



Palabras clave: *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, comportamiento higiénico.

Key words: *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, hygienic behaviour.

Comportamiento higiénico de la abeja *Apis mellifera* en celdas de cría infestadas artificialmente con el ácaro ectoparásito *Varroa destructor* en el sudeste de la Provincia de Buenos Aires, Argentina

Jorge Augusto Marcangeli

Laboratorio de Artrópodos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. Funes 3350 (7600) Mar del Plata, Argentina. E-mail: jamarca@mdp.edu.ar

RESUMEN

Este trabajo tuvo como finalidad evaluar los comportamientos higiénicos de la abeja *Apis mellifera* frente a celdas artificialmente infestadas con el ácaro ectoparásito *Varroa destructor*. El estudio se llevó a cabo en la localidad de Coronel Vidal, Partido de Mar Chiquita. Se trabajó sobre colmenas tipo Langstroth de un híbrido de *Apis mellifera*. Las colmenas se dividieron en dos grupos: higiénicas y no higiénicas. Cada una de ellas fue sometida a 4 tratamientos distintos: a) infestación artificial de celdas con 2 ácaros, b) pinchado de celdas de cría con un alfiler entomológico matando la cría, c) apertura y cierre de las celdas y d) celdas no manipuladas. En todos los casos se cuantificó la tasa de remoción de las celdas tratadas. Los resultados muestran que las colmenas higiénicas respondieron a los tratamientos a y b de manera significativamente superior que las colmenas no higiénicas ($p < 0,05$). También fue observado que la tasa de remoción fue superior aunque no significativa en el tratamiento a. Se rescata la técnica del pinchado como estimador de la capacidad higiénica de las abejas.

ABSTRACT

Hygienic behaviour of honey bee, Apis mellifera, in honey bee brood artificially infested by the mite Varroa Destructor.

In this work hygienic behaviour of honey bee in artificially infested brood was evaluated. The work was carried out at Coronel Vidal city on colonies of hybrid of Apis mellifera hives. Colonies were divided into two groups on the basis of hygienic and non hygienic. Four groups of 30 cells each were treated as follows: a) brood cells artificially infested with two mites, b) brood cell perforation with an entomological needle killing the larvae, c) open and close the cells and d) non manipulated cells. Results showed that removal in groups a and b was significantly higher in hygienic colonies ($p < 0.05$). Removal rates were not significantly higher in treatment a. Pin test method represents a good estimator of hygienic capability of honey bees.



INTRODUCCION

La presencia del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas ha sido durante los últimos 30 años la patología más grave para la apicultura en toda el área de distribución de las razas de abejas Europeas (Calatayud & Verdú, 1995). Este parásito ha causado grandes pérdidas en el número de colonias con registros de 100.000 en Argentina (Dietz, 1986), 300.000 en España (Gomez Pajuelo, 1988) y 2 millones en Polonia (Hartwig, 1994).

Los ácaros afectan tanto a las abejas adultas como a la cría en desarrollo donde lleva a cabo su reproducción. Los parásitos se alimentan de la hemolinfa de las larvas de las abejas ocasionando la aparición de malformaciones en alas y patas (Marcangeli *et al.*, 1992), disminución de la longevidad (De Jong & De Jong, 1983) y transmisión de agentes patógenos (Ball, 1988). La fase forética es variable, durando entre 0 y 14 días (Woyke, 1987). El ciclo continúa cuando las hembras del ácaro abandonan a las abejas adultas y se introducen en las celdas de cría de obreras o zánganos para cumplimentar su fase reproductiva.

Hasta la actualidad, se han desarrollado y empleado muchos tratamientos químicos que han reducido los efectos negativos sobre las abejas, pero que han llevado por un lado a la aparición de residuos en los productos de las colmenas y por el otro al desarrollo de resistencia a los acaricidas por parte del ácaro (Milani, 1999; Wallner, 1999). En la actualidad, se están desarrollando nuevas técnicas de control como aplicación de agentes químicos no contaminantes (Feldlaufer *et al.*, 1997), los medios biotecnológicos (Fries & Hansen, 1993; Calis *et al.*, 1999) y la selección de abejas tolerantes a la enfermedad (Spivak & Gilliam, 1998; Harbo & Harris, 1999). Entre estos últimos, se destaca el comportamiento higiénico de la abeja que consiste en la detección, desoperculado y remoción efectiva de la cría enferma y constituye un mecanismo de resistencia contra el ataque de agentes extraños, ya que minimiza la adaptación de patógenos específicos (Boecking *et al.*, 1992; Boecking & Ritter, 1993; Boecking & Spivak, 1999; Boecking, 1999).

Este tipo de comportamiento es controlado por tres locus independientes (Moritz, 1988) y su expresión es dependiente entre otros factores del ambiente y de la condición de la colonia (Mourer, 1964; Momot & Rothenbuhler, 1971; Moretto *et al.*, 1991). La capacidad higiénica constituye uno de los mecanismos de resistencia hacia las enfermedades de la cría de

las abejas, siendo detectada la resistencia por la remoción de la cría enferma antes de que el patógeno logre afectar el resto de la colmena (Gilliam *et al.*, 1988). En años posteriores, varios autores han considerado que este comportamiento defensivo de las abejas es aplicable a todas las enfermedades dado que adicionalmente fue relacionado con el menor desarrollo del ácaro *Varroa destructor* (Peng *et al.*, 1987a; Moretto *et al.*, *op. cit.*; Boecking & Ritter, *op. cit.*; Marcangeli, 1997). El objetivo de este trabajo es evaluar la efectividad en la capacidad higiénica de las abejas en celdas de cría infestadas artificialmente con el ácaro.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevó a cabo en un apiario localizado en Coronel Vidal, Partido de Mar Chiquita, Provincia de Buenos Aires sobre colmenas tipo Langstroth entre los meses de noviembre de 1998 y marzo de 1999. Se trabajó sobre un híbrido de *Apis mellifera mellifera* y *Apis mellifera ligustica* (De Santis *et al.*, 1983) conocida como "abeja criolla" la cual es la más representativa de la región.

Para este estudio se seleccionaron 10 colmenas divididas en dos grupos iguales: 1 (higiénicas) y 2 (no higiénicas) de acuerdo a un estudio previo (Marcangeli, 1999). Todas estas colmenas presentaban similares cantidades de cría, abejas adultas y reservas de alimento. Tres meses antes de iniciarse el estudio el total de colmenas fueron tratadas con Apistan® para reducir a un mínimo la población de ácaros.

Cada colmena recibió 4 tratamientos a fin de determinar la capacidad de remoción de las crías y ácaros por parte de las abejas adultas en un lapso de 96 horas:

- Infestación artificial con 2 hembras adultas del ácaro *Varroa destructor* extraídas de abejas nodrizas de una misma colmena altamente infestada. Estos ácaros fueron introducidos en las celdas mediante la técnica descrita por De Ruijter (1987) y Boecking & Ritter *op. cit.* que consiste en realizar un pequeño corte en el opérculo para permitir la introducción de los parásitos. Posteriormente la celda se cierra.
- Perforación de los opérculos de las celdas mediante un alfiler entomológico matando las crías en su interior.
- Apertura y cierre de opérculos, sin introducir ácaros.
- Celdas sin manipular.



Para cada tratamiento se seleccionaron un grupo de 30 celdas de cría de obreras de la misma edad (pupa de ojos marrones), las que se marcaron en hojas plásticas transparentes para facilitar su seguimiento. Estos tratamientos se repitieron un total de 10 veces a intervalos de 10 días.

Para los análisis estadísticos se utilizó el test no paramétrico de Wilcoxon de comparación de pares y el test de Friedman (ANOVA) con un nivel de significación de 0,05.

RESULTADOS

Las colmenas pertenecientes al grupo higiénicas respondieron a los tratamientos A y B de manera significativamente superior a las colmenas del grupo no higiénicas ($p < 0,05$; Cuadro 1). En ambos la respuesta fue mayor frente a la presencia de 2 hembras de ácaros en las celdas de cría que al perforado de las celdas, no existiendo diferencias significativas dentro de cada grupo ($p < 0,05$). En todos los casos, los tratamientos A y B difirieron significativamente de los controles C y D ($p < 0,05$). No fueron observadas diferencias significativas entre los tratamientos C y D para ambos grupos.

DISCUSION

Los comportamientos higiénicos constituyen una de las bases para la resistencia natural de la abeja asiática, *Apis cerana*, frente a la presencia del parásito (Peng oet al., 1987 a y b; Rath 1999). Para la abeja europea, *A. mellifera*, también se han registrado estos comportamientos, aunque en menor proporción y no siendo suficientes como para controlar el desarrollo de la enfermedad (Büchler, 1994; Boecking & Spivak *op. cit.*, Marcangeli, 1999).

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la manipulación de las celdas mediante el corte de los opérculos no afecta de manera significativa las actividades de las abejas dentro de los panales de cría. La tasa de remoción de las celdas manipuladas de esta manera (tratamiento C) no difirió significativamente de aquellas no manipuladas (tratamiento D). De esta manera, también se demuestra que la técnica de introducción de los ácaros en las celdas de cría no presenta ninguna influencia sobre el comportamiento higiénico de las abejas.

La infestación artificial de celdas de cría con 2 hembras de ácaro produjo una respuesta significativa

Cuadro 1

Capacidad de remoción de la abeja *Apis mellifera* en colmenas higiénicas y no higiénicas frente a celdas infestadas artificialmente con 2 ácaros (A); pinchado de las celdas con un alfiler entomológico (B); apertura y cierre de las celdas (C) y celdas no manipuladas (D) luego de 96 horas. Letras diferentes expresan diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tratamiento	Celdas removidas en Colmenas higiénicas (% \pm D.S.)	Celdas removidas en Colmenas no higiénicas (% \pm D.S.)
A	70,12 \pm 4,86 a	27,38 \pm 3,87 b
B	62,76 \pm 5,65 a	23,03 \pm 4,53 b
C	1,04 \pm 0,51 c	1,18 \pm 0,47 c
D	0,76 \pm 0,12 c	0,85 \pm 0,21 c



sobre las tasas de remoción de las abejas. Esta fue mayor que la producida por el simple pinchado de las celdas, aunque sus diferencias no resultaron significativas (Cuadro 1). Apparently, las abejas son capaces de reconocer alteraciones en el desarrollo de las crías mediante feromonas emitidas por éstas y captadas por las abejas nodrizas (Trouiller *et al.*, 1991). En caso de detectar problemas, las abejas responden desoperculando las celdas y extrayendo las larvas enfermas o muertas (Spivak & Gilliam, 1998). Las diferencias encontradas con las celdas artificialmente infestadas podrían deberse a que las abejas europeas al igual que la asiática, *A. cerana*, podrían captar la presencia de los ácaros mediante esencias adheridas a ellos que volatilizan a través de los opérculos de las celdas (Rosenkranz *et al.*, 1993). De esta manera, celdas parasitadas con un mayor número de ácaros incrementaría aún más la respuesta de las abejas como fue demostrado en varios trabajos (Boecking & Drescher, 1994; Spivak, 1996). Esta situación aparecería cuando las colmenas presentan tasas de infestación muy elevadas o cuando las hembras de ácaro en el interior de las celdas dejan una gran descendencia. De acuerdo a Spivak & Gilliam (1993) la expresión del comportamiento higiénico es facultativa y depende, entre otros factores, de la fortaleza de las colonias, la proporción de abejas nodrizas dentro de las colmenas, los requerimientos de espacio y la disponibilidad de alimento en el ambiente. En base a los resultados obtenidos en este trabajo y a otro estudio previo (Marcangeli, 2000), la presencia del ácaro sería otro de los factores que influye sobre los comportamientos higiénicos de las abejas. Por otro lado, los resultados obtenidos apoyan la utilización de la técnica de la perforación de las celdas como estimador del grado de manifestación de los comportamientos higiénicos en las colmenas abejas. En las de estudio seleccionadas no se observaron diferencias entre este tratamiento y la infestación artificial de las celdas. Esta técnica constituye una herramienta muy útil y de fácil aplicación para los productores, para poder testear sus colmenas y determinar su condición higiénica tal cual fue sugerido por Spivak & Reuter (1998). La presencia de estos comportamientos en las colmenas resulta beneficioso dado que disminuye el grado de desarrollo de las enfermedades (Marcangeli, 1999). En el caso particular de *V. destructor*, la detección y remoción de los ácaros en el interior de las celdas de cría, corta su ciclo reproductivo llevando a una disminución del desarrollo poblacional en las colmenas. A pesar de esto, es necesario destacar que

estos comportamientos no son totalmente eficaces para controlar la enfermedad, como sucede en su hospedador original la abeja *A. cerana*. Es por esta razón, que las colmenas deben ser tratadas con agentes químicos. Sin embargo, la selección de líneas de abejas con estas características sumado a la aplicación de técnicas biotecnológicas de control, reduciría el impacto de esta enfermedad con la consiguiente mejora del estado sanitario de las colmenas.

AGRADECIMIENTOS

Se contó con el apoyo financiero de la International Foundation for Science de Suecia (IFS Grant B/2355-2F). A los Sres. Damián y Eugenio Ferrara por haber cedido el campo para desarrollar este trabajo.

REFERENCIAS

- Ball, B. 1988. The impact of secondary infections in honeybee colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. In *Africanized Honey Bees and Bee Mites*. Needham, G.; R. E. Page; M. Delfinado Baker; C. E. Bowman Eds. *Ellis Horwood Ltd.*: 457-461.
- Boecking, O. 1999. Sealing up and non removal of diseased and *Varroa jacobsoni* infested drone brood cells is part of the hygienic behaviour in *Apis cerana*. *J. Apic. Res.*, 38: 159-168.
- Boecking, O. & W. Ritter. 1993. Grooming and removal behaviour of *Apis mellifera intermissa* in Tunisia against *Varroa jacobsoni*. *J. Apic. Res.* 32: 127-134.
- Boecking, O. and W. Drescher. 1994. Rating of signals that trigger *Apis mellifera* L. bees to remove mite-infested brood. *Apidologie*, 25: 459-461.
- Boecking, O. and M. Spivak. 1999. Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 30: 141-158.
- Boecking, O.; W. Rath & W. Drescher. 1992. *Apis mellifera* removes *Varroa jacobsoni* Oud. and *Tropilaelaps clareae* Delfinado & Baker from sealed brood in the tropics. *Am. Bee J.* 132: 732-734.
- Büchler, R. 1994. *Varroa* tolerance in honey bees. Occurrence, characters and breeding. *Bee World* 75: 54-70.



- Calatayud, F. & M. Verdú, 1995. Expectativa de vida del ácaro ectoparásito *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata: Varroidae) en colonias de abejas melíferas, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) durante períodos reproductivos. *Invest. Agr. Prod. Sanid. Anim.* 10(2): 153-161.
- Calis, J.; W. Boot and J. Beetsma. 1999. Model evaluation of methods for *Varroa jacobsoni* mite control based on trapping in honey bee brood. *Apidologie* 30: 197-207.
- De Jong, D. & P. De Jong, 1983. Longevity of Africanized honeybees (Hymenoptera: Apidae) infested by *Varroa jacobsoni*. *J. Econ. Entomol.* 76: 766-768.
- De Ruijter, A. 1987. Reproduction of *Varroa jacobsoni* during successive brood cycles of the honeybee. *Apidologie* 18: 321-326.
- De Santis, L.; A. Bolognesi; L. Cornejo; J. Crisci; N. Diaz; A. Lanteri y J. Regalia. 1983. Estudio taxonómico de dos subespecies de *Apis mellifera* (*Apis mellifera mellifera* y *Apis mellifera ligustica* Spinola) en proceso de hibridación, mediante el empleo de técnicas numéricas. *Rev. Museo La Plata*, 13: 45-63.
- Dietz, A. 1986. The geographical distribution and levels of infestation of the mite *Varroa jacobsoni* in honey bee colonies in Argentina. *Am. Bee J.*, 126: 49-51.
- Feldaufer, M.; J. Pettits; J. Kochansky, y H. Shimanuki, 1997. A gel formulation of formic acid for the control of parasitic mites of honey bees. *Am. Bee J.* 137: 661-663.
- Fries, I. and H. Hansen. 1993. Biotechnical control of *Varroa* mites in cold climates. *Am. Bee J.* 133: 435-438.
- Gomez Pajuelo, A. 1989. Situation of the varroosis in Spain and Portugal. Present Status of Varroosis in Europe and Progress in the *Varroa* mite control. In: Cavalloro, R. Ed. *Proc. Meet. EC Experts Group*, Udine, Italy, 41-43.
- Gilliam, M.; S. Taber; B. Lorenz & D. Prest 1988. Factors affecting development of chalkbrood disease in colonies of honey bees, *Apis mellifera*, fed pollen contaminated with *Ascosphaera apis*. *J. Invertebr. Pathol.*, 52: 314-325.
- Harbo, J. and J. Harris. 1999. Heritability in honey bees (Hymenoptera: Apidae) of characteristics associated with resistance to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *J. Econom. Entomol.*, 92: 261-265.
- Hartwig, A. 1994. An epidemic of varroosis in Poland, 1980-1993. In Matheson, A. Eds. *New Perspectives on Varroa*. IBRA, Cardiff, U.K.: 127-128.
- Marcangeli, J. 1997. Relaciones entre el comportamiento higiénico de la abeja *Apis mellifera* y el tamaño poblacional del ácaro *Varroa jacobsoni*. *Natura Neotropicalis* 28: 125-129.
- Marcangeli, J. 1999. Manifestación del comportamiento higiénico de la abeja *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) en un apiario comercial. *Natura Neotropicalis* 30 (1-2): 19-23.
- Marcangeli, J. 2000. Hygienic behaviour of *Apis mellifera* in colonies infested by *Varroa jacobsoni*. *Seventh IBRA Conference on Tropical Bees: Management & Diversity*. Chiang Mai, Thailand.
- Marcangeli, J.; L. Monetti, & N. Fernández. 1992. Malformations produced by *Varroa jacobsoni* on *Apis mellifera* in the province of Buenos Aires, Argentina. *Apidologie*, 23: 399-402.
- Milani, N. 1999. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie*, 30: 229-234.
- Momot, J. & W. Rothenbuehler. 1971. Behaviour genetics of nest cleaning in honeybees. VI. Interactions of age and genotype of bees, and nectar flow. *J. Apic. Res.*, 10 (1): 11-21.
- Moretto, G.; L. Gonçalves & D. De Jong. 1991. Africanized bees are more efficient at removing *Varroa jacobsoni* - preliminary data. *Am. Bee J.*, 131(7): 434.
- Moritz, R. F. A. 1988. A reevaluation of the two-locus model for hygienic behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Heredity* 79 (4): 257-262.
- Mourer, S. L. 1964. Effects of incoming liquid food on the expression of hygienic behavior of honey bees, *Apis mellifera* L. *Tesis de Maestría*; Iowa State University, Ohio, USA.
- Peng, Y.; Y. Fang; S. Xu, & L. Ge, 1987a. The resistance mechanism of the Asian honey bee, *Apis cerana* to an ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni*. *J. Invert. Pathol.*, 49: 54-60.
- Peng, Y.; Y. Fang; S. Ge and M. Nasr. 1987b. Response of foster Asian honey bee (*Apis cerana* Fabr.) colonies to the brood of European honey bee (*Apis mellifera* L.) infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. *J. Invert. Pathol.*, 49: 256-259.
- Rath, W. 1999. Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 30: 97-110.



- Rosenkranz, P.; N. Tewarson; A. Singh and W. Engels. 1993. Differential hygienic behaviour towards *Varroa jacobsoni* in capped worker brood of *Apis cerana* depends on alien scent adhering to the mites. *J. Apic. Res.*, 32: 89-93.
- Rothenbuhler, W.C. 1964. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees: I. Responses of four inbred lines to disease-killed brood. *Anim. Behav.* 12: 578-583.
- Spivak, M. 1996. Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 27: 245-260.
- Spivak, M. and M. Gilliam. 1993. Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. *J. Apic. Res.*, 32: 147-157.
- Spivak, M. and M. Gilliam. 1998. Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood disease and *Varroa*. Part I. Hygienic behaviour and resistance to American foulbrood. *Bee World*, 79: 124-134.
- Spivak, M. and G. Reuter. 1998. Honey bee hygienic behavior. *Am. Bee J.*, 138: 283-286.
- Trouiller, J.; G. Arnold; Y. Le Conte & C. Masson. 1991. Temporal pheromonal and kairomonal secretion in brood of honeybees. *Naturwissenschaften* 78: 368-370.
- Wallner, K. 1999. Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie*, 30: 235-248.
- Woyke, J. 1987. Length of stay of the parasitic mite *Tropilaelaps clareae* outside sealed honeybee brood cells as a basis for its effective control. *J. Apic. Res.*, 26: 104-109.

Recibido/Received: 04 octubre 2000

Aceptado/Accepted: 20 diciembre 2002