CAPÍTULO 3.2.7.

VARROOSIS DE LAS ABEJAS MELÍFERAS (INFESTACIÓN DE LAS ABEJAS MELÍFERAS POR *VARROA* SPP.)

RESUMEN

El ácaro Varroa destructor (anteriormente identificado como Varroa jacobsoni) es un parásito de las abejas melíferas. Se alimenta de las etapas preimaginales del hospedador dentro de las celdas de cría selladas y penetra la piel intersegmentaria entre la esclerótica abdominal de las abejas adultas para ingerir la hemolinfa y los tejidos grasos del cuerpo. Mientras se alimenta, V. destructor puede transmitir distintos virus: el virus de las alas deformadas, el virus de la parálisis aguda de las abejas, el virus de la parálisis aguda israelí y el virus de Cachemira, entre otros. Sin un tratamiento de la colonia de abejas melíferas, el número de parásitos aumenta constantemente con el crecimiento de la población de abejas y su creciente actividad de cría, lo que lleva al colapso de la colonia en 1–4 años. Los signos clínicos de infestación, que ocurren principalmente al final de la temporada, son un efecto de las infecciones por virus más que del parasitismo directo por el propio ácaro. La esperanza de vida del ácaro depende de la temperatura y la humedad pero, en la práctica, puede sobrevivir desde unos días hasta unos meses.

Detección del agente: Hay tres métodos para obtener ácaros V. destructor y cuantificar los niveles de infestación de la colonia: el examen de detritos de la colonia, de abejas melíferas adultas o de celdas de cría. Se pueden obtener ácaros adultos de los detritos, que es todo el material que se origina en los cuerpos o en los panales de abejas y que cae al fondo de la colonia, donde se puede instalar una tabla extraíble. El examen de los detritos se puede realizar después de la aplicación de un medicamento que mate a los ácaros directamente o que los obligue a alejarse de las abejas, con el fin de medir la infestación de las colonias, o se puede realizar sin medicación para cuantificar la mortalidad natural ocasionada por los ácaros. Se pueden examinar abejas adultas para detectar y cuantificar la presencia de ácaros, lo que proporciona información sobre la población de ácaros en fase de dispersión. El examen de la cría proporciona información sobre la población de ácaros reproductores. Varroa destructor prefiere las crías zánganos a las crías obreras, por lo que la infestación en las crías zánganos podría ser mayor que en las crías obreras.

Pruebas serológicas: No se aplican pruebas serológicas.

***Requisitos para las vacunas**: No existen productos biológicos.*

A. INTRODUCCIÓN

Los ácaros *Varroa* son parásitos de las abejas melíferas cría y adultas (especies del género *Apis*) que originalmente infestaban abejas melíferas asiáticas nativas estrechamente relacionadas con *Apis cerana* (Dietemann *et al*., 2013). Se han descrito cuatro especies ectoparásitas obligadas: Varro*a jacobsoni, V. underwoodi, V. rindereri* y *V. destructor* (Figura 1). Dos haplotipos de la especie *V. destructor*, el haplotipo coreano y el japonés/tailandés, parasitan a *Apis mellifera* (Figura 2; Dietemann *et al*., 2013). El haplotipo coreano se ha extendido por todo el mundo, mientras que la distribución del haplotipo japonés/tailandés es más restringida y solo se ha descrito en Japón, Tailandia y América (Anderson y Trueman, 2000). En 2008, la especie *V. jacobsoni* también se encontró por primera vez parasitando *A. mellifera* en el país insular de Papúa Nueva Guinea, en el Pacífico, donde ha causado grandes daños a las colonias de abejas melíferas (Roberts *et al*., 2015). El reciente cambio de hospedador supone una seria amenaza para la apicultura mundial. Cabe mencionar que hasta el año 2000 se asumía erróneamente que los ácaros *Varroa* que afectan a *A. mellifera* eran *V. jacobsoni* (Anderson y Trueman, 2000).

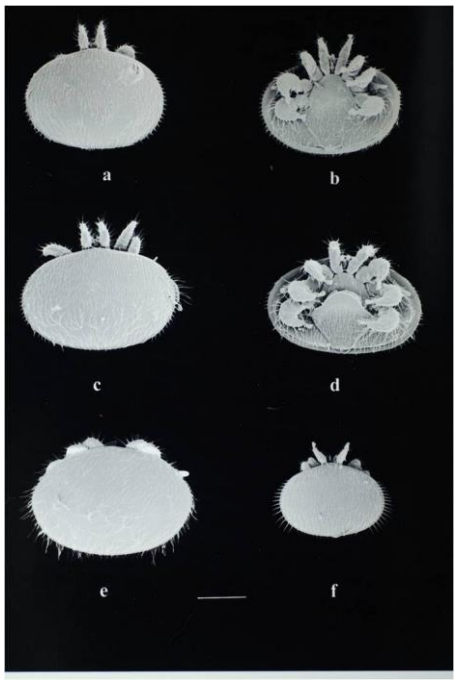

***Fig. 1**. Las cuatro especies de* Varroa*:* V. jacobsoni (*vista dorsal: a, vista ventral: b*)*;* V. destructor (*vista dorsal: c, vista ventral: d*)*;* V. rindereri (*e*)*;* V. underwoodi (*f*).
Fotografía cedida por Denis Anderson (Anderson y Trueman, 2000; Dietemann et al.*, 2013).*

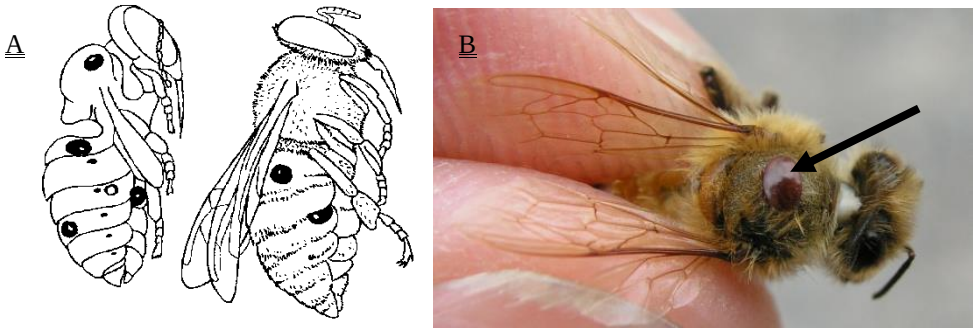

***Fig. 2**. A)* Varroa *en pupas y abejas adultas. Izquierda: pupa con cuatro ácaros hembra del género* Varroa*. Derecha: abeja obrera con dos ácaros hembra.*
B) Varroa (flecha) *en* A. mellifera*. Fotografía cedida por el Dr. Rob Manning*

Varroa destructor se ha extendido fuera de su área de distribución nativa desde la década de 1960, colonizando otras áreas por primera vez después de pasar con éxito del hospedador original, *A. cerana*, a la abeja melífera occidental, *A. mellifera* (Rosenkranz *et al*., 2010), a la que ahora está muy adaptado. Décadas más tarde, *V. destructor* está presente en la mayoría de los países que crían *A. mellifera* y en todo el mundo quedan muy pocas poblaciones de abejas melíferas resistentes a los ácaros (Locke, 2016). La varroosis, también llamada varroatosis, se considera actualmente la mayor amenaza para la apicultura a nivel mundial. Tradicionalmente, esta enfermedad se ha definido como la infestación de las abejas melíferas por *Varroa* spp. Sin embargo, debido al creciente conocimiento de los virus vectorizados por *V. destructor* y su importante papel confirmado en los colapsos de colonias inducidos por *Varroa*, esta definición ya no es representativa del proceso completo de la enfermedad en *A. mellifera* (Genersch *et al*., 2010; Rosenkranz *et al*., 2010). La comunidad científica está desarrollando una definición precisa y globalmente acordada de varroosis en *A. mellifera*, con esfuerzos para aclarar el papel preciso de *V. destructor* en sí y el papel de los diferentes virus transportados por el ácaro, y contextualizar así su relación importancia relativa en el conjunto de signos clínicos observados. Hasta entonces, a los efectos de este capítulo del Manual Terrestre, la varroosis está vinculada a la detección de *Varroa* spp., independientemente de la aparición de signos clínicos (véase el apartado B. *Técnicas de diagnóstico*).

Hay más de 20 virus conocidos identificados en las abejas melíferas, y se ha demostrado que *V. destructor* puede actuar como vector del virus del ala deformada (DWV), el virus de la parálisis aguda de las abejas (ABPV), el virus de la abeja de Cachemira (KBV) y el virus de la parálisis aguda israelí (IAPV), entre otros (Yañez *et al*., 2020). La mayoría de estos virus de las abejas melíferas son de ARN dextrógiro y pertenecen al orden Picornavirales (virus tipo picorna). Dentro de este orden, DWV pertenece a la familia Iflaviridae, y ABPV, KBV e IAPV a la familia Dicistroviridae (McMahon *et al*., 2018). De todos los virus mencionados, actualmente el DWV es

el más estrechamente asociado a la infestación por *Varroa* (McMenamin y Genersch, 2015): está bien adaptado al ciclo de vida del ácaro (Di Prisco *et al*., 2016) y es el único caso en el que se ha demostrado la función de *V. destructor* como vector biológico, con una replicación eficaz del virus en los tejidos de los ácaros (Yue y Genersch, 2005). Antes de la aparición de *V. destructor*, los virus de las abejas melíferas se consideraban un problema menor para la salud de las mismas, principalmente presentes como infecciones subclínicas, pero desde la dispersión del ácaro han estado involucrados en grandes pérdidas de colonias en todo el mundo, mostrando una virulencia notablemente mayor. (McMenamin y Genersch, 2015; Meixner *et al*., 2014). Esto no es sorprendente considerando que la inyección directa del virus a través de picaduras de ácaros es mucho más eficiente que cualquiera de las otras vías de transmisión, requiere menos partículas víricas para establecer la infección y también genera títulos víricos más altos en las abejas melíferas afectadas (Brettell *et al*., 2017). Al mismo tiempo, el nivel de infestación de *V. destructor* que causa daños a la colonia parece haber disminuido con el tiempo (menos ácaros causan el mismo nivel de daño a nivel de colonia que en el pasado). Otro factor que apunta a la acción sinérgica de ambos agentes patógenos es que el ácaro puede desencadenar la replicación de virus latentes ya presentes en las abejas melíferas, actuando como activador de infecciones víricas endógenas (Di Prisco *et al*., 2016).

1. Ciclo de vida, dinámica poblacional y signos clínicos

Varroa destructor carece de una etapa de vida libre e independiente de las abejas (Genersch, 2010). En cambio, el ciclo de vida de los ácaros hembra consta de dos fases distintas: la fase de dispersión, en la que *V. destructor* parasita a las abejas adultas, aprovechando la oportunidad para usarlas como vehículo de transporte dentro de la colonia o entre colonias, y la fase reproductiva, en la cual los ácaros parasitan las larvas de zánganos u obreras justo antes de la operculación y se reproducen dentro de las celdas operculadas de zánganos y obreras (Figura 3). Los ácaros machos tienen una vida corta y solo se pueden encontrar durante la fase reproductiva dentro de las celdas de cría operculadas (Rosenkranz *et al*., 2010).

En la fase de dispersión (Traynor *et al*., 2020) *V. destructor* generalmente se inserta entre las esclerasternitas abdominales de abejas adultas (Nazzi y Le Conte, 2016; Ritter, 1980) donde penetra las membranas intersegmentarias para ingerir hemolinfa y grasa (Ramsey *et al*., 2019). Durante este proceso, el ácaro puede adquirir partículas víricas de abejas infectadas de forma encubierta y luego, cuando parasita a la siguiente abeja o larva, puede inyectar el virus directamente en el hemocele del hospedador (McMenamin y Genersch, 2015). A veces, *V. destructor* también se puede encontrar entre la cabeza y el tórax o entre el tórax y el abdomen.

La fase reproductiva comienza cuando el ácaro hembra, guiado por señales específicas, deja a la abeja hospedadora adulta para invadir una celda de cría adecuada justo antes de ser operculada. *Varroa destructor* prefiere los zánganos cría a las obreras cría (Fuchs, 1992). Los factores que justifican esta selección son, entre otros: (1) la mayor duración del período de invasión (Boot *et al*., 1992), (2) un cuidado más frecuente e intensivo de las larvas de zánganos por parte de las abejas nodrizas (Calderone y Kuenen, 2003), mejorando así gradualmente las posibilidades de que *V. destructor* alcance la célula hospedadora adecuada, y (3) señales químicas más atractivas (Le Conte *et al*., 1989). Los ácaros rara vez se encuentran en las celdas de la reina, que podrían resultarles repelentes (Calderone *et al*., 2002).

Después de la invasión de la celda de cría, la hembra de *Varroa* permanece inmóvil en el fondo de la misma dentro del alimento larvario. Una vez que la celda se ha operculado y las larvas han consumido el resto del alimento, la hembra comienza a alimentarse de las larvas de abeja e inicia la ovogénesis en 26 horas, en el caso de las hembras, y en 30 horas en el caso de los machos. Las señales específicas del hospedador desencadenan la puesta de huevos en la hembra de *Varroa*, comenzando alrededor de 3 días después de la operculación, generalmente con un huevo de macho (sin fecundar) y seguido de hasta cinco o seis huevos de hembras (fecundados) en intervalos de 30 horas. Las crías de los ácaros eclosionan unas horas después de la oviposición y pasan por las etapas de protoninfa y deutoninfa hasta que alcanzan la madurez sexual: después de aproximadamente 5,8 días en el caso de las hembras y de 6,6 días en el caso de los machos (Rosenkranz *et al*., 2010). Durante este tiempo, consumen repetidamente la hemolinfa y los tejidos corporales grasos de las pupas que se desarrollan en la celda en el mismo sitio en el que se alimentan. Tan pronto como la primera hembra alcanza la madurez sexual, el macho se aparea con ella, debido a las feromonas sexuales femeninas, hasta que la siguiente hembra madura. Como todo el proceso ocurre en la celda de cría operculada, la duración del período posterior a la operculación es el factor limitante que determina el número de ácaros hembras emergentes y apareados. Pueden desarrollarse de dos a tres ácaros hijas apareadas en una sola celda de cría de zánganos infestada, y de uno a dos en una celda de abejas obreras. Una vez que la abeja ha completado su desarrollo y eclosiona, los ácaros hijas apareadas, junto con el ácaro madre, abandonan la celda con la abeja emergida, mientras que los ácaros hijas inmaduras y el ácaro macho morirán. Los ácaros hembra adultos pueden transmitirse entre abejas melíferas individuales dentro de la misma colonia o incluso pueden transmitirse a una nueva colonia hospedadora a través de obreras recolectoras y de la deriva, en busca de celdas de cría adecuadas para poner huevos y comenzar una nueva generación. Los ácaros prefieren las abejas nodrizas a las abejas recolectoras, tanto por la probabilidad de ser llevados posteriormente a una celda de cría como para evitar los riesgos relacionados con las actividades externas de las abejas recolectoras (Figura 4; Nazzi & Le Conte, 2016; Rosenkranz *et al*., 2010).

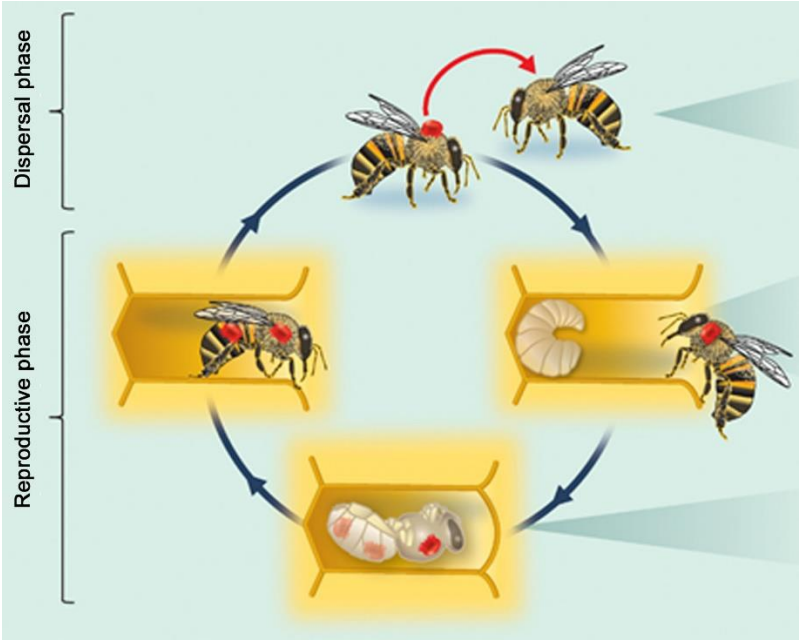

***Fig. 3**. Ciclo de vida simplificado de* V. destructor*, en el que se muestran claramente las fases de dispersión y reproductiva (Nazzi y Le Conte, 2016).*

En condiciones de campo, la esperanza de vida de los ácaros *V. destructor* puede variar de unos días a unos meses, dependiendo de la temperatura y la humedad, y se pueden lograr de dos a tres ciclos reproductivos. El crecimiento de la población de ácaros *Varroa* es muy variable y depende de las características del hospedador, el parásito y el medio ambiente (Meixner *et al*., 2014). Entre las características de los ácaros se tienen en cuenta la capacidad reproductiva y la esperanza de vida; en cuanto a las del hospedador, el genotipo, la disponibilidad de crías, la presencia de crías de zángano, el tamaño de la colonia y el comportamiento (aseo efectivo, comportamiento higiénico, formación de enjambre y fuga), y, finalmente, entre los factores ambientales, se tiene en cuenta el clima, el flujo de néctar y la densidad de las colonias de abejas melíferas circundantes, así como su estado de salud; todos ellos juegan un papel importante en la dinámica de la población. A pesar de esta variedad en el crecimiento de la población, el curso de la enfermedad en *A. mellifera* suele ser letal, excepto en algunas áreas, como América Latina tropical (Rosenkranz *et al*., 2010) y algunas partes de África (Strauss *et al.*, 2013).

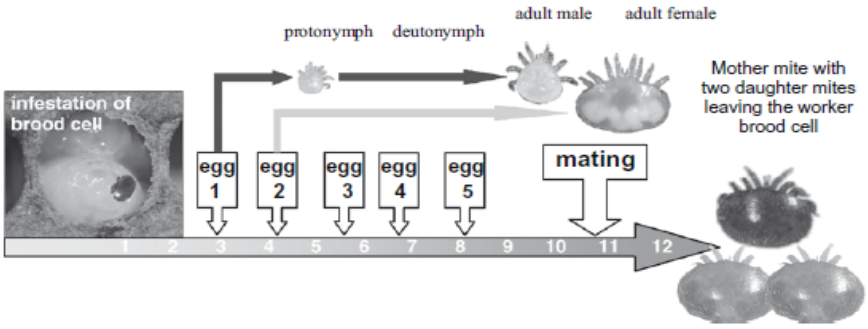

***Fig. 4**. Ovoposición y desarrollo de* Varroa *en celdas de cría de obreras (hasta aproximadamente el día 9 en celdas de cría no operculadas, y hasta aproximadamente el día 21 en celdas de cría operculadas)*
Reimpreso de J. Invertebr. Pathol., ***103**, Suppl. 1: S96–119, Rosenkranz P., Aumeier P. & Ziegelmann B., Biology and control of* Varroa destructor*, Copyright (2010), con el permiso de* Elsevier.

Se ha descrito que las colonias de *A. mellifera* infestadas por *Varroa destructor* mueren después de 1 a 4 años si no se tratan sistemáticamente, aunque a veces el proceso es más rápido y pueden sucumbir en unos pocos meses, especialmente si las colonias cercanas están colapsando. En condiciones de clima temperado, el daño a nivel de colonia aparece principalmente durante el otoño y el invierno, cuando la población hospedadora disminuye, la parasitación relativa aumenta y, en consecuencia, las abejas de invierno longevas se ven dañadas (Figura 5; Rosenkranz *et al*., 2010).

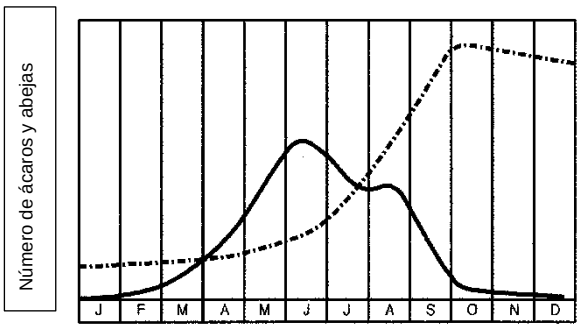

Fig. 5. *Gráfico de poblaciones de abejas y ácaros a lo largo de 1 año en un clima temperado del hemisferio Norte: números de crías de abeja (línea continua); número de ácaros (línea discontinua).*

A nivel individual, los efectos patógenos directos de las actividades de alimentación del ácaro son: lesiones en la cutícula, agotamiento sustancial de la grasa y la hemolinfa corporal, y deterioro del sistema inmunitario, siendo la cría la etapa más sensible del hospedador. Las abejas parasitadas en la etapa adulta solo resultan dañadas si la infestación es severa. El parasitismo durante el desarrollo del hospedador da como resultado una reducción significativa en el tamaño y el peso de la abeja melífera en incubación y una mayor susceptibilidad a enfermedades (De Jong *et al*., 1982). Las abejas obreras parasitadas tienen una vida más corta, comienzan a buscar alimento antes y tienen una capacidad reducida para el aprendizaje no asociativo, la orientación y la capacidad de búsqueda (Kralj y Fuchs, 2006). Los zánganos parasitados tienen un rendimiento de vuelo reducido y una esperanza de vida más corta. La producción de esperma puede reducirse considerablemente (Duay *et al*., 2002).

A nivel de colonia, las tasas de infestación bajas y moderadas a menudo pasan desapercibidas, con signos clínicos que pueden no ser evidentes. Sin embargo, las colonias tienen una capacidad reproductiva reducida, ya que hay un número reducido de machos disponibles para el apareamiento, los que sobreviven tienen menos posibilidades de tener éxito y las colonias infestadas producen menos enjambres. También puede haber una disminución del crecimiento en la población de abejas melíferas y, por lo tanto, la producción de miel puede disminuir. Una vez que se alcanza una infestación moderada, es más probable que se produzcan daños irreversibles en las colonias, especialmente en otoño en climas templados, cuando la población de ácaros aún aumenta mientras que la población hospedadora disminuye (Figura 5). El cuidado de las crías, el comportamiento social y las tareas de las abejas obreras se ven afectados negativamente, lo que lleva al debilitamiento de toda la colonia y, finalmente, a su colapso (Le Conte *et al*., 2010).

Los signos clínicos del colapso de una colonia de abejas melíferas por varroosis son los siguientes: alta mortalidad en la entrada de la colmena, rápida pérdida de la población de abejas adultas, abejas desnutridas, rastreras y discapacitadas (con alas deformadas y abdomen acortado, debido a la vectorización biológica del DWV), visualización directa de la fase de dispersión de los ácaros *Varroa*, crías dispersas, celdas de cría con cubiertas de cera agrietadas, hundidas o parcialmente eliminadas, o con manchas blancas en la pared (sitio de acumulación de excrementos de los ácaros), larvas muertas al descubierto y reemplazo de reinas (Rosenkranz *et al*., 2010).

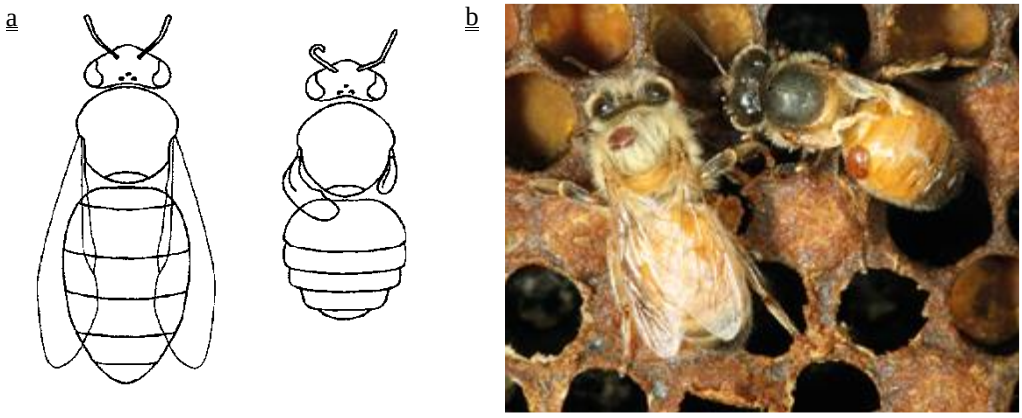

Fig. 6a) *Efecto de* Varroa *en la morfología de la abeja. Izquierda: aspecto normal de la abeja. Derecha: abeja intensamente atacada por ácaros. Esta abeja recién emergida tiene un ala deformada y una reducción del volumen abdominal. b) Fotografía de Fanny Mondet, INRAE*

B. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

Como la varroosis está establecida en muchos países, el diagnóstico en estos lugares no solo se centra en la presencia o ausencia de *V. destructor* en las colonias de abejas melíferas, sino también en los niveles de densidad de ácaros cuando estos comienzan a ser dañinos. Los umbrales de daño se pueden expresar de diversas formas, entre las que se incluyen (1) la tasa de infestación de abejas adultas (ácaros en fase de dispersión/100 abejas), (2) la caída natural diaria de ácaros y (3) el total de ácaros por colonia (Dietemann *et al*., 2013). A nivel mundial, no se puede establecer el umbral de daño de la varroosis en *A. mellifera*, ni una tasa fija de infestación ni el número de ácaros por colonia a lo largo del año. Como en el caso de la dinámica de la población de ácaros, los umbrales de daño son muy variables y dependen de la interacción entre el genotipo y el ambiente junto con las prácticas de manejo apícola y la época del año, lo que da lugar a diferencias sustanciales entre regiones (Rosenkranz *et al*., 2010). Sin embargo, en diferentes regiones de América del Norte y Europa se han estimado los umbrales de daño: en la temporada apícola temprana se considera que la tasa de infestación de las abejas adultas es del 1–3% y la caída natural de entre 1 y 10 ácaros diarios, mientras que al final de la temporada apícola, se considera que los umbrales son del 3 al 10% de tasa de infestación de abejas adultas y de un total de 3000 a 4000 ácaros por colonia (Rosenkranz *et al*., 2010).

Tabla 1. *Métodos existentes para el diagnóstico de la infestación de abejas melíferas por* Varroa *spp. y su propósito*

Método	**Propósito**					
	Demostrar ausencia de infección en la población	Demostrar ausencia de infección en animales individuales antes de los desplazamientos	Contribuir a las políticas de erradicación	Confirmar casos clínicos	Determinar la prevalencia de la infección – vigilancia	Determinar el estado inmunitario en animales o poblaciones tras la vacunación***
Detección del agente						
Identificación morfológica	+++	+++	++	++	++	–
Métodos de detección	+++	+++	+++	+++	+++	–

Clave: +++ = recomendado para este propósito; ++ recomendado pero con limitaciones;
+ = adecuado en muy pocas circunstancias; – = no adecuado para este propósito.

1. Identificación morfológica del agente

La etapa de ácaro predominante son las hembras adultas, ya que son las únicas que pueden sobrevivir fuera de las celdas de cría operculadas. La hembra de *V. destructor* es de un color marrón rojizo oscuro y tiene un cuerpo plano y ovalado de aproximadamente 1,1 mm de largo x 1,5 mm de ancho x menos de 0,5 mm de alto, cubierto de pelos cortos (*setae*). Los machos son más pequeños que las hembras, entre periformes y triangulares y son de color blanco/amarillo claro. Las etapas inmaduras también son blancas/crema. Todas las etapas se pueden ver a simple vista.

Varroa jacobsoni es morfológicamente cercana a *V. destructor*. Difiere ligeramente en tamaño, siendo las hembras adultas de *V. destructor* significativamente más grandes y de forma menos esférica que las hembras de *V. jacobsoni*. Sin embargo, como los criterios de tamaño son difíciles de apreciar, se recomiendan técnicas moleculares para un diagnóstico diferencial seguro entre las especies de *Varroa* (Anderson y Fuchs, 1998).

En algunas circunstancias, el ácaro *Varroa* puede confundirse con el piojo de la abeja, *Braula coeca* (Figura 7). Este último es redondo, no ovalado, y al ser un insecto, solo tiene tres pares de patas. En las abejas, se pueden asociar varias especies diferentes de ácaros a los ácaros *Varroa*, pero se distinguen fácilmente. Además, se sabe que otros ácaros parásitos, como los del género *Tropilaelaps* spp., causan a las colonias de abejas unos daños similares a los causados por los ácaros *Varroa*.

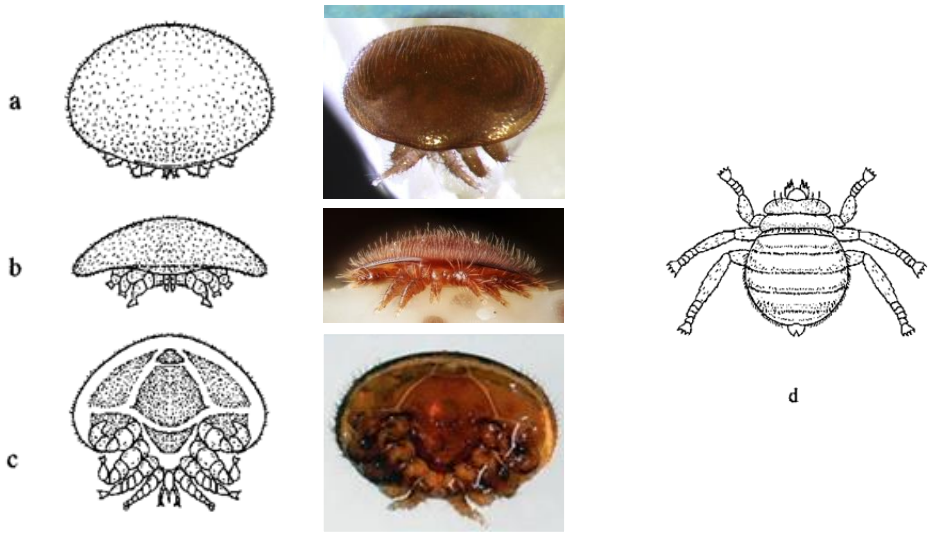

Fig. 7. *Diagrama de* Varroa destructor (*anteriormente* Varroa jacobsoni *Oudemans*) (*hembra*).
*a) Cara dorsal. b) Cara anterior. c) Cara ventral. Obsérvese un dorso plano en forma de caparazón y cuatro pares de patas. d) Piojo de la abeja (*Braula coeca*, hembra). Obsérvese la ausencia de dorso en forma de caparazón y que solo tiene tres pares de patas.*
La primera foto es de M.O. Schäfer, Friedrich-Loeffler-Institut; la segunda foto es de Gilles San Martin (https://aristabeeresearch.org/fr/varroa/); la tercera foto es de National Bee Unit (http://www.bee-craft.com/talking-about-varroa-2/)

2. Detección del agente

Se han descrito tres grupos de técnicas de diagnóstico: examen de detritos, examen de abejas y examen de crías en celda operculada. La caída de ácaros naturales y el examen de adultos y crías solo son fiables en el caso de colonias con tasas de infestación de medianas a altas con cantidades suficientes de crías (> 3000 celdas de cría) que no estén colapsando, mientras que el examen de detritos después del tratamiento con acaricidas con una eficiencia del producto> 95% es fiable en todos los casos.

2.1. Examen de detritos

Un método sencillo de diagnóstico de la varroosis es el examen de los detritos generados por las propias abejas, donde se pueden encontrar ácaros caídos/muertos. Esta técnica de diagnóstico puede proporcionar dos tipos diferentes de información: (1) caída natural de ácaros y (2) mortalidad de ácaros después del tratamiento con acaricidas (Dietemann *et al*., 2013).

2.1.1 Caída natural de ácaros

Además de proporcionar información sobre la tasa de muerte natural de la población de ácaros, esta prueba no invasiva puede proporcionar información sobre el comportamiento de acicalamiento de las abejas y, cuando hay cría, también sobre los ácaros detectados y eliminados por parte de las abejas obreras de las celdas de cría infestadas. Por lo tanto, la caída natural de ácaros puede proporcionar información sobre la dispersión y la población de ácaros reproductores. Esta técnica también se recomienda para actividades de seguimiento.

i) Procedimiento:

Se pone un receptáculo cubierto blanco o de color claro con una malla filtrante en el suelo de la colmena.

Consideraciones:

a) Se debe evitar que accedan al receptáculo artrópodos, como por ejemplo, hormigas, de lo contrario, saquearán a los ácaros y sesgarán los resultados (Dainat *et al*., 2011). Las medidas de protección incluyen cubrir el receptáculo con material pegajoso (por ejemplo, grasa, vaselina, pegamento, gasa o papel absorbente

impregnado). La cubierta pegajosa también puede evitar que los ácaros vivos vuelvan a entrar en la colmena.

b) El diámetro del poro de la malla filtrante debe ser lo suficientemente pequeño para evitar que en el receptáculo caigan también abejas y eliminen a los ácaros, y lo suficientemente grande como para permitir que caigan los ácaros (3-4 mm).

ii) Pasado cierto tiempo, se cuentan los ácaros recogidos.

Consideraciones:

a) Como pueden producirse grandes variaciones en la mortalidad diaria de ácaros, y dado que muchos ácaros y muchos detritos dificultan el recuento, el receptáculo se puede dejar puesto durante 1 a 2 semanas para obtener una relación más fiable entre la tasa de mortalidad de los ácaros y la población de ácaros. El recuento y el reemplazo del receptáculo se pueden realizar cada 7 días o menos, según las condiciones locales. En consecuencia, se pueden obtener resultados respecto a las 24 horas del día.

b) Se puede utilizar una guía colocada sobre el receptáculo para facilitar el recuento.

c) Cuando caen muchos ácaros, se puede contar una submuestra de los mismos. Un ejemplo para usar en condiciones de campo es un tablero de ajedrez o una hoja con un patrón cuadriculado para contar los ácaros de determinados cuadrados. En el laboratorio, otra opción es examinar grandes cantidades de detritos mediante un procedimiento de flotación (véase el apartado B.2.1.3).

2.1.2. Mortalidad tras el tratamiento con acaricidas

Procedimiento

i) Se pone un receptáculo blanco o de color claro cubierto con una malla filtrante en el suelo de la colmena.

Consideraciones: Lo mismo que para el paso i) en la Sección B.2.1.1.

ii) Se aplica un acaricida con> 95% de eficacia.

iii) Después de un tiempo determinado, se cuentan los ácaros presentes en el receptáculo.

Consideraciones:

a) Dada la rápida acción de los acaricidas y para facilitar el recuento, los recuentos deben realizarse cada 3 a 7 días o menos.

b) Dependiendo del acaricida aplicado, la duración del período de recuento difiere:

1) Si se utilizan acaricidas persistentes que no pueden penetrar las crías de las celdas operculadas (es decir, la mayoría de los acaricidas sintéticos) y acaricidas no persistentes capaces de penetrar los opérculos de cera (p. ej., ácido fórmico), la caída de ácaros debe contarse durante 3 semanas. Este período cubre la mortalidad durante la fase de dispersión forética y la mortalidad durante o después de la etapa de operculación (aproximadamente 12-16 días) de las abejas en desarrollo. Los resultados se pueden expresar respecto a las 24 horas del día.

2) Solo se podrán utilizar acaricidas no persistentes que no penetren en la crías de las celdas operculadas si las colonias de abejas melíferas no tienen las crías en celdas operculadas (ya sea por factores estacionales o por prácticas de manejo, como opercular a la reina durante 22 días antes del tratamiento). Como todos los ácaros se encuentran en la fase de dispersión forética, el período de recuento puede ser más corto. Los resultados se pueden expresar respecto a las 24 horas del día.

c) También se pueden utilizar los métodos de guía y de submuestreo para facilitar el recuento, así como el procedimiento de la flotación (véase el apartado B.2.1.3).

Algunos países solicitan la aplicación diagnóstica de ciertos medicamentos para demostrar la ausencia de ácaros.

2.1.3. Procedimiento de la técnica de flotación

i) Secar los detritos durante 24 horas.

ii) Inundar los detritos con alcohol industrial del 70%.

iii) Agitar de forma continua durante más o menos 1 minuto o, si los detritos contienen cera o partículas de própolis, agitar durante 10–20 minutos.

iv) Identificar y observar los ácaros que flotan en la superficie.

2.2. Examen de las abejas

En este segundo método se pueden utilizar tres pruebas efectivas diferentes: lavado con alcohol, lavado con jabón y prueba del azúcar en polvo. A medida que se examinan las abejas adultas, este método proporciona información sobre la población de ácaros en fase de dispersión. Las muestras se toman de marcos de cría descubiertos, donde las abejas tienen significativamente más ácaros que las de los marcos sin cría (Rosenkranz *et al*., 2010).

Cabe señalar que la infestación puede variar mucho entre colmenares, incluso cuando todos pertenecen al mismo apicultor. Asimismo, incluso dentro de un mismo colmenar, la infestación puede variar ampliamente entre colonias.

2.2.1. Prueba del lavado con alcohol

Esta técnica es invasiva porque las abejas sucumben rápidamente cuando se sumergen en alcohol: se puede usar etanol al 70–75%.

Procedimiento:

i) Se selecciona cualquier marco de cría sin tapar y se verifica que la reina no esté presente. Se sostiene el marco a aproximadamente 10 grados respecto a la vertical.

ii) Se toma una muestra de 300 abejas usando un frasco (con una marca al nivel de 100 ml de agua, que es el volumen que ocupan 300 abejas) deslizándolo hacia arriba y hacia abajo para que las abejas caigan dentro.

Consideraciones:

a) Se aconseja verificar que este volumen (100 ml) corresponde a 300 abejas de la subespecie particular de interés, ya que existen variaciones de tamaño entre las subespecies de *A. mellifera*.

iii) Se golpea el frasco sobre una superficie dura para asegurarse de que las abejas estén en la línea marcada; se suman o restan abejas según sea necesario.

iv) Se agrega alcohol al frasco para cubrir las 300 abejas, se cierra la tapa y se agita el frasco y se mueve con un movimiento circular durante 1 minuto para desalojar los ácaros.

Consideraciones:

a) En el laboratorio, un método más preciso es la agitación mecánica durante 30 minutos.

b) En lugar de agregar alcohol al frasco, las abejas se pueden verter en un plato poco profundo o recipiente similar lleno con suficiente alcohol para cubrirlas.

v) El contenido del frasco o recipiente se vierte luego sobre un colador de 3-4 mm, que atrape a las obreras adultas, de tal forma que caigan en un plato o tazón transparente. Se revisa el frasco o recipiente para ver si hay ácaros adheridos a los lados.

Consideraciones:

a) Otra opción es utilizar un sistema de doble tamiz, siendo el tamiz grueso superior de 3-4 mm y el tamiz fino inferior de <0,5 mm, para recoger todos los ácaros, y luego enjuagar las abejas y los ácaros con grandes cantidades de agua tibia.

vi) Se recogen y se cuentan los ácaros. Los resultados se pueden expresar como porcentaje de infestación, dividiendo el número de ácaros desalojados por el número de abejas de la muestra y luego multiplicando por 100.

2.2.2. Prueba del lavado con jabón

Como en el caso de la prueba de lavado con alcohol, esta técnica es invasiva y mata a las abejas durante el proceso. Se pueden utilizar detergentes como jabón para lavar platos. Para evitar demasiada espuma, que dificultaría el recuento de los ácaros, se recomiendan soluciones de baja concentración, que oscilen entre el 0,2 y el 1% (1 a 5 ml de jabón para lavar platos en 500 ml de agua). El procedimiento es el mismo que el de la prueba de lavado con alcohol, con solo dos consideraciones más a tener en cuenta.

i) Se selecciona cualquier marco de cría sin tapar y se verifica que la reina no esté presente. Se sostiene el marco a aproximadamente 10 grados respecto a la vertical.

ii) Se toma una muestra de 300 abejas usando un frasco (con una marca al nivel de 100 ml de agua, que es el volumen que ocupan 300 abejas) deslizándolo hacia arriba y hacia abajo para que las abejas caigan dentro.

Consideraciones:

a) Se aconseja verificar que este volumen (100 ml) corresponde a 300 abejas de la subespecie particular de interés, ya que existen variaciones de tamaño entre las subespecies de *A. mellifera*.

b) En el laboratorio, las abejas se pueden anestesiar con éter, o enfriar a 4 °C durante 15 minutos o a –18 °C durante 5 minutos, antes de realizar el lavado.

iii) Se golpea el frasco sobre una superficie dura para asegurarse de que las abejas estén en la línea marcada; se suman o restan abejas según sea necesario.

iv) Se agrega solución de detergente al frasco para cubrir las 300 abejas, se cierra la tapa, se agita el frasco y se mueve en un movimiento circular durante 1 minuto para desalojar los ácaros.

Consideraciones:

a) En el laboratorio un método más preciso es la agitación mecánica durante 30 minutos.

b) En lugar de agregar una solución de detergente al frasco, las abejas se pueden verter en un plato poco profundo o en un recipiente similar lleno con suficiente solución de detergente para cubrirlas.

v) El contenido del frasco o recipiente se vierte luego sobre un colador de 3-4 mm, que atrapará a las obreras adultas, de tal forma que caigan en un en un plato o tazón transparente. Se revisa el frasco o recipiente para ver si hay ácaros adheridos a los lados.

Consideraciones:

a) Si hay demasiada espuma jabonosa, se puede agregar más agua o alcohol para eliminarla.

b) Otra opción es utilizar un sistema de doble tamiz, siendo el tamiz grueso superior de 3-4 mm y el tamiz fino inferior de <0,5 mm, para recoger todos los ácaros, y luego enjuagar las abejas y los ácaros con grandes cantidades de agua tibia.

vi) Se recogen y se cuentan los ácaros. Los resultados se pueden expresar como porcentaje de infestación, dividiendo el número de ácaros desalojados por el número de abejas de la muestra y luego multiplicando por 100.

2.2.3. Prueba del azúcar en polvo

Esta técnica no es tan invasiva como las pruebas de lavado con alcohol o con jabón, y después de ella, las abejas pueden ser devueltas a su colonia, donde serán limpiadas por las otras abejas. Además de su uso diagnóstico, esta prueba también se recomienda para actividades de seguimiento, como también es el caso de la caída de ácaros naturales.

El principio de esta técnica es que espolvorear con azúcar en polvo desalojará a los ácaros de su hospedador, posiblemente porque las partículas de azúcar se adhieren a la ambulacra (segmento distal de las patas del ácaro), y así los ácaros afectados pierden su agarre y se caen de la abeja. Una humedad alta disminuye la eficacia de esta prueba, ya que el azúcar en polvo acumula humedad y se apelmaza. Se recomienda utilizar azúcar en polvo fresco.

Procedimiento:

i) Se selecciona cualquier marco de cría sin tapar y verifique que la reina no esté presente. Se sostiene el marco a aproximadamente 10 grados respecto a la vertical.

Consideraciones:

a) Si se necesita una mayor precisión (C ≤ 0.1 o h ≤ 0.5), el muestreo debe realizarse en tres marcos de cría diferentes, repitiendo tres veces los pasos descritos a continuación.

ii) Se toma una muestra de 300 abejas usando un frasco (con una marca al nivel de 100 ml de agua, que es el volumen que ocupan 300 abejas) deslizándolo hacia arriba y hacia abajo para que las abejas caigan dentro.

Consideraciones:

a) Se aconseja verificar que este volumen (100 ml) corresponde a 300 abejas para la subespecie particular de interés, ya que existen variaciones de tamaño entre las subespecies de *A. mellifera*.

b) La tapa del frasco debe modificarse: la parte central se reemplaza por una tela o malla metálica de 2-3 mm de diámetro de poro.

c) Para lograr una precisión superior a C ≤ 0,1 o h ≤ 0,5, se deben muestrear 900 abejas en total.

iii) Se golpea el frasco sobre una superficie dura para asegurarse de que las abejas estén en la línea marcada y se suman o restan abejas según sea necesario. Una vez que el volumen sea el correcto, se cierra la tapa.

iv) Se vierten 1 o 2 cucharadas (al menos 7 g) de azúcar en polvo a través de la malla o tela, y se mueve el frasco en círculos para cubrir todas las abejas con azúcar.

v) Se deja reposar 1 minuto (a la sombra en caso de altas temperaturas para que las abejas no se sobrecalienten).

vi) Se pone el frasco boca abajo sobre un plato o cazo transparente y se agita durante al menos 1 minuto o hasta que no salgan más ácaros.

a) En condiciones de campo, cuando el viento puede hacer que se pierdan ácaros, el plato o cazo se puede llenar con agua.

vii) Se recogen y se cuentan los ácaros. Los resultados se pueden expresar como porcentaje de infestación, dividiendo el número de ácaros por el número de abejas de la muestra y luego multiplicando por 100.

Consideraciones:

a) Se puede añadir una gota de agua al plato o cazo para disolver el azúcar en polvo y facilitar el recuento, si no se ha llenado previamente con agua.

viii) Se reintroducen las abejas muestreadas en la parte superior de su colonia o en la entrada de la colonia.

2.3. Examen de las crías de celdas operculadas

En el tercer método, se examina crías de zángano de celda operculada, si las hay; de lo contrario, se examinan las crías de obreras de celdas operculadas. Dado que esta técnica se realiza en las crías, proporciona información sobre la población de ácaros reproductores. Hay que tener en cuenta que *V. destructor* prefiere la cría de zánganos a la cría de obreras, por lo que la tasa de infestación en zánganos será mayor. Este método es invasivo - matará las pupas muestreadas - y no siempre es factible en ciertas regiones y en ciertas épocas del año en las que puede no haber crías (Rosenkranz *et al*., 2010).

Procedimiento:

i) Se seleccionan 200 celdas de cría de la caja de cría.

Consideraciones:

a) Si se toman muestras de más de un marco de cría se hallará una infestación espacialmente irregular por *Varroa*. Una opción es seleccionar cuatro muestras de 50 celdas de diferentes marcos (dimensiones del corte: 25 × 25 mm: contendrán aproximadamente 50 celdas de obreras o 40 celdas de zánganos).

ii) Se examinan para comprobar si hay ácaros.

Consideraciones: Existen diferentes métodos:

a) Apertura individual de cada celda operculada:

Se examina cada pupa y su celda, especialmente la parte inferior, para detectar la presencia de ácaros o sus heces (manchas blancas). Los resultados posteriores se pueden expresar como:

1) Porcentaje de celdas infestadas (dividir el número de celdas infestadas por el número total de celdas abiertas y luego multiplicar por 100)

2) Número total de ácaros en la cría de la celda operculada (multiplicando el número promedio de ácaros por pupa por la cantidad de crías de celdas operculadas de la colonia). El número de crías de celdas operculadas se puede calcular utilizando una cuadrícula.

b) Lavado de la cría sobre un sistema de doble tamiz:

1) Se recorta la muestra/muestras seleccionadas del marco/marcos

2) Se retiran los opérculos de las celdas de cría con un cuchillo.

3) Se lavan las celdas de cría directamente en un sistema de tamizado con agua tibia mediante una ducha de mano.

4) Se recogen los ácaros en el tamiz fino inferior (poro de la malla <0,5 mm) mientras que las crías se recogen en el tamiz grueso superior (por de la malla 2-3 mm)

5) Se pone el contenido del tamiz en un plato brillante, donde los ácaros se puedan identificar y contar fácilmente.

6) Los resultados posteriores se pueden expresar como el número promedio de ácaros por celda.

2. Pruebas serológicas

Para el diagnóstico de laboratorio de rutina no se dispone de pruebas serológicas.

C. REQUISITOS PARA LAS VACUNAS Y LAS PRUEBAS BIOLÓGICAS DE DIAGNÓSTICO

No existen vacunas.

- **Agradecimientos**

Ilustraciones de Karl Weiss, extraídas de Bienen-Pathologie, 1984. Reproducidas con el amable permiso del autor y Ehrenwirth-Verlag, Munich (Alemania). Fotografías del Dr. Denis Anderson, el Dr. Rob Manning, el Dr. Nazzi, el Dr. Le Conte, el Dr. Rosenkranz, el Dr. Mondet, el Dr. Schäfer y el Dr. San Martin.

BIBLIOGRAFÍA

ANDERSON D.L. & FUCHS S. (1998). Two genetically distinct populations of *Varroa jacobsoni* with contrasting reproductive abilities on *Apis mellifera*. *J. Apic. Res.*, **37**, 69–78.

ANDERSON D.L. & TRUEMAN J.W.H. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp. Appl. Acarol.*, **24**, 165–189.

BOOT W.J., CALIS J.N.M. & BEETSMA J. (1992). Differential periods of *Varroa* mite invasion into worker and drone cells of honey bees. *Exp. Appl. Acarol.,* **16**, 295–301.

BRETTELL L.E., MORDECAI G.J., SCHROEDER D.C., JONES I.M., DA SILVA J.R., VICENTE-RUBIANO M. & MARTIN S.J. (2017). A comparison of deformed wing virus in deformed and asymptomatic honey bees. *Insects*, **8**, 28.

CALDERONE N.W. & KUENEN L.P.S. (2003). Differential tending of worker and drone larvae of the honey bee, *Apis mellifera*, during the 60 hours prior to cell capping. *Apidologie*, **34**, 543–552.

CALDERONE N.W., LIN S. & KUENEN L.P.S. (2002). Differential infestation of honey bee, *Apis mellifera*, worker and queen brood by the parasitic mite *Varroa destructor*. *Apidologie*, **33**, 389–398.

DAINAT B., KUHN R., CHERIX D. & NEUMANN P. (2011). A scientific note on the ant pitfall for quantitative diagnosis of *Varroa destructor*. *Apidologie*, **42**, 740 742.

DE JONG D., DE JONG P.H. & GONÇALVES L.S. (1982). Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *V. jacobsoni*. *J. Apicult. Res.*, **21**, 165–216.

DI PRISCO G., ANNOSCIA D., MARGIOTTA M., FERRARA R., VARRICCHIO P., ZANNI V., CAPRIO E.; NAZZI F. & PENNACCHIO F. (2016). A mutualistic symbiosis between a parasitic mite and a pathogenic virus undermines honey bee immunity and health. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **113**, 3203–3208.

DI PRISCO G., PENNACCHIO F., CAPRIO E., BONCRISTIANI H.F.JR., EVANS J.D. & CHEN Y. (2011). *Varroa destructor* is an effective vector of Israeli acute paralysis virus in the honeybee, *Apis mellifera*. *J. Gen. Virol.*, **92**,151–155.

DIETEMANN V., NAZZI F., MARTIN S.J., ANDERSON D., LOCKE B., DELAPLANE K.S., WAUQUIEZ Q., TANNAHILL C., FREY E., ZIEGELMANN B., ROSENKRANZ P. & ELLIS J.D. (2013). Standard methods for *Varroa* research. *In:* The COLOSS BEEBOOK, Volume II: standard methods for *Apis mellifera* pest and pathogen research, Dietemann V., Ellis J.D. & Neumann P., eds. *J. Apic. Res*., **52**.

DUAY P., DE JONG D. & ENGELS W. (2002). Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bee (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructor* mites during pupal development. *Genet. Mol. Res.*, **1**, 227–232.

FUCHS S. (1992). Choice in *Varroa jacobsoni* Oud. between honey bee drone or worker brood cells for reproduction. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **31**, 429–435.

GENERSCH E. (2010). Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **87**, 87–97.

GENERSCH E., VON DER OHE W., KAATZ H., SCHROEDER A., OTTEN C., BÜCHLER R., BERG S., RITTER W., MÜHLEN W., GISDER S., MEIXNER M., LIEBIG G. & ROSENKRANZ P. (2010). The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, **41**, 332–352.

KRALJ J. & FUCHS S. (2006). Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie*, **37**, 577–587.

LE CONTE Y., ARNOLD G., TROUILLER J., MASSON C., CHAPPE B. & OURISSON G. (1989). Attraction of the parasitic mite Varroa to the drone larvae of honey bees by simple aliphatic esters. *Science*, **245**, 638–39

LE CONTE Y., ELLIS M. & RITTER W. (2010). Varroa mites and the honey bee health: can *Varroa* explain part of colony losses? *Apidologie*, **41**, 353–363.

LOCKE B. (2016). Natural Varroa mite-surviving *Apis mellifera* honey bee populations. *Apidologie*, **47**, 467–482.

MCMAHON D.P., WILFERT L., PAXTON R.J. & BROWN M.J.F. (2018). Emerging viruses in bees: From molecules to ecology. *In:* Advances in Virus Research, Malmstrom C.M. ed., Academic Press, Cambridge, MA, USA, pp. 251–291.

MCMENAMIN A.J. & GENERSCH E. (2015). Honey bee colony losses and associated viruses. *Curr. Opin. Insect Sci.*, **8**, 121–129.

MEIXNER M.D., FRANCIS R.M., GAJDA A., KRYGER P., ANDONOV S., UZUNOV A., TOPOLSKA G., COSTA C., AMIRI E., BERG S., BIENKOWSKA M., BOUGA M., BÜCHLER R., DYRBA W., GURGULOVA K., HATJINA F., IVANOVA E., JANES M., KEZIC N., KORPELA S., LE CONTE Y., PANASIUK B., PECHHACKER H., TSOKTOURIDIS G., VACCARI G. & WILDE Z. (2014). Occurrence of parasites and pathogens in honey bee colonies send in a European genotype-environment interactions experiment. *J. Apic. Res.*, **53**, 215–229.

NAZZI F. & LE CONTE Y. (2016). Ecology of *Varroa destructor*, the major ectoparasite of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Annu. Rev. Entomol.*, **61**, 417–432.

RAMSEY S.D., OCHOA R., BAUCHAN G., GULBRONSON C., MOWERY J.D., COHEN A., LIM D., JOKLIK J., CICERO J.M., ELLIS J.D., HAWTHORNE D. & VANENGELSDORP D. (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proc. Natl. Acad. Sci.*,**116**, 1792–1801.

RITTER W. (1980). *Varroa* disease of the honeybee *Apis mellifera. Bee World*, **62**, 141–153.

ROBERTS J.M.K., ANDERSON D.L. & TAY W.T. (2015). Multiple host shifts by the emerging honeybee parasite, *Varroa jacobsoni*. *Mol. Ecol.*, **24**, 2379–2391.

ROSENKRANZ P., AUMEIER P. & ZIEGELMANN B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *J. Invert. Path.*, **103**, S96–S119.

STRAUSS U., HUMAN H., GAUTHIER L., CREWE R.M., DIETEMANN V. & PIRK C.W.W. (2013). Seasonal prevalence of pathogens and parasites in the savannah honeybee (*Apis mellifera scutellata*). *J. Invert. Path.*, **114**, 45–52.

TRAYNOR K.S., MONDET F., DE MIRANDA J.R., TECHER M., KOWALLIK V., ODDIE M.A.Y., CHANTAWANNAKUL P. & MCAFEE A. (2020). *Varroa destructor*: A complex parasite, crippling honey bees worldwide. *Trends Parasitol.*, **36**, 592–606.

YAÑEZ O., PIOT N., DALMON A., DE MIRANDA J.R., CHANTAWANNAKUL P., PANZIERA D., AMIRI E., SMAGGHE G., SCHROEDER D.C. & CHEJANOVSKY N. (2020). Bee viruses: Routes of infection in Hymenoptera. *Front. Microbiol.*, **11**, e943. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00943.

YUE C. & GENERSCH E. (2005). RT-PCR analysis of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *J. Gen. Virol.*, **86**, 3419–3424.

*
* *

NB: Existen Laboratorios de Referencia de la OIE para la Infestación de las abejas melíferas por *Varroa* spp. (Varroosis) (puede consultarse la página web de la OIE: https://www.oie.int/es/que-ofrecemos/red-de-expertos/laboratorios-de-referencia/#ui-id-3)
Por favor, contacte con los Laboratorios de Referencia de la OIE para más información sobre las pruebas y los reactivos de diagnóstico relativos a las enfermedades de las abejas.

NB: ACTUALIZADO POR PRIMERA VEZ EN 1989 COMO VARROASIS; ÚLTIMAS ACTUALIZACIONES ADOPTADAS EN 2021.