadas. Además, cuando baja la actividad defensiva de las abejas guardianas, en estas colonias debilitadas por la varroosis se ceban las abejas pilladoras del resto de las colonias del apiario, que acuden a saquear las reservas de miel y de paso introducen ácaros foréticos en sus colmenas^{25,45}.

En general, este modelo de crecimiento poblacional de varroa se ha cumplido en las subespecies de abejas europeas o sus híbridos, que como se ha dicho anteriormente han sufrido los graves efectos de la varroosis. No ha sido así en su huésped original *A. cerana*, en subespecies de abejas africanas o en estirpes de abejas europeas que han desarrollado cierta tolerancia, como veremos a continuación, en las que la multiplicación del parásito puede llegar a ser muy limitada e incluso estabilizarse por debajo del umbral de daños. En estos casos, las abejas han desplegado mecanismos de defensa que dificultan la reproducción del ácaro, disminuyen su esperanza de vida o atenúan los efectos de las virosis que transmite.

MECANISMOS DE TOLERANCIA DE *Apis cerana*.

Los ácaros parásitos pertenecientes al género Varroa, que habitan en las colonias de su huésped original, la abeja melífera *Apis cerana*, han llegado a un cierto equilibrio, como suele ocurrir en las relaciones huésped-parásito cuando existe un largo periodo de adaptación. En estos casos, el huésped desarrolla progresivamente mecanismos de defensa para que el parásito no llegue a comprometer su supervivencia. Las colonias de estas abejas melíferas orientales han desplegado, por tanto, una resistencia natural a estos ectoparásitos, que

mantiene limitada su población. A continuación, se describen los comportamientos sociales o los cambios fisiológicos que conforman esta resistencia de *A. cerana*, asumiendo que todavía hay aspectos poco estudiados en los que no hay una posición unánime²⁸.



Comportamiento higiénico frente a la cría parasitada por varroa.

Las abejas de interior que están al cuidado de la cría tienen la facultad de detectar anomalías en el desarrollo de las pupas a través del opérculo. Estas abejas son efectivas en detectar señales olorosas a través del opérculo, lo abren, extraen la cría alterada y limpian la celda, un método de defensa a nivel social conocido como comportamiento higiénico frente a la cría alterada. Señales olorosas, como el β -ocimeno y el ácido oleico, pueden estar implicadas, así como ciertos perfiles de carbohidratos cuticulares específicos inducidos por la parasitación de varroa en las pupas y también por la infección del virus DWV^{56,87,94,95}.

En el caso de *A. cerana*, la efectividad de este comportamiento de detección-extracción de la cría parasitada es variable, aunque puede llegar a niveles cercanos al 90% en algunos casos. Las abejas rastrean la cría operculada entre los 2-7 días después de la operculación, mostrando preferencia por las prepupas de 2-3 días, y cuando detectan las celdas parasitadas, abren el opérculo y extraen el contenido⁵⁰. Las abejas ceranas más implicadas en el comportamiento higiénico son las de 15-20 días de edad⁹⁴. Este comportamiento es efectivo en la cría de obrera y, junto con otros mecanismos de defensa que vamos a comentar más adelante, llegan a impedir que las hembras del ácaro varroa se puedan reproducir de forma viable en la cría de obrera de *Apis cerana*.



Muerte de ácaros en el interior de las celdas de cría de zánganos.

Una característica propia de las abejas orientales es que las larvas de los zánganos tejen un capullo cuya parte superior es más dura que en el caso de *A. mellifera*. Es cónica y tiene un poro típico en el centro que queda al descubierto cuando las obreras quitan el opérculo de cera, unos días después de ser operculadas. La resistencia de este capullo reforzado de las celdas de zángano impide que las obreras abran las celdas de zánganos parasitadas por ácaros o afectadas por otra patología infecciosa y extraigan su contenido^{78,79}. Como hemos dicho, los ácaros varroa raramente pueden completar su fase reproductiva en la cría de obrera y no suelen dejar descendencia viable, por ello

deben concentrar su esfuerzo reproductivo en la cría de zánganos, cuya presencia no es permanente en las colonias de *A. cerana*. Por ello, es muy frecuente que las celdas de cría de zángano sean invadidas por varias hembras fundadoras. Estas celdas de parasitación múltiple, debilitan la pupa o incluso provocan su muerte, por lo que no es capaz de romper la parte superior del capullo para salir al exterior, quedando sepultada en el interior de la celda junto con los ácaros varroa y sus descendientes. Este comportamiento les confiere a las colonias de *A. cerana* una tolerancia adicional a la varroosis, ya que impide la reproducción de una buena parte de los ácaros que invaden las celdas de zánganos y provoca la muerte de las hembras infestantes⁴⁹.



Apoptosis social: Muerte prematura de pupas de obrera parasitadas por varroa.

Se ha constatado el retraso en el desarrollo de las pupas de obrera y su muerte prematura cuando la celda ha sido infestada por varroa. Se puede entender como un mecanismo de inmunidad social frente a la varroosis, un sacrificio altruista de los individuos que disminuye la reproducción del parásito y redundo en un beneficio para la colonia. Este fenómeno es comparable a la apoptosis o muerte celular programada en animales superiores⁷¹.

Según la bibliografía consultada, en el caso de *A. cerana* hay evidencias que relacionan el comportamiento higiénico de detección-extracción de las celdas de cría parasitada por varroa con la muerte prematura de las pupas o apoptosis social. La degeneración rápida de las crías libera sustancias específicas, las necromonas, que ayudan a las abejas a detectar las celdas infestadas por varroa y desencadenan el comportamiento higiénico. Esta degeneración acelerada de la cría de obrera parasitada se produce en la mayoría de los casos entre el estadio de prepupa y pupa de ojos púrpura⁵⁰.



Infertilidad de varroa en la cría de obrera.

Es un hecho comprobado que una gran mayoría de ácaros varroa que infestan la cría de obrera *A. cerana* son infértiles o dejan una descendencia inviable. La sinergia entre el comportamiento higiénico y la apoptosis social es muy efectiva e impide en la práctica la reproducción de varroa en las celdas de obrera. Hay un consenso científico en considerar la imposibilidad de reproducirse en la cría de obrera como el factor que juega un papel más importante en la resistencia de *A. cerana* a este parásito⁹⁶. Tanto la muerte

prematura o apoptosis, como el comportamiento higiénico frente a la cría de obrera parasitada, provocan una distorsión considerable en la fisiología de las hembras de varroa y prolongan su periodo forético, lo que puede romper la sincronía reproductiva entre huésped-parásito e incrementar la infertilidad de varroa en las celdas de obrera. Esta es la hipótesis más aceptada entre los expertos, aunque también reconocen que se necesitan más estudios sobre *A. cerana*²⁸.

Otros posibles mecanismos de tolerancia:

 **Menor atracción de las larvas de obrera:** Durante mucho tiempo se asumió que las larvas de obrera de *A. cerana* eran menos atractivas para las hembras de varroa, pero recientemente se ha comprobado que también son infestadas por varroa y ésta puede reproducirse si las pupas de obrera se desarrollan normalmente^{28,96}. Lo que ocurre es que los niveles de apoptosis de la cría de obrera y el comportamiento higiénico inducen infertilidad de varroa en la cría de obrera y, en definitiva, impiden que haya una reproducción efectiva del parásito en la cría de obrera.

 **Desparasitación activa o “Grooming”:** Las obreras que portan un ácaro son capaces de realizar movimientos específicos de autolimpieza, alertando a sus congéneres para captar su atención y que les ayuden a atacar al parásito. Entre la bibliografía consultada, hay estudios que resaltan este comportamiento en *A. cerana*, pero la metodología usada es dispar y los resultados variables. No es fácil detectar los ácaros con daños en el idiosoma o en las patas, pero todavía es más controvertido asegurar que estos ácaros han muerto por los efectos del ataque directo de las patas o mandíbulas de las abejas^{28,49,52,59}. Además, es muy posible que el abanico de métodos contrastados que las abejas ceranas han desplegado para combatir a los ácaros varroa sea ya suficiente para explicar el bajo impacto que tienen estos parásitos en la viabilidad de las colonias de estas abejas melíferas, sin tener en cuenta el grado de desparasitación que sean capaces de llevar a cabo.

 **Periodo de operculación de la cría de obrera:** De la duración de la fase de cría operculada depende en gran medida la tasa reproductiva de varroa. La duración de este periodo del desarrollo en el caso de las obreras de *A. cerana* es de unos 11 días²², lo que puede dificultar la viabilidad de la primera hembra hija e imposibilita la viabilidad de las posteriores⁴⁹. Este hecho le confiere cierta

tolerancia a la Varroosis, pero su contribución queda enmascarada entre el resto de los mecanismos que hemos reseñado. En el caso de los zánganos, la duración es de 14 días, lo que implica que más de una hembra hija pueda llegar a adulta. Esto incide en la tasa de reemplazo de las hembras reproductivas de varroa (número de hijas viables por ciclo reproductivo), que lógicamente aumentará con la duración de la fase de cría operculada y faculta al ácaro para dejar descendencia viable en la cría de zángano, si no queda recluida en la celda debido a la muerte de la pupa. De hecho, los periodos de producción de cría de zánganos en *A. cerana*, parecen ser los únicos en los que la población del parásito suele crecer ligeramente.

 **Tamaño de las celdas:** Aunque existe desacuerdo en la influencia que puede ejercer el tamaño de las celdas sobre la reproducción de varroa, como veremos más adelante, en el caso de *A. cerana* no se menciona este factor porque esta abeja tiene celdas de obrera más pequeñas que las subespecies europeas de *A. mellifera*.

TOLERANCIA DE *Apis mellifera* A LA VARROOSIS.

En primer lugar, hay que diferenciar entre los términos de resistencia y tolerancia al parásito *V. destructor*. La resistencia implica reducir la capacidad reproductiva del ácaro de tal manera que su población se mantenga siempre por debajo del umbral de daños⁵⁹. Este es el caso de la relación entre *Apis cerana* y *Varroa destructor*. También se podrían catalogar como resistentes algunas subespecies de abejas africanas de *Apis mellifera* y algunas estirpes de abejas del este de Rusia (abejas “Primorsky”), que comparten rango geográfico con *A. cerana*⁸². Se reserva el término de tolerancia cuando los mecanismos desplegados por las abejas consiguen rebajar los daños, pero no logran estabilizar la población del parásito, por lo que puede llegar a comprometer la viabilidad de la colonia; esto se ajusta a ciertas estirpes de *A. mellifera* surgidas después de un proceso de presión selectiva debido a la escasa o nula intervención terapéutica por parte del apicultor, o bien estirpes obtenidas a través de procesos de selección genética apícola.^{30,49,51}

Por último, están todas las subespecies europeas de *A. mellifera* que, en general, todavía no muestran signos patentes de tolerancia y en las que el ácaro crece de forma exponencial hasta provocar la inviabilidad de la colonia en uno o varios años, dependiendo de la ausencia de cría estacional y siempre que no se

interponga un tratamiento acaricida. El historial común de estas abejas sensibles a varroa es que las colonias han sido tratadas con acaricidas de forma periódica e ininterrumpida y, por ello, no han sufrido procesos significativos de presión selectiva que hubieran favorecido aquellas estirpes con algún rasgo de tolerancia.

En general, los mecanismos de tolerancia/resistencia que progresivamente se van describiendo en ciertas estirpes o subespecies de *A. mellifera* son un reflejo, en cierta medida, de algunos de los comportamientos que están bien desarrollados en *A. cerana*. No obstante, hay que diferenciar entre algunas subespecies de abejas africanas y sus híbridos (*A.m. capensis*, *A.m. scutellata*, *A.m. intermis*a, abejas africanizadas), que verdaderamente muestran signos de resistencia de forma natural, y las subespecies europeas que son todavía sensibles a la varroosis. Como casos intermedios, están las abejas de subespecies europeas que se han sometido a procesos de selección artificial (abejas VSH en Estados Unidos) o de ciertos casos de abejas locales que han sufrido una intensa presión selectiva sin tratamientos acaricidas durante años, como las abejas Gotland en Suecia, estirpes en Francia y las abejas del bosque de Arnot en Estados Unidos^{7,49,51,86}.

En un enfoque holístico del comportamiento defensivo de *A. mellifera* frente a la varroosis, se deben integrar todos los factores que pueden ofrecer cierta ventaja al huésped. En primer lugar, por su relevancia y extenso conocimiento, podemos mencionar el comportamiento higiénico en sentido amplio (VSH y “recapping”), que ya se ha descrito en distintas subespecies o estirpes. Otros factores que también pueden entorpecer la reproducción del parásito tienen que ver con la duración de la fase de cría operculada, la fisiología de la cría parasitada o con la genética de la cepa de varroa. También hay que tener en cuenta ciertos aspectos de la biología propia de las distintas subespecies, como la tendencia de enjambración, la capacidad reproductiva o la resistencia a las virosis. Otros aspectos ajenos a la relación huésped-parásito que pueden tener cierta influencia en la evolución de la infestación son el manejo del apicultor o la oferta de néctar y polen de cada región.^{49,59,91}



Comportamiento higiénico frente a la cría de obrera parasitada por varroa: Aunque ya se ha comentado en el apartado de *A. cerana*, la mayoría de los estudios sobre este comportamiento se han realizado en la especie *A. mellifera*, precisamente para sondear los mecanismos incipientes de defensa contra la varroosis y evaluar la capacidad de detectar anomalías en el desarrollo

de la cría y, en su caso, extraer el contenido de las celdas de cría, canibalizando en parte o enteramente las larvas o pupas afectadas. Esta habilidad se desencadena cuando se producen efectos lesivos sobre la cría a causa de un estrés por temperaturas extremas, por deficiencias nutricionales, por la presencia de tóxicos o por patologías que afectan a la cría, como loques, micosis, virosis o varroosis. Cuando las abejas son capaces de reconocer las celdas de cría operculada que pueden albergar pupas parasitadas por varroa, se utiliza el término VSH (“Varroa Sensitive Hygiene”). Estas abejas suelen percibir el olor de ciertas moléculas generadas por las pupas parasitadas que se difunden a través del opérculo y actúan como feromonas y/o necromonas (hidrocarburos cuticulares, β -ocimeno o ácido oleico)^{56,94}. Las abejas VSH desoperculan preferentemente las celdas de cría entre 2 y 7 días después de la operculación^{31,50}. Una vez abierta la celda, pueden decidir volver a cerrarla sin más, retirar la pupa mediante la canibalización o acarrear la pupa entera hasta el exterior de la colmena cuando el nivel de parasitación de la cría es alto. Las abejas VSH suelen responder vigorosamente frente a la cría con una infestación elevada (15-25 ácaros por 100 celdas), mientras que la reacción disminuye con una infestación baja (1-5 ácaros por cada 100 celdas operculadas)^{33,34}. El comportamiento VSH frente a la cría de zánganos es menos intenso que el desplegado hacia la cría de obrera³².

El apicultor que inspecciona colmenas que están realizando este comportamiento puede observar celdas parcial o totalmente abiertas con pupas enteras o parcialmente canibalizadas en su interior, frecuentemente de ojos blancos o rosa, lo que se conoce como “**cría calva**”. Si la infestación de la cría es elevada, pueden observarse restos de pupas que no han sido consumidas en el fondo de la colmena o en las inmediaciones de la piquera.

Se asume que el comportamiento higiénico frente a la cría parasitada por varroa provoca una interrupción reproductiva de las hembras fundadoras. Este efecto resulta evidente cuando las abejas abren la celda de cría y extraen la pupa parasitada porque la reproducción de la hembra fundadora es interrumpida bruscamente. Pero la mera apertura y cierre del opérculo puede inducir alteraciones que incidan negativamente en el desarrollo de los descendientes. Recientemente, se ha centrado la atención en un efecto derivado del comportamiento higiénico, la apertura y cierre inmediato de celdas de cría operculada, conocido como “recapping”, que se ha propuesto como método para detectar colonias con cierta tolerancia a la varroosis y se ha puesto énfasis en sus ventajas, aunque todavía está sujeto a discusión^{20,55,93}.

El comportamiento VSH puede inducir anomalías reproductivas del ácaro varroa. Según la bibliografía consultada, se reserva el término SMR (supresión de la reproducción) cuando estas anomalías reproductivas están inducidas por el comportamiento higiénico frente a varroa (VSH). En sentido más amplio, no se descarta la intervención de otros factores que puedan interferir en la reproducción del parásito, entonces se pueden emplear las siglas MNR (ácaros no reproductivos)⁵⁹. Entre estos factores podríamos incluir la degeneración acelerada de la cría o apoptosis, el estatus fisiológico de los ácaros o la variación en los genotipos de varroa, aunque en el caso de *A. mellifera* todavía se desconoce su relevancia. Como veremos más adelante, se han propuesto 3 casos básicos de anomalías reproductivas que redundan en una descendencia inviable (MNR): Infertilidad, ausencia o muerte prematura del macho y retraso en la puesta que impide que la primera hembra pueda llegar a adulta viable^{23,29,59}.



Duración de la fase de cría operculada en *A. mellifera*: La casuística es variada porque hay subespecies africanas con una duración de la fase de cría operculada sensiblemente menor que en las subespecies europeas. Como podemos ver en la siguiente tabla, hay diferencias de más de 24 horas en la duración de la fase de cría operculada de obrera que necesariamente van a repercutir en la reproducción de varroa⁶⁷.

	Duración fase de cría operculada en días (media ± dt)	Número de celdas (n)
<i>Apis cerana</i> ²²	10,9 ± 0,13	n = 225
<i>A. mellifera capensis</i> ⁶⁴	11,0 ± 0,06	n > 100
<i>A. mellifera scutellata</i> ⁶⁶	11,05 ± 0,002	n = 657
<i>A. mellifera adansonii</i> ²⁴	11,4 ± 0,16	n = 46
<i>A. mellifera unicolor</i> ⁴²	11,67 ± 0,005	n = 2043
<i>A. mellifera caucásica</i> ⁴⁶	11,9 ± 0,09	n = 276
<i>A. mellifera cárnica</i> ⁶³	12,1 ± 0,02	n = 300
<i>A. mellifera iberiensis</i> ⁹	12,2 ± 0,15	n = 418
<i>A. mellifera mellifera</i> ⁴⁶	12,3 ± 0,14	n = 53
<i>A. mellifera ligustica</i> ⁴⁷	12,3 ± 0,36	n = 100-200

TABLA 2.- Duración de la fase de cría operculada de obrera en *Apis cerana* y en varias subespecies de *A. mellifera*.

La fase de cría operculada de obrera más corta es la de *A. cerana*, 10,9 días²², seguramente es una consecuencia de la presión evolutiva ejercida por la larga convivencia con el ácaro varroa, uno de los factores que el huésped ha

habilitado para su supervivencia. Este valor para la cría operculada de obreras dificulta la reproducción del parásito porque la primera hembra hija de la serie reproductiva difícilmente puede llegar a adulta bien pigmentada y viable antes del nacimiento de la abeja^{53,54}. Como vemos en la Tabla 2, las subespecies de abejas africanas tienen valores menores de 12 días. En el caso de *A.m. capensis*⁶⁴ y *A.m. scutellata*⁶⁶ con valores ligeramente superiores a la abeja cerana, un claro factor de tolerancia frente a varroa. Otras subespecies africanas como *A.m. adansonii*²⁴ y *A.m. unicolor*⁴², tienen valores algo superiores, aunque todavía pueden restringir la reproducción de varroa. Llegamos finalmente a las subespecies europeas, con valores superiores a 12 días^{9,46,47,93}, que favorecen claramente la viabilidad de las primeras hijas de la serie. Asumiendo un periodo de operculación de 12 días, algunos autores han estimado una probabilidad aproximada de supervivencia y viabilidad de la primera hembra F₁ del 95%; en el caso de la segunda hembra, tendría un 38%^{54,74}.



Apoptosis en *A. mellifera*: Ya hemos comentado este comportamiento en el caso de *A. cerana*. Recientemente también se ha constatado en estirpes de *A. mellifera* resistentes a varroa, aunque con una frecuencia mucho menor que en la abeja asiática³⁹. El retraso en el desarrollo o incluso la muerte inesperada de las pupas parasitadas por varroa puede definirse como un suicidio altruista, una nueva forma de inmunidad social⁷¹. También se ha constatado que esta apoptosis o proceso de degeneración prematura de las pupas parasitadas, desencadena señales que estimulan el comportamiento higiénico del tipo VSH, por lo que estos dos mecanismos están ligados y pueden ser la combinación que confiere a las abejas melíferas un mayor nivel de protección frente a los efectos del haplotipo coreano de *V. destructor*, la estirpe más virulenta de este ectoparásito⁵⁰.



Cría “calva”: Este es el apelativo con el que los apicultores designan a las celdas de cría operculada que las abejas desoperculan, dejando expuesta a la vista una pupa blanca o de ojos rosa. Este comportamiento suele ser un preludio o una secuencia del comportamiento higiénico VSH y, si siguiéramos observando, podríamos constatar que las abejas vuelven a opercular la celda o bien extraen su contenido. Algunos autores han relacionado la elevada frecuencia de este comportamiento en colonias parasitadas con una menor tasa reproductiva del ácaro varroa^{35,55}, mientras que otros mantienen que los resultados obtenidos en ensayos dirigidos en *A. mellifera* todavía no son concluyentes y falta información sobre su relevancia^{20,28}.



Otros factores ligados a la fisiología de la cría: Se ha constatado en algunos ensayos que los ácaros varroa tenían cierta preferencia por las larvas de ciertas estirpes o subespecies de abejas. Se ha especulado sobre los diferentes perfiles olfatorios emanados por las larvas que pueden servir de guía a los ácaros para infestar las celdas de cría. Aunque esta hipótesis tiene visos de verosimilitud, todavía faltan evidencias que la soporten⁴⁹. Algunos autores mantienen que otros aspectos derivados de la fisiología de las pupas, diferentes de la apoptosis, también pueden intervenir en la disrupción de la reproducción de varroa junto con el comportamiento higiénico, pero ésta es una línea de trabajo todavía abierta^{36,93}.



Tamaño de las celdas de obrera: En *A. mellifera* existen diferencias en el tamaño de las celdas de obrera entre distintas subespecies, siendo las abejas africanas y africanizadas las que construyen panales con celdas de obrera más pequeñas. Se han intentado establecer comparaciones entre la mayor virulencia de varroa y el mayor tamaño de las celdas, sobre todo en las subespecies europeas, pero todavía existe mucha controversia entre los investigadores. Los resultados de algunos trabajos concluyen que las celdas más pequeñas no influyen en la reproducción de varroa^{4,16}. Sin embargo, otros trabajos soportan la hipótesis de que las celdas de 4,9-5 mm de diámetro sí que pueden afectar negativamente la viabilidad reproductiva de varroa^{68,73}. En otros casos se apunta que el mayor tamaño de las celdas dificulta la reproducción de varroa⁹⁸. A pesar de la controversia, algunos autores mantienen que las celdas de obrera más pequeñas (alrededor de 4,9mm) pueden ofrecer cierta tolerancia al ácaro y aportan argumentos que tienen cierta consistencia: Nido de cría más compacto que acorta la duración de la fase de cría operculada, facilita la expresión del comportamiento higiénico VSH y acelera la arrancada primaveral. Esta teoría ha sido llevada a la práctica por apicultores que han logrado reducir el tamaño de las celdas en abejas de subespecies europeas y proponen un cambio de paradigma en la apicultura.

Otro aspecto de esta teoría también está cuestionado. Se ha dicho que las celdas de las subespecies europeas han sido agrandadas artificialmente al suministrar, desde hace casi 100 años, láminas estampadas comerciales con celdas de mayor diámetro, 5,35 mm en vez de 5,0 o 4,9, que según se ha propuesto sería la anchura original construida naturalmente. Sin embargo, esta suposición ha sido cuestionada al revisar a fondo la bibliografía⁸⁵.



Desparasitación o “Grooming”: Se admite que *A. cerana* despliega este comportamiento con mayor eficacia que *A. mellifera*. En el caso de las abejas europeas se ha descrito como un componente de la tolerancia a varroa de algunas estirpes o subespecies que, bien de forma natural o por presión selectiva, han sobrevivido al parásito sin apenas intervención humana⁵². Sin embargo, debemos resaltar que la metodología empleada en los estudios realizados para constatar este comportamiento es muy variada y genera ciertas reticencias sobre la relevancia de los resultados, sobre todo a la hora de valorar los ácaros dañados y asegurar que las responsables han sido las abejas mediante esta desparasitación activa²⁸.



Otros factores que pueden influir en la gravedad de la varroosis en *A. mellifera*.

La dinámica poblacional del ácaro varroa depende íntimamente de la presencia de cría en la colonia, por ello en las zonas de climas templados-cálidos suele ser más virulenta. En estas zonas la presencia de cría suele ser constante, a pesar de sus fluctuaciones, permitiendo la reproducción continua del parásito. Además, durante la arrancada primaveral la colonia cría zánganos, en los que la tasa reproductiva de varroa es mayor y redonda en un aumento considerable de la población del ácaro. De forma natural, en climas más fríos suele producirse una parada de cría invernal que paraliza la multiplicación de varroa e, incluso, provoca una disminución de su población durante la invernada. En casos más excepcionales pueden producirse paradas de cría por una ausencia prolongada de polen o por calor extremo. En otros casos, la ausencia de cría natural se debe al proceso de enjambrazón, lo que provoca también un impacto negativo en la población del parásito. Algunos autores han incluido la elevada tasa de enjambrazón entre los mecanismos de defensa desarrollados contra la varroosis por algunas estirpes de abejas^{48,52,59,86}.

La intervención del apicultor puede interrumpir el crecimiento de varroa mediante métodos encaminados a provocar ausencia de cría artificial. El enjaulado de reinas durante unos 25 días, la sustitución de reinas o la división de las colonias en primavera permiten detener la reproducción de varroa y ofrecen la oportunidad al apicultor de realizar un tratamiento acaricida que tendrá una eficacia mayor debido a la ausencia de cría.

Las floraciones de néctar y polen abundantes, sobre todo en primavera, permiten a las colonias de abejas ampliar el número de panales de cría en poco

tiempo. Durante esta arrancada de cría, la tasa de puesta de la reina es muy intensa, la población de abejas aumenta rápidamente y el vigor de la colonia atenúa la virulencia del ácaro. Por tanto, se puede hablar de efectos climáticos, o de la riqueza botánica relativa de una zona, sobre la dinámica poblacional de varroa.

El ácaro varroa actúa de vector de varias virosis de las abejas. El virus más prevalente transmitido por varroa es el de las alas deformes (DWV)⁷⁶, que causa efectos visibles en las abejas adultas que han sido parasitadas durante la fase de pupa. Otros virus relacionados con la varroosis, como los del complejo de la parálisis aguda (ABPV, KBV y IAPV) no provocan efectos visibles, pero disminuyen la esperanza de vida de las abejas¹⁸. En algunos casos de abejas más tolerantes a la varroosis, se asume que la menor sensibilidad a estas virosis es uno de los factores atenuantes^{49,52}.

Otro factor que puede tener un impacto sobre la dinámica poblacional de varroa es el pillaje o robo al que son sometidas las colmenas debilitadas por este parásito. El fenómeno del pillaje es común en situaciones de escasez de alimento o por intervenciones inadecuadas del apicultor y puede adquirir cierta gravedad cuando las colonias más vigorosas saquean con insistencia a las más débiles hasta devastarlas y quedar y dejarlas inviables. Si en el colmenar hay colonias muy parasitadas por varroa, éstas suelen ser el objetivo de las abejas pilladoras, que encuentran poca oposición cuando intentan saquearlas. Si el robo o pillaje dura varios días, las abejas pilladoras pueden transportar gran cantidad de ácaros varroa a su colonia, incrementando la carga parasitaria de ésta en poco tiempo. Un efecto similar puede darse cuando las abejas de las colonias muy parasitadas, que también pueden llevar ácaros foréticos, desertan y son adoptadas por las colonias vecinas^{25,45,72}.

ANOMALIAS REPRODUCTIVAS DE VARROA EN LA CRÍA DE OBRERA DE *A. mellifera*.

Como ya se ha comentado, el comportamiento higiénico frente a la cría parasitada, la degeneración acelerada de las pupas parasitadas o apoptosis y otros factores fisiológicos de las abejas, pueden interferir en la reproducción de las hembras de varroa. Se asume que estas interferencias, en conjunto, provocan anomalías que se alejan del patrón reproductivo ideal referido en la **FIGURA 5**, redundando en un porcentaje variable de casos de infertilidad o inviabilidad de

los descendientes. Aunque se han descrito más casos, después de consultar la bibliografía y con el objetivo de facilitar la comparación de los resultados de diversos estudios, vamos a considerar **3 casos generales de anomalías durante la fase reproductiva del ácaro varroa que conllevan una descendencia inviable⁶⁰: Infertilidad, ausencia o muerte prematura del macho y retraso en la puesta que impide que la primera hembra pueda llegar a adulta viable.** Si se suman todos los casos de ácaros no reproductivos (MNR) encontrados al analizar una muestra de cría parasitada, podemos obtener el porcentaje de reproducción viable de la colonia de *A. mellifera* evaluada, una variable que podemos comparar y que ha sido reveladora en casos ya constatados de abejas con una incipiente resistencia a la varroosis. Otro parámetro reproductivo básico que se suele comparar es la **fecundidad** de las hembras, es decir, **el número total de descendientes encontrados en las celdas con una hembra fundadora^{51,60}.**

Por tanto, el análisis de la descendencia de varroa en muestras de cría operculada parasitada es un método útil para establecer el porcentaje de estas anomalías reproductivas, que son el reflejo de un conjunto de mecanismos de defensa contra la varroosis. Para poder comparar los resultados de diferentes muestras es necesario armonizar la metodología empleada^{19,51,60}.



Metodología para el análisis de las anomalías reproductivas de varroa.

Para poder evaluar las anomalías reproductivas de varroa en cada colonia, el punto de partida son las muestras de cría operculada parasitada de una edad adecuada. Se pueden abrir varias celdas al azar para encontrar la zona del panal de cría con pupas de entre 9 y 11 días (216-264 horas), a contar desde la operculación. Estas pupas, de ojos púrpura y cuerpo ya ligeramente teñido (Figura 5), nos permiten analizar la descendencia de las hembras fundadoras que, según el patrón reproductivo, ya deberían haber realizado toda su puesta (FIGURA 5). No obstante, se pueden incluir excepcionalmente celdas con pupas de 8 días (190 horas) si fuera necesario^{19,51,60}. Se deben escoger colonias bien pobladas, a pesar de presentar un cierto grado de parasitación, evitando las colonias con una infestación muy baja (<5% en cría), para no tener que aumentar el volumen de muestra, y las muy parasitadas (>50%), en las que la degradación de la cría y el retraso en su desarrollo pueden distorsionar la reproducción del ácaro y afectar a la fiabilidad de los datos. Además, para comparar con más rigor, se debe muestrear siempre en la misma época del año, preferentemente en primavera. Una vez localizada el área adecuada del panal se extraen dos muestras de al menos 300 celdas de cría. Las muestras se guardan en el

congelador (-18°C) hasta que puedan ser analizadas, o bien se procesan en fresco, si es posible^{19,33,53,60}.

Las celdas de cría operculada se abren bajo una lupa binocular, se extrae cuidadosamente la pupa y, en el caso de estar parasitada, también se extraen todos los ácaros varroa y se guardan en un pocillo histológico con alcohol del 70%. A continuación, se coloca el pocillo bajo la lupa y se anota con detalle el número de hembras fundadoras de cada celda, los individuos inmaduros, la presencia del macho y su estado (FIGURA 1) y también se anotan detalles de interés observados en el interior de la celda (estado de la pupa, ácaros atrapados entre la pared de la celda y el capullo, situación de los excrementos o la presencia de túneles de las polillas de la cera). Aunque se consignen todos los datos de las celdas parasitadas, solo las celdas con una sola hembra fundadora se van a considerar para determinar las anomalías y calcular el porcentaje de viabilidad reproductiva. Con los datos de 10-35 celdas podemos obtener una estimación, aunque es preferible examinar al menos 30 celdas parasitadas por una sola hembra fundadora^{19,60}. Una vez analizadas, cada celda parasitada por una hembra fundadora debe asignarse a uno de los casos reproductivos siguientes:

- Reproducción viable: Presencia de un macho adulto viable y al menos una hija hembra adulta viable.
- Infertilidad: Hembras fundadoras que no han puesto ningún huevo o están muertas en la celda.
- Ausencia o muerte prematura del macho: No se encuentra el macho o tiene una apariencia clara de ser inviable (reseco, patas plegadas o en posición claramente anómala) o está muerto en la celda.
- Reproducción inviable: Retraso en la puesta, descendientes muertos o ausencia total de hembras.
- Fecundidad: Número total de descendientes por cada hembra fundadora (F_1/F_0). Aunque este parámetro no incide directamente en la viabilidad reproductiva, su valor sí que refleja la magnitud de la anomalía reproductiva.



Estimación del porcentaje de viabilidad reproductiva.

Con la información de las anomalías reproductivas en cada colonia podemos calcular el porcentaje de reproducción viable (“reproductive success”). En estos casos se ha constatado la presencia de un macho adulto viable y asumimos que ha fecundado al menos a la primera hembra hija. Además, se

presupone que la hembra hija alcanza la pigmentación adecuada cuando nace la abeja y, por tanto, inicia su ciclo de vida^{17,19,51,57}.

Si se sigue esta metodología se pueden realizar comparaciones entre diversos estudios para determinar el grado de tolerancia a la varroosis, puesto que se ha comentado que una reproducción deficiente es el reflejo de los mecanismos subyacentes de defensa contra el parásito.

ANÁLISIS DE LA VIABILIDAD REPRODUCTIVA DE VARROA COMO FACTOR DE TOLERANCIA EN ESTIRPES O SUBESPECIES DE *A. mellifera*.

En este apartado analizaremos la viabilidad reproductiva de varroa en abejas de diversos orígenes, algunas de las cuales han manifestado cierta tolerancia a la Varroosis. En primer lugar, hemos incluido abejas de origen africano que de forma natural poseían un elevado nivel de tolerancia a varroa. También comparamos los datos de estirpes de abejas europeas que han desarrollado cierta tolerancia al haber soportado la presión selectiva durante varios años, debido a la ausencia de tratamientos y manejo apícola. Para resaltar la comparación de las anomalías y la viabilidad reproductiva de varroa, se han incluido los resultados obtenidos en abejas sensibles a varroa. Como ya hemos comentado, este análisis comparativo ha sido posible porque la metodología empleada ha seguido el patrón expuesto en el apartado anterior^{19,60}.

 **Abejas Gotland:** A finales de los 90, se llevaron unas 150 colonias a la isla de Gotland, en Suecia. Se infestaron con varroa y se dejaron evolucionar sin manejo ni tratamientos acaricidas. A los tres años, más del 80% de las colonias habían muerto, pero las supervivientes comenzaron a recuperarse y volvieron a alcanzar el vigor suficiente en primavera para tener un proceso normal de enjambrazón. Posteriormente, se ha constatado que la viabilidad reproductiva de varroa en estas colonias es menor que en las colonias de abejas susceptibles^{51,52}.

 **Abejas de Avignon:** Esta estirpe de abejas proviene de un proceso de presión selectiva por ausencia de tratamientos en colmenas de una zona de Francia, observada desde mediados de los años 90. Con el tiempo, las colonias supervivientes han desarrollado ciertos mecanismos de defensa, incluidas las anomalías reproductivas de varroa⁴⁹.



Abejas africanizadas: Se ha incluido en el análisis un estudio de la viabilidad reproductiva de abejas africanizadas en Brasil¹⁷. La subespecie de abeja melífera predominante en el sur de África es la *A.m. scutellata*. En 1956, reinas de estas abejas fueron introducidas en Brasil para estudiar su comportamiento en zonas tropicales de Sudamérica^{29,49}. Enjambres de estas colonias escaparon al control de los investigadores y en años sucesivos se difundieron por áreas continentales de América Latina, Centroamérica y, posteriormente el sur de los Estados Unidos, recibiendo el apelativo de abejas africanizadas. A partir de 1971, varroa se extendió por Sudamérica y se observó que los daños en estas abejas africanizadas fueron mucho menores que en las abejas de origen europeo²⁹. A pesar de que diversos estudios demuestran cambios en los parámetros reproductivos a lo largo del tiempo, la baja viabilidad reproductiva de varroa en estas abejas señala los efectos del comportamiento higiénico^{17,15}. No obstante, se asume que la tolerancia a la varroosis en estas abejas no reside en un solo factor^{15,17,49,52,57,58,61}.



Abejas *A.m. simensis*: Se estudiaron los mecanismos de defensa desarrollados de forma natural por las abejas de la subespecie *A.m. simensis* en Etiopía²⁷. El estudio se llevó a cabo en 2017-2018 e incluyó el análisis de la viabilidad reproductiva de varroa en muestras de cría parasitadas siguiendo la metodología expuesta.



Abejas *A.m. scutellata*: También se han incorporado al análisis los resultados de la viabilidad reproductiva en la subespecie *A.m. scutellata*, que de forma natural ha exhibido una sólida tolerancia frente a la varroosis^{66,89}.



Abejas Valencia: En 1985-86 ya se detectaron colonias parasitadas en España. Poco después se instaló un apiario experimental de 40 colonias pertenecientes a la subespecie negra ibérica (*A.m. iberiensis*) en Valencia para iniciar un proyecto de investigación sobre la varroosis. En 1991-93 ("Sensibles Valencia 1991"), sucesivas muestras de cría parasitada de estas colmenas fueron analizadas según la metodología expuesta para determinar las anomalías reproductivas de varroa⁹. Posteriormente, entre 1996-2000, estas colonias dejaron de recibir tratamiento acaricida contra varroa y sufrieron una mortalidad cercana al 90%, puesto que al final solo sobrevivieron 4 colonias. Estas colonias, identificadas individualmente, fueron integradas en otro apiario de 40 colmenas y durante las campañas siguientes se dividieron de forma preferente para

ampliar el número de estas colonias supervivientes de varroa. En 2011 (“Tolerantes Valencia 2011”) y en 2019 (Tolerantes Valencia 2019”), muestras aleatorias de cría parasitada de este apiario se analizaron para determinar el estado de las anomalías reproductivas de varroa y compararlas con los valores iniciales de 1991, cuando la abeja negra ibérica carecía de mecanismos de defensa contra la varroosis. En 2019, también se analizaron muestras de cría de apicultores que habían mantenido un régimen de 2 o más tratamientos anuales contra varroa y manifestaron no haber seguido ningún proceso de selección de colonias tolerantes, abejas que denominamos “Sensibles Valencia 2019”. De esta manera, se pudo seguir la evolución de los parámetros reproductivos y comparar la viabilidad reproductiva de varroa durante casi 30 años ⁹(Calatayud,2011-2019, datos no publicados).

Estirpe o subespecie	Infertilidad	Macho muerto o ausente	Reprod. Inviabile	Fecundidad (F ₁ /F ₀)	Viabilidad reproductiva. (“reprod. Success”)
Sensibles Gotland ⁵¹	4	-	14	4,3	78
Sensibles Avignon ⁴⁹	4	-	5	4,1	90
Sensibles Valencia 1991 ⁹	11,6 ± 15,4	12,2 ± 6,0	7 ± 7,9	4,1 ± 0,79	69,1 ± 13,5
Sensibles Valencia 2019	9,1 ± 2,3	12,1 ± 5,0	11,1 ± 7,4	4 ± 0,37	67,8 ± 9,3
Tolerantes Gotland ⁵¹	8	-	33	3,7	48
Tolerantes Avignon ⁴⁹	15	-	21	3,1	59
Tolerantes Valencia 2011	6,5 ± 5,2	23,4 ± 11,4	16,1 ± 8,9	4 ± 0,33	54 ± 6,7
Tolerantes Valencia 2019	17,3 ± 10,5	19,8 ± 6,0	12,3 ± 7,5	3,2 ± 0,44	50,7 ± 8,7
Tolerantes africanizadas Brasil ¹⁷	22	-	38	4,1	40
A.m. simensis ²⁷	39,9	-	-	1,6	33,3
A.m. scutellata ⁸⁹	30	-	-	1,7 ± 1,5	30 ± 7

TABLA 3.- Anomalías reproductivas, fecundidad y viabilidad reproductiva de varroa en diferentes estirpes y subespecies de abejas (Porcentaje de casos ± desv. stand.)

Análisis comparativo de los casos reproductivos:

En la **Tabla 3** se exponen los valores de las anomalías reproductivas, la fecundidad y la viabilidad reproductiva de varroa en las diferentes estirpes y subespecies de abejas comparadas. En las **Figuras 6, 7 y 8** se muestran gráficamente los resultados para resaltar las diferencias.

Infertilidad: En la Figura 6 destacan los elevados valores de infertilidad de las abejas africanas respecto al resto de las abejas consideradas. Este nivel de infertilidad de varroa es un factor de tolerancia significativo en las subespecies africanas. En el resto de las muestras, los valores son variables y se observa que las estirpes con cierta tolerancia tienen una infertilidad algo superior a las consideradas sensibles. Las abejas Tolerantes Valencia 2019 también tienen una infertilidad mayor que las de Gotland y Avignon. A pesar de la gran variabilidad de los datos de cada colonia, el análisis estadístico de las estirpes de abejas de Valencia muestra una diferencia significativa entre las Tolerantes-2019 y las Sensibles-2019 (U Mann-Whitney-Wilcoxon, $P = 0,045$), pero no hay diferencia significativa entre las Sensibles-1991 y las Tolerantes-2019.

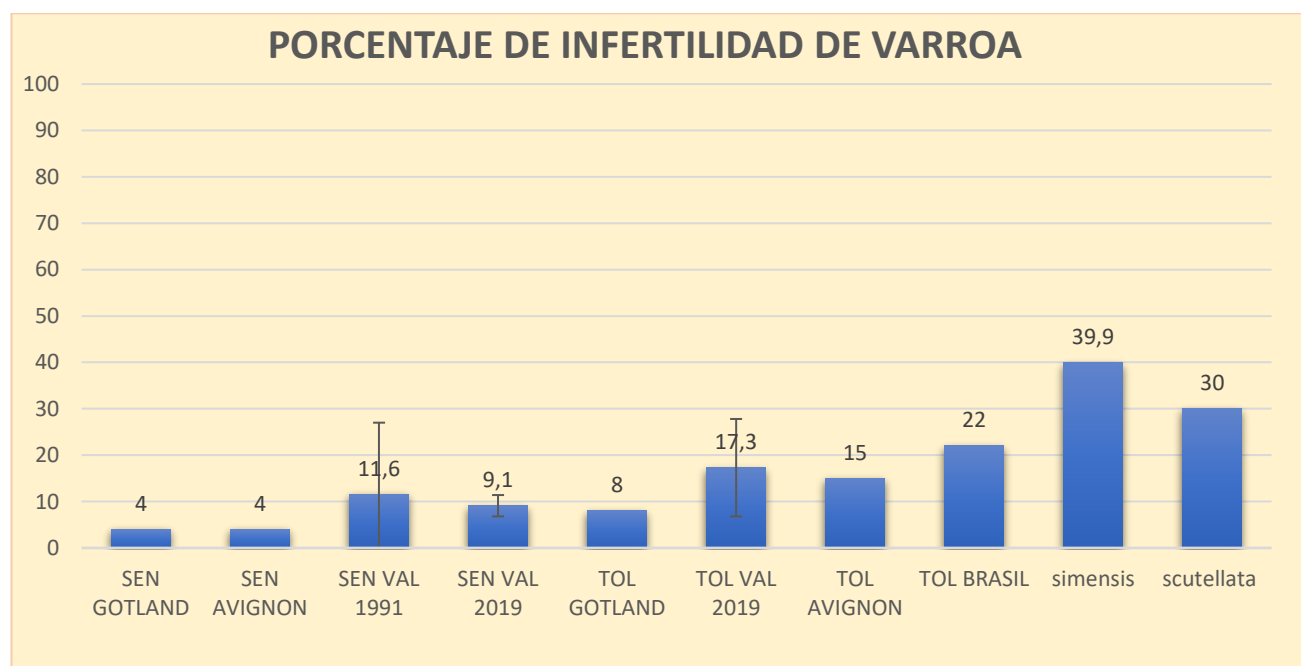


FIGURA 6. Porcentaje de infertilidad de varroa en las diferentes estirpes y subespecies de abejas (% $\pm$ desv. stand.)

Ausencia de macho (no encontrado o inviable): En este caso, no hemos podido comparar todas las estirpes de abejas porque no se ha podido extraer el

dato preciso con seguridad. Solo podemos comparar los datos de Valencia. Los valores obtenidos para esta anomalía reproductiva sí que muestran un incremento a favor de la mayor tolerancia a lo largo del periodo estudiado, con una diferencia significativa entre las muestras de colonias Sensibles Valencia-1991 y las Tolerantes Valencia-2011 (U Mann-Whitney-Wilcoxon, $P = 0,018$), así como entre las Sensibles Valencia-1991 y las Tolerantes Valencia-2019 ($P = 0,027$). Se constata también una diferencia muy significativa entre las colonias Tolerantes Valencia-2019, que sufrieron una elevada presión de selección, y las Sensibles Valencia-2019, que se usaron como colonias control con una baja presión de selección (U Mann-Whitney-Wilcoxon, $P = 0,0019$). Esta diferencia, aunque menos significativa, ya se observa entre las Tolerantes Valencia-2011 y las Sensibles Valencia-2019 (U Mann-Whitney-Wilcoxon, $P = 0,023$).

Reproducción inviable: De los datos disponibles, las abejas Tolerantes-Gotland son las que muestran el porcentaje mayor de casos de reproducción inviable (retraso en la puesta y/o individuos muertos), seguidas de las abejas Tolerantes-Avignon, que muestran un valor algo menor (TABLA 3). La evolución de este parámetro no es tan concluyente en el caso de las muestras de Valencia, en las que solo hay una diferencia muy significativa entre las Tolerantes Valencia-2011 y las Sensibles Valencia-2019 (U Mann-Whitney-Wilcoxon, $P = 0,004$).

Fecundidad (F_1/F_0): En lo que respecta al número total de descendientes, vuelven a destacar las subespecies africanas con los valores más bajos, lo que refleja una gran anomalía reproductiva inducida por el comportamiento VSH u otros factores ya mencionados (Figura 7). Aunque llama la atención el valor alto de la fecundidad en las abejas africanizadas, ésta no se convierte en éxito reproductivo por la elevada inviabilidad de los descendientes. Los dos valores más bajos de las subespecies europeas corresponden a las abejas Tolerantes-Avignon y a las Tolerantes Valencia-2019. En este caso también se observa una diferencia muy significativa entre las Sensibles Valencia-1991 y las Tolerantes Valencia-2019 (U Mann-Whitney-Wilcoxon, $P = 0,002$), lo que confirma un aumento de la inviabilidad reproductiva entre 1991 y 2019 y soporta la hipótesis de una evolución de la tolerancia a varroa en abejas sometidas a una intensa presión selectiva en el caso de las abejas pertenecientes a la subespecie *A.m. iberiensis* estudiadas en Valencia.

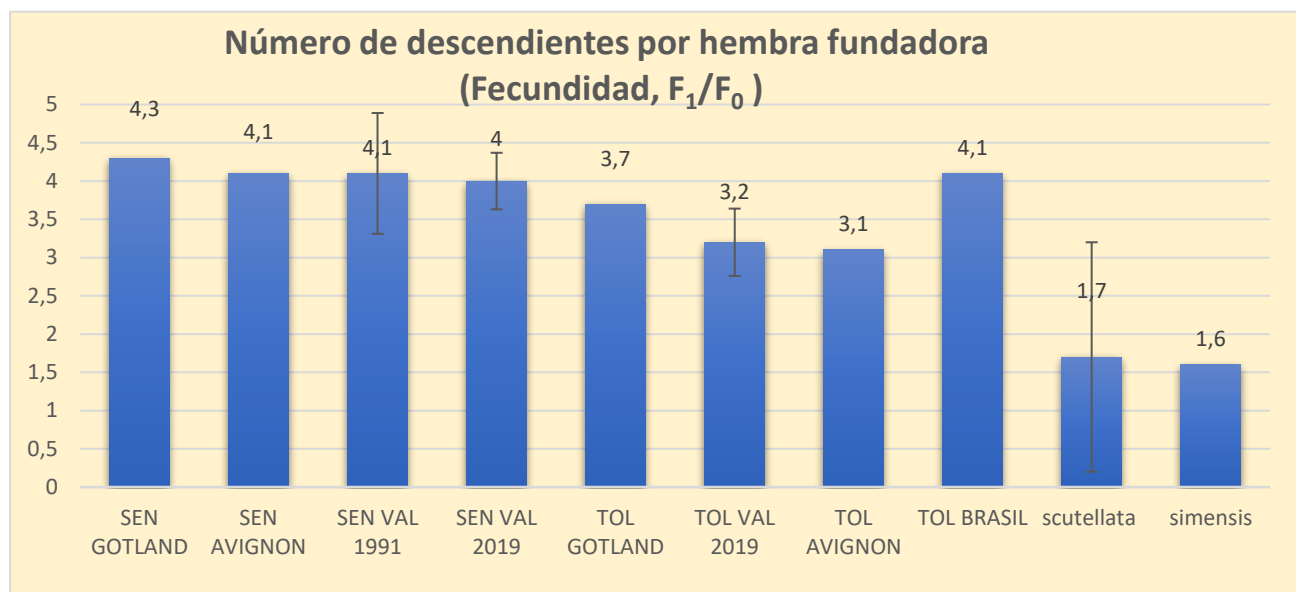


FIGURA 7. Fecundidad o número de descendientes por hembra fundadora en las diferentes estirpes y subespecies de abejas ($F_1/F_0 \pm \text{desv. stand.}$)

Viabilidad reproductiva (“reproductive success”): Como se ha dicho anteriormente, una reproducción viable de varroa requiere al menos que una hembra hija llegue a adulta bien pigmentada y que el macho esté presente y sea viable. Al calcular este parámetro se descuentan todas las anomalías reproductivas consideradas y, por tanto, es el que mejor refleja la viabilidad reproductiva de varroa. En la **Figura 8** se representan gráficamente los datos de las estirpes y subespecies de abejas que hemos elegido para esta comparación. Las 2 subespecies africanas incluidas en este estudio presentan un porcentaje de viabilidad cercano al 30%, lo que dificulta enormemente la evolución poblacional del parásito. Las abejas africanizadas de Brasil poseen un valor ligeramente superior, un 40%, aunque soporta la tolerancia de estas abejas a la varroosis. Los resultados de los análisis de la reproducción de varroa en las abejas europeas con rasgos de tolerancia dan un valor del 48% para las Gotland, 50,7% para las Tolerantes de Valencia 2019 y un 59% para las de Avignon. Estos valores no impiden el crecimiento de la población, pero sí que la hacen mucho más lenta que en el caso de las abejas sensibles, con valores entre el 67 y el 90%. El análisis estadístico no paramétrico de las muestras de Valencia también muestra resultados bastante concluyentes. Hay una diferencia muy significativa entre las abejas Tolerantes Valencia-2019 y las Sensibles Valencia-1991 (U Mann-Whitney-Wilcoxon, $P = 0,005$). También se diferencian las Tolerantes y Sensibles de 2019

(U Mann-Whitney-Wilcoxon, $P = 0,006$). Estos resultados corroboran de forma rotunda la progresión de las colmenas que sufrieron una elevada mortalidad por varroa y, por tanto, una presión selectiva que ha conseguido disminuir el éxito reproductivo del parásito. Además, las Sensibles 1991 y las Sensibles 2019 no se diferencian (U Mann-Whitney-Wilcoxon, $P = 0,18$), lo que refleja, lamentablemente, que después de casi 30 años de convivencia con la varroosis, las colonias con frecuentes tratamientos acaricidas y con poca presión de selección no consiguen disminuir significativamente la viabilidad reproductiva del ácaro varroa.

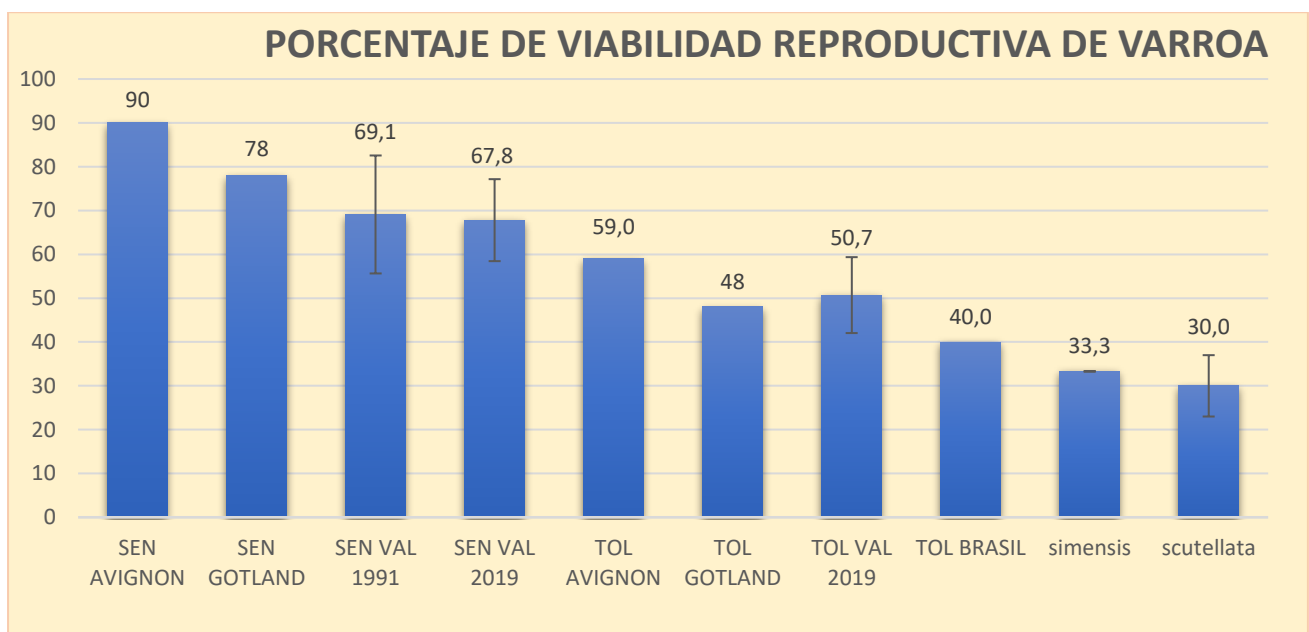


FIGURA 8.- Porcentaje de viabilidad reproductiva de varroa en las diferentes estirpes y subespecies de abejas (% $\pm$ desv.stand.)

Como hemos podido comprobar, el estudio de las anomalías y la viabilidad reproductiva de varroa es válido para detectar las diferencias entre colonias y puede mostrar la progresión de la tolerancia^{51,60}. Al analizar cada anomalía reproductiva, notamos que no siempre existe significación estadística entre las abejas tolerantes y sensibles, pero al analizarlas en conjunto, mediante el parámetro “viabilidad reproductiva”, se revelan las diferencias y se hace patente que este parámetro engloba las interferencias que el comportamiento higiénico y otros mecanismos fisiológicos provocan en la reproducción del parásito. En el

caso de las subespecies africanas, los valores elevados de infertilidad y la baja fecundidad de varroa, sustentan por sí solos la baja viabilidad reproductiva y, en la práctica, estas abejas pueden considerarse como resistentes al ácaro varroa.

Las abejas tolerantes de las subespecies europeas alcanzan valores intermedios de fecundidad y viabilidad reproductiva que pueden ralentizar el crecimiento poblacional de varroa, aunque pueda ser necesario controlar periódicamente la infestación mediante tratamientos acaricidas. Las abejas consideradas como sensibles presentan los valores más altos de fecundidad y viabilidad reproductiva, que resaltan gráficamente (Figuras 7 y 8) sobre las tolerantes europeas y las subespecies africanas. Todas estas consideraciones refuerzan la fiabilidad de esta metodología para detectar abejas con cierta tolerancia a varroa.

En el caso concreto de las abejas Tolerantes Valencia 2019, hemos podido seguir la regresión de la viabilidad reproductiva de varroa durante casi 30 años en un grupo de colonias que sufrieron presión selectiva, desde un 69% hasta un 50,7%. Sin embargo, no ha ocurrido así con las colonias de apicultores denominadas Sensibles Valencia 2019, que no habían sufrido procesos de selección o mortalidad significativa a causa de la varroosis y que presentan un valor de viabilidad de 67,8%, casi indistinguible del valor encontrado en 1991-93, apenas unos años después de la detección de la varroosis en Valencia.

Los resultados expuestos indican que, después de casi 30 años de varroosis en España, las colmenas que no han sufrido procesos significativos de selección, bien artificial o sufriendo mortalidad elevada por presión reiterada de varroa, apenas han desarrollado mecanismos de defensa que interfieran la reproducción del ácaro. Esta hipótesis encaja en la situación actual de la varroosis en España, que sigue provocando pérdidas y requiere de al menos dos tratamientos efectivos anuales para mantener el nivel por debajo del umbral de daños.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.

1. **Alkassab A. T.**, Thorbahn D., Frommberger M., Bischoff G., Pistorius J., **2020**.- Effect of contamination and adulteration of wax foundations on the brood development of honeybees.- *Apidologie* (2020) 51:642–651. DOI: [10.1007/s13592-020-00749-2](https://doi.org/10.1007/s13592-020-00749-2)
2. **Anderson D.L.**, Trueman J.W.H., **2000**.- *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one Species.- *Experimental & Applied Acarology* **24**: 165–189, (2000).

3. **Beetsma J.**, Boot W.J., Calis J., **1999**.- Invasion behaviour of *Varroa jacobsoni* Oud.: from bees into brood cells. *Apidologie*, Springer Verlag (Germany), 1999, 30 (2-3), pp.125-140. <hal-00891573>
4. **Berry J.A.**, Owens W.B., Delaplane K.S., **2009**. Small-cell comb foundation does not impede *Varroa* mite population growth in honey bee colonies.- *Apidologie* 41 (2010) 40–44 . DOI: [10.1051/apido/2009049](https://doi.org/10.1051/apido/2009049).
5. **Bogdanov, S.**, **2006**.- Contaminants of bee products.- *Apidologie* 37 (2006) 1–18. DOI: [10.1051/apido:2005043](https://doi.org/10.1051/apido:2005043).
6. **Boi M.**, Serra G., Colombo R., Lodesani M., Massi S., Costa C., **2015**.- A 10 year survey of acaricide residues in beeswax analysed in Italy.- *Pest Manag Sci* 2016; 72: 1366–1372.
7. **Büchler R.**, Berg S., Le Conte I., **2010**.- Breeding for resistance to *Varroa destructor* in Europe.- *Apidologie*, 41: 393-408. DOI: [10.1051/apido/2010011](https://doi.org/10.1051/apido/2010011).
8. **Calatayud F.** y Verdú M.J., **1994**.- Survival of the mite *Varroa jacobsoni* Oud (Mesostigmata: Varroidae) in broodless colonies of the honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae).- *Experimental & Applied Acarology*, 18(10): 603-612 (1994).
9. **Calatayud F.**, **1995**.- Dinàmica poblacional de l'àcar ectoparàsit *Varroa jacobsoni* OUD. (Acarina: Varroidae) en les colònies d'abelles mel·líferes *Apis mellifera* GOE. (Hymenoptera: Apidae).- Ph. D. Thesis, Universitat de València, 1995, 143 pp.
10. **Calatayud F.**, Verdú M.J., **1995**.- Number of adult female mites *Varroa jacobsoni* Oud. on hive debris from honey bee colonies artificially infested to monitor mite population increase (Mesostigmata: Varroidae).- *Experimental & Applied Acarology*, 19: 181-188 (1995).
11. **Calatayud F.**, Simó E., **2003**.- La varroosis de las abejas y sus patologías asociadas. Nuevos conocimientos y su aplicación práctica.- Sector Apícola de La Unió-COAG, Financiado UE-Feoga Garantía, Edicamp, València, 2003, 87 pp.
12. **Calatayud-Vernich P.**, Calatayud F., Simó E., Picó Y., **2017**.- Occurrence of pesticide residues in spanish beeswax.- *Science of the Total Environment* 605–606 (2017) 745–754. [dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.174](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.174)
13. **Calderone N. W.**, Kuenen L.P.S., **2003**.- Differential tending of worker and drone larvae of the honey bee, *Apis mellifera*, during the 60 hours prior to cell capping.- *Apidologie* 34 (2003) 543–552. DOI: [10.1051/apido:2003054](https://doi.org/10.1051/apido:2003054).
14. **Calis J.M.N.**, Fries I., Rylie S.C., **1999**.- Population modelling of *Varroa jacobsoni* Oud.- *Apidologie*, 30: 111-124 (1999).
15. **Carneiro F.E.**, Torres R.R., Strapazzon R., Ramírez S.A., Guerra jr. J.C.V., Koling D.F., Moretto G., **2007**.- Changes in the Reproductive Ability of the Mite *Varroa destructor* (Anderson e Trueman) in Africanized Honey Bees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae) Colonies in Southern Brazil.- *Neotropical Entomology* 36(6):949-952 (2007).
16. **Coffey M.F.**, Breen J., Brown M.J.F., McMullan J.B., **2010**.- Brood-cell size has no influence on the population dynamics of *Varroa destructor* mites in the native western honey bee, *Apis mellifera mellifera*.- *Apidologie* 41 (2010) 522–530. DOI: [10.1051/apido/2010003](https://doi.org/10.1051/apido/2010003).
17. **Correa-Marques M.H.**, Medina-Medina L., Martin S.J., De Jong D., **2003**.- Comparing data on the reproduction of *Varroa destructor*.- *Genetic and Molecular Research*, 2(1): 1-6 (2003).
18. **de Miranda J.R.**, Cordoni G., Budge G., **2010**.- The Acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex.- *Journal of Invertebrate Pathology* 103 (2010) S30–S47. [doi:10.1016/j.jip.2009.06.014](https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.014).

19. **Dietemann V.**, Nazzi F., Martin S.J., Anderson D.L., Locke B., Delaplane K., Wauquiez Q., Tannahill C., Frey E., Ziegelmann B., Rosenkranz P., Ellis J.D., **2013**.- Standard methods for varroa research.- *Journal of Apicultural Research* 52(1): (2013) © IBRA / DOI [10.3896/IBRA.1.52.1.09](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.09).
20. **Dietemann V.**, Xie Y., Liu Y., Zheng H., Dainat B., **2024**.- Recapping behavior in *Apis cerana*: does it contribute to resistance against *Varroa* spp.? - *Journal of Apicultural Research*, DOI: [10.1080/00218839.2024.2361941](https://doi.org/10.1080/00218839.2024.2361941), 2024.
21. **Donze G.**, Guerin P.M., **1994**. Behavioral attributes and parental care of Varroa mites parasitizing honeybee brood. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 34, 305–319.
22. **Dung N.V.**, Long L.T., Lan N.K., **1992**.- Duration of the Development stages from eggs to emergence of Vietnam *Apis cerana* Worker Bees.- En: “A International Conference on the Asian Honey Bees and Bee Mites, Bangkok, Tailandia, 9-14 de febrero de 1992, pp 83.
23. **Eynard S.E.**, Sann C, Basso B., Guirao A.L, Le Conte Y., Servin B., Tison L., Vignal A., Mondet F., **2020**.- Descriptive Analysis of the Varroa Non-Reproduction Trait in Honey Bee Colonies and Association with Other Traits Related to Varroa Resistance.- *Insects* 2020, 11, 492; doi:[10.3390/insects11080492](https://doi.org/10.3390/insects11080492).
24. **Fletcher D.J.C.**, **1978**.- The African Honey Bee, *Apis mellifera adansonii*, in Africa.- *Annual Review of Entomology*, 23: 151-171.
25. **Frey E.**, Rosenkranz P., **2014**.- Autumn Invasion Rates of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) Into Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies and the Resulting Increase in Mite Populations.- *Journal of Economic Entomology*, 107(2):508-515. 2014.[doi/full/10.1603/EC13381](https://doi.org/10.1603/EC13381).
26. **Fries I.**, Camazine S., Sneyd J., **1994**.- Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: A model and a review.- *Bee World*, 75: 5-28.
27. **Gebremedhn H.**, Amssalu B., Smet L.D., de Graaf D.C., **2019**.- Factors restraining the population growth of *Varroa destructor* in Ethiopian honey bees (*Apis mellifera simensis*).- *PLoS ONE* 14(9): e0223236.[/doi.org/10.1371/journal.pone.0223236](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223236).
28. **Grindrod I.**, Martin S.J., **2023**.- *Varroa* resistance in *Apis cerana*: a review.- *Apidologie* (2023) 54:14 [/doi.org/10.1007/s13592-022-00977-8](https://doi.org/10.1007/s13592-022-00977-8).
29. **Guzman-Novoa E.**, Corona M., Alburaki M., Reynaldi F.J., Invernizzi C., Fernández de Landa G. Maggi M., **2024**.- Honey bee populations surviving Varroa destructor parasitism in Latin America and their mechanisms of resistance. *Front. Ecol. Evol.* 12:1434490. doi: [10.3389/fevo.2024.1434490](https://doi.org/10.3389/fevo.2024.1434490).
30. **Harris J. W.**, Harbo J.R., Villa J.D., Danka R.G., **2003**.- Variable Population Growth of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Colonies of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) During a 10-Year Period.- *Environ. Entomol.* 32(6): 1305-1312 (2003).
31. **Harris J.W.**, **2007**.- Bees with Varroa Sensitive Hygiene preferentially remove mite infested pupae aged ≤ five days post capping.- *Journal of Apicultural Research and Bee World* 46(3): 134–139.
32. **Harris J.W.**, **2008**.- Effect of Brood Type on Varroa-Sensitive Hygiene by Worker Honey Bees (Hymenoptera: Apidae).- *Annals of the Entomological Society of America*, 101(6): 1137-1144 (2008).
33. **Harris J.W.**, Danka R.E., **2008**.- Varroa Reproductions Guideline.- Empire/Public Documents/Scientific Evidence/Varroa Reproductions Guideline/April 28, 2008.

34. **Harris J. W.**, Danka R. E., Villa J.A., **2010**.- Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) With the Trait of Varroa Sensitive Hygiene Remove Brood With All reproductive Stages of Varroa Mites (Mesostigmata: Varroidae).- Ann. Entomol. Soc. Am. 103(2): 146-152. DOI: [10.1603/AN09138](https://doi.org/10.1603/AN09138).
35. **Harris J.W.**, Danka R.G., Villa J.D., **2012**.- Changes in Infestation, Cell Cap Condition, and Reproductive Status of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Brood Exposed to Honey Bees With *Varroa* Sensitive Hygiene.- Ann. Entomol. Soc. Am. 105(3): 512-518 (2012); DOI: <http://dx.doi.org/10.1603>.
36. **Ibrahim A.**, Spivak M., **2006**.- The relationship between hygienic behavior and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. Apidologie 37 (2006) 31–40.- DOI: [10.1051/apido:2005052](https://doi.org/10.1051/apido:2005052).
37. **Ifantidis M.D.**, **1983**.- Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honey bee brood cells. Journal of Apicultural Research, 22: 200–206 (1983).
38. **Ifantidis M.D.**, Thrasyvoulou, A., Pappas, M., **1988**.- Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells.- Apidologie 19, 387–396.
39. **Ihle K.E.**, de Guzman L.E and Danka R.G., **2021**.- Social Apoptosis in *Varroa* Mite Resistant Western Honey Bees (*Apis mellifera*). - *Journal of Insect Science*, (2021) 22(1): 13; 1–11. doi.org/10.1093/jisesa/ieab087.
40. **Jay S.C.**, **1962**.- Colour changes of the honeybee pupae.- Bee World, 43(4): 119-122.
41. **Jay S.C.**, **1963**.- The development of honeybees in their cells.- Journal of Apicultural Research, 2(2): 117-134.
42. **Jobart B.**, Delatte H., Decante, D., Esnault, O., Lebreton, G., Blot, N., Clémencet, J., **2023**.- The post-capping period of the tropical honey bee subspecies *Apis mellifera unicolor* in La Réunion.- Apidologie (2023) 54:50 (2023).
43. **Kanbar G.**, Engels W., **2003**.- Ultrastructure and bacterial infection of wounds in honey bee (*Apis mellifera*) pupae punctured by *Varroa* mites.- Parasitol Res (2003) 90: 349–354. DOI [10.1007/s00436-003-0827-4](https://doi.org/10.1007/s00436-003-0827-4).
44. **Kraus B.**, Page R.E. jr, **1995**.- Population growth of *Varroa jacobsoni* Oud in Mediterranean climates of California.- Apidologie, (1995) 26: 149-157.
45. **Kulhanek K.**, Garavito A., vanEngelsdorp D., **2021**.- Accelerated *Varroa destructor* population growth in honey bee (*Apis mellifera*) colonies is associated with visitation from non-natal bees.- Scientific Reports, (2021) 11:7092. doi.org/10.1038/s41598-021-86558-8
46. **Langenbach K.**, **1993**.- Variabilität der Verdecklungsdeuer von Arbeiterinnen-Brutzellen bei *Apis mellifera* L. und Auswirkung auf die Reproduktion des Brutparasiten *Varroa jacobsoni* Oud.- PhD Thesis, Fachbereich Biologie der Johan Wolfgang Goethe Universität in Frankfurt am Main, 1993.
47. **Le Conte Y.**, Cornuet J.H., **1989**.- Variability of the post-capping stage duration of the worker brood in the three different races of *Apis mellifera*.- En: Present status of varroaosis in Europe and progress in the *Varroa* Mite Control, Proceedings of a meeting of the EC-experts Group, Udine (Italia), 28-30 de noviembre, 1988, pp 171-174.
48. **Le Conte Y.**; De Vaublanc, G.; Crauser, D.; Jeanne, F.; Rousselle, J.C.; Becard, J.M., **2007**.- Honey bee colonies that have survived *Varroa destructor*.- Apidologie 38: 566–572 (2007).
49. **Le Conte Y.**, Meixner M.D., Brandt A., Carreck N.L., Costa C., Mondet F. and Büchler R., **2020** .- Geographical Distribution and Selection of European Honey Bees Resistant to *Varroa destructor*.- Insects 2020, 11, 873; [doi:10.3390/insects11120873](https://doi.org/10.3390/insects11120873).
50. **Lin Z.**, Qin Y., Page P., Wang S., Li L., Wen Z., Hu F., Neumann P., Zheng H., | Dietemann V., **2017**.- Ecology and Evolution, 2017: 2135-2145.- Reproduction of parasitic mites *Varroa destructor* in original and new honeybee hosts. DOI: [10.1002/ece3.3802](https://doi.org/10.1002/ece3.3802).

51. **Locke B.**, Le Conte Y., Crauser D., Fries I., **2012.**- Host adaptations reduce the reproductive success of *Varroa destructor* in two distinct European honey bee populations. *Ecology and Evolution* 2012; 2(6):1144–1150. doi: [10.1002/ece3.248](https://doi.org/10.1002/ece3.248).
52. **Locke B.**, **2015.**- Natural Varroa mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations.- *Apidologie*, DOI: [10.1007/s13592-015-0412-8](https://doi.org/10.1007/s13592-015-0412-8).
53. **Martin S.J.**, **1994.** Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud in worker brood of the honey bee *Apis mellifera* L. under natural conditions.- *Experimental & Applied Acarology*, 18: 87-100 (1994).
54. **Martin S.J.**, **1998.** A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies.- *Ecological Modelling*, 109: 267-281 (1998).
55. **Martin S.J.**, Hawkins G.P., Brettell L.E., Reece M., Correia-Oliveira M.E. Allsopp M.H., **2019.**- *Varroa destructor* reproduction and cell re-capping in mite-resistant *Apis mellifera* populations.- *Apidologie* (2020) 51:369–381. DOI: [10.1007/s13592-019-00721-9](https://doi.org/10.1007/s13592-019-00721-9).
56. **McAfee A.**, Chapman A, Iovinella I., Gallagher-Kurtzke Y., Collins T.F., Higo H., Madilao L.L., Pelosi P., Foster L.J., **2018.**- Death pheromone, oleic acid, triggers hygienic behavior in honey bees (*Apis mellifera* L.).- *Scientific Reports* (2018) 8:5719 | DOI:[10.1038/s41598-018-24054-2](https://doi.org/10.1038/s41598-018-24054-2).
57. **Medina L.**, Martin S.J., **1999.**- A comparative study of *Varroa jacobsoni* reproduction in worker cells of honey bees (*Apis mellifera*) in England and Africanized bees in Yucatan, Mexico.- *Experimental and Applied Acarology* 23: 659–667(1999).
58. **Medina L.**, Martin S.J., Espinosa-Montaña L., Ratnieks F.L.W., **2002.**- Reproduction of *Varroa destructor* in worker brood of Africanized honey bees (*Apis mellifera*).- *Experimental and Applied Acarology*, 27:79-88 (2002).
59. **Mondet F.**, Beaufrepaire A., McAfee A., Locke B., Alaux C., Blanchard S., Danka B., Le Conte Y., **2020.**- Honey bee survival mechanisms against the parasite *Varroa destructor*: a systematic review of phenotypic and genomic research efforts.- *International Journal for Parasitology* 50 (2020) 433–447 /doi.org/[10.1016/j.ijpara.2020.03.005](https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.03.005).
60. **Mondet F.**, Parejo M., Meixner M.D., Costa C., Kryger P., Andonov S., Servin B., Basso B., Bienkowska M., Bigio G., Cauia E., Cebotari V., Dahle B., Dražić M.M., Hatjina F., Kovacic M., Kretavicius J., Lima A.S., Panasiuk B., Pinto M.A., Uzunov A., Wilde J. and Büchler R., **2020.**- Evaluation of Suppressed Mite Reproduction (SMR) Reveals Potential for Varroa Resistance in European Honey Bees (*Apis mellifera* L.).- *Insects* **2020**, 11, 595; doi:[10.3390/insects11090595](https://doi.org/10.3390/insects11090595).
61. **Mondragon L.**, Martin S., Vandame R., **2006.**- Mortality of mite offspring: a major component of *Varroa destructor* resistance in a population of Africanized bees. *Apidologie*, Springer Verlag, 2006, 37 (1), pp.67-74 /DOI: [10.1051/apido:2005053](https://doi.org/10.1051/apido:2005053).
62. **Morfin N.**, Goodwin P.H. Guzman-Novoa E., **2023.**- Varroa destructor and its impacts on honey bee biology.- *Front. Bee Sci.* 1:1272937. doi: [10.3389/frbee.2023.1272937](https://doi.org/10.3389/frbee.2023.1272937).
63. **Moritz R.F.A.**, **1985.**- Heritability of the postcapping stage in *Apis mellifera* and its relation to varroaosis resistance. *J. Hered.* 76(4), 267–270.
64. **Moritz R.F.A.**, Jordan M., **1992.**- Selection of resistance against *Varroa jacobsoni* across caste and sex in the honeybee (*Apis mellifera* L., Hymenoptera: Apidae).- *Experimental & Applied Acarology*, 16(4): 345-353.
65. **Mullin C. A.**, Frazier M., Frazier J.L., Ashcraft S., Simonds R., vanEngelsdorp D., Pettis J.S., **2010.**- High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health.- *PLoS ONE* 5(3): e9754. doi:[10.1371/journal.pone.0009754](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009754).

66. **Nganso B.T.**, Ayuka T. Fombong¹, Abdullahi A. Yusuf², Christian W. W. Pirk², Charles Stuhl³ and Baldwin Torto^{1,2} **2018**.- Low fertility, fecundity and numbers of mated female offspring explain the lower reproductive success of the parasitic mite *Varroa destructor* in African honeybees.-
67. **Oddie M.A.Y.**, Dahle B., Neumann P., **2018**.- Reduced Postcapping Period in Honey Bees Surviving *Varroa destructor* by Means of Natural Selection.- Insects, 9, 149; doi:10.3390/insects9040149
68. **Oddie M.A.Y.**, Neumann P., Dahle B., **2019**.- Cell size and *Varroa destructor* mite infestations in susceptible and naturally-surviving honeybee (*Apis mellifera*) colonies.- Apidologie (2019) 50:1–10 /DOI: 10.1007/s13592-018-0610-2.
69. **Oldroyd B. P.**, **1999**.- Coevolution while you wait: *Varroa jacobsoni*, a new parasite of western honeybees.- Trends Ecol. Evol. 14, 312–315. doi: 10.1016/S0169-5347(99)01613-4.
70. **Ostiguy N.**, Drummond F.A., Aronstein K., Eitzer B., Ellis J.D., Spivak M., Sheppard W.S., **2019**.- Honey Bee Exposure to Pesticides: A Four-Year Nationwide Study.- Insects **2019**, 10, 13; doi:10.3390/insects10010013
71. **Page P.**, Lin Z., Buawangpong N., Zheng H., Hu F., Neumann P., Chantawannakul P., Dietemann V., **2016**.- Social apoptosis in honey bee superorganisms.- Scientific Reports | 6:27210 | DOI: 10.1038/srep27210.
72. **Peck D.T.**, Seeley T.D., **2019**.- Mite bombs or robber lures? The roles of drifting and robbing in *Varroa destructor* transmission from collapsing honey bee colonies to their neighbors. PLoS ONE 14(6): e0218392. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218392>
73. **Piccirillo G.A.**, De Jong D., **2003**.- The influence of brood comb cell size on the reproductive behavior of the ectoparasitic mite *Varroa destructor* in Africanized honey bee colonies.- Genetics and Molecular Research, 2(1):36-42.
74. **Piou V.**, Tabart J., Urrutia V., Hemptinne J-L., Vétillard A., **2016**.- Impact of the Phoretic Phase on Reproduction and Damage Caused by *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) to Its Host, the European Honey Bee (*Apis mellifera* L.). PLoS ONE 11(4): e0153482. Doi:10.1371/journal.pone.0153482.
75. **Piou V.**, Vétillard A., **2020**.- *Varroa destructor* rearing in laboratory conditions: importance of foundress survival in doubly infested cells and reproduction of laboratory-born females.- Apidologie, 51:968–983. DOI: 10.1007/s13592-020-00775-0.
76. **Posada-Florez F.**, Lamas Z.S., Hawthorne D.J., Chen Y., Evans J.D., Ryabov E.V., **2021**.- Pupal cannibalism by worker honey bees contributes to the spread of deformed wing virus.- Scientific Reports | (2021) 11:8989 | doi.org/10.1038/s41598-021-88649-y.
77. **Ramsey S. D.**, Ochoa R., Bauchan G., Gulbranson C., Mowery, J. D., Cohene A., Lima D., Joklika J., Cicerof J.M., Ellis J.D., Hawthorne D., vanEngelsdorp D., **2019**.- *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph.- Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 116, 1792–1801. doi: 10.1073/pnas.1818371116.
78. **Rath W.**, **1992**.- The key to Varroa – the drones of *Apis cerana* and their cell cap.- American Bee Journal, 132 (5), 329–331.
79. **Rath W.**, **1999**.- Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa jacobsoni* Oud.- Apidologie, 30, 97–110. <https://doi.org/10.1051/apido:19990202>.
80. **Reams T.** and Rangel J., **2020**.- Understanding the Enemy: A Review of the Genetics, Behavior and Chemical Ecology of *Varroa destructor*, the Parasitic Mite of *Apis mellifera*.- Journal of Insect Science, (2022) 22(1): 18; 1–10. /doi.org/10.1093/jisesa/ieab101.

81. **Rehm, S.M.**, Ritter, W., 1989.- Sequence of the sexes in the offspring of *Varroa jacobsoni* and resulting consequences for the calculation of the developmental period.- *Apidologie* 20, 339–343.
82. **Rinderer T.E.**; Kuznetsov, V.N.; Danka, R.G.; Delatte, G.T., **1997**.- An importation of potentially *Varroa*-resistant honey bees from far-eastern Russia.- *Am. Bee J.* 1997, 137, 787–789.
83. **Rodríguez A.**, Grindrod I., Webb G., Pérez A., Martin S.J., **2022**.- Recapping and mite removal behaviour in Cuba: home to the world's largest population of *Varroa*-resistant European Honeybees.- *Scientific Reports* (2022) 12:15597/doi.org/10.1038/s41598-022-19871-5.
84. **Rosenkranz P.**, Aumeier P., Ziegelmann B., **2010**.- Biology and control of *Varroa destructor*.- *Journal of Invertebrate Pathology* 103 (2010) S96–S119.- [doi:10.1016/j.jip.2009.07.016](https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016).
85. **Saucy F.**, **2014**.- On the natural cell size of European honey bees: a “fatal error” or distortion of historical data?.- *Journal of Apicultural Research*, 53:3, 327-336, DOI: [10.3896/IBRA.1.53.3.01](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.3.01).
86. **Seeley T.D.**, **2007**.- Honey bees of the Arnot Forest: A population of feral colonies persisting with *Varroa destructor* in the northeastern United States. *Apidologie* **2007**, 38, 19–29.
87. **Schöning C.**, Gisder S., Geiselhardt S., Kretschmann I., Bienefeld K., Hilker M., Genersch E., **2012**.- Evidence for damage-dependent hygienic behaviour towards *Varroa destructor* parasitised brood in the western honey bee, *Apis mellifera*.- *The Journal of Experimental Biology* 215, 264-271. /[doi:10.1242/jeb.062562](https://doi.org/10.1242/jeb.062562).
88. **Steinhauer N.**, Kulhanek K., Antúnez K., Human H., Chantawannakul P., Chauzat M.P., vanEngelsdorp D., **2018**.- Drivers of colony losses.- *Current opinion in Insect Science*, Volume 26, April 2018: 142-148. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.02.004>.
89. **Strauss U.**, Dietemann V., Human H., Crewe R.M., Pirk C.W.W., **2016**.- Resistance rather than tolerance explains survival of savannah honeybees (*Apis mellifera* scutellata) to infestation by the parasitic mite *Varroa destructor* *Parasitology* (2016), 143, 374–387./[doi:10.1017/S0031182015001754](https://doi.org/10.1017/S0031182015001754).
90. **Techer M.A.**, Rane R.V., Grau M.L., Roberts J.M.K., Sullivan S.T., Liachko I., Childers A.K., Evans J.D., Mikheyev A.S., **2019**.- Divergent evolutionary trajectories following speciation in two ectoparasitic honey bee mites.- *COMMUNICATIONS BIOLOGY* | (2019) 2:357 | <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0606-0>.
91. **Traynor K.S.**, Mondet F., de Miranda J.R., Techer M., Kowallik V., Oddie M.A.Y., Chantawannakul P., McAfee A., **2020**.- *Varroa destructor*: A Complex Parasite, Crippling Honey Bees Worldwide.- *Trends in Parasitology*, July 2020, Vol. 36, No. 7 <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.04.004>.
92. **vanEngelsdorp D.**, Tarpy D.R., Lengerich E.J., Pettis J.S., **2013**.- Idiopathic brood disease syndrome and queen events as precursors of colony mortality in migratory beekeeping operations in the eastern United States.- *Preventive Veterinary Medicine* 108 (2013) 225–233
93. **Villa J.D.**, Danka R.D., Harris J.W., **2009**.- Simplified methods of evaluating colonies for levels of *Varroa* Sensitive Hygiene (VSH).- *Journal of Apicultural Research and Bee World* 48(3): 162-167. /[doi 10.3896/IBRA.1.48.3.03](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.48.3.03).
94. **Wagoner K.**, Spivak M., Hefetz A., Reams T., Rueppell O., **2019**.- Stock-specific chemical brood signals are induced by *Varroa* and Deformed Wing Virus, and elicit hygienic response in the honey bee.- *Scientific Reports* | (2019) 9:8753 /doi.org/10.1038/s41598-019-45008-2.
95. **Wagoner K.**, Millar J.G., Keller J., Bello J., Waiker P., Schal C., Spivak M., Rueppell O., **2021**.- Hygiene-Eliciting Brood Semiochemicals as a Tool for Assaying Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colony Resistance to *Varroa* (Mesostigmata: Varroidae).- *Journal of Insect Science*, (2021) 21(6): 4; 1–13 /doi.org/10.1093/jisesa/ieab064.

96. **Wang S.**, Lin Z., Chen G., Page P., Hu F., Niu Q., Su X., Chantawannakul P., Neumann P., Zheng H., Dietemann V., **2020**.- Reproduction of ectoparasitic mites in a coevolved system: *Varroa* spp.—Eastern honey bees, *Apis cerana*.- *Ecology and Evolution*. 2020;10:14359–14371. DOI: [10.1002/ece3.7038](https://doi.org/10.1002/ece3.7038)
97. **Wu J.Y.**, Anelli C.M., Sheppard W.S., **2011**.- Sub-Lethal Effects of Pesticide Residues in Brood Comb on Worker Honey Bee (*Apis mellifera*) Development and Longevity. PLoS ONE 6(2): e14720. doi:[10.1371/journal.pone.0014720](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014720).
98. **Zhang L.**, Shao L., Raza M.F., Zhang Y., Li Z., Huang Z.Y., Chen Y., Su S., Han R., Li W., 2024.- Large cells suppress the reproduction of *Varroa destructor*.- Pest Manag. Science, 80(10):5224-5232. doi:[10.1002/ps.8249](https://doi.org/10.1002/ps.8249).