

Institute for Phytomedicin (360)
University of Hohenheim
Department of Applied Entomology
Prof. Dr. C.P.W. Zebitz

The host parasite relation of the parasitic mite *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) and the honeybee races *A. m. syriaca* (Skorikov) and *A. m. carnica* (Pollmann) in Jordan

Dissertation

Submitted in fulfillment of the requirements for the degree "Doktor der Agrarwissenschaften"
(Dr. sc. agr. / Ph.D. in Agricultural Sciences)

To the

Faculty of Agricultural Sciences

Presented by

Yehya Zaki Khalid Al-Attal

1973 - Jordan

2006

9 Summary

The host parasite relation of the parasitic mite *Varroa destructor* (Anderson and Truemann) and the honeybee races *A. m. syriaca* (Skorikov) and *A. m. carnica* (Pollmann) in Jordan.

Since the honeybee mite *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) succeeded to parasitize the Western honeybee *Apis mellifera* L. and accept this species as a new host it became the most serious threat to Apiculture worldwide. The very few stable relations between *Varroa* mites and the new host are either associated with honeybees of African origin, or with tropical and sub-tropical climates. This balanced relations seems to be due to reduced fertility of the female mites in worker brood cells, a shorter post-capping period of the worker brood and a set of highly differentiated active defense traits of the host bees.

In this work I investigated several aspects of the host parasite relation between the honeybee and the *Varroa* mites in Jordan. The endemic honeybee race of Jordan is *A. m. syriaca* Skorikov, which join African and European bee traits. The Jordanian beekeepers use this “local” bee as well as its hybrids with imported European bees. Therefore, Jordan provides the possibility to prove the influence of different honeybee races and different climatic conditions on this host-parasite system. For a better direct comparison, I evaluated the host-parasite relation of two honeybee races at the same study site: the “local” honeybee (*A. m. syriaca*) and the imported “carnica” honeybee (*A.m. carnica* Pollmann), which is susceptible to *Varroa* infestation under Central Europe conditions.

To assess the current status of *Varroa* mite in Jordan, we surveyed the infestation rates of in capped brood cells and on adult worker bees in 180 honeybee colonies at six locations. All colonies were kept untreated for at least 8 month. The results revealed high infestation rates, which exceed, in part, the thresholds for colony damages. No significant differences between honeybee races or climatic condition were visible.

The population dynamics of the host and its parasite represents the most important parameter of the honeybee-*Varroa* relation and was described in the “local” and the “carnica” (imported from Hohenheim) honeybees at Baqa (dry Mediterranean climate) and Yadodeh (wet Mediterranean climate) for a one-year period. In all colonies the number of adult bees and brood cells were evaluated every three weeks by the “Liebefeld” method. During all evaluations, samples of adult bees and capped brood of all colonies were analyzed to determine *Varroa* infestation rates. The population dynamics of the honeybee colonies revealed a significantly higher population density of the “local” honeybee race compared to the “carnica” colonies. The average number of adult worker bees was $8,368 \pm 2,724$ in the “local” colonies and $6,447 \pm$

2,338 in the “carnica” colonies, while the average number of capped worker brood cells was $9,164 \pm 3,336$ in the “local” and $7,628 \pm 3,166$ in the “carnica” colonies. Compared to colonies in Central Europe, my results indicate a surprisingly shorter life span of adult worker bees. The corresponding population dynamics of *Varroa* mites revealed an exponential growth phase till the maximum infestation and a decreasing phase until the beginning of the next season. The maximum *Varroa* population density ranged between $2,614 \pm 2,190$ mites in the “carnica” colonies and $4,397 \pm 2,746$ mites in the “local” colonies. Using an exponential function, growth rate = e^b , the average exponential growth rate of *Varroa* population per three weeks interval ranged between 1.33 and 1.46 and was significantly different between both locations. The subsequent decrease in the mite population was two folds higher than the decrease in the effective bee population (adult bees plus capped worker brood cells together). Therefore, a higher mortality rate of the parasites or its host activity must contribute to the observed drastic decrease of the *Varroa* population. No significant race-specific differences in the infestation rates could be observed. However, the mortality rate was higher in the “carnica” colonies ($\approx 40\%$) compared the local colonies ($\approx 10\%$). This indicates a general higher fitness of the “local” colonies independent from *Varroa* infestation rates. As a threshold for the survival of honeybee colonies, maximum infestation rates of 20% in adult worker bees and 40% in capped worker brood were determined.

The evaluated resistance mechanisms, which are considered to contribute to stable host-parasite relations, did not reveal any pre-adaptation of the “local” honeybee to *Varroa* mite. Neither in the fertility of female mites nor in the reproductive rate significant differences between the local and the “carnica” honey bee race could be detected. The post-capping period of the worker brood was nearly the same in both bee races and it corresponds to data from Central Europe. Also no significant difference could be revealed in the daily mite mortality between both races, which ranged between 0.8% and 1.5% of the total mite population in the colonies. Nevertheless, in few individual “local” colonies, the mite mortality comprises a surprisingly high percentage of the total estimated number of the phoretic mites within the colonies.

By RFLP of the CO-I unit, only the *V. destructor* Korean haplotype was detected in all examined mite samples from Jordan. Additionally, mite genotyping based on the sequences of two genetic markers shows very low genetic variability among different mite populations, which confirm recent publications and makes the hypothesis that differences in mite virulence could be responsible for a stable host parasite relationship, less probable.

Conclusions

- The “local” honeybee of Jordan is not more resistant to *Varroasis* compared to the susceptible European honeybee races.

- The Mediterranean climate has no significant inhibition effect on *Varroa* population dynamics.
- *Varroa* infested “local” honey bee colonies revealed a significant higher survival rate than imported “carnica” colonies under the same conditions.
- Variation in the mite infectivity between different *V. destructor* population is less probable.

10 Zusammenfassung

Das Parasit-Wirt-Verhältnis zwischen der Milbe *Varroa destructor* (Anderson and Truemann) und verschiedenen Honigbienenrassen *Apis m. syriaca* (Skorikov) und *A. m. carnica* Pollmann in Jordanien

Seitdem *Varroa destructor* die westliche Honigbiene *Apis mellifera* L. als neuen Wirt akzeptiert und parasitiert, wurde diese Milbe weltweit zur größten Bedrohung der Imkerei. Die wenigen stabilen Parasit-Wirt-Systeme zwischen der *Varroa*-Milbe und dem neuen Wirt beschränken sich entweder auf Honigbienen afrikanischen Ursprungs oder auf Regionen mit tropischem Klima. Diese ausbalancierten Beziehungen scheinen von einer reduzierten Fertilität der Milben in der Arbeiterinnenbrut, einer verkürzten Verdeckelungsdauer der Arbeiterinnenbrut sowie von spezifischen Verhaltenseigenschaften der Wirtsbienen abzuhängen.

In dieser Arbeit habe ich verschiedene Aspekte der Parasit-Wirt-Beziehung zwischen Honigbienen und *Varroa* Milben in Jordanien untersucht. *Apis m. syriaca* ist die endemische Honigbienenrasse in Jordanien und vereinigt sowohl afrikanische als auch europäische Verhaltenseigenschaften. Die jordanischen Imker verwenden diese lokale Bienenrasse neben ihren Hybriden mit importierten Europäischen Bienenrassen. Jordanien bietet damit hervorragende Voraussetzungen, um den Einfluss unterschiedlicher Honigbienenrassen und unterschiedlichen Klimaten auf das Parasit-Wirt-System zu überprüfen. In meinen Versuchen habe ich die Parasit-Wirt-Beziehung der einheimischen *A. m. syriaca* mit der importierten *A. m. carnica*, die unter mitteleuropäischen Bedingungen gegenüber *Varroa* anfällig ist, an jeweils gleichen Versuchsstandorten in Jordanien untersucht:

In einem Vorversuch ermittelte ich die *Varroa*-Befallsraten in verdeckelten Brutzellen und von adulten Bienen in 180 Bienenvölkern an sechs verschiedenen Standorten in Jordanien. Alle Bienenvölker waren seit mindestens acht Monaten nicht mehr gegen die *Varroa*milbe behandelt worden. Es ergaben sich hohe Befallsraten, die zumindest zum Teil deutlich über der Schadensschwelle für Bienenvölker lagen. Allerdings fanden sich keine signifikanten Befallsunterschiede zwischen den verschiedenen Bienenrassen und den unterschiedlichen klimatischen Regionen.

Die Populationsdynamik von Wirt und Parasit als der wichtigste Parameter für die Honigbiene-*Varroa*-Wechselbeziehung wurde in Völkern mit einheimischen (*A. m. syriaca*) und importierten europäischen (*A. m. carnica*) Bienen über den Zeitraum eines gesamten Jahres in Baqa (trocken-heißes mediterranes Klima) und Yadodeh (feucht-mediterranes Klima) erfasst. Bei allen Völkern wurde die Anzahl an Brutzellen und Bienen nach der „Liebefelder Methode“ in 3-wöchigen Abständen geschätzt. Während der Schätzungen wurden zusätzlich Bienen- und

Brutproben entnommen, um den prozentualen *Varroa*-Befall zu ermitteln. Die durchschnittliche Bienen- und Brutpopulation war in den „*syriaca*“-Völkern signifikant höher als in den „*carnica*“-Völkern. Die durchschnittliche Brut- und Bienenpopulation lag bei 7.628 ± 3.166 und 8.368 ± 2.724 in den „*carnica*“-Völkern und 6.447 ± 2.338 und 9.164 ± 3.336 in den „*syriaca*“-Völkern. Daraus ergibt sich im Vergleich zu Daten aus Mitteleuropa eine erstaunlich kurze durchschnittliche Lebensdauer der adulten Bienen.

Die entsprechende Populationsdynamik der *Varroa* Milben zeigte einen exponentiellen Verlauf bis zu einem Maximalbefall und danach eine Abnahme der Population bis zum Beginn der nächsten Saison. Die maximale Populationsdichte lag zwischen 2.614 ± 2.190 Milben in den „*carnica*“ Völkern und 4.397 ± 2.746 Milben in den „*syriaca*“-Völkern. Auf der Grundlage einer Exponentialfunktion lagen die Wachstumsraten (Wachstumsrate = e^r) für die *Varroa*-Population innerhalb eines 3-Wochen-Intervalls zwischen 1.3 und 1.5 mit signifikanten Unterschieden zwischen den Standorten. Während der Abnahmephase der *Varroa*-Population verringerte sich die Milbenzahl zweimal stärker als die effektive Bienenpopulation (Anzahl der adulten Bienen plus verdeckelte Brutzellen). Dies bedeutet, dass entweder eine höhere Mortalitätsrate der Milben und / oder ein aktives Abwehrverhalten der Bienen zu dieser drastischen Abnahme der *Varroa* Population beiträgt.

Beim relativen *Varroa*-Befall konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Bienenrasse festgestellt werden. Allerdings war die Mortalitätsrate bei den „*carnica*“-Bienenvölkern höher als bei den „*syriaca*“-Völkern. Dies lässt - unabhängig vom *Varroa*-Befall - auf eine generell höhere Fitness der einheimischen Bienen schließen. Der Grenzwert für das Überleben eines Bienenvolkes lag bei meinen Versuchen bei einem maximalen Befallsgrad von 20% bei Adulten bzw. 40% in der verdeckelten Arbeiterinnenbrut.

Bezüglich der untersuchten Resistenzfaktoren, die zu einem stabilen Parasit-Wirt-Gleichgewicht beitragen sollen, zeigten die einheimischen Bienenvölker keinerlei Präadaptation für eine *Varroa*. Weder bei der Fertilität der Milbenweibchen noch bei der Reproduktionsrate wurden Unterschiede zwischen den einheimischen „*syriaca*“-Bienen und den importierten „*carnica*“-Bienen festgestellt. Die Verdeckelungsdauer der Arbeiterinnenbrut war bei beiden Bienenrassen nahezu identisch und entsprach den Daten aus Mitteleuropa. Auch bei der täglichen Milbenmortalität, die zwischen 0,8% und 1,5% der gesamten Milbenpopulation eines Volkes lag, gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Bienenrassen.

Anhand einer RFLP-Analyse der CO-I Einheit wurde ausschließlich der *V. destructor* Korea-Typ ermittelt. Zudem zeigte das „Genotyping“ der Milben basierend auf der Sequenz zweier Marker eine extrem geringe genetische Variabilität. Dies bestätigt neue Publikationen und widerspricht der Hypothese, dass Unterschiede in der Virulenz der *Varroa*-Milben zu einem stabilen Parasit-

Wirt-Verhältnis beitragen.

Schlussfolgerungen

- Die Jordanische Honigbiene weist keine erhöhte *Varroa*-Resistenz im Vergleich zu den anfälligen europäischen Bienen auf.
- Das mediterrane Klima hat keinen hemmenden Effekt auf die Populationsdynamik der *Varroa*-Milben.
- Die *Varroa*-befallenen einheimischen Bienenvölker haben eine signifikant höhere Überlebensrate als die importierten „carnica“-Bienenvölker unter denselben Bedingungen.
- Eine Veränderung der Infektionsfähigkeit zwischen unterschiedlichen geografischen Herkünften der *V. destructor* Populationen ist weniger wahrscheinlich