

# Comportamiento del ácaro *Varroa destructor* en celdas, con cría de obrera, de abejas africanizadas (*Apis mellifera*)

## Behaviour of the *Varroa destructor* mite in worker brood cells of Africanized honey bees (*Apis mellifera*)

Rafael A. Calderón<sup>1</sup>, Natalia Fallas<sup>1</sup>; Marianyela Ramírez<sup>1</sup>

1 Programa Integrado de Patología Apícola, Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. Correos electrónicos: [rafael.calderon.fallas@una.cr](mailto:rafael.calderon.fallas@una.cr) / [natalia.fallas.matamoros@una.cr](mailto:natalia.fallas.matamoros@una.cr) / [marianyela.ramirez.montero@una.cr](mailto:marianyela.ramirez.montero@una.cr)

**Recibido:** 17 de julio de 2017. **Corregido:** 27 de noviembre de 2017. **Aceptado:** 01 de diciembre de 2017.

### Resumen

Se estudia el comportamiento del ácaro *Varroa destructor* en celdas, con cría de obrera, de abejas africanizadas. Se utiliza cuatro colmenas ubicadas en Barreal de Heredia. Dos colmenas se seleccionan para estimular la oviposición de la reina en celdas artificiales, mientras que las dos colmenas restantes se usan para coleccionar los ácaros. Una vez sellada la celda, se infesta, artificialmente, con un ácaro. Luego es colocada en una incubadora con control de temperatura y humedad. La observación de la larva y las principales actividades, realizadas por el ácaro dentro de celda, se registran utilizando una micro-cámara, la cual envía la señal a un equipo de grabación de larga duración. Los parámetros evaluados, para cada ácaro, son: comportamiento de alimentación y defecación, períodos de inactividad y análisis reproductivo. El comportamiento de alimentación del ácaro *V. destructor* varió entre los estadios de larva y pupa, alimentándose 6.5 veces por día en el estadio larval, sin mostrar preferencia por un sitio de alimentación. Mientras que en la pupa, el ácaro varroa se alimentó 3.4 veces por día, estableciendo un sitio de alimentación. Se determina que el ácaro varroa defeca con mayor frecuencia durante los primeros días de observación. La mayoría de ácaros establece un sitio de acumulación fecal, en la región posterior de la pared de la celda, con un diámetro aproximado de 0.3 mm. Durante los períodos de inactividad, varroa se mantiene, principalmente, en este sitio, al permanecer, en promedio 67.1 min por día (n = 20). En un 25% (n = 28) de las celdas, la larva presenta desplazamientos continuos en forma longitudinal, dirigiéndose hacia el ácaro, con una duración promedio de  $874.9 \pm 262.2$  min por día (n = 7). La mayoría de los ácaros analizados no se reprodujo (85.7%); aquellos que lo hicieron produjeron, principalmente, cría inmadura (10.7%).

**Palabras clave:** *Varroa destructor*, comportamiento, alimentación, defecación, reproducción.

### Abstract

The behaviour of the *Varroa destructor* mite was studied in worker brood cells of Africanized honey bees. Four colonies located in Barreal de Heredia were used. Two of the colonies were selected to allow the queen to lay eggs in the artificial cells, while the other two were used to collect adult mites. Once the cell is sealed, it is artificially infested with a mite and placed in an incubator with controlled temperature and humidity. The larva as well as the mite's activities within the cell are observed and recorded using a micro-camera, which sends the signal to long-duration recording equipment. Parameters evaluated for each mite include feeding and defecation behavior, periods of inactivity, and reproductive analysis. The feeding behavior of the *V.*

 Autor para correspondencia [rafael.calderon.fallas@una.cr](mailto:rafael.calderon.fallas@una.cr)

*destructor* mite varied between the larval and pupal stages. The varroa mite fed 6.5 times per day during the larval stage and showed no preference for a feeding site, while it fed 3.4 times per day during the pupal stage and used a particular feeding site. It is determined that the varroa mite shows a preference for defecation during the first days of observation. Most of the infested cells have one fecal accumulation site of 0.3 mm diameter in the posterior part of the cell and it was the favorite resting site for the mite, where it spent 67.1 min per day (n = 20). Longitudinal displacements were observed in 25.0% (n = 28) of the analyzed bee larva. Turning movements around the cell, from the bottom to the top, were carried out by these larva, with a total time of  $874.9 \pm 262.2$  min per day (n = 7). Most of the mites analyzed did not reproduce (85.7%) and those that did produced mainly immature brood (10.7%).

Keywords: *Varroa destructor*; behavior; feeding; defecation; reproduction

## Introducción

La Varroosis es una enfermedad parasitaria de gran importancia para la apicultura a nivel mundial. Se ha reportado que colmenas infestadas con este ácaro no sobreviven, a menos que se apliquen medidas efectivas de control (Bailey & Ball 1991). El agente causal de esta parasitosis es el ácaro *Varroa destructor*, el cual es originario de Asia y se describe en 1904, por Oudemans, en Java, Indonesia, al infestar celdas de zángano en abejas *Apis cerana*, su hospedero natural (Bailey & Ball 1991). Este ácaro se encuentra en la mayoría de los países centroamericanos, incluyendo Costa Rica, en donde se detectó, por primera vez, el 26 de setiembre de 1997, en el Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), al analizar muestras de cría y de abejas adultas, procedentes de la zona de los Santos (Calderón *et al.* 1998; van Veen *et al.* 1998).

El ácaro *V. destructor* es, primariamente, un parásito de la cría. Necesita, obligatoriamente, de ella para reproducirse. Aunque prefiere la cría de zángano, también infesta las celdas de obrera (Calderón *et al.* 2007). La hembra fecunda de varroa abandona la abeja adulta, de cuya hemolinfa se alimenta e ingresa a una celda con cría, unas horas antes de ser operculada. Dentro de la celda, el ácaro se desplaza hacia el fondo y se sumerge en el alimento larval; posteriormente, se traslada hacia la pupa para alimentarse e iniciar su reproducción (Bailey & Ball 1991). Para establecer el sitio de alimentación, el ácaro perfora el tegumento externo de la piel de la pupa y, de esta manera, succiona su hemolinfa. Este sitio se usa, repetidamente, por el ácaro madre para alimentarse y mantenerlo activo; así, ser usado por su progenie. Diferentes investigaciones señalan los segmentos abdominales de la pupa como los lugares en los cuales el ácaro establece su sitio de alimentación, debido a que son las áreas menos queratinizadas (Kanbar & Engels 2004a).

Luego de alimentarse, el ácaro varroa inicia la postura de huevos. La hembra deposita un máximo de seis huevos en una celda de obrera; siete en una de zángano. El primer huevo es puesto 60 horas (hrs) después de que la celda es operculada (Donzé *et al.* 1998). Los siguientes huevos son colocados a intervalos de unas 30 hrs. Del primer huevo emerge un macho, del resto hembras, con las cuales, eventualmente, el macho se aparea dentro de la celda operculada, antes de que la abeja emerja (Bailey & Ball 1991).

Dentro de la celda, el ácaro *V. destructor* selecciona uno o más sitios en la pared de la celda para depositar sus heces. A este se le denomina sitio de acumulación fecal. Usualmente, la hembra de varroa lo ubica en la parte posterior de la celda, cerca de la zona anal de la abeja (Donzé *et al.* 1998). Este sitio es de gran importancia para la hembra de varroa y sus descendientes, dado que, en él se realiza una serie de actividades

relacionadas con diferentes comportamientos, como la oviposición y los períodos de inactividad.

Observaciones del comportamiento del ácaro varroa, directamente dentro de la celda, en abejas africanizadas, han sido escasamente reportadas. Se ha realizado algunos estudios en abejas *A. mellifera* en países con clima templado (Donzé *et al.* 1998), siendo la investigación en países con condiciones tropicales limitada. Algunos aspectos, que se pueden estudiar mediante esta investigación, están relacionados con el comportamiento de alimentación, la ubicación del sitio de deposición de heces y su relación con el lugar seleccionado por el ácaro en la pupa para alimentarse. Asimismo, es posible determinar, con certeza, los sitios sobre la pupa, en los cuales el ácaro se alimenta y el tiempo que emplea para realizarlo.

Estudiar el comportamiento del ácaro *V. destructor*, en celdas operculadas de obrera en abejas africanizadas de manera continua, es un proceso innovador que permite ampliar el conocimiento de la relación hospedero-parásito, mediante observaciones que describen y analizan, de forma precisa, las principales actividades realizadas por este ácaro en abejas africanizadas. Por consiguiente, el objetivo principal de este estudio consiste en determinar el comportamiento de alimentación, defecación y reproducción del ácaro *V. destructor* en celdas con cría sellada de obrera en abejas africanizadas.

## Materiales y métodos

### Ubicación geográfica

El estudio se lleva a cabo en el Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), Universidad Nacional, localizado en Barreal de Heredia (10° 01' N, 84° 07' O; 1040 msnm). Se utiliza cuatro colmenas de abejas africanizadas. Dos colmenas se seleccionan para inducir la oviposición de la reina en celdas artificiales. Las dos colmenas restantes presentan un porcentaje considerable de infestación con varroa, por lo cual, se utilizan para colectar los ácaros e infestar las celdas artificiales.

Las celdas artificiales de obrera están fabricadas de poliestireno, ensambladas en una base plástica, transparentes, sin olor, con un diámetro de 5.1 mm y una longitud de 15.0 mm (Donzé *et al.* 1998). Antes de colocarlas en el panal, son recubiertas con papel autoadhesivo transparente para facilitar la limpieza y remoción de la cera.

### Manejo de las celdas artificiales en la colmena y el laboratorio

Una vez seleccionados los panales con cría de obrera, se colocan, entre 5 y 10 celdas artificiales, introduciéndolas en celdas naturales vacías, preferiblemente alrededor de la cría abierta (huevos), con el fin de garantizar que la reina ovipositará en ellas. Para establecer la ubicación exacta de dichas celdas en el panal, se utiliza láminas de transparencia, sobre las cuales se delinea un círculo con un marcador permanente. Estas láminas son fijadas temporalmente al panal con chinches metálicos de cabeza ancha. Una vez ubicadas las celdas, los panales se regresan a la colmena experimental. Las celdas artificiales se revisan periódicamente hasta que las abejas las opercularan de manera natural. Luego son trasladadas al laboratorio para infestadas, artificialmente, con ácaros hembra adultos, provenientes de celdas de obrera.

Para introducir el ácaro en las celdas artificiales, se realiza una pequeña incisión en la base del opérculo, con una hoja de bisturí #15. Se utiliza un pincel de brocha fina. El ácaro es transferido al interior de la celda. Posteriormente, la celda se sella, colocando nuevamente el opérculo en su posición original.

Una vez infestadas las celdas, se colocan en una incubadora provista con Dióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>) y un sistema interno de agua, lo cual permite mantener las condiciones de temperatura (35°C) y humedad relativa (60-65%) constantes, simulando las que ocurren internamente en una colmena.

Dentro de la incubadora se coloca una micro-cámara de video tipo Bio-VID (LW Scientific Inc., serial No. U3000107), en un soporte metálico, en una posición perpendicular. La celda artificial, infestada con el ácaro, se ubica a una distancia prudencial del lente de la cámara (1.0 cm.), permitiendo la observación directa de la larva y el detalle de las principales actividades realizadas por el ácaro. Asimismo, dentro de la incubadora, se instala una lámpara provista con un bombillo de 12 W recubierto con papel celofán rojo, lo cual permite la iluminación suficiente de la celda.

La señal de la micro-cámara de video se envía a un equipo de grabación de larga duración, tipo VHS, por medio de un cable de fibra óptica, permitiendo obtener una imagen de alta resolución. La grabación de cada celda se realiza por un período máximo de ocho días (192 hrs. a 1 imagen / seg.) (rango cinco-ocho días), el cual depende de la condición del ácaro o de la cría. Los primeros tres días de observación corresponde al estadio de larva; los cuatro días restantes, a la fase de pupa. En algunas ocasiones, el ácaro muere o la larva no se desarrolla adecuadamente (presencia de Loque Europeo o Cría de Tiza). Por cada período de grabación se utiliza una celda. Aquellas celdas, selladas de manera simultánea, se colocan en la incubadora para registrar únicamente los datos relacionados con el comportamiento de defecación y el sitio de alimentación.

### Revisión de las celdas

Una vez finalizado el período de grabación, se revisa, detalladamente, el interior de la celda, retirando el opérculo y removiendo la pupa y el ácaro. Para la pupa, se determina su desarrollo y condición general, evaluando su tamaño y coloración. Asimismo, se evalúa el estado físico del ácaro, registrando algunos parámetros como: movimiento de apéndices, locomoción y presencia de lesiones en su idiosoma y extremidades. Además, se analiza su reproducción, identificando los diferentes estadios con un estereoscopio. La progenie se registra de acuerdo con la cantidad presente y a su estadio de desarrollo (huevo, protoninfa, deutoninfa o adulto).

### Sitio de defecación

El fondo de la celda se revisa cuidadosamente con una fuente de luz, para identificar los sitios en los cuales el ácaro deposita sus heces (sitio de acumulación fecal). Se registra el número de sitios, la longitud y su posición en la pared de la celda. Para efectos de este trabajo, la celda se divide en tres partes (anterior, media y posterior), cada una de 5.0 mm de longitud.

### **Sitio de alimentación**

Para determinar el sitio de alimentación del ácaro en la pupa, cada una de ellas se coloca en viales de vidrio, que contienen 20 ml de una solución del colorante azul de tripano, por un período de 30 minutos, a temperatura ambiente. Cada pupa se revisa minuciosamente en el estereoscopio (7x), con la finalidad de ubicar el sitio de alimentación, el cual se distingue sobre la cutícula de la pupa, pues presenta una forma circular de coloración azulada. Se reporta su ubicación a nivel de cabeza, tórax y abdomen (se indica el número de segmento abdominal), así como su orientación dorsal o ventral. Asimismo, para ampliar el tamaño de la muestra, se analizan pupas de 15 a 20 días de edad, provenientes de celdas naturales de obrera infestadas con el ácaro varroa.

### **Parámetros evaluados para cada ácaro**

La grabación de cada celda es analizada en el laboratorio, determinando las principales actividades realizadas por el ácaro: alimentación, defecación y reproducción.

### **Comportamiento de alimentación**

Corresponde a los períodos en los cuales el ácaro permanece adherido a la pupa, mediante sus quelíceros (succionando la hemolinfa) al realizar movimientos vibratorios. Para este comportamiento, se determina la duración y frecuencia.

### **Comportamiento de defecación**

Períodos en los cuales el ácaro se ubica sobre la pared de la celda y deposita sus heces.

### **Inactividad**

Períodos en los cuales el ácaro no registra movimiento o actividad alguna, manteniéndose en un punto determinado de la pared de la celda.

### **Comportamiento reproductivo**

Corresponde al análisis de la reproducción de cada ácaro, identificando los diferentes estadios.

### **Desplazamiento de la larva**

Se denomina al movimiento realizado por ciertas larvas dentro de la celda, las cuales se desplazan longitudinalmente entre la sección anterior y posterior de manera continua.

### **Análisis estadístico**

Para determinar diferencias en la frecuencia y el tiempo de alimentación de la varroa, entre los estadios de larva y pupa, se utiliza la prueba de Chi-cuadrado. Además, se analiza la relación entre el sitio de

alimentación y el de defecación del ácaro, mediante un análisis de correlación. La mayoría de resultados se presentan como promedios con su respectiva desviación estándar.

## Resultados

Para determinar el comportamiento del ácaro varroa dentro de la celda de obrera, se observa un total de 28 celdas artificiales. Sin embargo, no todas las celdas se analizan debido a diferentes circunstancias, como mortalidad del ácaro y enfermedad de la cría.

### Comportamiento de alimentación

El comportamiento de alimentación varía considerablemente durante el período de observación dentro de la celda. Al ingresar el ácaro a la celda, se alimenta, frecuentemente, de la larva ( $0.3 \pm 0.2$  veces por h) ( $n = 20$ ) y por un período de  $8.7 \pm 8.4$  min por h ( $n = 20$ ). En este estadio de larva, el ácaro no muestra preferencia por un determinado sitio de alimentación. Una vez que la larva mude, el ácaro se alimenta con menor frecuencia de la pupa ( $0.1 \pm 0.1$  veces por h) ( $n = 20$ ), y por un período de  $6.2 \pm 4.0$  min por h ( $n = 20$ ). A diferencia de la larva, el ácaro varroa selecciona, en la mayoría de casos (92.4%), un mismo sitio en la pupa para alimentarse.

### Frecuencia de alimentación

Al analizar diariamente la alimentación de varroa, se debe indicar que durante los primeros tres días de observación, los cuales corresponden al estadio de larva, se alimenta con mayor frecuencia: 6.0, 7.9 y 6.5 veces / día respectivamente ( $n = 20$ ) (Figura 1).

Durante el segundo día, el ácaro se alimenta con mayor frecuencia, con un máximo de 7.9 veces, mientras que el valor mínimo de alimentación se registra el sexto día con 3.7 veces (Figura 1). El ácaro se alimenta de la larva  $6.5 \pm 3.7$  veces por día ( $n = 20$ ), mientras que en la pupa lo hace  $3.4 \pm 1.9$  veces por día ( $n = 20$ ), observándose diferencias significativas ( $X^2 = 38.4$ ,  $P < 0.01$ ).

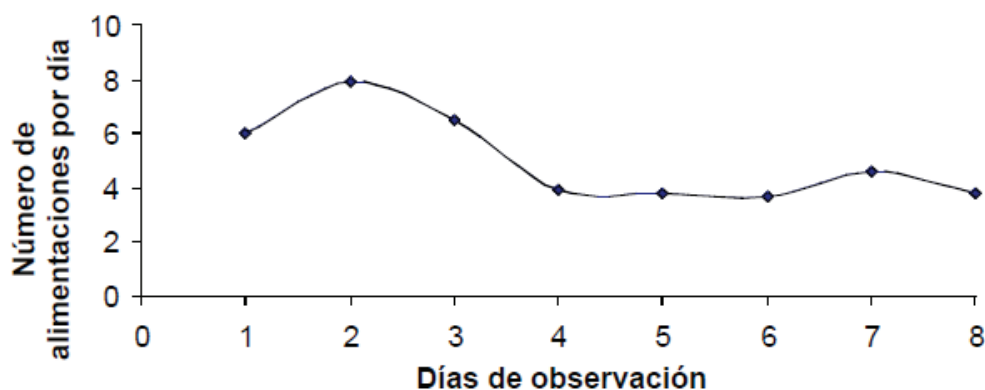


Figura 1. Frecuencia de alimentación del ácaro varroa en celdas artificiales con cría de obrera.

### Tiempo de alimentación

El período máximo de alimentación de varroa se registra el segundo día y corresponde a  $220.1 \pm 270.2$  min por día. Mientras que el período mínimo de alimentación se observa el octavo día, correspondiendo a  $119.6 \pm 89.3$  min por día (Figura 2).

Al analizar los ocho días de observación, se debe indicar que el ácaro se alimenta de la larva un promedio de  $200.5 \pm 171.9$  min por día ( $n = 20$ ), mientras que en la pupa lo hace en promedio  $149.1 \pm 96.0$  min por día ( $n = 20$ ). La primera alimentación del ácaro en la pupa tiene una duración de  $35.3 \pm 23.9$  min ( $n = 20$ ); mientras que en la larva es de  $8.4 \pm 5.8$  min ( $n = 20$ ) ( $X^2 = 114.5$ ,  $P < 0.001$ ).

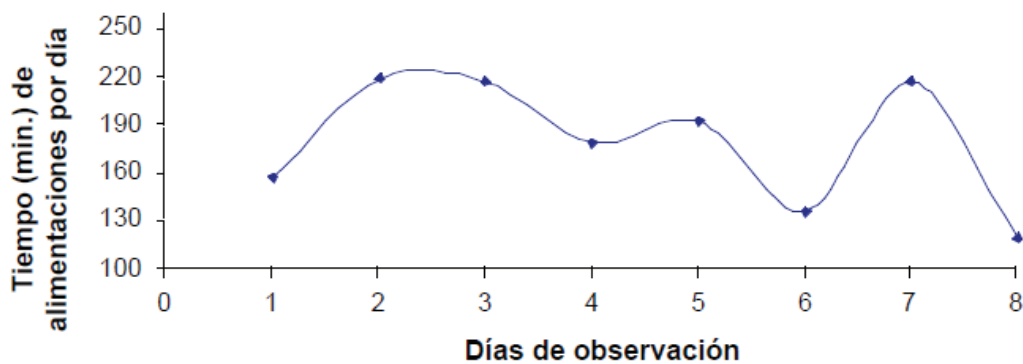


Figura 2. Tiempo de alimentación del ácaro varroa en celdas con cría de obrera.

### Sitio de alimentación

El sitio de alimentación se ubica a nivel de abdomen ( $n = 77$ ) y tórax ( $n = 5$ ); no se observa alguno en la región de la cabeza (Cuadro 1). A nivel del abdomen, un 88.3% de los ácaros se alimenta en el segundo segmento abdominal. Asimismo, se encuentran sitios en el tercer (2.6%), cuarto (3.9%) y quinto (5.2%) segmento abdominal. Un aspecto resaltable es que un 88.0% de los sitios se localizan en la región ventral de la pupa, lo cual puede asociarse con la posición del sitio de acumulación fecal en la pared de la celda. Además, la mayoría de ácaros ubica un único sitio de alimentación (Cuadro 1).

Cuadro 1. Ubicación y cantidad de sitios de alimentación del ácaro *V. destructor* en pupas de obrera en abejas africanizadas ( $n = 82$ ).

Sitio de alimentación	Nivel en pupa	Porcentaje
Ubicación	Abdomen	83.7%
	Tórax	16.3%
	Cabeza	0.0%
Cantidad	1	92.4%
	2	6.5%
	3	1.1%

### Comportamiento de defecación

Antes de construir el sitio de acumulación fecal, el ácaro se desplaza de manera constante sobre la pared de la celda, entre la parte anterior y posterior, realizando movimientos ondulatorios. Una vez seleccionado el lugar, el ácaro inicia la acumulación de las heces, colocando una pequeña cantidad en cada deposición, una cerca de la otra, hasta formar una masa amorfa de fácil detección, por su color blanco y apariencia lechosa. El tamaño del sitio de acumulación fecal es, en promedio, de 0.3 mm de largo por 0.3 mm de ancho.

### Frecuencia de defecación

Para determinar la frecuencia de defecación del ácaro por día, se analiza un total de 20 celdas. Durante el segundo y quinto día de observación, el ácaro defeca con mayor frecuencia 5.0 ( $n = 20$ ) y 6.0 ( $n = 20$ ) veces / día, respectivamente, mientras que lo hizo en menor cantidad durante el sexto y séptimo día (1.0 vez / día) (Figura 3). Se debe mencionar que durante el octavo día de observación, la mayoría de ácaros no registra defecación.

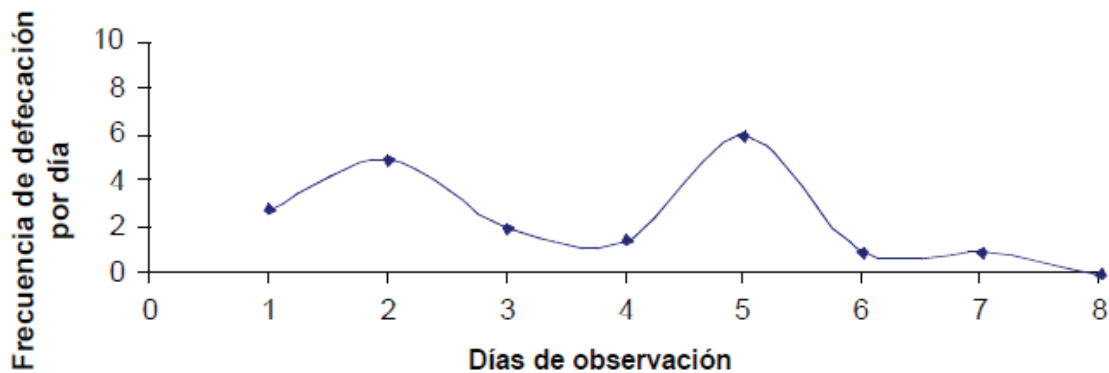


Figura 3. Frecuencia de defecación del ácaro *V. destructor* en celdas artificiales con cría de obrera.

### Permanencia del ácaro en el sitio de acumulación fecal

Durante la mayor parte del tiempo de inactividad, el ácaro se mantiene en el sitio de acumulación fecal, referido en la literatura como “rendezvous”. Se debe mencionar que la mayoría de actividades de varroa, dentro de la celda, se desarrollan en relación con el sitio de acumulación fecal, manteniéndose por períodos prolongados y descendiendo a la pupa, principalmente para alimentarse. Posterior a la alimentación, el ácaro regresa al sitio para defecar, ovipositar o mantenerse en él.

### Ubicación del sitio de acumulación fecal

La mayoría de ácaros construye un sitio de acumulación fecal, ubicado, principalmente, en la región posterior de la celda (Cuadro 2), cerca de la zona anal de la pupa y del sitio establecido, por el ácaro, para



alimentarse, observándose una fuerte relación entre la ubicación de ambos sitios ( $R = 0.8$ ). Un 21.4% de los ácaros ubica varios sitios de acumulación fecal, los cuales se distribuyen en diferentes puntos de la pared de la celda, incluyendo el fondo, lo cual dificulta realizar su medición. Por otra parte, en algunas celdas no se determina sitio de deposición de heces.

**Cuadro 2.** Número de sitios de acumulación fecal del ácaro varroa en celdas artificiales ( $n = 28$ ).

Número de sitios de acumulación fecal	Número de ácaros	Porcentaje (%)
0	4	14.3
1	18	64.3
2 o más	6	21.4

### Comportamiento de desplazamiento de la larva en celdas de obrera

Este comportamiento corresponde a desplazamientos continuos de ciertas larvas dentro de la celda de obrera, trasladándose, de manera longitudinal, entre la parte anterior y posterior. Al iniciar la observación de la larva, su posición está en la región posterior de la celda, desplazándose hacia la parte anterior. Un 25% ( $n = 28$ ) de las larvas muestra este tipo de comportamiento, el cual ha sido escasamente descrito. Este tipo de movimiento, no afecta, de manera negativa, el desarrollo normal de las larvas, dado que estas continúan su desarrollo a pupa. Por otra parte, el resto de larvas no presenta tipo alguno de desplazamiento, observándose inmóviles en la celda.

### Duración del desplazamiento de la larva

La mayoría de larvas presenta este comportamiento durante los primeros tres días de observación. El tiempo máximo de desplazamiento se registra durante el segundo día, con un valor promedio de  $47.7 \pm 22.5$  min por h ( $n = 7$ ); mientras que, durante el primer día se registra poco movimiento (Figura 4). En total, la larva se desplaza un promedio de  $874.9 \pm 262.2$  min por día ( $n = 7$ ).



**Figura 4.** Tiempo de desplazamiento de las larvas en celdas artificiales.

### Efecto del desplazamiento de la larva sobre el ácaro varroa

Durante este comportamiento, la larva muestra una tendencia a desplazarse hacia el ácaro, arrastrándolo contra la pared de la celda y ocasionándole, en algunos casos, daños de tipo físico, como heridas en su idiosoma. En un 7.1% de las celdas, se observa la muerte del ácaro, la cual se puede deber a los constantes desplazamientos de la larva, arrastrándolo hacia el fondo de la celda, en la cual queda atrapado en el alimento larval y posteriormente muere. Asimismo, un 3.6% de los ácaros no se alimentó, debido, principalmente, a los movimientos de la larva, lo cual no le permitió establecer un sitio de alimentación.

### Períodos de inactividad

Durante la observación de la celda, se registra períodos de inactividad del ácaro, en los cuales permanece sobre la pared de la celda, principalmente en el sitio de acumulación fecal.

### Tiempo de inactividad

El tiempo máximo de inactividad se registra durante el segundo día, con un valor promedio de  $665.4 \pm 337.1$  min por día ( $n = 23$ ), mientras que, durante el primer día, se registra el valor mínimo (Figura 5). En total, el ácaro se mantuvo inactivo un promedio de  $24.3 \pm 3.9$  min por h sobre la pared de la celda.

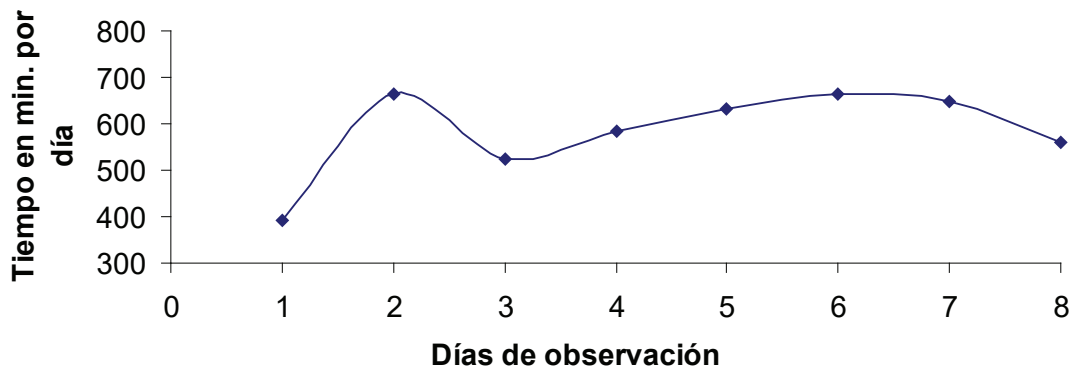


Figura 5. Tiempo de inactividad del ácaro varroa en celdas artificiales con cría de obrera.

### Análisis reproductivo

La mayoría de ácaros analizados, en este estudio, no se reprodujo, mientras que quienes lo hicieron presentan una reproducción irregular. Se debe indicar que el estado físico de los ácaros, que no se reproducen, se considera como normal, observándose buen movimiento de apéndices y locomoción.

Los ácaros que logran reproducirse corresponden a un 14.3% ( $n = 28$ ) (Cuadro 3). De estos ácaros, uno de ellos produjo hijas viables (presencia del macho y al menos una hija adulta), mientras que el resto produjo únicamente cría inmadura.

En este estudio no se logra determinar, con exactitud, el momento de la primera oviposición, debido a la escasa cantidad de ácaros que se reproduce, los cuales lo hacen ovipositando en el lado opuesto al área de filmación.

**Cuadro 3.** Reproducción del ácaro *V. destructor* determinada en celdas artificiales con cría de obrera.

Parámetro reproductivo	Número de celdas n = 28	Porcentaje (%)
Fertilidad	4	14.3%
No reproducción	24	85.7%
Hijas viables	1	3.6%
Producción de cría inmadura	3	10.7%
Únicamente hembra	0	0.0%
Únicamente macho	0	0.0%

## Discusión

A la fecha, se ha reportado pocos estudios relacionados con el comportamiento del ácaro *V. destructor* en cría sellada de obrera, en abejas africanizadas. Algunos estudios se han realizado con abejas de tipo europeo en países con clima templado (Ifantidis & Rosenkranz 1988; Donzé & Guerin 1997).

Al comparar la frecuencia de alimentación de varroa, en la larva y la pupa, se determina una mayor frecuencia en la larva. Donzé & Guerin (1994), reportan que este ácaro se alimenta, un número mayor de veces, de la larva (1.1 veces por h), mientras que la pupa lo hace con menor frecuencia (0.3 veces por h). Asimismo, señalan que el ácaro se alimenta, por períodos más prolongados, en la pupa, indicando que la primera alimentación en la larva es de 2.7 min, mientras que en la pupa corresponde a 60 min. En este estudio, la primera alimentación del ácaro, en la larva, corresponde a 8.4 min, mientras que en la pupa tiene una duración de 35.3 min. Sin embargo, de manera general, varroa se alimenta por más tiempo (min) en la larva.

El estadio larval de la abeja presenta mayor actividad que la pupa, observándose ciertos movimientos que limitan la alimentación del ácaro, causando que este se alimente por espacios breves y de diferentes puntos, sin mostrar preferencia por un sitio específico. Mientras que en la pupa, se alimenta por mayor tiempo y en un solo sitio.

## Sitio de alimentación

Para succionar la hemolinfa, varroa perfora el integumento de la cría (Ifantidis & Rosenkranz 1988), ocasionando pequeñas heridas (Hung *et al.* 1995; Ball 1996). Poco se ha reportado sobre la localización y el número de heridas causadas por varroa al alimentarse. Estas lesiones son difíciles de detectar a simple vista (Donzé & Guerin 1997), por lo cual, se emplea la tinción con azul de tripano, para determinar con certeza el punto de alimentación en la pupa (Kanbar & Engels 2004a).

La mayoría de ácaros se alimenta en el abdomen, específicamente en el segundo segmento abdominal. Lo cual coincide con lo reportado por Kanbar & Engels (2004 b), quienes señalan que un 74.2% de los

ácaros ubica el sitio de alimentación en el segundo segmento del abdomen. A diferencia de Donzé & Guerin (1994), los cuales reportan que el ácaro varroa nunca se alimenta del tórax de la pupa, un 16.3% de los ácaros analizados en este estudio ubican el punto de alimentación en el tórax. Otros autores reportan que este ácaro se alimenta, un 24.8%, del tórax de la pupa (Kanbar & Engels 2004a). Ningún ácaro se alimenta en la región de la cabeza, lo cual concuerda con lo indicado en otros estudios (Donzé & Guerin 1994; Kanbar & Engels 2004a; Herrmann *et al.* 2005).

Un aspecto importante de resaltar es que la mayoría de ácaros ubica un sitio de alimentación en la región ventral de la pupa, lo cual puede asociarse con la posición del sitio de acumulación fecal en la pared de la celda. El ácaro concentra la mayoría de actividades, en ambos sitios, permaneciendo por largos períodos en el área de acumulación fecal y desplazándose a la pupa para alimentarse. Donzé & Guerin (1994), mencionan que varroa establece un comportamiento rutinario, desarrollándose una fuerte interacción entre la ubicación de ambos sitios.

### Comportamiento de defecación

A pocas horas de sellada la celda, varroa inicia la deposición de heces, las cuales son ubicadas de manera dispersa en diferentes puntos de la pared. Una vez que la larva muda a pupa, el ácaro concentra sus heces, construyendo el sitio de acumulación fecal, el cual es visible a simple vista (Erickson 1996). Donzé & Guerin (1994), señalan que el ácaro inicia la deposición de heces en la región posterior de la celda, aproximadamente entre 48 a 52 hrs después de sellada. Erickson (1996), describe el sitio como una masa amorfa brillante de color blanco y ubicado, generalmente, en la pared de la celda. En este estudio, el sitio de deposición es relativamente pequeño, con un diámetro aproximado de 0.3 mm. Otras investigaciones han reportado sitios de acumulación fecal con diámetros mayores, los cuales van de 0.75 hasta 1.3 mm (Erickson 1996).

Algunas de las principales actividades, realizadas por varroa dentro de la celda, se relacionan con el sitio de acumulación fecal, el cual se ha descrito como sitio de encuentro, en el cual se lleva a cabo la reproducción, evitando la dispersión de los nuevos estadios adultos (macho + hembra). De acuerdo con Donzé & Guerin (1994), la progenie de varroa permanece, principalmente, en esta área, pues la reproducción se realiza exclusivamente en ella. Además, la proximidad del sitio de acumulación fecal con el sitio de alimentación en la pupa, facilita que la progenie se desplace y alimente de manera adecuada, al regresar, posteriormente, al sitio de deposición de heces (Donzé & Guerin 1994). Con respecto al ácaro adulto, luego de alimentarse, regresa al sitio para defecar, ovipositar o simplemente mantenerse en él. Asimismo, se determina que, durante los periodos de inactividad, el ácaro se mantiene principalmente en este sitio. Diversas investigaciones sugieren que la permanencia del macho y la hembra en un mismo lugar, facilita la cópula y aumenta la posibilidad de que la hembra sea fertilizada, antes de que la abeja emerja de la celda (Fuchs & Langenbach 1989; Fuchs 1992).

Un aspecto por resaltar, consiste en que, durante los movimientos de la larva para mudar, varroa frecuentemente abandona el sitio de acumulación fecal, desplazándose principalmente al fondo de la celda. Una vez finalizada la muda, el ácaro regresa a este sitio. Se debe indicar que, al finalizar la muda, el espacio disponible para varroa, en la celda, se reduce considerablemente, ejecutando sus actividades entre el sitio de acumulación fecal y el de alimentación. Conforme avanza el tiempo de observación (cinco-ocho días), el ácaro disminuye los desplazamientos, limitando su actividad a ambos sitios.

### Ubicación del sitio de acumulación fecal

En esta investigación, la mayoría de los ácaros ubica un sitio de acumulación fecal, localizado, principalmente, en la región posterior de la celda, cerca de la zona anal de la pupa. Esto coincide con lo indicado por Donzé *et al.* (1998), quienes citan que varroa muestra preferencia por concentrar sus heces en un pequeño espacio cerca de la región anal de la abeja. El establecimiento de un solo sitio de acumulación fecal en la región posterior de la celda, disminuye la emisión de olor por parte del ácaro, reduciendo la posibilidad de ser detectado y removido de la celda por las obreras (Rath & Drescher 1990).

### Desplazamiento de la larva

Este comportamiento corresponde a desplazamientos continuos de la larva en forma longitudinal dentro de la celda. Se realiza por algunas larvas durante los primeros tres días de observación. Las larvas se dirigen hacia el ácaro, arrastrándolo contra la pared de la celda y en ciertos casos hacia el fondo, donde queda atrapado, ocasionándole daños de tipo físico o la muerte. Asimismo, la larva, con sus movimientos, limitaba la posibilidad de que el ácaro se alimentara de manera adecuada. Este comportamiento, en el cual la larva se mueve hacia el ácaro, con su parte anterior lo empuja y presiona constantemente contra la pared de la celda, podría considerarse como un mecanismo de defensa del hospedero hacia varroa, debido a que, además de limitar su capacidad reproductiva, le produjo lesiones severas y en algunos casos la muerte.

Se debe indicar que, a la fecha, este tipo de comportamiento ha sido escasamente reportado. Algunos autores han descrito dos tipos de comportamiento defensivo de las abejas melíferas contra el ácaro varroa, el comportamiento higiénico y el de limpieza, presentes únicamente en las abejas adultas (Boecking & Spivak 1999; Guzmán *et al.* 1999; Anderson 2000; Anderson & Trueman 2000). El comportamiento higiénico consiste en remover cría infestada con el ácaro varroa (Spivak & Gilliam 1998). Mientras que el comportamiento de limpieza, se basa en la remoción del ácaro del cuerpo de la abeja adulta (Boecking & Ritter 1993; Aumeier 2001).

### Períodos de inactividad

La mayoría del tiempo de inactividad, el ácaro se mantuvo en el sitio de acumulación fecal o cerca de él, permaneciendo inactivo aproximadamente 665.4 min por día, observándose, de manera más evidente, durante la fase de pupa. El período que el ácaro permanece inactivo implica probablemente un ahorro energético considerable (Donzé *et al.* 1998). Asimismo, disminuye el riesgo de ser lesionado o quedar atrapado contra la pared, pues durante el desarrollo de la pupa el espacio interno de la celda se reduce.

### Comportamiento reproductivo

La mayoría de los ácaros analizados en este estudio no se reprodujeron. Las razones fisiológicas, por las cuales los ácaros no se reprodujeron dentro de la celda de cría, no se conocen con exactitud. Sin embargo, se puede indicar diferentes factores que podrían estar involucrados en este fallo reproductivo, como la edad de varroa. En esta investigación, la edad del ácaro, que se utiliza para infestar las celdas, era

desconocida. La edad del ácaro es uno de los factores que afecta directamente su capacidad reproductiva. Se ha reportado que ácaros de edad avanzada presentan una menor posibilidad de reproducirse, pues el número de huevos y espermatozoides es limitado, por lo cual podría haberse agotado en ciclos previos (Martin & Kemp 1997).

Por otra parte, se menciona que la muerte temprana o ausencia del macho es un factor crítico para la reproducción de varroa, pues, para que una hembra produzca cría debe ser fecundada (Martin 1995; Harris & Harbo 1999). Asimismo, se ha indicado que un 43% de los ácaros no se reproduce en abejas africanizadas, comparado con un 19% en abejas europeas (De Jong 1997; Martin *et al.* 1997; Rosenkranz 1999).

Aún cuando las celdas artificiales, infestadas con varroa, eran colocadas en una incubadora provista con Dióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>) y un sistema interno de agua, lo cual permite mantener las condiciones de temperatura (35°C) y humedad relativa (60-65%) constantes, no se debe descartar que algún aspecto relacionado con este sistema de incubación afectara su reproducción. La micro-cámara de video, utilizada en la observación directa de la larva y el detalle de las principales actividades realizadas por el ácaro, junto con la lámpara usada en la iluminación de la celda, incrementan la temperatura alrededor de la celda, lo cual puede afectar la reproducción. Por otra parte, se ha mencionado que una humedad relativa superior al 80.0% afecta la reproducción de varroa. Ibrahim & Spivak (2005), encontraron que la fertilidad de este ácaro fue un 10.0% menor en panales colocados en incubadora comparado con panales que permanecieron en colmenas bajo condiciones naturales (Rosenkranz 1999; Martin & Medina 2004).

## Conclusiones

El comportamiento de alimentación del ácaro *V. destructor*, varía considerablemente al compararlo entre los estadios de larva y pupa, alimentándose con mayor frecuencia y por períodos prolongados en el estadio larval, sin mostrar preferencia por un sitio específico. Mientras que en la pupa, varroa se alimenta un menor número de veces; en la mayoría de los casos, establece un solo sitio de alimentación. Asimismo, este ácaro muestra una tendencia a defecar después de cada alimentación, principalmente en la región posterior de la celda. La mayoría de ácaros construye un sitio de acumulación fecal. Durante los períodos de inactividad, varroa permanece sobre la pared de la celda, principalmente en el sitio de acumulación fecal. El comportamiento de desplazamiento, observado en algunas larvas, consiste en movimientos continuos de la larva en forma longitudinal, dirigiéndose principalmente hacia el ácaro y ocasionándole daños de tipo físico y en algunos casos la muerte. Por lo cual, podría considerarse como un mecanismo de defensa del hospedero hacia el ácaro varroa. La mayoría de los ácaros analizados en este estudio no se reproducen y aquellos que lo hacen producen cría inmadura. Algunos factores: como la edad del ácaro, muerte o ausencia del macho y el aumento de la temperatura interna de la incubadora, podrían estar involucrados en este fallo reproductivo.

## Agradecimientos

Deseamos agradecer al M.Sc. Fernando Ramírez Arias, por el apoyo en el manejo de las colmenas del CINAT utilizadas durante el estudio.

## Referencias

- Anderson, D. 2000. Variation in the parasitic bee mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 31: 281–292. <https://doi.org/10.1051/apido:2000122>
- Anderson, D. & Trueman, J. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp. Appl. Acarol.* 24: 165–189. <https://doi.org/10.1023/A:1006456720416>
- Aumeier, P. 2001. Bioassay for grooming effectiveness towards *Varroa destructor* mites in Africanized and Carniolan honey bees. *Apidologie* 32: 81-90. <https://doi.org/10.1051/apido:2001113>
- Bailey, L. & Ball, B. 1991. Honey bee pathology. Second Edition. Academic Press, London, UK. 193 pp.
- Ball, B. 1996. Honey bee viruses: a cause for concern. *Bee World* 77 (3): 117-119. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1996.11099302>
- Boecking, O. & Spivak, M. 1999. Behavioural defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 30: 141–158. <https://doi.org/10.1051/apido:19990205>
- Boecking, O. & Ritter, W. 1993. Grooming and removal behavior of *Apis mellifera intermissa* in Tunisia against *Varroa jacobsoni*. *J. Apic. Res.* 32: 127–134. <https://doi.org/10.1080/00218839.1993.11101297>
- Calderón, R., Arce, H. & van Veen, J. 1998. Varroosis: situación actual del ácaro en Costa Rica. *Memorias del XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria.* 97 p.
- Calderón, R., Zamora, L. & Veen, J. 2007. The reproductive rate of *Varroa destructor* in drone brood of Africanized honey bees. *J. Apic. Res.* 46: 140–143. <https://doi.org/10.1080/00218839.2007.11101384>
- De Jong, D. 1997. *Varroa* and other parasites of brood. In: R. Morse. y K. Flotum. *Honey bee pests, predators, and diseases.* 3er Ed. AI Root Co. Ohio, United States of America. 280-327 p.
- Donzé, G. & Guerin, P. 1994. Behavioral attributes and parental care of varroa mites parasiting honeybee brood. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 34: 305-319. <https://doi.org/10.1007/BF00197001>
- Donzé, G. & Guerin, P. 1997. Time-activity budgets and spacing structure by the different life stages of *Varroa jacobsoni* in capped brood of the honey bee, *Apis mellifera*. *J. Insect Behav.* 10: 371-393. <https://doi.org/10.1007/BF02765605>
- Donzé, G., Fluri, P. & Imdorf, A. 1998. A Look under the Cap: The Reproductive Behavior of *Varroa* in the Capped Brood of the Honey Bee. *Am. Bee J.* 138: 528-533.
- Erickson, E. 1996. Fecal accumulations deposited by *Varroa* can be used a simple field diagnostic for infestations of this honey bee parasite. *Am. Bee J.* 136 (1): 63-64.
- Fuchs, S. 1992. Choice in *Varroa jacobsoni* Oud. between honey bee, drone or worker brood cells for reproduction. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 31: 429-435. <https://doi.org/10.1007/BF00170610>
- Fuchs, S. & Langenbach, K. 1989. Multiple infestations of *Apis mellifera* L. brood cells and reproduction in *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 20: 257-266. <https://doi.org/10.1051/apido:19890308>

- Guzmán-Novoa, E., Vandame, R. & Arechavaleta M. 1999. Susceptibility of European and Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) to *Varroa jacobsoni* Oud. in México. *Apidologie* 30: 173–182. <https://doi.org/10.1051/apido:19990207>
- Harris, J. & Harbo, J. 1999. Low sperm counts and reduced fecundity of mites in colonies of honey bee (Hymenoptera: Apidae) resistant to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *J. Econ. Entomol.* 92: 83-90. <https://doi.org/10.1093/jee/92.1.83>
- Herrmann, M., Kanbar, G. & Engels, W. 2005. Survival of honey bee (*Apis mellifera*) pupae after trypan blue staining of wounds caused by *Varroa destructor* mites or artificial perforation. *Apidologie* 36: 107-111. <https://doi.org/10.1051/apido:2004074>
- Hung, A., Adams, J. & Shimanuki, H. 1995. Bee parasitic mite syndrome (II): the role of varroa mite and viruses. *Am. Bee J.* 135: 702-704.
- Ibrahim, A. & Spivak, M. 2005. The relationship between hygienic behaviour and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. *Apidologie* 37: 31-40. <https://doi.org/10.1051/apido:2005052>
- Ifantidis, M. & Rosenkranz, P. 1988. Reproduktion der Bienenmilbe *Varroa jacobsoni* (Acarina: Varroidae). *Entomol. Genet.* 14: 111-122. <https://doi.org/10.1127/entom.gen/14/1988/111>
- Kanbar, G. & Engels, W. 2004a. Visualisation by vital staining with trypan blue of wounds punctured by *Varroa destructor* mites in pupae of the honey bee (*Apis mellifera*). *Apidologie* 35: 25-29. <https://doi.org/10.1051/apido:2003057>
- Kanbar, G. & Engels, W. 2004b. Number and position of wounds on honey bee (*Apis mellifera*) pupae infested by a single *Varroa* mite. *Eur. J. Entomol.* 101: 323-326. <https://doi.org/10.14411/eje.2004.041>
- Martin, S. 1995. Reproduction of *Varroa jacobsoni* in cells of *Apis mellifera* containing one or more mother mites and the distribution of these cells. *J. Apic. Res.* 34: 187-196. <https://doi.org/10.1080/00218839.1995.11100904>
- Martin, S. & Kemp, D. 1997. Average number of reproductive cycles performed by *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *J. Apic. Res.* 36: 113-123. <https://doi.org/10.1080/00218839.1997.11100937>
- Martin, S., Holland, K. & Murray, M. 1997. Non-reproduction in the honeybee mite *Varroa jacobsoni*. *Exp. Appl. Acarol.* 21: 539-549. <https://doi.org/10.1023/A:1018492231639>
- Martin, S. & Medina, L. 2004. Africanized honeybees have a unique tolerance to varroa mites. *Trends Parasitol.* 20: 112-114. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.01.001>
- Rath, W. & Drescher, W. 1990. Response of *Apis cerana* Fabri. towards brood infested with *Varroa jacobsoni* (Oudemans) and infestation rate of colonies in Thailand. *Apidologie* 21: 311-321. <https://doi.org/10.1051/apido:19900406>
- Rosenkranz, P. 1999. Honey bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie* 30: 159-172. <https://doi.org/10.1051/apido:19990206>



- Shimanuki, H., Knox, D. & De Jong, D. 1992. The influence of brood comb cell size on the reproductive behavior of the ectoparasitic mite *Varroa destructor* in Africanized honey bee colonies. *Genet. Mol. Res.* 2: 36-42.
- Spivak, M. & Gilliam, M. 1998. Hygienic behavior of honey bees and its application for control of brood diseases and *Varroa*. *Bee World* 79(4): 169-186. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1998.11099408>
- Van Veen, J., Calderón, R., Cubero, A. & Arce, H. 1998. *Varroa jacobsoni* Oudemans in Costa Rica: detection, spread and treatment with formic acid. *Bee World* 79: 115-116. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1998.11099370>