

EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO EN COLMENAS SELECCIONADAS DEL APIARO DEL CIAPI.

Miranda Esquijarosa, E.¹; Martha Vázquez Luaces¹; Morales Martínez, A.¹; Beatriz Luaces Valdés¹.

¹Centro de Investigaciones Apícolas
edel@eeapi.cu

Introducción

El comportamiento higiénico de las abejas ha sido tomado como medida de selección para resistencia a algunas enfermedades dentro de ellas a la varroosis, la Loque Americana y la Loque Europea. Esta es una característica que tienen las abejas de reconocer cuando una cría se encuentra infestada (en el caso de la Varroa) o enferma (en el caso de las Loques) y pasar entonces a desopercular la celda, retirar el parásito o la cría enferma y limpiar la misma para una nueva puesta de huevos, o para que sea llenada de miel o polen (**Gramacho y Spivak, 2003**). Este es un carácter heredable (**Spivak, 1996**) y que con bastante confianza permite un progreso genético de una generación a otra pero que se hereda más de manera cuantitativa que Mendeliana, y tiene como característica que está relacionado con 7 locis que pueden influir en su expresión (**Lapidge et al.; 2002**).

En nuestro país, la varroosis es un problema, ya que se invierten gran cantidad de recursos para garantizar su tratamiento desde el año 1996, fecha en que se descubrió por primera vez (**González, 1996**), por lo que se está llevando a cabo un Proyecto para el desarrollo del Programa de Mejoramiento Genético a nivel nacional con el objetivo de disminuir los costos anuales de tratamientos y las pérdidas de colmenas por este concepto (**Vázquez et al.; 2001**). Como parte de este proyecto se ha realizado una selección primaria de enjambres silvestres que resistieron el primer impacto de la enfermedad, trasladándose al Centro de Investigaciones Apícolas y puestos en colmenas modernas. Estas colmenas llevan varios años sin tratamiento, solo con medidas de manejo, y mantienen una tasa de infestación de varroa por debajo de un 3%.

Como parte de su evaluación se les realizan pruebas cada cierto tiempo para verificar su comportamiento, eliminando de la selección las que no presenten las características deseadas y convirtiéndolas en núcleos de fecundación o colmenas de producción, dejando de maternas para la cría de reinas las que mantengan los indicadores medidos en sus valores recomendables para evaluar posteriormente sus hijas (**Vázquez et al.; 2001**). Dentro de los ensayos que se le efectúan se encuentra el de Comportamiento Higiénico, el cual por su importancia y complejidad nos llevó a realizar un desglose del mismo para disminuir el error a la hora de la selección masal de las colmenas en el programa de mejoramiento genético, conociendo que existen factores ambientales que afectan la expresión de este como la época del año (flujo de néctar, temperatura, humedad), así como condiciones internas de las colmenas (estadio de la cría que se emplee, fortaleza de la colmena, etc.) (**Spivak, 1996; Gramacho y Goncalves, 2001**).

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio preliminar del comportamiento higiénico en las colmenas del CIAPI que permita evaluar este carácter en la población de abejas y además valorar como influyen sobre él algunos factores que se tuvieron en cuenta para posteriormente realizar una

experiencia a gran escala. Por la cantidad de información que se pretende procesar el trabajo se dividió en dos partes.

Primera parte

Objetivo General

Valorar del comportamiento higiénico en las colmenas seleccionadas del CIAPI y determinar de la tasa de infestación por Varroa en las mismas.

Objetivos específicos

1. Evaluar el comportamiento higiénico de las colmenas seleccionadas del CIAPI.
2. Determinar el destino de las mismas según resultado del test.
3. Valorar la tasa de infestación tanto en cría como en adulta de estas colmenas y determinar si existía relación con el comportamiento higiénico.

Materiales y métodos

Se emplearon para el estudio 6 colmenas seleccionadas del CIAPI tipo Langstroth, las cuales se prepararon el día antes de la prueba de Comportamiento Higiénico (**CH**). La preparación consistió en homogenizar las condiciones de las colmenas de manera que existiera la mayor semejanza entre ellas en cuanto a la ubicación de panales y sin afectar la fisiología de las mismas. Se midieron los parámetros de fortaleza, presencia de reina con postura adecuada, y se arregló la cámara de cría de manera que los panales que se iban a usar para el estudio quedaran ubicados en la posición 2, 6 y 9 de izquierda a derecha dentro de la colmena.

El método de evaluación del **CH** fue el de pinchado de la cría (**Newton y Ostasiewski, 1986; Gramacho y Goncalvez, 1994; Spivak y Downey, 1998**). Se pincharon 3 áreas de cría por cada colmena, una en cada ubicación (2, 6 y 9). Dentro de los panales ubicados se especificó el área de pinchado por el cuadro Neck, tratando que el cuadrante seleccionado tuviera la mayor cantidad de celdas operculadas posibles. Para el pinchado se emplearon 2 personas para valorar el error que podía introducir este factor y se anotó el estadio de la cría (Larva, Pupa de ojos blancos, Pupa de ojos rosados) así como otros detalles.

El estudio se realizó en el mes de Abril del año 2006 y el pinchado se llevó a cabo a las 11:30am del día 18. Se realizó una primera inspección a las 3 horas de realizado el mismo y otro a las 24 y a las 48 horas.

Se calculó el porcentaje de desoperculación a las 3 horas, a las 24 horas y a las 48 horas por la fórmula siguiente:

$$\%Desop_h = D_h / L_h * 100$$

D_h = celdas desoperculadas a la hora recogida

L_h = celdas limpias a la misma hora

El valor final por colmena de CH fue determinado por la siguiente fórmula:

$$CH = (L_1 + L_2 + L_3) / (P_1 + P_2 + P_3) * 100$$

L_1 - L_2 - L_3 = Segmentos de celdas limpias por colmena (3 por cada una)

P_1 - P_2 - P_3 = Segmentos de celdas pinchadas por colmena (3 por cada una)

El CH se valoró según **Spivak y Downey, 1998** que plantean que las colmenas que limpien el 95% de las celdas pinchadas a las 48 horas se pueden considerar higiénicas. Como se plantea además que este comportamiento se divide en 3 fases: reconocimiento, desoperculación y limpieza (**Gramacho y Spivak, 2003**) se tomaron en cuenta las observaciones de desoperculación (%) en cada momento evaluado aunque el peso del CH se le dio a las celdas limpias.

El comportamiento higiénico se refleja en las colmenas como una medida de la resistencia de las abejas a las enfermedades de la cría y a la varroosis. Se ha descrito que es inversamente proporcional a la tasa de infestación de Varroa en cría y que disminuye en gran medida el porcentaje de esporos de otras enfermedades dentro de la celda (**Spivak y Reuter, 1998**). Por esta razón se midió la tasa de infestación al inicio del experimento buscando si existe una coincidencia entre estos aspectos mencionados.

La tasa de infestación se midió en abejas adultas y en la cría la Extensidad de Invasión. En adultas se midió la tasa por el método de **De Jong et al; (1982)** y el de la cría por el descrito por **Eguaras, del Hoyo y Ruffinengo; (1999)** donde hacen referencia al método de **De Jong y Mantilla** inspeccionando 100 celdas de obrera por cada colmena y anotando las celdas infestadas. La fórmulas para los cálculos fueron:

$$T.I_{adultas} = \text{ácaros/abejas} * 100$$

$$E.I_{cría} = \text{celdas infestadas / celdas inspeccionadas} * 100$$

Se evaluó además si existía relación entre el comportamiento higiénico y la tasa de infestación aplicando una regresión para estos caracteres. El programa estadístico empleado fue el Statgraphics® versión 4.1. Los resultados se tabularon y procesaron según los objetivos perseguidos.

Resultados y discusión.

Los resultados obtenidos se exponen en la Tabla No. 1 que se muestra a continuación:

Tabla No.1. Resultados por colmena de la prueba de Comportamiento Higiénico.

Colmena	Pinchadas	% Desop 3h	% Desop 24h	% Limp 24	% Desop 48	% Limp 48
1	148	10,14%	91,89%	41,89%	100,00%	85,14%
2	133	42,11%	74,44%	57,89%	93,98%	79,70%
3	170	28,24%	95,29%	91,18%	100,00%	97,06%
4	159	32,70%	91,82%	84,91%	99,37%	98,10%
6	172	73,84%	100,00%	95,35%	100,00%	100,00%
9	96	61,46%	91,67%	70,83%	100,00%	97,92%

Como se observa en esta tabla, 4 de las 6 colmenas en estudio habían limpiado a las 48 horas más del **95%** de las celdas pinchadas, difiriendo significativamente de las otras 2 (**1 y 2**), las cuales estuvieron por debajo del **86%**. Este diferencia se observa desde las 24 horas donde ya esas mismas 4 colmenas se encontraban con un porcentaje de limpieza por encima del **70%**, mostrando en general una relación estrecha entre las celdas limpias a las 24 horas y las limpias a las 48 horas (**CC= 0.827**) con un nivel de confianza del 95%.

Sin embargo, no ocurre lo mismo con el reconocimiento de las crías muertas donde se observa que todas las colmenas desde las 24 horas ya habían reconocido y desoperculado mas del **90%** de las celdas, excepto la **No. 2**, y que ya a las 48 horas se encontraba este comportamiento bastante homogéneo en todas llegando casi a un 100%. Teniendo en cuenta lo anterior y tomando en consideración el modelo de 3 genes que proponen **Gramacho y Goncalvez, 2001** podemos decir que las colmenas No. 1 y 2 presentan los genes de reconocimiento y desoperculación (u_1 y u_2) en homocigosis recesiva en gran parte de la población de abejas presentes, no así el de remoción que al parecer su frecuencia es baja.

Según plantea **Gramacho y Spivak, 2003** esto puede deberse a las diferencias de sensibilidad olfativa de las obreras a la hora del reconocimiento del estímulo de la cría anormal y que también tiene que ver con la homo o heterocigosis del carácter en la población de obreras y que las abejas higiénicas detectan el olor de la cría anormal a menor estímulos que las no higiénicas.

Como otra arista de este problema podemos tener en cuenta que como la reina pone huevos por paquetes y el apareamiento de las mismas es libre, la población predominante de la colmena en este momento puede ser parentalmente hija de zánganos que no posean los genes de remoción en homocigosis recesiva y por eso no se expresa el comportamiento en la descendencia.

Se observa además que a las 24 horas, las colmenas 3 y 6 llevaban ventaja del resto habiendo limpiado más del **90%** de las celdas, lo que demuestra la presencia de los genes para la remoción en

homocigosis en gran parte de la población de abejas de esas colmenas. Las colmenas 1 y 2 no cumplieron los parámetros de higiene para mostrar resistencia a Varroa en este aspecto según **Spivak y Downey, 1998** que plantea que este carácter debe expresarse en un **95%** o más a las 48 horas de realizado el experimento para que tenga alguna relevancia en la profilaxis de enfermedades parasitarias y bacterianas de la cría.

Haciendo otro análisis de la tabla podemos apreciar que al realizar la primera revisión a las 3 horas de haber pinchado las celdas había actividad definida en todas las colmenas aunque este comportamiento no fue homogéneo, coincidiendo con **Gramacho y Goncalves, 2001** quienes encontraron que ya dos horas después de pinchada la cría se efectuó el reconocimiento de las mismas que estaban afectadas pasando a realizar los pequeños hoyos en el opérculo de cera y coincidiendo también con **Del Hoyo et al.; 2001** que plantean que todas las colmenas son capaces de remover las larvas infestadas con V. destructor dentro de pocas horas posteriores al inicio del experimento.

Un factor que pudiera tener influencia en la demora del desencadenamiento del mecanismo del CH puede ser la capacidad de recuperación al estrés que tenga cada colmena como individuo y el tiempo que demoren las abejas que salieron de la colmena producto del humo y del manejo en entrar nuevamente en ella. Esto pudiera retrasar el reconocimiento de las crías muertas en mayor o menor medida. No se demostró relación entre el comportamiento de desoperculación a las 3 horas y el equivalente a las 24 y 48 horas.

Al realizar la revisión a las 24 horas se observa un comportamiento mas homogéneo de este reconocimiento y desoperculación observándose que todas las colmenas se encontraban por encima del **90%** excepto la No. 2 que solo alcanzó un **74.44%**. Cuando observamos que esta misma colmena a las 3 horas de haber comenzado el experimento ya tenía desoperculadas el **42,11%** de las celdas, encontrándose por encima de tres de las colmenas en estudio y aunque se demostró que no existe relación entre el desoperculado a las 3 horas y el desoperculado a las 24 horas, algún factor parece haber influido en la disminución de este comportamiento ya que se mantuvo como el más bajo durante todo el experimento. A la observación esta colmena conservó la reina, no tuvo síntomas de enfermedad y el manejo fue el mismo que el del resto.

Ahora bien, en cuanto a la Tasa de infestación los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla No. 2. Tasa de infestación en cría y en adultas de las colmenas en estudio.

NoColm	Abejas	Ácaros	T.I. adulta	Celdas inspeccionadas	Celdas Infestadas	E.I. cría
1	85	0	0,00%	100	1	2,00%
2	95	7	7,37%	100	5	10,00%
3	85	1	1,18%	100	0	0,00%
4	100	1	1,00%	100	0	0,00%
6	90	0	0,00%	100	0	0,00%
9	85	2	2,35%	100	0	0,00%

Como se observa de manera general en la tabla, la tasa de infestación tanto en adultas como en cría se encuentra por debajo del 3% en todas las colmenas excepto en la 2 donde ambos indicadores sobrepasaron el 7%, valor en adultas que se toma como referencia en nuestro país para aplicar un tratamiento ya sea químico u orgánico (**Verde, 2006**). Teniendo en cuenta que estas colmenas no tienen tratamiento alguno hace más de 3 años, estos valores no representan un peligro, aunque pudiera ser un comienzo de la pérdida de la resistencia natural de esta a la Varroa si lo relacionamos con el hecho de que fue la colmena con más bajo comportamiento higiénico como se explicó anteriormente.

Al realizar la prueba de regresión se observó que existe una estrecha relación entre el comportamiento higiénico y la tasa de infestación en cría tanto a las 24 horas como a las 48 horas (**p=0,0138, CC=0,90 y p=0.0084 y CC= 0.9240**) respectivamente con el modelo Recíproco-x y con una confianza del 95%), no así con la tasa en adulta donde no existió relación alguna con esta variable con una confianza del 95%.

Conclusiones

- ✓ Al realizar el estudio de CH en las 6 colmenas del CIAPI podemos concluir que 4 de las colmenas presentan este indicador por encima de la referencia para un buen comportamiento higiénico.
- ✓ La colmena No. 6 obtuvo los mejores valores con un **100%** de expresión a las 48 horas siguiendo la No. 4 con un **98%**, la No. 9 con un **97.92%** y por último la No. 3 con **97.06%**, sin presentar diferencias estadísticas entre ellas.
- ✓ A partir de las 3 horas de realizada la prueba ya existe actividad de CH en todas las colmenas y aumentando progresivamente aunque no de manera homogénea con el paso del tiempo.
- ✓ Las colmenas No. 1 y 2 fueron sacadas de la producción y convertidas en núcleos de fecundación por no cumplir con los parámetros necesarios para el carácter dentro del programa de selección. El resto se mantuvo como progenitoras de las siguientes generaciones de abejas.
- ✓ Las colmenas seleccionadas del CIAPI a pesar del tiempo que llevan sin tratamiento mantienen bajos niveles de infestación tanto en cría como en adulta.
- ✓ Existe una estrecha relación entre el comportamiento higiénico y la Extensidad de Invasión en cría en las colmenas evaluadas, no así con la tasa en adultas, demostrando su influencia positiva en la disminución de este indicador.

Bibliografía

De Jong, D., A. Roma and L.S. Gonçalves. A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honeybees. *Apidologie* 13(3): 297-306. **1982.**

Del Hoyo, M.; Goncalves, L.; Palacio, A.; Bedascarrasshure, E. Apis Mellifera hygienic behaviors in relation to Varroa destructor tolerance two honey bee populations in Argentina. *Proceedings of the 37th International Apicultural Congress*, 28 October – 1 November 2001, Durban, South Africa. **2001.**

Eguaras, del Hoyo y Ruffinengo; (1999)

Gramacho, K y Goncalves, L.S. The sequences of hygienic behavior process of Carniolan worker honey bee (*Apis mellifera carnica*). *Proceedings of the 37th International Apicultural Congress*, 28 October – 1 November 2001, Durban, South Africa. **2001.**

Gramacho, K. y Spivak, M. Differences in olfactory sensitivity and behavioral response among bees bred for hygienic behavior. *Behav Ecol Sociobiol* 54: 472- 479. **2003**.

González, G. Reporte preliminar del ácaro *Varroa jacobsoni* Oud. en tres apiarios de la provincia de Matanzas. Informe Técnico. Instituto de Medicina Veterinaria. Cuba. **(1996)**.

Lapidge, K.; Oldroyd, B.; Spivak, M. Seven suggestive quantitative trait loci influence in hygienic behavior of honey bees (*Apis mellifera* L.) using proboscis extension reflex conditioning. *J. Insect Behav* 13: 87-101. **2002**.

Newton, D.C. y Ostasiewski, N.J. A simplified bioassay for behavioral resistance to American foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.) *American Bee Journal* v. 126:278-281, **1986**.

Spivak, M. Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 27: 245-260. **1996**.

Spivak y Downey D.L. Field assays for hygienic behavior in honey bees. *Journal of Economic Entomology* 91(1): 64 – 70, **1998**.

Spivak, M. y Reuter, G.S. Hygienic honey bees and resistance to varroa and brood diseases. *American Bee Journal*, v. 138: 299, **1998**.

Vázquez, M. Miranda, E. Programa de Mejoramiento Genético de la Abeja en Cuba con abejas localmente adaptadas. Proyecto 02-09 Programa Ramal de Desarrollo de la Apicultura en Cuba. **2001**.

Verde, M. Comunicación Personal. **2006**.

Segunda parte

Introducción

Como se había explicado anteriormente son muchos los factores que afectan la expresión del comportamiento higiénico. Se ha planteado que algunos como el estadio de la cría que se emplee para la prueba, el método empleado (pinchado o congelación), el flujo de néctar, la fortaleza de la colmena, entre otros. Como son disímiles, buscamos en este trabajo garantizar la toma en cuenta de la mayor cantidad posible para disminuir el nivel de error a la hora de seleccionar genéticamente una colmena para este carácter.

En las evaluaciones de campo para reconocer las colmenas higiénicas de las no higiénicas, no tiene mucho sentido entrar en controversias de este tipo por el hecho de que solo se está descartando entre colmenas que pueden o no presentar el carácter. Pero a la hora de realizar un programa de mejoramiento genético este punto de vista cambia. Si ya tenemos seleccionadas las colmenas que poseen el carácter y queremos determinar su nivel de expresión real, debemos tratar de disminuir los posibles factores de error que se puedan presentar. Por lo tanto, tomamos como objetivo de este trabajo evaluar algunos factores que pueden influir según la literatura en la expresión de este comportamiento para poder aplicarlo en el programa de mejoramiento genético que se lleva a cabo en nuestro país con datos fidedignos.

Objetivo General

Valorar la influencia de tres factores que intervienen en la expresión del comportamiento higiénico en las colmenas del CIAPI.

Objetivos específicos

1. Valorar la influencia del ambiente que rodeaba el cuadro pinchado en la expresión del CH.
2. Valorar la influencia de la posición dentro de la colmena del cuadro pinchado en la expresión del CH.
3. Valorar la influencia del estadio de la cría pinchada en la expresión del CH.

Materiales y métodos

Los materiales y métodos son los mismos que se emplearon en la primera parte de este experimento. En este caso se midió el comportamiento higiénico teniendo en cuenta:

1. El ambiente que quedaba frente a la cría pinchada (cría abierta, lámina de cera ó cuadro con miel y polen).
2. La ubicación en la colmena del cuadro a evaluar (posición 2, 6 ó 9 de izquierda a derecha).
3. El estadio de la cría pinchada (larva, pupa de ojos blancos ó pupa de ojos rosados).

Las fórmulas empleadas para el CH y para el porcentaje de desoperculación son las mismas del segmento anterior.

El programa estadístico empleado fue el Statgraphics® versión 4.1. Además se empleó el COMPROP para la comparación de proporciones. Los resultados se tabularon y procesaron según los objetivos perseguidos.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos se desglosan en las tablas que se presentan a continuación:

En la **Tabla No.1** se observa el comportamiento teniendo en cuenta el ambiente que rodeaba al cuadro pinchado.

	%D3H	%D24H	%L24H	%D48H	%L48H
Cría Abierta	29,25%	96,84%	77,47%	100,00%	99,21%
Lámina	53,88%	91,26%	78,64%	100,00%	97,57%
Miel y Polen	41,15%	88,52%	72,49%	98,09%	87,56%

%D: % de desoperculadas

%L: % de Limpieza

Sin tener en cuenta el resto de los factores podemos percatarnos que situando el segmento pinchado entre cuadros de cría abierta y lámina se obtiene a las 48 horas un porcentaje muy similar de celdas limpias (**99.21% y 97.57%**) sin diferencias significativas entre ellos, pero si con las situadas entre miel y polen (**87.56%**) con un 95% de confianza (**F= 8.44 *****).

Observando el comportamiento desde el principio, a las 3 horas ya se observaba que las muestras situadas entre láminas y entre cuadros con miel y polen ya tenían un alto reconocimiento de las crías muertas aunque diferían significativamente entre ellas a favor de las láminas. **Spivak and Gilliam, 1998** plantean que en estudios de **Spivak** no publicados demuestran que la edad de las abejas que desoperculan y remueven las crías enfermas se encuentra entre 15 y 17.5 días respectivamente. Este experimento indica que las abejas higiénicas tienen mediana edad, tienen experiencia en el trabajo con la cría pero no necesariamente han comenzado a pecorear y teniendo en cuenta que en esta edad las obreras se encuentran en las labores de construcción de panales podemos explicar el desencadene del mecanismo de reconocimiento en los segmentos situados alrededor de láminas en construcción primero que en el resto.

Si tomamos en consideración la teoría de **Gramacho y Spivak, 2003 y Arathi et al.; 2000** que plantean que son las abejas entre 15 a 21 días de edad las que realizan la labor de reconocimiento y remoción de la cría enferma o muerta, entramos en la contradicción de que según las actividades que realizan las abejas dentro de la colmena teniendo en cuenta su edad, después de los 18 días comienzan las tareas de guardiana, situación que las lleva a no tener prácticamente función en el reconocimiento de las crías.

Sin embargo, como se observa en el resto de los valores posteriores, este comportamiento se homogeniza en los 3 ambientes y no es hasta las 48 horas donde se define una diferencia significativa entre las situadas entre cría abierta y lámina con las situadas alrededor de cuadros con miel y polen. Esto puede explicarse con el hecho que encontró **Rothensbuler et al., 1964** cuando constató que las obreras tardaban el mismo tiempo en remover 2000 larvas muertas que 100, por lo que sugirieron que las abejas que se encuentran patrullando en la colmena son afectadas a la tarea de limpieza cuando se requiere. Teniendo en cuenta que el carácter de remoción se encuentre presente en un porcentaje elevado de la población de la colmena este se desarrollará en mayor o menor medida.

En la **Tabla No. 2** se observa el comportamiento teniendo en cuenta el ambiente que rodeaba al cuadro pinchado.

	%D3H	%D24H	%L24H	%D48H	%L48H
Cuadro 2	39,30%	85,62%	77,96%	97,76%	90,73%
Cuadro 6	29,25%	96,84%	77,47%	100,00%	99,21%
Cuadro 9	51,45%	93,25%	71,06%	99,68%	91,00%

%D: % de desoperculadas

%L: % de Limpieza

Al realizar un análisis de la posición dentro de la colmena nos podemos percatar de las diferencias que se presentan entre las posiciones 2 y 9 con respecto a la posición 6 (**90.73%, 91.00% y 99.21%**

respectivamente). Esto nos da la medida que la posición central en la colmena garantiza un mayor comportamiento higiénico tomado como factor único de experimento.

A pesar de que como se observa, en la posición 6 el reconocimiento de las celdas a las 3 horas fue bajo con respecto a las otras 2 posiciones, después se homogeniza el mismo hasta que a las 48 horas ya se marca la diferencia.

En la **Tabla No.3** se aprecia el comportamiento teniendo en cuenta el estadio de larva pinchada.

	%D3H	%D24H	%L24H	%D48H	%L48H
Larvas	21,66%	96,70%	72,81%	100,00%	91,24%
Pupa ojos blancos	44,40%	97,01%	82,84%	100,00%	98,51%
Pupa ojos rosados	48,72%	84,95%	71,68%	97,96%	90,82%

%D: % de desoperculadas

%L: % de Limpieza

En cuanto al estadio de la cría empleado en el pinchado, nos percatamos que existieron diferencias significativas entre ellos, observándose que el mejor comportamiento se obtuvo cuando se emplearon pupas de ojos blancos con un **98.51%** de limpieza a las 48 horas, difiriendo del observado con las larvas y las pupas de ojos rosados con un **91.24%** y un **90.82%** respectivamente.

Como se observa, desde las 3 horas de pinchadas las crías, el indicador de este carácter se mantuvo como el mas elevado para la pupa de ojos blancos, mostrando un mayor estímulo provocado por este estadio que por las larvas y las pupas de ojos rojos sin tomar en cuenta el resto de los factores. En esto no coincidimos con **Spivak y Downey, 1998** que plantean que las pupas con ojos color rosa a púrpura (3 – 4 días de operculado) es la mejor para evaluar CH.

Como se puede apreciar, los 3 factores tomados en cuenta para el estudio mostraron tener influencia en la expresión del CH de las colmenas estudiadas. Al ser un estudio preliminar nos propone una limitación a la hora de realizar conclusiones definitivas al respecto. Por esta razón nuestro próximo paso será realizar una experiencia a gran escala en el campo.

Conclusiones

En las colmenas seleccionadas del CIAPI los mejores resultados de la expresión de comportamiento higiénico se obtuvieron cuando:

- ✓ Las celdas pinchadas se encontraban alrededor de láminas en construcción y de cría abierta.
- ✓ Las celdas pinchadas se ubicaron en la posición central de la colmena, cuadro No. 6 de las 3 posiciones estudiadas.
- ✓ El estadio de la cría empleado fue el de pupas de ojos blancos.
- ✓ Todos los factores estudiados tuvieron influencia en la expresión del comportamiento higiénico.

Bibliografia

Abdullah, I. and Spivak, M. The relationship between hygienic behaviour and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. *Apidologie* 37 (2006) 31–40. **2006.**

Arathi, H.S.; Burns, I.; Spivak, M. Ethology of hygienic behaviour in the honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera Apidae): Behavioural repertoire of hygienic bees. *Ethology* 106:1-15. **2000.**

Gramacho, K. y Spivak, M. Differences in olfactory sensitivity and behavioral response among bees bred for hygienic behavior. *Behav Ecol Sociobiol* 54: 472- 479. **2003.**

Rothembuhler, W.C. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. I. Responses of four inbred lines to diseased-killed brood. *Anim Behav* 5: 578-583. **1964.**

Spivak y Downey D.L. Fields assays for hygienic behavior in honey bees. *Journal of Economic Entomology* 91(1): 64 – 70, **1998.**

Spivak, M. and Gilliam, M. Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and varroa. *Bee World* 79(3): 124-134. **1998.**

Spivak, M. Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 27: 245-260. **1996.**