

LA SELECCIÓN DE ABEJAS TOLERANTES A VARROA DESTRUCTOR (II)

Un mundo sin varroa

Francisco Padilla Alvarez (padilla@uco.es) y José M. Flores Serrano.
Departamento de Zoología, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), 14071 Córdoba





La tolerancia a varroa.

¿Qué factores determinan la tolerancia a varroa? Aunque el abanico no es muy amplio, para describirlos los vamos a agrupar en dos conjuntos: factores ambientales y de comportamiento.

En el apartado de factores ambientales se incluyen variables tales como temperatura, humedad, flujo de néctar o disponibilidad de polen. En un trabajo realizado por Moretto y cols. (1991) en Brasil los autores efectuaron un traslado de colmenas (abejas africanizadas) desde una zona templada a una fría, encontrando que la población de ácaros en las colonias se incrementó del 4 al 11%. Aunque el trabajo citado pone

en evidencia la existencia de una correlación entre la población de varroa y las condiciones ambientales, en la bibliografía sobre este tema también hay ejemplos de trabajos que no encuentran este tipo de correlación. De todas formas los investigadores aceptan que la dinámica poblacional de varroa está condicionada por el medio ambiente.

En el grupo de los factores de tipo comportamental se incluyen acciones desarrolladas por las abejas que se pueden considerar como defensivas frente a varroa. Los dos más estudiados son el comportamiento de acicalamiento o "grooming" y el comportamiento higiénico que conlleve la retirada de cría parasitada. ¿Por qué específica-

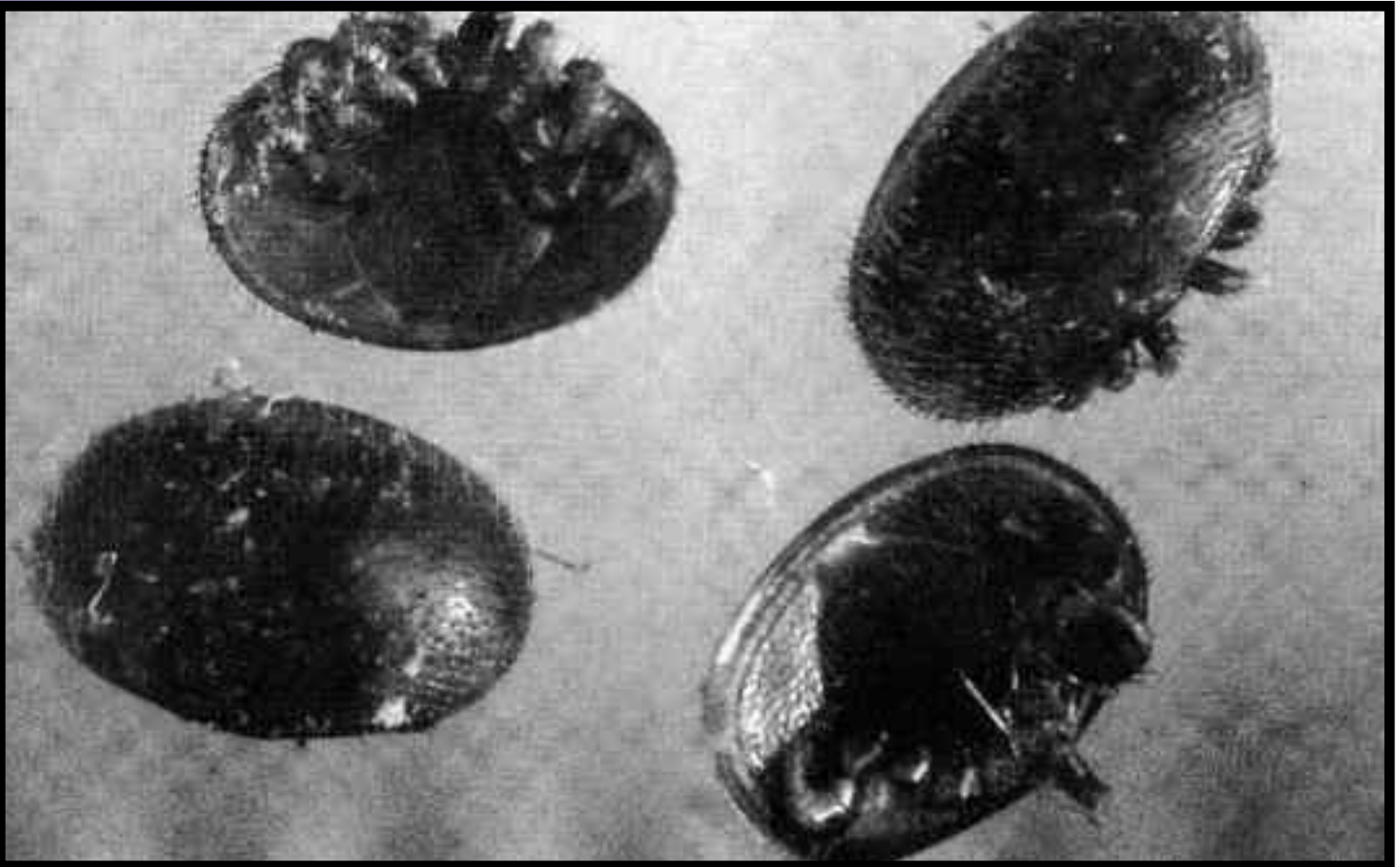


mos que el comportamiento higiénico tiene que llevar asociado la retirada de la cría?, pues debido a que actualmente sabemos que este comportamiento es complejo y variado, y que además no todas sus formas de expresión son interesantes para la lucha contra varroa.

Las obreras dedican una parte de su tiempo a limpiarse a sí mismas o a sus compañeras (acicalamiento, limpieza o cepillado), ya que varroa desarrolla una parte de su ciclo

abejas europeas el comportamiento de acicalamiento es altamente variable, además es de difícil cuantificación y respecto a su heredabilidad y posibilidades de selección los resultados obtenidos por diferentes autores son contradictorios.

Un ejemplo sobre los problemas que presenta el estudio de este comportamiento es el siguiente: uno de los métodos utilizados para medir el "grooming" conlleva contar el número de varroas que caen



vital sobre las abejas adultas (fase forética), este comportamiento puede ayudar a eliminarlas. De hecho en el caso de *A. cerana*, las abejas gracias al mismo eliminan el 98% de los parásitos adheridos a los cuerpos de las obreras. Desafortunadamente *A. mellifera* no es tan efectiva como la abeja asiática en la eliminación de varroa mediante el acicalamiento. Sabemos que en el caso de las

al fondo de las colonias en un periodo de tiempo determinado. De esta población de ácaros que caen, se estudia la proporción de parásitos que presentan daños y que se supone originados por las abejas como resultado del comportamiento de limpieza. El problema es que hay daños que puede que no sean producto de este comportamiento.

El comportamiento higiénico



(CH) se define como el desoperculado y retirada de la cría muerta, dañada (enferma) o parasitada. Una aclaración: la retirada de la cría no está asociada de forma directa a la retirada de varroa, hay varroas que pueden escapar de las celdillas mientras las obreras están retirando las pupas. Aunque varroa no sea el objeto directo de este comportamiento, está claro que la retirada de la cría supone la interrupción del ciclo reproductivo del parásito. Tradicionalmente se han usado dos procedimientos para valorar el CH. Uno de ellos consiste en usar una fina aguja para dañar la pupa en desarrollo y el otro radica en la congelación de la cría. En los dos casos se estudia el número de celdillas abiertas y cría eliminada en un intervalo

de tiempo predeterminado. El problema que tenemos actualmente es que estas dos pruebas no son determinantes en la valoración del CH frente a varroa. Sabemos que este comportamiento tiene un componente ambiental importante, además desconocemos su posible variabilidad y su heredabilidad.

A pesar de todos los posibles inconvenientes pensamos que la selección de este comportamiento (abejas altamente higiénicas) es una de las herramientas de lucha con mejores perspectivas de futuro.

Selección de abejas tolerantes.

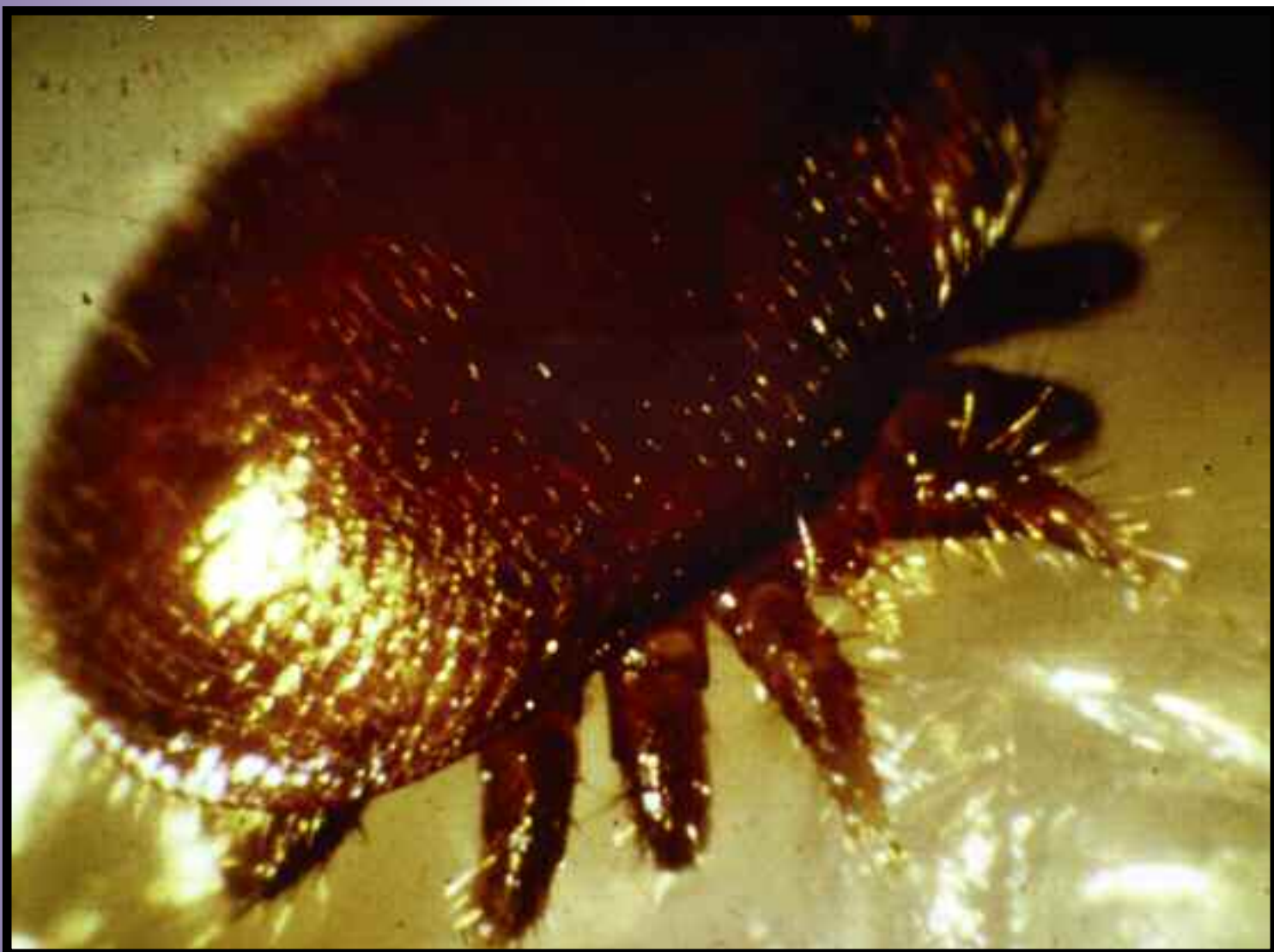
Nuestros descubrimientos sobre la biología del ácaro no

nos permiten, de momento, aprovechar estos conocimientos para desarrollar estrategias biológicas de tipo defensivo. Un ejemplo de esta línea de trabajo sería el desarrollo de una trampa de feromonas (olor) que atrajese a los ácaros de una colonia y los alejase del núcleo de cría.

Por lo tanto resulta evidente que ante la falta de sistemas viables de control de la reproducción del ácaro o de "trampas" de tipo biológico, lo mejor que podemos hacer es estudiar las bases biológicas de la tolerancia en las abejas asiáticas, y después ver que es lo que podemos aplicar en nuestro caso y usarlo para seleccionar abejas europeas (*A. mellifera*) tolerantes.

La especie *A. cerana* es tolerante a varroa, pero ¿cuáles son los mecanismos biológicos o estrategias de defensa de esta especie? Los estudios realizados muestran que hay tres elementos que permiten controlar el ciclo vital de este ácaro en las colonias: (1) la reproducción de varroa sólo tiene lugar en las celdillas de zángano, (2) el comportamiento denominado "grooming" que podemos traducir como de limpieza, cepillado o acicalamiento, permite eliminar los ácaros del cuerpo de las abejas adultas, y (3) el "entombing" o enterramiento de la cría de zángano.

El enterramiento se describe como la imposibilidad de las pupas parasitadas de abrir el



capullo o cubierta que las envuelve en los procesos de muda. El resultado es la muerte de la abeja en desarrollo y por lo tanto de las varroas presentes en las celdillas. Por este sistema se eliminan el 25% de los ácaros presentes en las colonias. Desgraciadamente nuestras abejas carecen de este sistema defensivo.

Si de los tres mecanismos que permiten a *A. cerana* controlar la población de varroa, uno de ellos (el enterramiento) no se da en nuestras abejas, ¿qué ocurre con los otros dos? Sabemos que en nuestras colmenas varroa se reproduce tanto en las celdas de zángano como en las de obrera y que actualmente no sabemos como evitar que el ácaro se introduzca en estas celdillas, por lo tanto sólo nos queda el comportamiento de cepillado o acicalado ("grooming").

Antes de abordar el comportamiento de acicalamiento como nuestro hipotético último recurso de lucha, vamos a ampliar nuestro campo de acción y plantear una pregunta desde el punto de vista de la selección: ¿hay algún ejemplo, estudiado de forma científica, de abejas europeas tolerantes a *Varroa destructor*?

La contestación a la pregunta es "sí", además afortunadamente no tenemos un sólo ejemplo, hay varios.

Uno de los primeros estudios

de tolerancia de una población de abejas se realizó en la isla de Fernando de Noronha, localizada en el norte de Brasil. En esta isla se mantuvo una población aislada de *A. m. ligustica* parasitada por varroa y sin realizar tratamientos durante más de 25 años. Este es un buen ejemplo de tolerancia, pero desafortunadamente cuando reinas oriundas de esta isla se llevaron a Alemania no se confirmó su tolerancia.

Otro ejemplo es la línea de abejas conocida como "ARS Russian Honey Bee". Estos insectos proceden de una población del este de Rusia (abejas Primorski) que ha estado en contacto desde hace décadas con el parásito, y que ha desarrollado una importante tolerancia natural a varroa. Algunas de estas abejas fueron llevadas a EE.UU. por el equipo de mejora apícola del Honey Bee Breeding, Genetics and Physiology Laboratory en Baton Rouge (Louisiana), donde están siendo estudiadas y usadas como base para la selección de abejas tolerantes. La tolerancia se basa fundamentalmente en el comportamiento higiénico y el menor éxito reproductivo del parásito.

Desafortunadamente la producción de miel de las colonias seleccionadas es inferior a la de otras no sometidas a este proceso de selección.

Otra línea de abejas conocida

Antes de abordar el comportamiento de acicalamiento como nuestro hipotético último recurso de lucha, vamos a ampliar nuestro campo de acción y plantear una pregunta desde el punto de vista de la selección: ¿hay algún ejemplo, estudiado de forma científica, de abejas europeas tolerantes a *Varroa destructor*?



internacionalmente es la "SMR" (Supression of Mite Reproduction) o supresión de la reproducción del parásito. Los investigadores que realizaron el proceso de selección escogieron este nombre porque cuando examinaban en las colonias las pupas de entre 7-11 días después de la operculación para estudiar la fertilidad de varroa, se encontraban con el hecho de que en la mayoría de los casos carecía de progenie, es decir, de descendientes. Esta línea de abejas ha sido renombrada y actualmente se conoce como "Varroa Sensitive Hygiene" (VSH) o higiene sensible a varroa. El motivo del cambio de nombre se debe a que los estudios realizados han demostrado que realmente en este caso estamos hablando de un tipo de comportamiento higiénico. En un trabajo publicado en 2009 Harbo y Harris encuen-

tran que las abejas de la línea VSH son muy efectivas en la retirada de cría parasitada por varroa, pero siempre que la hembra de varroa esté realizando puestas de huevos. Este comportamiento de retirada de cría parasitada no lo realizan cuando el ácaro se ha introducido en la celda de cría no está poniendo huevos, es decir, cuando tiene problemas de fertilidad. Nosotros también hemos observado un comportamiento similar en nuestras abejas seleccionadas. Par estudiar el éxito reproductivo del ácaro extraemos de cada colmena un cuadro conteniendo cría de entre 7 y 8 días después de la operculación, a continuación abrimos las celdillas para estudiar el proceso reproductivo del ácaro. En muchos casos observamos que en las celdillas parasitadas varroa no se está reproduciendo, tiene problemas de





fertilidad o fecundidad. Si esta observación la relacionamos con las investigaciones realizadas por Harbo y Harris, la lectura de lo que vemos en nuestras colmenas sería la siguiente: las abejas mediante el comportamiento higiénico han eliminado la mayor parte de las pupas parasitadas en las celdillas en las que varroa está poniendo huevos, dejando sin eliminar las pupas parasitadas por varroa sin éxito reproductivo (con problemas de fertilidad o fecundidad).

Uno de los estudios más interesantes, desde nuestro punto de vista, se desarrolló entre 1997 y 2002 en la isla de Gotland localizada en el mar Báltico. Este trabajo ha sido denominado, de forma coloquial como proyecto "Bond" en honor al conocido espía de ficción "James Bond" o "007". En el año 1997

comienza la introducción de colonias de abejas en la isla y en 1999 alcanzan una población de 150 colonias infestadas por varroa, que permanecieron sin tratamientos durante 6 años.

En los tres primeros años de experimentación el número de colmenas descendió drásticamente, pero posteriormente la población se recuperó. Entre el tercer y cuarto año la mortalidad invernal bajó del 76 al 57%, y del 19 al 13% entre el quinto y sexto año.

Aunque el experimento fue un éxito, las colonias supervivientes cuando se comparaban con un lote control presentaban algunas características no deseables: una menor producción de miel, una prevalencia de las enfermedades de la cría algo más alta, y una mayor agresividad de los animales.



Nosotros comenzamos nuestros estudios sobre varroa valorando el comportamiento de acicalamiento (grooming) en nuestras abejas. Recordemos que la base del mismo radica en la capacidad de las abejas de localizar los ácaros que están sobre su cuerpo o sobre el de una compañera, a continuación los muerden y los eliminan. Estudiamos las lesiones que presentaban los ácaros caídos al fondo de las colonias y aunque en muchos casos eran bastante espectaculares, la verdad es que el número de parásitos eliminados mediante este comportamiento era bajo si se comparaba con el número total de ácaros presentes en las colonias. Por lo tanto en su momento estimamos que trabajar en la selec-

ción de este carácter no ofrecía buenas perspectivas de futuro.

Posteriormente comenzamos a estudiar la fertilidad de varroa en diferentes colonias, con la idea de usar este carácter en un futuro proceso de selección. Para realizar este trabajo se abren las celdillas de obrera operculadas y se estudia su contenido. Encontramos que había colonias en las que varroa tenía un alto número de descendientes, pero en otros casos este número era significativamente inferior. Además este estudio nos permitió realizar una observación muy interesante: la infertilidad de varroa no era un hecho puntual, sino que se mantenía en el tiempo. Es decir, había colonias en las que varroa se reproducía



muy bien y otras en las que tenía problemas.

También realizamos estudios para valorar la respuesta higiénica de las abejas respecto a las celdillas parasitadas y al número de ácaros presentes en ellas. Básicamente el trabajo consistía en sacar de las colonias cuadros de cría, abrir celdas conteniendo una obrera en desarrollo, introducir en su interior entre 1 y 3 ácaros, volverla a sellar las celdillas y devolver los cuadros a las colonias. Los resultados mostraron que cuanto mayor era el número de parásitos introducidos mayor era la respuesta higiénica de las abejas. Por lo tanto ¿por qué no seleccionar abejas con la mayor respuesta higiénica posible?

Debido a que introducir

varroas en las celdas de cría de forma que las obreras no detecten la manipulación que se ha realizado, es un trabajo que podemos calificar, sin ser exagerados, como bastante arduo, decidimos usar otra técnica. Nos basamos en los trabajos de Marla Spivak sobre el estudio del comportamiento higiénico (CH) utilizando cría sacrificada, y comenzamos a estudiar este comportamiento en nuestras colonias: valoración de la retirada de cría sacrificada a las 24 horas de su introducción en las colonias. En estas colmenas también evaluábamos la tasa de parasitación mediante el estudio de los ácaros caídos en los fondos en períodos de 4 días.

Nuestra hipótesis de trabajo en estos estudios fue la

En el año 2007 decidimos dar un salto cualitativo en nuestro trabajo y utilizar el denominado test Bond (ver experimento de la isla de Gotland). Básicamente consiste en dejar un grupo de colmenas sin tratar y ver que ocurre. Aunque sabíamos que lo más probable era que se produjese una alta mortandad de colonias, decidimos someter todas las líneas seleccionadas y el mejor material genético del que disponíamos a un experimento de este tipo.

siguiente: si cuanto mayor es el grado de parasitación mayor es la respuesta higiénica, la selección de abejas con un alto CH producirá una selección paralela de varroa con menor éxito reproductivo, debido a que los parásitos con mayor éxito reproductivo (mayor número de descendientes) son "limpiados" más frecuentemente que los que tienen un menor éxito reproductivo, o los que no pueden reproducirse.

Trabajamos a lo largo de 4 años obteniendo unos resultados muy heterogéneos, y en algunos casos en desacuerdo con la hipótesis que hemos expuesto. Teníamos datos que nos mostraban que en varios casos las colmenas menos parasitadas no eran las que mostraban un mejor CH, y también teníamos datos que indicaban lo contrario. A la vista de estos resultados nos planteamos la siguiente pregunta: ¿por qué no estudiar estos caracteres de forma independiente?, por un lado colmenas con una baja tasa de parasitación y por otro colmenas con una alto CH.

Una vez realizados varios experimentos los resultados fueron concluyentes, cada línea respondió favorablemente al criterio de selección utilizado, es decir, las colonias seleccionadas por su alto CH, seguían teniendo un alto CH aunque su tasa de parasitación fuese alta. Así mismo las colmenas seleccionadas por su baja tasa de parasitación mantenían esta característica aunque su CH fuese bajo. También los trabajos que desarrollamos nos permitieron llegar a otra conclusión, la selección de colmenas con un alto CH utilizando la metodología tradicional (retirada de cría muerta por congelación) no era un buen sistema para conseguir avanzar en la selección de abejas tolerantes a varroa, que era nuestro objetivo primario.

En esta época tomamos la decisión de marcar con un determinado color a la reina de cada colmena que presentase características interesan-

tes: un alto CH o una baja tasa de parasitación. Esta reina se consideraba como la cabeza de una línea de selección y todas las reinas hijas que se obtenían se marcaban con el mismo color usado con la reina madre. Por ejemplo, la reina de la colonia 25 se marcó con rojo por presentar un alto CH. Todas las reinas hijas de esta colonia se marcaron con rojo, lo mismo ocurrió con sus nietas, biznietas, etc. Pensamos que el mejor enfoque para seguir avanzando en la selección era estudiar la falta de éxito reproductivo de varroa. En el año 2005 iniciamos un experimento escogiendo de las colonias sometidas a selección tres líneas de reinas (colores) con un grado creciente de parasitación. Para conocer el grado de parasitación se colocan en los fondos de las colonias cartulinas impregnadas con vaselina en períodos de 4 días y se estudia posteriormente el número de ácaros caídos.

De cada línea se eligieron 4 colonias, las dos que presentaban la menor tasa de parasitación y las dos en las que este valor era máximo. De cada colmena se tomó un cuadro de cría de entre 7 y 8 días después de la operculación para ver si la cría estaba parasitada o no, para saber si varroa se había reproducido y también para conocer el número y estado de sus descendientes. Encontramos que en las tres líneas las colonias menos parasitadas (con menor caída de ácaros a los fondos) se correspondían con las que tenían también cría con menor grado de parasitación.

En el año 2007 decidimos dar un salto cualitativo en nuestro trabajo y utilizar el denominado test Bond (ver experimento de la isla de Gotland). Básicamente consiste en dejar un grupo de colmenas sin tratar y ver que ocurre. Aunque sabíamos que lo más probable era que se produjese una alta mortandad de colonias, decidimos someter todas las líneas seleccionadas y el mejor material genético del



que disponíamos a un experimento de este tipo. Una apuesta realmente arriesgada ¿qué hacíamos si todas las colonias sucumbían en el experimento?

En marzo de 2007 seleccionamos 65 colonias que cumplían el siguiente criterio: una colmena con 7 cuadros de abejas, 5 de cría y 2 de miel. En todas las colonias se sacaron 3 cuadros que se sustituyeron por láminas de cera. Las colonias se situaron al azar en un colmenar y se sometieron a un manejo similar al de una explotación apícola dedicada a la producción de miel.

Según lo previsto en otoño e invierno se produjo una alta mortandad de colonias, la reducción de la población de obreras supuso la existencia de cría desatendida y la aparición de enfermedades como ascosferosis (pollo escayolado) y loque europea. También observamos algunos casos de despoblamiento (síndrome de despoblamiento de colonias), colonias con una buena

reserva de comida, con cría en desarrollo pero con un escaso número de obreras.

A la invernada sobrevivieron 9 colonias (13,8%) que tuvieron un buen desarrollo en primavera con producción de enjambres y miel. Obviamente en la primavera de 2008 dedicamos una parte importante de nuestro trabajo a obtener reinas hijas de estas colonias. También decidimos volver a repetir el experimento e incluir en él otras colmenas que habíamos valorado previamente y que presentaban una baja tasa de parasitación.

En la primavera de 2009 evaluamos las colmenas que teníamos en nuestro colmenar experimental de la Universidad de Córdoba y seleccionamos 60 colonias pertenecientes a 10 familias diferentes, que cumplían el criterio expuesto en el caso del experimento anterior: 7 cuadros de abejas, 5 de cría y 2 de miel.

En junio de 2010 sobrevivían 34 colonias (56,6%) con una

buena evolución y producción de miel. Todas las colonias que presentaron diferentes patologías se eliminaron del experimento, así mismo fueron eliminadas las que no mostraron un buen desarrollo.

En julio de 2011 sobreviven 15 colonias con sus reinas originales y 5 más han realizado un recambio natural. Todas siguen presentando bajas tasas de parasitación (el último tratamiento se realizó en diciembre de 2009) y además una buena evolución temporal.

Como conclusión del trabajo que hemos desarrollado hasta el momento podemos afirmar que nuestro sistema de selección es válido, y que contamos con varias líneas de colonias que tienen una baja tasa de parasitación y un buen nivel de producción de miel. La mayoría de los trabajos de selección realizados hasta ahora buscando una tolerancia a varroa se han centrado casi de forma exclusiva en esta característica, apareciendo en muchos casos características no deseables por los apicultores: una baja producción de miel o una mayor agresividad. Nosotros en nuestro esquema de selección consideramos como objetivo prioritario la tolerancia a varroa, pero no descuidamos otros aspectos bien valorados por los profesionales: buena producción de miel y baja agresividad.

Bibliografía.

- Anderson D. L. & J. W. H. Trueman (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24: 165-189.

- Boecking O., E. Genersch (2008). Varroosis - the ongoing crisis in bee keeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 3: 221-228.

- Calderone N. W., L. P. S. Kuenen (2003). Differential tending of worker and drone larvae of the honey bee, *Apis mellifera*, during the 60 hours prior to cell capping.

Apidologie 34: 543-552.

- Dillier F. X., P. Fluri, A. Imdorf (2006). Review of the orientation behaviour in the bee parasitic mite *Varroa destructor*: Sensory equipment and cell invasion behaviour. *Revue Suisse de Zoologie* 113:857-877.

- Flores J. M., J. A. Ruiz, J. M. Ruz, F. Puerta, M. Bustos, F. Padilla, F. Campano (1995). El fenómeno de la resistencia natural a la varroasis. *Vida Apícola* 74: 44-51.

- Flores, J. M., J. A. Ruíz, J. M. Ruz, F. Puerta, M. Bustos, F. Campano, F (1999). Variability in non-reproducing rate of *Varroa jacobsoni* Oud. in colonies of *Apis mellifera* iberica in the south of Spain. *Research and Reviews in Parasitology* 59: 121-124.

- Flores, J. M., J. A. Ruíz, J. M. Ruz, F. Puerta, M. Bustos (2001). Hygienic behaviour of *Apis mellifera* iberica against brood cells artificially infested with varroa. *Journal of Apicultural Research* 40: 29-34.

- Flores J. M., J. A. Ruíz, S. M. Alfonso (2002). Assessment of the population of *Varroa destructor* based on its collection from boards at the bottom of hives of *Apis mellifera* iberica. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinarias* 97: 193-196.

- Flores Serrano J. M., J. A. Jiménez Rebollo, F. Padilla Alvarez, M^a A. Palacio (2006). La falta de éxito reproductivo de *Varroa destructor* puede estar en el origen de la diferencia en la parasitación de colonias preseleccionadas por su tolerancia al parásito. VIII Congreso Iberoamericano de Apicultura. Pastrana (Guadalajara).

- Fries I., H. Hansen, A. Imdorf, P. Rosenkranz (2003). Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in Sweden. *Apidologie* 34: 389-397.

- Fries I., A. Imdorf, P. Rosenkranz (2006). Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a nordic climate. *Apidologie* 37: 564-570.