

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO EN COLMENAS DE UN APIARIO DE SELECCIÓN

Sanabria, J. L.; Demedio, J.; Pérez Carmona, T.; Peñate, I.; Pérez, A.

Universidad Agraria de La Habana (UNAH). Cuba.

Teléfono: 682-3992

E-mail: sanabria@isch.edu.cu demedio@isch.edu.cu

Introducción

La Conducta Higiénica de las abejas *Apis mellifera*, también conocida por Comportamiento higiénico o Instinto de Limpieza, consiste en la habilidad que poseen las abejas obreras de detectar, puntuar, desopercular y remover de sus celdas a las crías enfermas, parasitadas o muertas; interrumpiéndose de esta manera el ciclo reproductivo del parásito y su multiplicación en la colmena (Gramacho, 1999; Calatayud, 2000, Gramacho y Gonçalves, 2001, Gonçalves, 2003).

Este comportamiento es un mecanismo de tolerancia natural de las abejas frente a las enfermedades de la cría y la varroosis (Palacio *et al.*, 2000a; Vandame, 2004; Gramacho, 2005; Morais *et al.*, 2006), y debido a su alta heredabilidad ($h^2 = 0,50$) es de vital importancia en Programas de selección de abejas varroa-tolerantes. (Spivak y Gilliam, 1998; Guzmán, 2004).

Este trabajo se realizó con la finalidad de estudiar el comportamiento higiénico en colmenas de un apiario de selección

Materiales y métodos

Este experimento fue realizado en colmenas pertenecientes al apiario de selección de la Unidad Docente Nazareno, de la facultad de Medicina Veterinaria de la Habana (UNAH), ubicado en el Municipio de San José de las Lajas, Provincia de La Habana. Este apiario por ser de selección ha estado sin recibir tratamiento por más de tres años. Las colmenas tienen de uno a dos cuerpos con fortaleza variable y se encontraban clínicamente sanas.

Esta conducta fue evaluada en tres periodos diferentes. En el periodo de abril a mayo de 2005 se realizaron cinco réplicas con 15 colmenas con una frecuencia aproximada de 15 días; en el periodo octubre/05 a enero/06 se realizaron evaluaciones mensuales con un número promedio de diez colonias, y en el periodo junio a julio de 2006 se laboró una vez al mes en nueve y ocho colmenas, respectivamente.

En el primer periodo de estudio se evaluó la conducta higiénica parcial (CHP) y total (CHT) a las 48 horas, en el segundo se estudió la limpieza de las celdas a las 24 horas y a las 48 horas, mientras que en el último periodo solo se observó la limpieza de las celdas a las 48 horas.

Para cada muestreo se tomaron fragmentos de panales de cría de obreras con una longitud de 5 cm. de ancho $\times$ 6 cm. de largo, los cuales fueron envueltos con papel debidamente identificados con el número de la colmena, fecha y otros datos de interés y se procedió a la congelación de los fragmentos de panales durante 24 horas para el sacrificio de las crías. Transcurrido este tiempo se reintrodujeron en el lugar de donde fueron extraídos, contando antes el número de celdas operculadas inicialmente y eliminando las crías no operculadas. A las 24 horas y a las 48 horas se procedió al conteo de celdas operculadas finales y ocupadas por crías descubiertas (Spivak y Downey, 1998). Con todos estos datos se procedió a calcular la conducta higiénica, parcial (C.H.P.%) y total (C.H.T.%) según la siguiente fórmula:

$$\text{C.H.T. \%} = \frac{\text{C.O.i.} - (\text{C.O.f.} + \text{C.C.})}{\text{C.O.i.}} \text{ y } \text{C.H.P. \%} = \frac{\text{C.O.i.} - (\text{C.O.f.})}{\text{C.O.i.}}, \text{ donde:}$$

C.H.T. = Conducta higiénica total
C.O.i. = Celdas operculadas inicial
C.C. = Celdas con cría descubierta

C.H.P. = Conducta higiénica total
C.O.f. = Celdas operculadas final

Para clasificar las colmenas en higiénicas se tomó en cuenta el criterio de Taber y Gilliam (1997) que plantean que las colmenas deben limpiar del 95- 100 % de las crías muertas en menos de 48 horas para ser consideradas como higiénicas.

Los resultados de C.H.T. fueron procesados estadísticamente por el Test de Comparación de Proporciones (COMPROP 1) del paquete estadístico MICROSTAT

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se exponen los resultados de la Conducta Higiénica Total de todos los muestreos realizados.

En las evaluaciones realizadas en este apiario de selección las abejas fueron capaces de limpiar el 67,19 % (de 20 388 pupas removieron 13 698) de las crías muertas por congelación, con un rango que osciló de 51,02 % a 90,57 % y se comprobó una diferencia altamente significativa ($p < 0,001$) entre los muestreos (Tabla 1).

Cifras de remoción similares o inferiores a las observadas en este experimento han sido apreciadas en otros países. En los Estados Unidos de América Spivak *et al.* (1994) señalaron valores de remoción de pupas infestadas artificialmente entre 55 % y 69 %, en colmenas seleccionadas para esta característica; en Argentina, al inicio de un amplio programa de selección, las colmenas removieron el 66,25 % de las crías muertas (Palacio *et al.*, 2000a,b; Palacio y Bedascarrasbure, 2001); en Alemania colmenas de *Apis mellifera carnica* eliminaron del 60% al 80% de las pupas (Gramacho y Gonçalves, 2001); en España una línea de abejas mejoradas por su comportamiento higiénico fueron capaces de eliminar el 70 % de las crías muertas mientras que colonias de una línea de abejas mejoradas por su tolerancia a Varroa solo removieron el 50 % de las pupas sacrificadas (Flores *et al.*, 2006b,c) y en México, Medina y Medina (2004) en colmenas africanizadas observaron un comportamiento higiénico bajo (24 % y 12%).

Tabla 1. Resultado de la Conducta Higiénica Total de todos los muestreos realizados.

Muestreos	Colmenas	COI	COF	CHT (%)	Colm. Hig. (%)
Abr-05.1	15	2 054	677	67,04 cd	20,0 (3)
Abr-05.2	15	2 113	1 035	51,02 f	0,0 (0)
Abr-05.3	15	2 245	647	71,18 b	20,0 (3)
May-05.1	15	1 995	777	61,05 c	20,0 (3)
May-05.2	15	2 309	712	69,16 bc	26,67 (4)
Oct-05	11	1 637	563	65,6 d	9,09 (1)
Nov-05	9	1 349	379	71,9 b	22,22 (2)
Dic-05	11	1 601	151	90,57 a	72,72 (8)
Ene-06	13	2 000	652	67,4 cd	46,15 (6)
Jun-06	9	1 630	580	64,42 d	55,56 (5)
Jul-06	8	1 455	517	64,47 d	25,00 (2)
Total (11)	136	20 388	6 690	67,19	27,21 (37)

Prueba F = 72,81 *** (ES=0,01)

(Proporciones con letras comunes no difieren significativamente)

También se describen valores de Conducta Higiénica superiores a los obtenidos en este trabajo. Cuatro años después de iniciado, en Argentina, un programa de selección Palacio *et al.* (2000a,b) y

Palacio y Bedascarrasbure, (2001) reportaron un comportamiento higiénico del 84,56 %; Vázquez *et al.* (2000), en Colombia, obtuvieron valores de limpieza que fluctuaron de 65 % a 100 % y de 29 % a 98 %, en dos muestreos; en los Estados Unidos de América (De Guzman *et al.*, 2002) encontraron que las colmenas Primorsky eliminaron el 91±2,5 % de las crías muertas mientras las colonias de una línea Comercial removieron el 81±3,1 %; en Cuba Sanabria (2004), observó en dos réplicas, que el promedio colectivo de celdas removidas fue de 82,64 % y 80,54 %; en México Becerra *et al.* (2005a) evaluaron el porcentaje de limpieza en colmenas europeas (E.E.), africanizadas (A.A.) y sus híbridos (A.E. y E.A.) alcanzando valores de 72,21 %, 81,49 %, 67,27 % y 91,51 %, respectivamente; mientras que Aguirre (2005) en colonias de abejas no africanizadas apreció, en dos réplicas, una eliminación de las crías muertas del 92,98 % y 97,27 %, en el apiario Universidad y en el apiario Calafia fue del 78,78 % y 99,83 %.

El comportamiento higiénico expresado por las colonias evaluadas está en correspondencia con el hecho de que no se ha realizado selección para esta característica.

El porcentaje promedio de colmenas que alcanzaron la categoría de higiénica fue del 27,21 %, con una máxima de 72,72 % y una mínima de 0,0 %. En argentina Palacio *et al.* (2000a,b) y Palacio y Bedascarrasbure (2001) detectaron que un 43 % de las colonias manifestaron un buen comportamiento higiénico; De Guzman *et al.* (2002), en los Estados Unidos de América, afirmaron que el 69 % de las colmenas Primorsky y el 37 % de las colonias de la línea Comercial mostraron una alta remoción y en Cuba Sanabria (2004) observó, en colmenas de este mismo apiario, en dos ensayos un 70 % y un 30 % de colmenas higiénicas. Sin embargo, en Inglaterra y Gales, Waite *et al.* (2003) determinaron que el 10% de las colmenas eran higiénicas.

En la tabla 2. donde aparecen registrados los resultados de la conducta higiénica en el periodo abril – mayo se nota que la Conducta Higiénica Parcial fue del 76,99 %, con una fluctuación del 67,82 % al 81,9 % y se constata una gran diferencia ($p < 0,001$) entre los muestreos. Estas cifras son inferiores a las observadas en Argentina antes de la implementación de un programa de selección (96 %) (Palacio *et al.*, 2000a,b; Palacio y Bedascarrasbure, 2001). Por otra parte, Gramacho (2005) afirma que esta remoción parcial (canibalismo) de las crías se manifiesta muy alta en las abejas no higiénicas.

Tabla 2. Resultados de la conducta higiénica (parcial y total) en el periodo abril – mayo de 2005.

Colmenas	COI	COF	C/C	CHP (%)	CHT (%)
Abril/05.1	2 054	401	276	80,48 a	67,04 b
Abril/05.2	2 113	680	355	67,82 c	51,02 c
Abril/05.3	2 245	463	184	78,25 a	71,18 a
Mayo/05.1	1 995	504	273	74,74 b	61,05 d
Mayo/05.2	2 309	418	294	81,9 a	69,16 ab
Total (5)	10 716	2 466	1 382	76,99	64,09

CHP: Prueba F = 39,68 *** (ES=0,01) **CHT:** Prueba F = 61,88 *** (ES=0,01)
(Proporciones con letras comunes no difieren significativamente)

Las evaluaciones ejecutadas en el periodo octubre - enero (Tabla 3.) arrojaron un porcentaje de eliminación de crías muertas de 52,86%, a las 24 horas de reintroducidos los panales y una elevada diferencia ($p < 0.001$) entre muestreos. Estos valores son inferiores a lo reportado en México por Aguirre (2005), para abejas no africanizadas, en dos ensayos en el apiario Universidad (78,94 % y 91,82%) y el de Calafia (52,01 % y 91,85 %) a las 24 horas de insertadas las crías sacrificadas. Sin embargo, Vázquez *et al.* (2000) determinaron que aunque las colonias inician rápido la limpieza, no implica que mantengan el ritmo hasta el final de la actividad. O sea, la limpieza de las celdas no está influenciada por la rapidez con que se inicia la actividad.

Tabla 3. Resultados de la conducta higiénica (a las 24 y 48 horas) en el periodo octubre/2005 – enero/2006.

Colmenas	COI	COF1	24 horas (%)	COF2	48 horas (%)
Oct-05	1 637	1 008	38,42 c	563	65,6 c
Nov-05	1 349	673	50,11 b	379	71,9 b
Dic-05	1 601	446	72,14 a	151	90,56 a
Ene-06	2 000	978	51,1 b	652	67,4 c
Total (4)	6 587	3 105	52,86	1 745	73,51

24 horas: Prueba F = 127,46 *** (ES=0,01) 48 horas: Prueba F = 110,86 *** (ES=0,01)
(Proporciones con letras comunes no difieren significativamente)

El periodo junio – julio (Tabla 4) no mostró diferencias estadísticas significativas con una conducta higiénica del 64 %.

Tabla 4. Resultados de la conducta higiénica en el periodo junio – julio de 2006.

Colmenas	COI	COF	CHT (%)
Junio-06	1 630	580	64,41
Julio-06	1 455	517	64,46
Total (2)	3 085	1 097	64,44

Prueba F = 0,00 n.s. (ES=0,01)

Al comparar los resultados de la Conducta Higiénica Total en los tres periodos (Tabla 5) se observa una diferencia estadística significativa ($p < 0,001$) entre el periodo Oct/05-Ene/06 con los otros dos periodos, debido quizás a que, en nuestro país, en el último trimestre del año ocurren las mayores producciones de miel por la floración de las campanillas moradas y blancas, en tanto que en enero ocurre el llamado “Bache de las mieles”, manifestado por una caída brusca en la producción de miel. El mes de diciembre resultó ser el mes donde las abejas manifestaron una mayor conducta higiénica (90,57 %) y donde mayor número de colmenas se clasificaron como higiénicas (8).

Tabla 5. Resultados de la comparación de la Conducta Higiénica Total entre los periodos.

Periodos	COI	COF	CHT (%)
Abr–May/05	10 716	3848	64,09 b
Oct/05–Ene/06	6 587	1 745	73,51 a
Jun-Jul/06	3 085	1 097	64,44 b
Total (3)	20 388	6 690	67,19

Prueba F = 88,27 *** . (ES = 0,00 – 0,01)
(Proporciones con letras comunes no difieren significativamente)

En cuanto a la influencia de la entrada de néctar sobre la conducta higiénica la literatura consultada refiere que en período de mieladas las colonias tienen tendencia a ser higiénicas, ya que ellas limpian las celdillas para almacenar el néctar; por el contrario en ausencia de mielada, solo las colonias verdaderamente higiénicas manifiestan esta conducta (Layec, 1999; Spivak, 1999; De Guzman *et al.*, 2002; Melathopoulos y Pernal, 2004). Por otra parte, la entrada de polen a las colmenas también influyen en la expresión de este comportamiento ya que ha sido demostrado que las colonias con altas reservas de polen remueven más las larvas infestadas artificialmente con Varroa que aquellas que poseen bajas reservas de proteínas (Janmaat y Winston, 2000). El estado fisiológico de la colmena es otro elemento importante en la expresión de esta conducta pues según Layec (1999) y Spivak *et al.* (2003) las abejas de dos a tres semanas de edad manifiestan una mejor conducta higiénica y se requiere que al menos el 20 % de la población posea los genes que determinan esta característica.

En las 11 réplicas desarrolladas se observó una diferencia estadística significativa entre colmenas ($p < 0,001$) y el comportamiento higiénico de las colmenas varió entre muestreos. Esta variación en el comportamiento higiénico de las colmenas al realizar más de una evaluación también ha sido reportada por Spivak (1996), Vázquez *et al.* (2000) y Sanabria (2004), lo que puede deberse a, otro factor de gran significación, la conocida poligamia de la reina al realizar el vuelo nupcial, pues los espermatozoides que llegan a la espermateca de la hembra son almacenados en forma de paquetes, y en el momento de la fecundación del óvulo al variar estos paquetes las obreras hijas de una misma reina cambian su conducta, en un período relativamente corto, sin haber cambio de reina o variaciones importantes del clima (Apinet-INTA, 2000). Esto ocurre cuando no hay control de la fecundación de la reina y esta se aparea libremente, sin embargo, se puede reducir esta variación por el empleo de la inseminación instrumental con semen de zánganos hijos de reinas que poseen los genes que determinan esta característica.

Conclusiones

- ❖ El comportamiento higiénico del apiario está en correspondencia con el hecho de que no se ha realizado selección para esta característica.
- ❖ Se detectaron diferencias significativas entre colmenas, meses y periodos, siendo el mes de diciembre el de mayor porcentaje de celdas higienizadas y número de colonias higiénicas.

Bibliografía

1. Aguirre, J.L. 2005. La varroasis en colmenas de Baja California Sur. El agente etiológico y opciones para su control. Tesis en Opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. La Paz-La Habana. pp 113.
2. Becerra, F.J.; Arrechavaleta, M.E.; Guzman, E.; Vázquez, M.; Uribe, J.L. 2005°. Efectos genéticos en el comportamiento de acicalamiento de abejas (*Apis mellifera* L.) europeas, africanizadas y sus híbridos. 12º Cong. Inet. de Actualizac. Apíc. Del 25-27 de mayo en Tepic, Nayarit, México. Pp 25-30.
3. Calatayud, F. 2000. Problemática apisanitaria: virosis y varroosis. Curso de Apicultura de Callosa d'En Sarrià. Març de 2000. Disponible en: <http://www.apiunio.com/apitemas/apipatologia/vrosis.html> [Consultado: 30/05/03 1:29 AM].
4. De Guzman, L.; Rinderer, T.E.; Stelzer, J.A.; Beaman, L.; Delatte, G.T.; Harper, C. 2002. Hygienic behaviour by honey bees from Far-eastern Russia. Am. Bee J. 142:58-60.
5. Flores, J.M.; Jiménez, J.A.; Padilla, F. 2006c. Tolerancia a Varroa. El colmenar 82:41-46.
6. Flores, J.M.; Jiménez, J.A.; Padilla, F. 2006b. Preselección de colonias de abejas (*Apis mellifera*) con alto comportamiento higiénico y con menor parasitación por el ácaro *Varroa destructor*. Comunicaciones al VIII Cong. Iberoam. de Apic. Del 9 al 12 de marzo de 2006. Pastrana, Guadalajara, España. P. 36.
7. Gramacho, K.P. 1999. Factores que interferem no comportamento higiênico das abelhas *Apis mellifera*. Tese de Doutorado. FFCLRP-USP. 225p.
8. Gramacho, K.P. 2005. Introducción al mejoramiento de las abejas con énfasis en el comportamiento higiénico. 12º Cong. Internac. de Actualizac. Apíc. Tepic, Nayarit, México.
9. Gonçalves, L.S. 2003. Factores que intervienen en la conducta higiénica de las abejas. En Ferias Tlaxcala, México. Vida Apícola. 120: 46.
10. Guzmán, E. 2004. Avances en el mejoramiento genético para mayor producción de miel y el control de la africanización de las abejas en México. 1º Congreso de Apicultura. Del 7 al 9 de septiembre del 2004. La Habana, Cuba.
11. Janmaat, A.F.; Winston M.L. 2000. Removal of *Varroa jacobsoni* infested brood in honey bee colonies with differing pollen stores. Apidologie 31:377-385.
12. Layec, V. 1999. Comportamento igienico e peste americana. Rivista de Apicoltura LAPIS 8: 7-12. Artículo traído de la revista La Santé de l'abeille. No. 170.

13. Medina, C.A.; Medina, L. 2004. Frecuencia de colonias altamente higiénicas en abejas africanizadas (*Apis mellifera*) en Yucatán. NotiAbeja Julio-agosto de 2004. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx>. [Consultado: 07/09/04].
14. Morais, M.M.; Pereira, R.A.; Bugalho, V.; Gonçalves, L.S. 2006. Análisis del tiempo de desoperculación y remoción de la cría muerta de las celdas por abejas africanizadas (*Apis mellifera*) higiénicas y no higiénicas. Comunicaciones al VIII Cong. Iberoam. De Apic. Del 9 al 12 de marzo de 2006. Pastrana, Guadalajara, España. p. 23.
15. Melathopoulos, A.; Pernal, S. 2004. Guardando a la reina que puso el huevo de oro: Crianza para la resistencia de AFB en operaciones del "nuc" de la pradera [En línea] Febrero 2004. Disponible en: <http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http://www.albertabeekeepers.org/Articles/2004%2520-%2520Breeding%2520for%2520AFB%2520Resistance.html&prev=/search%3Fq%3Dbees%2Bhygienic%2Bbehaviour%26hl%3Des%26lr%3D%26ie%3DUTF-8%26sa%3DG>. [Consultado: 16/3/2006].
16. Palacio, M.A.; Figini, E.E.; Rufinengo, S.R.; Rodríguez, E.M.; Del Hoyo, M.L.; Bedascarrasbure, E.L. 2000a. Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected for hygienic behaviour and its relation to brood diseases tolerance. *Apidologie* 31:471-478.
17. Palacio, M.A.; Figini, E.E.; Rodríguez, E.M.; Rufinengo, S.R.; Del Hoyo, M.L.; Bedascarrasbure, E.L. 2000b. Resultados de la selección para el comportamiento higiénico en poblaciones de abejas (*Apis mellifera*) sin control de la fecundación. Anais de IV Evento sobre abelhas. Riberao Preto, Sao Pablo, Brasil. 6-9 setembro de 2000. pp. 52-57.
18. Palacio, M.A.; Bedascarrasbure, E.L. 2001. Honey bee hygienic behavior and its relation to brood diseases. Proc. 37th Int. Apic. Cong., 28 oct. – 1^o Nov. de 2001. Durban, South Africa. ISBN: 0-620-27768-8.
19. Sanabria, J.L. 2004. Evaluación de dos mecanismos de defensa de las abejas *Apis mellifera* frente al ácaro *Varroa destructor*. Tesis en opción al título académico de Máster en Microbiología (Mención Parasitología). Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).
20. Spivac, M. 1999. El comportamiento higiénico de la abeja y la tolerancia a Varroa. [En línea] INFO-REINES 49, 1999. Disponible en: http://www.beekeeping.com/anercea/info_reines_sp.htm. [Consultado: 16/3/2006].
21. Spivak, M.; Masterman, R.; Ross, R.; Mesce, K.A. 2003. Hygienic behaviour in the honey bee (*Apis mellifera*) and the modulatory role of octopamine. *J. Neurobiol.* 55(3): 341-354.
22. Spivak, M.; Downey, D. 1998. Field assays for hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.* 91: 64-70.
23. Spivak, M.; Gilliam, M. 1998. Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and Varroa. Part II. Studies on hygienic behaviour since Rothembuhler era. *Bee World* 4(79): 169-186.
24. Spivak, M.; Reuter, G.A.; Melton, R.; Breyfogle, J. 1994. Honey bee hygienic behavior and tolerance to *Varroa jacobsoni*. *Am. Bee. J.* 134(12): 836-837.
25. Taber, S.; Gilliam, M. 1997. Breeding Money bees for resistance to diseases. *Korean J. Apic.* 2: 15-20.
26. Vandame, R. 2004. Control alternativo de Varroa. 1er Congreso de Apicultura. Del 7 al 9 de septiembre del 2004. La Habana, Cuba.
27. Vázquez, R.R.E.; Tello, D.J.E. Martínez, R.; Avila, O. 2000. Evaluación de diferentes metodologías para caracterizar los niveles de tolerancia a varroasis. Memorias del V Congreso Iberoamericano de Razas Autóctonas y Criollas. Nov. 28 – Dic. 1 / 2000. Hotel Palco, La Habana, Cuba.
28. Waite, R.; Brown, M.; Thompson, H. 2003. Hygienic behaviour in honey bees in the UK: a preliminary study. *Bee World* 84(1): 19-26.