

Comparación de la habilidad reproductiva y mortalidad del ácaro *Varroa destructor* en celdas con cría de obrera y zángano en abejas africanizadas de Costa Rica

Comparison of the reproductive ability and mortality of the *Varroa destructor* mite in worker and drone brood cells in Africanized honey bees of Costa Rica

Rafael A. Calderón¹✉, Susana Ureña², Luis Sánchez¹, Rolando Calderón³

¹ Programa Integrado de Patología Apícola, Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: luis.sanchez@una.cr

² Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA), Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: surena@senasa.go.cr

³ Escuela de Biología Tropical, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: rolando.calderon.fallas@una.cr

Recibido: 06 de Febrero de 2013. *Corregido:* 30 de Abril de 2014. *Aceptado:* 5 de Junio de 2014.

Resumen: Se estudió la reproducción del ácaro *Varroa destructor* en celdas con cría de obrera y zángano. Además se evaluó la mortalidad de la progenie de *V. destructor*, especialmente la muerte o ausencia del macho. El estudio se realizó de marzo a diciembre de 2010, utilizando 15 colmenas de abejas africanizadas ubicadas en Barreal de Heredia y Ciudad Colón, San José. Se examinaron 388 celdas de obrera y 403 celdas de zángano infestadas de manera natural con un ácaro adulto. La reproducción de cada ácaro se determinó analizando los siguientes parámetros: fertilidad, fecundidad, producción de hijas viables, producción de cría inmadura, producción de únicamente hijas o únicamente machos y la ausencia de reproducción. La fertilidad de *V. destructor* en celdas de obrera fue de un 88.9%, con un promedio de 3.2 descendientes por ácaro. Mientras que la fertilidad del ácaro en celdas de zángano correspondió a un 93.1%, produciéndose 4.0 descendientes por ácaro. En cría de obrera, el 37.6% de los ácaros produjo hijas viables, el 14.7% hijas no viables, el 4.6% produjo cría inmadura y el 32.0% cría de un solo sexo. En celdas de zángano, el 64.8% de los ácaros produjo hijas viables, el 5.2% hijas no viables, el 1.0% cría inmadura, mientras que el 22.1% cría de un solo sexo. Además, en cría de obrera se observó una alta mortalidad en los estadios de protoninfa móvil (66.4%), protoninfa inmóvil (45.2%), deutoninfa móvil (17.6%) y el macho adulto (23.9%). En el 40.0% de las celdas de obrera con reproducción, se registró la muerte o ausencia del macho. En cría de zángano la mortalidad se registró principalmente en el estadio de protoninfa móvil (78.4%) e inmóvil (42.6%). Además, la muerte o ausencia del macho se observó en el 21.3% de las celdas de zángano. La fertilidad de *V. destructor* fue similar en celdas de obrera y zángano. Sin embargo, el número de hijas viables producidas por el ácaro fue mayor en la cría de zángano comparado con la cría de obrera. Por otro lado, la mortalidad o ausencia del macho fue significativamente mayor en cría de obrera. Por lo anterior, se debe indicar que el ácaro *V. destructor* presentó un mayor éxito reproductivo en cría de zángano, siendo esta cría más apta para su reproducción.



Autor para correspondencia.

Correo electrónico: rafael.calderon.fallas@una.cr



Palabras clave: *Varroa destructor*, abejas africanizadas, reproducción, cría de obrera, cría de zángano, Costa Rica.

Abstract: The reproduction of the mite *Varroa destructor* was studied in worker and drone brood cells of Africanized honey bees. In addition, the mortality of mite offspring was evaluated, particularly male absence or mortality. The study was conducted from March to December 2010, using 15 colonies located at Barreal de Heredia and Ciudad Colón, San José. A total of 388 worker cells and 403 drone cells naturally infested by an adult male mite were examined. Mite reproduction was studied using the following parameters: fertility, fecundity, production of viable female offspring, production of immature offspring, production of only female or only male offspring, and no reproduction at all. Fertility of *V. destructor* infesting worker brood was 88.9% and average fecundity was 3.2 descendants per mite. On the other hand, mite fertility in drone brood was 93.1% and average fecundity was 4.0 descendants per mite. In worker cells, 37.6% of mites produced viable female offspring, 14.7% non-viable female offspring, 4.6% immature offspring and 32.0% offspring of only one sex. Of the mites that reproduced in drone brood, 64.8% produced viable female offspring, 5.2% non-viable offspring, 1.0% immature offspring, and 22.1% offspring of only one sex. In addition, in worker cells high mortality was observed in the mobile **protonymph** (66.4%), immobile **protonymph** (45.2%), mobile deutonymph, and adult male (23.9%). Male absence or mortality was determined in 40.0% of the worker cells with reproduction. In drone brood, mite mortality was recorded mainly in the mobile **protonymph** (78.4%) and immobile **protonymph** (42.6%). Male absence or mortality was determined in 21.3% of the drone cells with reproduction. Mite fertility was similar in both worker and drone brood. Nevertheless, the number of viable females produced per mite was higher in drone brood compared to worker brood. On the other hand, male absence or mortality was significantly higher in worker cells. This indicates that reproduction of the *V. destructor* mite was more successful with drone brood, which makes it more suitable for mite reproduction.

Keywords: *Varroa destructor*, Africanized honey bees, reproduction, worker brood, drone brood, Costa Rica

INTRODUCCIÓN

La Varroosis es una enfermedad parasitaria causada por el ácaro *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae), el cual causa serios problemas en la apicultura a nivel mundial (Anderson & Trueman, 2000; Arechavaleta & Guzmán, 2001; Carneiro et al., 2007). En Costa Rica, el primer reporte oficial de la presencia de *V. destructor* se realizó el 26 de setiembre de 1997, en muestras de panal con cría sellada y abejas adultas procedentes de la zona de los Santos (Calderón et al., 2003a). El ácaro *V. destructor* consta de seis haplotipos. Los más importantes son el haplotipo Coreano y el haplotipo Japonés. En Costa Rica, se ha reportado la presencia del haplotipo Coreano; se considera como el más patógeno (Anderson & Trueman, 2000).

En la abeja melífera, el ácaro se reproduce, tanto en la cría de obrera, como en la de zángano, por lo cual su población aumenta rápidamente, afectando la condición general de la colmena (Martin & Kryger, 2002; Kralj & Fuchs, 2006). Es importante indicar que *V. destructor* se reproduce estrictamente en la cría operculada (Martin & Kemp, 1997). El ciclo reproductivo inicia cuando el ácaro abandona la abeja adulta (fase forética) e ingresa a una celda con

cría (obrero o zángano) unas horas antes de ser sellada (Moretto & Leonidas, 2003). Una vez operculada la celda, el ácaro se traslada hacia la pupa para alimentarse de la hemolinfa e iniciar la oviposición. Se ha reportado que la oogénesis y la oviposición dependen directamente del inicio de la alimentación (Garrido et al., 2003). La hembra oviposita un máximo de seis huevos en la celda de obrero y siete en la celda de zángano (Ifantidis, 1983). La primera oviposición ocurre entre 60 y 70 horas después de operculada la celda; los siguientes huevos son colocados con intervalos de 30 horas entre ellos. Del primer huevo emerge un macho, del resto hembras (Martin, 1994). El período, entre la eclosión del huevo y la etapa adulta, (macho/hembra) se subdivide en las etapas de protoninfa y deutoninfa; cada una compuesta de una fase móvil e inmóvil (Ifantidis, 1983). Los machos se desarrollan en un período promedio de 6.4 días (154 h), mientras que las hembras lo hacen en 5.6 días (134 h) (Martin, 1995). Esta situación permite que el macho esté sexualmente maduro cuando el primer ácaro hembra alcanza el estadio adulto. La cópula se realiza en el interior de la celda, antes que la abeja emerja como adulto (Donzé et al., 1998). Se ha determinado que, en cría de zángano, se producen aproximadamente tres hijas fértiles, mientras que en obrero se producen de una a dos hijas (Donzé & Guerin, 1994).

Se ha observado diferencias reproductivas del ácaro *V. destructor* asociadas al tipo de abeja. En la abeja asiática *A. cerana*, el ácaro no ocasiona la pérdida de colmenas. Se ha reportado que, en esta especie de abeja, la reproducción se realiza de manera exclusiva en la cría de zángano; siendo, en la obrero, casi nula o ausente. La producción estacional de cría de zángano resulta en una disminución del crecimiento poblacional del ácaro en las colmenas de *A. cerana*. Esto permite que el nivel de infestación de las colmenas permanezca leve (inferior a un 2.0%), existiendo un balance natural entre el ácaro y su hospedero (Rosenkranz & Engels, 1994; Message & Gonçalves, 1995). En contraste, en la abeja *A. mellifera*, este ácaro se reproduce tanto en la cría de obrero como de zángano (Spivak & Reuter, 2001; Harbo & Harris, 2005), lo que ocasiona un rápido incremento en el nivel de infestación de las colmenas (Martin, 1998). En abejas de tipo europeo (*A. mellifera mellifera*) y bajo condiciones de clima templado, la población de ácaros puede aumentar hasta causar la pérdida de la colmena (Medina & Martin, 1999; Martin & Kryger, 2002). Por otra parte, reportes provenientes de Brasil indican que la abeja africanizada (*A. mellifera*) presenta una mayor resistencia o tolerancia al ácaro, comparado con la abeja de tipo europeo (Moretto & Leonidas, 1999; Moretto & Leonidas, 2003; Junkes et al., 2007). Uno de los principales aspectos, asociados con la tolerancia de la abeja africanizada, es la limitada capacidad reproductiva del ácaro en celdas de obrero, relacionada con una baja fertilidad y una escasa producción de hijas viables (Medina & Martin, 1999; Harris et al., 2003; Carneiro et al., 2007). Se considera como un factor determinante en el nivel de infestación de las colmenas (Corrêa-Marques et al., 2003; Mondragón et al., 2005; Junkes et al., 2007). Debido a que la fecundación de *V. destructor* ocurre estrictamente dentro de la celda, unas horas después de alcanzar el estadio adulto, la mortalidad o ausencia del macho afecta de manera directa el número de hijas viables que se adicionan a la población del ácaro (Martin et al., 1997).

Estudios preliminares, realizados en Costa Rica, con abejas africanizadas, han determinado que, en cría de obrero, la habilidad reproductiva del ácaro es limitada, debido a que un alto

porcentaje de los ácaros que ingresan a las celdas no se reproduce o produce únicamente estadios inmaduros. Además, un número considerable de ácaros produce cría de un solo género, hembras o machos (Calderón et al., 2003b; Calderón & Zamora, 2007). Por otra parte, en la cría de zángano, se ha determinado que el ácaro presenta una alta fertilidad (superior al 80.0%), observándose en la mayoría de celdas la presencia de hijas viables (hembras fértiles) (Calderón et al., 2007a). Sin embargo, una de las principales limitantes, en los estudios realizados sobre la reproducción de *V. destructor* en abejas africanizadas en Costa Rica, es que se han efectuado en celdas con cría infestada de manera artificial, lo cual podría afectar el ciclo reproductivo del ácaro (Calderón et al., 2003b).

La habilidad reproductiva del ácaro es un factor fundamental que incide, de manera directa, en el nivel de infestación de las colmenas (Garrido et al., 2003; Calderón et al., 2007b). Por lo cual, investigar la biología reproductiva del ácaro *V. destructor* y su relación hospedero-parásito, bajo condiciones naturales de infestación, permitirá conocer más en detalle la dinámica poblacional en la abeja africanizada. Asimismo, el estudio de la tasa reproductiva (fertilidad y fecundidad) de *V. destructor* y la mortalidad de su cría, son aspectos fundamentales que permitirán establecer métodos de control integrado, seleccionando líneas de abejas resistentes. Líneas de abejas en las cuales el ácaro no se reproduce o presenta una reproducción deficiente, las que permitirán mantener niveles bajos de infestación en la colmena, al disminuir el impacto negativo del ácaro sobre la actividad apícola (Martin et al., 1997; Arechavaleta & Guzmán, 2001). Por consiguiente, el principal objetivo de este estudio es determinar la habilidad reproductiva del ácaro *V. destructor* en celdas de obrera y zángano en abejas africanizadas en Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

La reproducción del ácaro *V. destructor*, se evaluó en 15 colmenas de abejas africanizadas infestadas de manera natural. Cinco colmenas estaban ubicadas en el Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) en Barreal de Heredia (9° 58' N 84° 07' O, 1043 msnm) y las colmenas restantes en Ciudad Colón (cantón de Mora), San José (9° 53' N 84° 14' O, 866 msnm). El estudio se realizó de marzo a diciembre del 2010. Marzo-abril y diciembre corresponden a la época seca, mientras que mayo-noviembre a la época lluviosa.

Diseño experimental

Se revisó 2250 celdas de obrera y de zángano; de las cuales se analizaron 388 celdas de obrera y 403 celdas de zángano, infestadas naturalmente, con un ácaro adulto de *V. destructor*. La cantidad de celdas analizadas por colmena, dependió de la disponibilidad de cría y del nivel de infestación del ácaro.

Se analizaron celdas de obrera y de zángano con pupas de una edad aproximada entre 18-20 días. Se realizó con el fin de diferenciar los ácaros madre de sus hijas en fase adulta, porque la pigmentación rojiza de las hijas es menos intensa (rojizo claro). Se removió el opérculo de cada

celda utilizando una pinza de punta fina. Posteriormente, se retiró la pupa de la celda y se colocó en una placa de Petri. La edad de la pupa se determinó por el tamaño y desarrollo, así como por la coloración negra de los ojos y la pigmentación oscura del cuerpo. En algunas pupas, se observaron ciertos movimientos de las extremidades. Asimismo, se evaluaron aquellas celdas infestadas con un ácaro adulto. Infestaciones múltiples, dos o más ácaros adultos por celda, podrían afectar de manera negativa la reproducción de *V. destructor* (Medina et al., 2002).

Al utilizar una fuente luminosa, se revisó el fondo de la celda para determinar la presencia de ácaros (maduros e inmaduros). Los ácaros se examinaron usando un estereoscopio (10x). Para clasificar la etapa de desarrollo (estadios maduros e inmaduros), se tomó como referencia el desarrollo ontogénico reportado por Martín (1994). Los estadios del ácaro se clasificaron de acuerdo con lo indicado por Ifantidis (1997) como huevo-larva, protoninfa (móvil e inmóvil), deutoninfa (móvil e inmóvil), macho e hija adulta. Para cada celda analizada, se registró la etapa de desarrollo de la pupa, el total de hembras adultas y la cantidad y estadio de desarrollo de la cría.

La habilidad reproductiva de cada ácaro se determinó al analizar los siguientes parámetros reproductivos:

- Fertilidad: hembra adulta con producción de cría (más de un huevo) (Corrêa-Marques et al., 2003).
- Fecundidad: cantidad total de progenie producida por hembra adulta en un ciclo reproductivo (cantidad de huevos ovipositados) (Mondragón et al., 2006).
- Producción de hijas viables: celdas con presencia del macho y de, al menos, una hija adulta (ambos vivos). Este parámetro corresponde a los ácaros que contribuyen al crecimiento de la población en la colmena (Boot et al., 1995).
- Hijas no viables: celdas con presencia de macho e hija adulta, pero uno de ellos o ambos muertos (Martín & Kryger, 2002).
- Producción de cría inmadura: corresponde a las celdas en las que se determinó la presencia de únicamente estadios inmaduros de *V. destructor* (Medina et al., 2002).
- Producción de hijas únicamente: celdas con presencia de hembra(s) adulta(s) y ausencia del macho adulto (hijas infértiles) (Boot et al., 1995).
- Producción de macho únicamente: celdas con presencia de macho adulto (ausencia de hembras adultas, con posibilidad de observar cría inmadura) (Corrêa-Marques, 2000).
- Ausencia de reproducción: son aquellas celdas con un ácaro adulto (saludable: locomoción y movimiento de apéndices) sin presencia de cría (Boot et al., 1995).

Se debe aclarar que la condición necesaria, para considerar una hija adulta viable, es la presencia del macho (vivo). Por otra parte, la producción de cría inmadura, en celdas de obrera, incluyó la presencia de huevo-larva, protoninfa y deutoninfa; mientras que, en celdas

con cría de zángano, se consideraron únicamente los estadios de huevo-larva y protoninfa. Además, se debe indicar que para determinar la cantidad de hijas fértiles producidas en la cría de zángano, se consideró el estadio de deutoninfa (móvil e inmóvil), debido a que, en condiciones naturales, las celdas de zángano permanecen selladas por 72 horas más, tiempo suficiente para que la deutoninfa alcance el estadio adulto (Ifantidis, 1983).

Mortalidad

Paralelamente, al estudio de la habilidad reproductiva, se determinó la mortalidad de los diferentes estadios (maduros e inmaduros) de *V. destructor* en celdas de obrera y zángano. Para la mortalidad de los estadios del ácaro, se tomó como referencia los parámetros indicados por Ifantidis (1997):

- Se consideró que el ácaro estaba muerto (cualquier estadio) si presentaba deformaciones o alteraciones en el cuerpo.
- Los estadios móviles (protoninfa móvil, deutoninfa móvil, macho, hija adulta y ácaro adulto) que no presentaban movimiento en las extremidades, se consideraban muertos.
- La mortalidad de los estadios inmóviles, especialmente la deutoninfa, se estableció por la pérdida de movimiento peristáltico en los túbulos de Malpighi. En condiciones normales, los túbulos se encontraban bien formados y eran visibles a través del integumento, utilizando un estereoscopio (7x).
- La muerte de la deutoninfa inmóvil durante el proceso de muda, se reconoció por la ausencia de movimiento en las extremidades, las cuales se observaban contraídas contra el opistoma.
- Si la muerte del ácaro ocurría al final del proceso de muda (hija adulta), se observaba la remoción incompleta de la cutícula (exuvia).
- Para determinar la mortalidad del estadio de deutoninfa en celdas con cría de zángano, se consideró su etapa de desarrollo (no se evaluaron como hijas adultas).

Comparación de la reproducción de *V. destructor*

El estudio de la habilidad reproductiva del ácaro, en celdas de obrera y zángano, permitió comparar parámetros reproductivos como: fertilidad, fecundidad y producción de hijas viables, entre otros. Esto para establecer si el tipo de cría (obrero o zángano) influye en la reproducción de este ácaro en abejas africanizadas.

Comparación de la mortalidad de la cría de *V. destructor*

La mortalidad, en los diferentes estadios del ácaro, en celdas de obrera y zángano, se comparó para determinar diferencias en la producción de hijas viables. Debido a que la fecundación

del ácaro ocurre únicamente dentro de la celda sellada, se enfatizó en la mortalidad del macho, pues su pérdida afecta directamente la producción de hijas viables.

Análisis de los resultados

Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico R. Este programa permite determinar el intervalo de confianza para cada parámetro con un nivel de confianza del 95%. Las diferencias, en los parámetros reproductivos del ácaro en celdas de obrera y zángano, así como la mortalidad de los diferentes estadios, se analizaron con este programa estadístico; el cual permitió obtener el intervalo de confianza (IC 95%) para la diferencia de proporciones, así como una prueba de contraste de hipótesis (significancia $P < 0.05$).

RESULTADOS

Comparación de la habilidad reproductiva de *V. destructor* en celdas de obrera y zángano

Los parámetros reproductivos del ácaro *V. destructor*, analizados en cría de obrera y zángano, se compararon para determinar si el tipo de cría influye en el éxito reproductivo de este ácaro en abejas africanizadas. Además, se comparó la mortalidad de ácaros en ambos tipos de cría. Para ello, se evaluaron 388 ácaros en cría de obrera y 403 ácaros en cría de zángano.

Fertilidad y fecundidad

La fertilidad de *V. destructor*, en celdas de obrera y zángano, fue similar (Cuadro 1). Asimismo, el promedio de cría, producida por ácaro en celdas de zángano, fue mayor a la observada en celdas de obrera ($P < 0.05$) (Cuadro 2). El número máximo de individuos producidos en cría de obrera fue de seis; cuatro descendientes fue lo más frecuente; mientras que en celdas de zángano, el máximo fue de siete, observándose con mayor frecuencia cinco individuos.

Hijas viables e hijas no viables

Una de las principales diferencias, observadas en este estudio, fue la relacionada con la producción de hijas viables. En la cría de zángano, un 65% de los ácaros produjo hijas viables; mientras que, en cría de obrera, menos del 40% de los ácaros logró producir hijas viables ($P < 0.05$). Al considerar los ácaros con hijas viables, se determinó que, en celdas de obrera, se produjo aproximadamente una hija viable por ácaro; mientras que, en celdas de zángano, se observaron más de tres ($P < 0.05$) (Cuadro 2). Igualmente, se observaron diferencias en la producción de hijas no viables, al encontrar que, en celdas de obrera, casi un 15% de los ácaros produjo hijas no viables, mientras que en celdas de zángano fue de un 5.2% ($P < 0.05$) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Comparación de los parámetros reproductivos del ácaro *V. destructor* en cría de obrera y zángano.

Parámetro	Obrera (%) (n= 388)	Zángano (%) (n= 403)	Dif. Medias IC 95%	P
Fertilidad	88.9	93.1	-4.2 (-8.4-0.1)	0.06
Ausencia de reproducción	11.1	6.9	4.2 (-0.1-8.4)	0.06
Hijas viables	37.6	64.8	-27.2 (-34.1--20.2)	< 0.05
Hijas no viables	14.7	5.2	9.5 (5.1-13.9)	< 0.05
Cría inmadura	4.6	1.0	3.6 (1.1-6.2)	< 0.05
Únicamente macho	17.8	8.7	9.1 (4.2-14.0)	< 0.05
Únicamente hembras	14.2	13.4	0.8 (-4.3-5.8)	0.83

Cuadro 2. Tasa reproductiva de *V. destructor* en celdas de obrera y zángano.

Característica	Obrera	Zángano	Dif. medias IC 95%	P
Huevos producidos por ácaro*	3.2	4.0	-0.8 (-1.0- -0.5)	< 0.05
Huevos producidos por ácaro fértil**	3.6	4.3	-0.7(-0.9-0.5)	< 0.05
Hijas viables por ácaro que produjo descendencia viable	1.4	3.3	-1.9 (-2.0-1.7)	< 0.05
Hijas viables producidas por ácaro fértil**	0.6	2.3	-1.7 (-1.9-1.5)	< 0.05
Hijas viables producidas por ácaro*	0.5	2.1	-1.6 (-1.78- -1.4)	< 0.05

Los datos reproductivos se presentan como medias

* Se consideraron todos los ácaros

** Se consideraron únicamente los ácaros fértiles

Producción de cría inmadura, únicamente hijas o sólo macho

La presencia de solo cría inmadura de *V. destructor* fue menor al 5.0% en ambos tipos de celda, fue mayor en las celdas de obrera ($P < 0.05$) (Cuadro 1). Por otra parte, la producción de hijas fue muy similar en los dos tipos de cría ($P = 0.83$). Sin embargo, al comparar la producción de solo machos, se observaron diferencias significativas, siendo casi el doble en celdas de obrera ($P < 0.05$) (Cuadro 1).

Ausencia de reproducción

No se observó diferencias en el porcentaje de ácaros, dado que no se reprodujo en ambos tipos de cría ($P = 0.06$) (Cuadro 1).

Mortalidad de *V. destructor*

La mortalidad en los diferentes estadios de *V. destructor* fue mayor en celdas de obrera que la observada en celdas de zángano ($P < 0.05$). Una de las principales diferencias es la mortalidad del macho; en celdas de obrera fue del 23.9%; mientras que, en celdas de zángano alcanzó aproximadamente un 7.0% ($P < 0.05$). En los estadios de protoninfa y deutoninfa inmóvil no se observaron diferencias significativas en la mortalidad (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de la mortalidad del ácaro y sus descendientes en celdas de obrera y zángano.

Cría del ácaro	Obrera (%)	Zángano (%)	Dif. medias IC 95%	P
Ácaros	8.1	3.4	4.7 (1.3-8.1)	0.01
Total descendientes	23.3	12.5	10.8 (7.9-13.8)	< 0.05
Protoninfa móvil	66.4	78.4	12.0 (-27.8-3.7)	0.17
Protoninfa inmóvil	45.2	42.6	2.6 (-13.2-18.4)	0.85
Deutoninfa móvil	17.6	5.9	11.7 (-2.5-26.0)	0.19
Deutoninfa inmóvil	6.9	7.3	-0.4 (-5.4-4.6)	1.0
Hijas adultas	14.1	10.3	3.8 (-0.4-8.1)	0.06
Machos	23.9	6.9	17.0 (10.8-23.1)	< 0.05

Ausencia o muerte del macho y su impacto en la producción de hijas viables

Se determinó que la muerte o ausencia del macho se presentó en un número considerable de celdas en ambos tipos de cría. Se observó en mayor cantidad en la cría de obrera ($P < 0.05$). A pesar de que en el 66.4% de las celdas de obrera se encontró la presencia de hijas adultas (vivas), solamente el 42.3% eran viables, debido a la ausencia o muerte del macho. Esta condición también fue observada en las celdas de zángano, pero en menor proporción (Cuadro 4). En las celdas de obrera analizadas ($n = 388$), se observó 316 hijas (vivas); sin embargo, solamente 210 se consideraron viables. Por otra parte, en las celdas con cría de zángano ($n = 403$), se determinó la presencia de 1057 hijas adultas (vivas), produciéndose 862 hijas viables, encontrándose una diferencia considerable (relación 3:1) al comparar la producción de hijas viables en ambos tipos de cría (Cuadro 4).

Cuadro 4. Ausencia o muerte del macho y la producción de hijas viables e hijas infértiles en celdas con cría de obrera y zángano.

Característica	Obrera (%)	Zángano (%)	Dif. Medias IC 95%	P
Ausencia/muerte del macho*	40.0	21.3	18.7	< 0.05
Celdas con hijas vivas*	66.4	88.3	-21.9	< 0.05
Celdas con hijas viables*	42.3	69.6	-27.3	< 0.05
Celdas con hijas no viables*	24.1	18.7	15.1	< 0.05
Hijas viables**	66.5	81.6	-15.1	< 0.05

*Se consideró las celdas con reproducción en obrera (n= 345) y zángano (n= 375).

**Se consideró el total de hijas vivas en celdas de obrera (n= 316) y zángano (n= 1057).

DISCUSIÓN

Estudios sobre la reproducción del ácaro *V. destructor* en abejas africanizadas, bajo condiciones tropicales, se han realizado principalmente en Brasil, en los cuales se indica cierta tolerancia de este tipo de abeja hacia *V. destructor* (Moretto & Leonidas, 2003; Junkes et al., 2007). La tolerancia se ha relacionado con la baja fertilidad que presenta el ácaro en cría de obrera (Corrêa-Marques et al., 2003; Carneiro et al., 2007; Junkes et al., 2007). Algunas investigaciones, realizadas en Costa Rica, han reportado que, en celdas de obrera, la reproducción de *V. destructor* es irregular, debido a que una cantidad considerable de ácaros no se reproduce o produce cría de un solo género (Calderón & Zamora, 2007). Mientras que, en cría de zángano, el ácaro presenta una alta fertilidad y producción de hijas viables (Calderón et al., 2007b). No obstante, la mayoría de estudios se ha efectuado en celdas infestadas de manera artificial, lo que podría afectar el ciclo reproductivo. En este estudio, se determinó la habilidad reproductiva de *V. destructor* en celdas de obrera y zángano infestadas naturalmente.

En el hospedero natural, la abeja asiática *A. cerana*, el ácaro *V. destructor* se reproduce mayormente en la cría de zángano (Rosenkranz & Engels, 1994). Mientras que en la abeja *A. mellifera*, se reproduce tanto en la cría de obrera como de zángano, observándose una mejor reproducción en las celdas de zángano (Fuchs, 1990; Boot et al., 1991). Esto se ha relacionado con diferentes factores, como el tamaño de la celda al existir una fuerte correlación entre el tamaño y la tasa de infestación (Message & Gonçalves, 1995; Piccirillo & De Jong, 2003). Asimismo, la celda de zángano permanece sellada por un período mayor que la celda de obrera, lo cual permite que más ácaros alcancen la fase adulta. Se debe mencionar que, en condiciones tropicales, la presencia de cría zángano en las colmenas es estacional, presentándose, sobretodo, en la época de floración (época seca) (Martin, 1995); mientras que la cría de obrera está presente en la colmena durante todo el año, variando la cantidad de acuerdo con la época (Martin, 1994).

Diversos autores señalan que *V. destructor* presenta una mayor fertilidad en celdas con cría de zángano, tanto en abejas europeas como en africanizadas (Ifantidis, 1983; Garrido et al., 2003). Uno de los factores asociados, más significativos, con la tolerancia de la abeja africanizada hacia el ácaro, es su baja fertilidad en celdas de obrera, comparado con las de zángano (Medina & Martin, 1999; Carneiro et al., 2007), lo cual es un factor que limita, de manera considerable, el aumento en la población de ácaros en la colmena (Corrêa-Marques et al., 2003; Junkes et al., 2007). Por ejemplo, en Brasil se indica que más de un 50.0% de los ácaros no se reproduce en cría de obrera (Rosenkranz, 1999). En esta investigación, se estableció que la fertilidad del ácaro fue superior al 85.0% en ambos tipos de cría, lo cual indica que, la fertilidad determinada en este estudio, no fue influenciada por el tipo de cría, aún cuando resultó levemente superior en celdas de zángano.

Asimismo, el porcentaje de ácaros, que no se reprodujo, fue menor al 15.0% en ambos tipos de cría. Las causas por las cuales algunos ácaros no se reproducen se desconocen con exactitud. Algunos autores mencionan que la edad del ácaro es uno de los factores que afecta directamente su capacidad reproductiva. Ácaros de edad avanzada presentan una menor posibilidad de reproducirse, pues el número de huevos y espermatozoides es limitado, pudiendo agotarse en ciclos previos (Martin & Kemp, 1997). Martin et al. (1997), reportan que *V. destructor*, en condiciones naturales, puede completar de dos a tres ciclos reproductivos durante su vida. Mientras que De Ruijter (1987), indica que, en condiciones artificiales, el ácaro es capaz de realizar hasta siete ciclos sucesivos, al producir más de 30 huevos.

Con respecto a la fecundidad del ácaro, se ha establecido que depende, en parte, del tipo de cría que infesta (obrero-zángano) (Ghamdi & Hoopingarner, 2003). En esta investigación, se estableció que el ácaro presenta una mayor fecundidad en cría de zángano, al producir, en promedio, 0.8 descendientes más por ácaro que en cría de obrera. La duración del período de la celda sellada es uno de los factores principales, asociados con el número de descendientes producidos por ácaro (Oldroyd, 1999). En obrera, la cría permanece sellada, en promedio 12 días; mientras que, en zángano se mantiene operculada por aproximadamente 14 días. Rosenkranz (1999) indica que esta diferencia, en el período sellado, limita la cantidad de descendientes producidos en celdas de obrera. Observaciones recientes, en celdas artificiales de obrera en abejas africanizadas, mostraron movimientos de desplazamiento de la larva alrededor de la celda, los cuales interfieren con la alimentación del ácaro, retrasando el inicio de la oviposición (Calderón et al., 2009). Este retraso, en el ciclo reproductivo de *V. destructor*, afecta directamente la cantidad de progenie producida. Se ha indicado que el ácaro activa su oogénesis inmediatamente después de invadir la celda de cría y alimentarse, lo cual es necesario para el éxito reproductivo (Martin & Cook, 1996; Garrido & Rosenkranz, 2003).

El número de hijas viables, producidas por ácaro, es uno de los principales parámetros relacionados con la dinámica poblacional, dado que, únicamente, los ácaros fértiles contribuyen con el crecimiento de la población (Ifantidis, 1997; Mondragón et al., 2005). La tolerancia/resistencia de las abejas, se ha asociado, anteriormente, con la fertilidad de los ácaros (Martin et al., 1997) y más recientemente con la producción de hijas viables (Calderón et al., 2007a). En este estudio, una de las principales diferencias observadas, al

comparar la reproducción de *V. destructor* en cría de obrera y zángano, fue que un número considerable de ácaros produjo hijas viables en celdas de zángano. Asimismo, la cantidad de hijas viables fue superior en cría de zángano, al producirse 2.1 hijas por ácaro; mientras que, en cría de obrera, fue de 0.5 hijas viables. La baja producción de hijas viables, en la cría de obrera, podría ser considerado como un factor de resistencia presente en la abeja africanizada. Diferentes estudios reportan una cantidad limitada de hijas viables en cría de obrera en abejas africanizadas (Calderón et al., 2003a; Calderón et al., 2007b). Por otra parte, la elevada producción de hijas viables, en la cría de zángano, podría relacionarse con el aumento en el nivel de infestación de las colmenas, observado en abejas africanizadas en Costa Rica. Lo anterior, indica que el tipo de cría, obrera o zángano, afecta de manera directa la producción de hijas viables (Boot et al., 1991).

Anteriormente, algunos estudios indican que un alto porcentaje de ácaros produce cría inmadura en celdas de obrera, al establecerse como un parámetro que limita la reproducción de *V. destructor* en abejas africanizadas (Quesada, 2005). En esta investigación, el porcentaje de ácaros, que produjo únicamente cría inmadura, fue menor al 5.0%; observándose, una mayor proporción en la cría de obrera. Se ha indicado que la cría de zángano presenta un mayor estímulo (composición de la hemolinfa) que favorece el inicio de la oviposición, lo cual permite que la mayoría de descendientes alcance el estadio adulto (Martin et al., 1997).

Es importante señalar que otros aspectos negativos, como la producción de cría de un solo sexo (macho o hembra), ocasionan una reducción en la habilidad reproductiva de *V. destructor* (Calderón et al., 2007b). En esta investigación, se determinó que el porcentaje de celdas, con sólo macho, fue significativamente mayor en cría de obrera. Como se mencionó, algunos autores han reportado que ácaros infértiles producen sólo machos (De Ruijter, 1987). Por otra parte, se menciona que algunos ácaros fértiles (presencia de espermatozoides) que sólo producen machos, continúan haciéndolo en ciclos sucesivos, lo cual indica algún defecto en su fisiología (Martin et al., 1997). Otros investigadores atribuyen la presencia de sólo macho a un inicio tardío en la oviposición, al producirse macho adulto y hembras en estadio inmaduro. Adicionalmente, en este estudio se establece: el porcentaje de ácaros que produjo solo hijas fue muy similar en ambos tipos de cría. Se reporta que la presencia de sólo hijas se debe a la muerte del macho en estadios inmaduros. Se resalta que los ácaros, los cuales sólo producen descendencia de un sexo, (macho o hembra) no favorecen el crecimiento poblacional del ácaro (Martin et al., 1997).

Se ha establecido que la mortalidad de los diferentes estadios de *V. destructor*, durante su desarrollo en las celdas de cría (obrero o zángano), es un factor que afecta directamente la producción de hijas viables (Martin, 1994, 1995; Donzé et al., 1996). En esta investigación, la mortalidad de los estadios del ácaro, se presentó tanto en cría de obrera como de zángano, al ser mayor en la cría de obrera. Específicamente, se observó en ambos tipos de cría una alta mortalidad de la protoninfa (móvil e inmóvil). Mientras que, en la cría de obrera, se registró, adicionalmente, una alta mortalidad de la deutoninfa móvil y el macho; estadios que, por su etapa de desarrollo avanzado, tenían una alta posibilidad de alcanzar la fase adulta. La inanición es un aspecto relacionado con la mortalidad de la descendencia de *V.*

destructor. El ácaro (madre) establece un único sitio de alimentación, el cual es utilizado por los diferentes estadios, cuyos quelíceros no son lo suficientemente fuertes para atravesar la cutícula de la pupa y establecer un sitio para alimentarse. Se reporta que, los estadios del ácaro, en los cuales no logran ubicar el sitio de alimentación, son desplazados de dicho sitio por individuos en etapas más avanzadas de desarrollo, por lo cual, eventualmente, mueren (Ifantidis, 1997; Martin et al., 1997).

Uno de los hallazgos más relevantes, determinado en este estudio, es la alta mortalidad del macho (estadio adulto) en celdas de obrera, comparado con la mortalidad en celdas de zángano. En investigaciones previas, se ha determinado que la muerte del macho es un fenómeno presente con cierta frecuencia, afectando la producción de hijas viables y la dinámica poblacional del ácaro (nivel de infestación de la colmena) (Martin, 1994; Donzé et al., 1996). Se reporta que la cantidad de espacio disponible, en el interior de la celda, es uno de los factores interviniente en la reproducción del ácaro (Martin & Kryger, 2002). Por lo anterior, se considera que el tamaño de las celdas de obrera (menor que las de zángano) repercute en la viabilidad de la cría, principalmente en el macho. Por otra parte, Martin & Kryger (2002) indican que el macho del ácaro requiere, para su mantenimiento, alimentarse de la hemolinfa de la pupa, (otros investigadores reportan que no se alimenta) (Ifantidis, 1983, 1997), y, aquellos que mueren, se debe principalmente a no haber alcanzado el sitio de alimentación. Además, algunos machos son dañados por los apéndices de la abeja cuando se dirigen al sitio de alimentación (Martin et al., 1997).

Otro aspecto relacionado con el macho y, a la fecha poco reportado, es su ausencia. Al comparar ambos tipos de cría, se determinó que el macho no estaba presente en un número considerable de celdas de obrera, provocando que las hijas emerjan de la celda sin fecundar, permaneciendo infértiles en ciclos sucesivos. Por otra parte, en cría de zángano, la ausencia del macho se observó en un número menor de celdas, lo cual favoreció la producción de hijas viables. Se ha establecido que la ausencia del macho puede relacionarse con su muerte en estadios inmaduros (Martin et al., 1997). Estudios recientes han determinado que los movimientos de la larva, durante la muda a pupa, causan lesiones al primer huevo (el cual origina al macho), ocasionando, en algunos casos, su muerte (Calderón et al., 2009). La ausencia del macho es un factor que afecta, de manera directa, el crecimiento de la población de *V. destructor*, al disminuir la producción de hijas viables. Se debe aclarar que, en cada ciclo reproductivo, se produce únicamente un macho, el cual es responsable de fertilizar a las hembras que recién alcancen el estadio adulto (Calderón et al., 2009).

En abejas europeas, se ha determinado una relación estrecha entre el número de celdas de obrera con ausencia del macho (10.0–25.0%) y la cantidad de celdas de obrera en las que el ácaro no se reproduce (ácaros infértiles) (14.0%) (Martin et al., 1997). Asimismo, Harris & Harbo (1999), indican que los ácaros que no se reproducen corresponden a ácaros sin fecundar. Confirman que los ácaros sólo pueden ser fecundados unas horas después de alcanzar la fase adulta, y que, en aquellas celdas, en las cuales presentan ausencia del macho, se producen ácaros infértiles. Por otra parte, Garrido et al. (2003), estudiaron abejas africanizadas que presentaban una alta tasa de ácaros sin reproducción; la fertilidad



de estos, en la fase forética, (abejas adultas), reportó que la mayoría de ácaros en la fase forética eran fértiles (presentaban espermatozoides viables); por lo cual sugiere que las hembras sin fecundar eventualmente desaparecen de la población.

La producción de hijas viables, en celdas de obrera, fue significativamente menor que en la cría de zángano, debido a la ausencia del macho, lo cual podría considerarse como un factor de resistencia presente en la abeja africanizada. Harbo & Hoopingarner (1997), señalan que algunas líneas de abejas mantienen bajos niveles de infestación, principalmente debido a la limitada reproducción del ácaro en la cría de obrera. En colmenas con supresión reproductiva del ácaro (SMR, por sus siglas en inglés), *V. destructor* no se reproduce o no produce hijas viables. Es importante señalar que, de acuerdo con el modelo poblacional desarrollado por Martin (1998), pequeñas diferencias en la reproducción del ácaro y en la viabilidad de la progenie, generan diferencias considerables en el número de hijas viables que se producen.

Aún cuando, en abejas africanizadas, la ausencia del macho en celdas de obrera reduce de manera significativa la cantidad de hijas viables, se considera que el número de ciclos realizados por el ácaro, en la cría de obrera (presente en la colmena durante todo el año), favorece el aumento gradual en la infestación de las colmenas. Asimismo, en la cría de zángano, cuya presencia en la colmena es estacional (época seca), la mayoría de ácaros produce hijas viables, beneficiando, de manera directa, el aumento en la población de ácaros. Estas observaciones están relacionadas con los altos niveles de infestación determinados en colmenas de abejas africanizadas en diferentes estudios, así como en muestreos realizados en zonas apícolas del país, siendo necesaria la aplicación anual de medidas de control. Debido al éxito reproductivo del ácaro, determinado en cría de zángano, se debe considerar su eliminación periódica como una medida de control biológico.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se debe indicar que, al comparar la reproducción del ácaro *V. destructor* en celdas de obrera y zángano, se determinó que la fertilidad fue similar en ambos tipos de cría. Sin embargo, en cría de zángano, la mayoría de ácaros produjo hijas viables, mientras que en cría de obrera menos del 40.0% logró producir hijas viables. Por ello, se debe indicar que la cría de zángano es más adecuada para la reproducción del ácaro, al ser esencial para el crecimiento de la población de este ácaro dentro de la colmena. A su vez, debe considerarse su eliminación periódica de la colmena, como una práctica de control integrado de *V. destructor*, pues la eliminación limita el crecimiento de la población de ácaros y reduce el nivel de infestación de las colmenas. Por otra parte, la mortalidad de estadios inmaduros del ácaro se observó en ambos tipos de cría. En la cría de obrera se determinó una alta mortalidad en los estadios de protoninfa (móvil/inmóvil), deutoninfa móvil y macho adulto. Mientras que, en celdas de zángano, se estableció una mortalidad considerable en los estadios de protoninfa e hija adulta. Al comparar la mortalidad de los estadios inmaduros de *V. destructor* en cría de obrera y zángano, se debe indicar una mayor mortalidad en las celdas de obrera, al ser uno de los principales factores que afecta el éxito reproductivo del ácaro. Asimismo, la mortalidad o ausencia del

macho se presentó tanto en celdas de obrera como de zángano, al ser significativamente mayor en cría de obrera. En este estudio, uno de los principales factores relacionados con la baja producción de hijas viables, en celdas de obrera, fue la muerte o ausencia del macho. Por otra parte, a pesar de observarse una menor ausencia del macho en la cría de zángano, es un factor que afecta negativamente la producción de hijas viables en este tipo de cría.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer a los apicultores de Ciudad Colón (cantón de Mora), San José, que pusieron a disposición las colmenas para realizar la investigación. Asimismo, agradecemos a nuestro colega, el M.Sc. Fernando Ramírez Arias, por el apoyo en el manejo de las colmenas del CINAT durante el estudio.

REFERENCIAS

- Anderson, D. L. & J. W. H. Trueman. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp. Appl. Acarol.* 24: 165–189.
- Arechavaleta, E. M. & E. Guzmán. 2001. Relative effect of four characteristics that restrain the population growth of the mite *Varroa destructor* in honey bees (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie* 32: 157–174.
- Bailey, L. & B. V. Ball. 1991. Honey bee pathology, 2nd ed. Academic Press Inc., London, U.K.
- Boot, W. J., J. Calis & J. Beetsma. 1991. Invasion of varroa mites into honeybee brood cells; when do brood cells attract varroa mites? *Proc. Exp. Appl. Entomol. N.E.V. Amsterdam* 2:154–156.
- Boot, W., J. Schoenmayer, J. Calis & J. Beetsma. 1995. Invasion of *Varroa jacobsoni* into drone brood cells of the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie* 26: 109–118.
- Calderón, R. A., M. Sommeijer, A. De Ruijter & J. Veen. 2003a. The reproductive ability of *Varroa destructor* in worker brood of Africanized and hybrid honey bees in Costa Rica. *J. Apic. Res.* 42: 65–67.
- Calderón, R. A., J. Veen, H. G. Arce & M. E. Esquivel. 2003b. Presence of deformed wing virus and Kashmir bee virus in Africanized honey bees in Costa Rica infested with *Varroa destructor*. *Bee World* 84: 112–116.
- Calderón, R. A. & L. G. Zamora. 2007. Reproduction of *Varroa destructor* in Africanized honey bees under the tropical conditions of Costa Rica. *Api acta* 42: 31–38.
- Calderón, R. A., L. G. Zamora & J. Veen. 2007a. The reproductive rate of *Varroa destructor* in drone brood of Africanized honey bees. *J. Apic. Res.* 46: 140–143.
- Calderón, R. A., L. G. Zamora, J. Veen & M. V. Quesada. 2007b. A comparison of the reproductive ability of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in worker and drone brood of Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Exp. Appl. Acarol.* 43: 25–32.



- Calderón, R. A., N. Fallas, L. G. Zamora, J. Veen & L. A. Sánchez. 2009. Behavior of varroa mites in worker brood cells of Africanized honey bees. *Exp. Appl. Acarol.* 49: 415–421.
- Carneiro E. F., R. Torres, R. Strapazzon, S. Ramirez, J. Guerra, D. Koling & G. Moretto. 2007. Changes in the reproductive ability of the mite *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) in Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae) colonies in Southern Brazil. *Neotrop. Entomol.* 36: 949–952.
- Corrêa-Marques, M. H. 2000. Reproduction of the mite *Varroa jacobsoni* in Africanized honey bee colonies in Brazil. *Genet. Mol. Res.* 3: 463–464.
- Corrêa-Marques, M. H., L. Medina, S. Martin & D. De Jong. 2003. Comparing data on the reproduction of *Varroa destructor*. *Genet. Mol. Res.* 2: 1–6.
- De Ruijter, A. 1987. Reproduction of *Varroa jacobsoni* during successive brood cycles of the honeybee. *Apidologie* 18: 321–326.
- Donzé, G. & P. M. Guerin. 1994. Behavioral attributes and parental care of varroa mites parasitizing honey bee brood. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 34: 305–319.
- Donzé G., M. Herrmann, B. Bachofen & P.M. Guerin. 1996. Effect of mating frequency and brood cell infestation rate on the reproductive success of the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*. *Ecol. Entomol.* 21: 17–26.
- Donzé, G., P. Fluri & A. Imdorf. 1998. A look under the cap: the reproductive behaviour of varroa in the capped brood of the honey bee. *Am. Bee. J.* 7: 528–532.
- Fuchs, S. 1990. Preference for drone brood cells by *Varroa jacobsoni* Oud. in colonies of *Apis mellifera carnica*. *Apidologie* 21: 193–199.
- Ghamdi, A. & R. Hoopingarner. 2003. Reproductive biology of *Varroa jacobsoni* Oud. in worker and drone brood of the honey bee *Apis mellifera* L. under Michigan conditions. *Pak. J. Biol. Sci.* 6: 756–761.
- Garrido, C. & P. Rosenkranz. 2003. The reproductive program of female *Varroa destructor* mites is triggered by its host, *Apis mellifera*. *Exp. Appl. Acarol.* 31: 269–273.
- Garrido, C., P. Rosenkranz, R. Paxton & L. Gonçalves. 2003. Temporal changes in *Varroa destructor* fertility and haplotype in Brazil. *Apidologie* 34: 535–541.
- Harbo, J. R. & J. W. Harris. 2005. Suppressed mite reproduction explained by the behaviour of adult bees. *J. Apic. Res.* 44: 21–23.
- Harbo, J. R & R. A. Hoopingarner. 1997. Honey bees (Hymenoptera: Apidae) in the United States that express resistance to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 893–898.
- Harris, J. W. & J. R. Harbo. 1999. Low sperm counts and reduced fecundity of mites in colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) resistant to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *J. Econ. Entomol.* 92: 83–90.

- Harris, J. W., J. R. Harbo, J. D. Villa & R. G. Danka. 2003. Variable population growth of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) during a 10-year period. *Environ. Entomol.* 32: 1305–1312.
- Ifantidis, M. D. 1983. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honeybee brood cells. *J. Apic. Res.* 22: 200–206.
- Ifantidis, M. D. 1997. Ontogenesis of *Varroa jacobsoni* Oud. p. 13–21. In *Cahiers Options Méditerranéennes*. Vol. 21. Varroosis in the Mediterranean region. CIHEAM, ES.
- Junkes, L., J. Vieira, J. Guerra & G. Moretto. 2007. *Varroa destructor* mite mortality rate according to the amount of worker brood in Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Acta Sci. Biol. Sci.* 29: 305–308.
- Kralj, J. & S. Fuchs. 2006. Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie* 37: 577–587.
- Martin, S. J. 1994. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Exp. Appl. Acarol.* 18: 87–100.
- Martin, S. J. 1995. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in drone brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Exp. Appl. Acarol.* 19: 199–210.
- Martin, S. J. 1998. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecol. Model.* 109: 267–281.
- Martin, S. J. & C. Cook. 1996. Effect of host brood type on the number of offspring laid by the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*. *Exp. Appl. Acarol.* 20: 387–390
- Martin S. J. & D. Kemp. 1997. Average number of reproductive cycles performed by *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *J. Apic. Res.* 36: 113–123.
- Martin, S. J., K. Holland & M. Murray. 1997. Non-reproduction in the honey bee mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *J. Apic. Res.* 36: 113–123.
- Martin, S.J. & P. Kryger. 2002. Reproduction of *Varroa destructor* in South African Honey bees: does cell space influence *Varroa* male survivorship? *Apidologie* 33: 51–61.
- Medina, L. & S. Martin. 1999. A comparative study of *Varroa jacobsoni* reproduction in worker cells of honey bees (*Apis mellifera*) in England and Africanized bees in Yucatan, Mexico. *Exp. Appl. Acarol.* 23: 659–667.
- Medina, L., S. Martin, L. Espinosa & F. Ratnieks. 2002. Reproduction of *Varroa destructor* in worker brood of Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Exp. Appl. Acarol.* 27: 79–88.
- Message, D. & L. Gonçalves. 1995. Effect of the size of worker brood cells of Africanized honey bees on infestation and reproduction of the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 26: 381–386.
- Mondragón, L., M. Spivak & R. Vandame. 2005. A multifactorial study of the resistance of honey bees *Apis mellifera* to the mite *Varroa destructor* over one year in Mexico. *Apidologie* 36: 345–358.

- Mondragón, L., S. Martin & R. Vandame. 2006. Mortality of mite offspring: a major component of *Varroa destructor* resistance in a population of Africanized bees. *Apidologie* 37: 67–74.
- Moretto, G. & J. Leonidas. 1999. *Varroa jacobsoni* infestation of adult Africanized and Italian honey bees (*Apis mellifera*) in mixed colonies in Brazil. *Genet. Mol. Biol.* 22: 321–323.
- Moretto, G. & J. Leonidas. 2003. Infestation and distribution of the mite *Varroa destructor* in colonies of Africanized bees. *Braz. J. Biol.* 63: 83–86.
- Oldroyd, B. P. 1999. Coevolution while you wait: *Varroa jacobsoni*, a new parasite of western honeybees. *Trends Ecol. Evol.* 14: 312–315.
- Piccirillo, G. A. & D. De Jong. 2003. The influence of brood comb cell size on the reproductive behavior of the ectoparasitic mite *Varroa destructor* in Africanized honey bee colonies. *Gen. Mol. Res.* 2: 36–42.
- Quesada, V. M. 2005. Comparación de la habilidad reproductiva del ácaro *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) en celdas con cría de obrera y celdas con cría de zángano en abejas africanizadas (*Apis mellifera*) en Costa Rica. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional, C.R.
- Rosenkranz, P. 1999 Honey bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie* 30: 159–172.
- Rosenkranz, P. & W. Engels. 1994. Infertility of *Varroa jacobsoni* females after invasion into *Apis mellifera* worker brood as a tolerance factor against varroaosis. *Apidologie* 25: 402–411.
- Spivak, M. & G. Reuter. 2001. *Varroa destructor* infestation in untreated honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies selected for hygienic behaviour. *J. Econ. Entomol.* 94: 326–331.