

Mejora en la sanidad de la cría en colonias de abejas (*Apis mellifera* L.) seleccionadas por comportamiento higiénico

Invernizzi, C.¹; Rodríguez, J.P.¹

RESUMEN

Las enfermedades infecciosas de la cría, especialmente la Loque Americana, causada por la bacteria *Paenibacillus larvae*, y el ácaro parásito *Varroa destructor*, provocan enormes pérdidas económicas en la producción apícola. El control de la sanidad de las colonias empleando antibióticos y acaricidas ya ha generado numerosos casos de resistencia en los diferentes patógenos. Con el objetivo de aumentar la resistencia de las abejas a las enfermedades de la cría y a la Varroasis se realizó una selección masal de colonias para mejorar el comportamiento higiénico de las abejas (desoperculado de las celdas y posterior remoción de las larvas enfermas o parasitadas). En seis generaciones se incrementó el comportamiento higiénico de las colonias de $77,7 \pm 20,9\%$ a $98,7 \pm 1,7\%$, y se redujo la proporción de colonias con enfermedades de la cría de 50% a 0. Las colonias enfermas presentaron un comportamiento higiénico significativamente menor que las colonias sanas. Respecto a la Varroasis, los resultados encontrados indicarían que el comportamiento higiénico no es un mecanismo de resistencia eficiente para controlar los ácaros. El mejoramiento genético de las abejas constituye una herramienta importante para reducir en el mediano plazo el impacto negativo de las enfermedades de la cría.

Palabras clave: Abejas melíferas, selección, enfermedades, resistencia, comportamiento higiénico

SUMMARY

Brood infectious diseases, specially American foulbrood, caused by the bacterium *Paenibacillus larvae*, and the parasitic mite *Varroa destructor*, are responsible for great economical losses in beekeeping industry. Control of sanity of colonies using antibiotics and acaricides, have given rise to numerous cases of pathogen resistance. With the aim of increasing bee resistance to brood diseases and varroa, we performed a mass selection of colonies, to improve bee hygienic behaviour (cells uncapping and ulterior removing of diseased or parasited larvae). After six generations, colony hygienic behaviour increased from $77.7 \pm 20.9\%$ to $98.7 \pm 1.7\%$, and proportion of colonies with brood diseases reduced from 50% to 0. Diseased colonies presented significantly less hygienic behaviour than the healthy ones. Regarding varroa infestation, our results indicate that hygienic behaviour is not an efficient resistance mechanism to control mites.

Honey bees genetic improvement is an important tool to reduce the negative impact of brood diseases in the short term.

Key words: Honey bees, selection, diseases, resistance, hygienic behavior.

INTRODUCCIÓN

Los problemas sanitarios de las abejas melíferas causan pérdidas económicas millonarias en la industria apícola en todo el mundo, principalmente en aquellos países con apiculturas desarrolladas como es el caso de Uruguay. Las enfermedades infecciosas de la cría son las más perjudiciales, destacándose la Loque Americana y la Loque Europea, causadas por las bacterias *Paenibacillus larvae* y *Melissococcus pluton*, respectivamente, la Ascospferiosis, debida al hongo *Ascosphaera apis* y la enfermedad vírica Cría Ensacada. Entre las plagas, el ácaro ectoparásito *Varroa destructor*, que se reproduce en las celdas con cría, causa daños letales en las colonias, tanto por su acción directa o como vector de

virus u otros microorganismos (2, 22, 29).

La estrategia generalizada seguida por los apicultores para controlar la sanidad de las colonias es el empleo, cada vez con mayor frecuencia, de diferentes antibióticos y acaricidas. Sin embargo, la utilización masiva de medicamentos trae aparejados dos riesgos importantes. Por un lado, aumenta la probabilidad de obtener variantes resistentes de patógenos, lo que demandaría un incremento de las dosis de medicamentos o su sustitución por formulaciones nuevas. En este sentido, se ha demostrado la resistencia de *P. larvae* a la oxitetraciclina (1, 19) y de *V. destructor* a fluvalinato, amitraz y cumafós (7, 8, 17, 35). Por otro lado, la presencia de residuos de medicamentos

en las mieles, fundamentalmente cuando se trata de sustancias prohibidas, dificulta la colocación de éstas en la mayoría de los mercados compradores.

Ante esta perspectiva, en muchos países se han desarrollado programas de mejoramiento genético de abejas con la finalidad de aumentar la resistencia a las enfermedades, de modo de reducir el empleo de tratamientos químicos, e incluso prescindir de ellos. Para ello, además de determinar la presencia de los síntomas de las enfermedades de la cría más comunes y el grado de infestación de *V. destructor*, se suele evaluar la expresión de algunos mecanismos de resistencia a patógenos y parásitos. El más estudiado es el "comportamiento higiénico" de las abejas, término que describe el proceso

¹Sección Etología, Facultad de Ciencias, Iguá 4225, CP 11400, Montevideo, Uruguay. E-mail: ciro@fcien.edu.uy.

Recibido: 3/4/07 Aprobado: 8/10/07

por el cual las abejas desoperculan las celdas que contienen crías muertas y, posteriormente, remueven estas crías (27, 28). Se asume que las abejas que detectan rápidamente la muerte de larvas y pupas enfermas o parasitadas y las retiran de las celdas pueden eliminar del nido diferentes patógenos antes de que se propaguen, por ejemplo formando esporas como lo hace *P. larvae* y *A. apis*, o interrumpir la reproducción de *V. destructor*. Trabajos pioneros realizados hace varias décadas mostraron que las colonias higiénicas controlan en buena medida a la Loque Americana (20, 27, 28, 36, 37, 38). Estos resultados fueron confirmados posteriormente por Spivak y Reuter (33). Respecto a la Ascosporeosis, la mayoría de los resultados obtenidos han sido alentadores, encontrándose que las colonias higiénicas reducen o eliminan los síntomas de la enfermedad luego de contaminar la colonia con *A. apis* (9, 10, 12, 14, 15, 18, 31, 32). La posibilidad de controlar al ácaro *V. destructor* empleando colonias higiénicas es respaldada por las investigaciones de Boecking & Drescher (3) y Spivak (30). Estos investigadores encontraron que, luego de introducir artificialmente ácaros en las celdas con cría, las colonias higiénicas limpiaban las celdas interrumpiendo el ciclo de cría en mayor proporción que las poco higiénicas, impidiendo de este modo la reproducción del parásito. Marcangeli (16) estudiando la población de *V. destructor* en colonias naturalmente infestadas, también encontró que las colonias más higiénicas se hallaban menos infestadas. Sin embargo, la eficiencia del comportamiento higiénico de las abejas como mecanismo de resistencia a *V. destructor* está muy relativizada al identificarse otros mecanismos como la duración del período de operculado de las celdas, el *grooming* de las abejas, la supresión de la reproducción de los ácaros, la atractividad de la cría, el tamaño de las celdas y la edad de los panales con cría (5, 11, 21, 24, 25, 21). En el año 2001 se inició en Uruguay un programa de mejoramiento genético de abejas de pequeña escala con el objetivo de proveer a un grupo organizado de apicultores colonias que controlaran mejor las enfermedades de la cría, especialmente la Loque Americana. Esta enfermedad

venía causando enormes pérdidas de colonias desde su aparición en el país en el año 1998. Como objetivo secundario se buscó disminuir la presencia de *V. destructor* en las colonias. En este trabajo se presentan los resultados sanitarios obtenidos en seis años de selección.

MATERIALES Y MÉTODOS

El programa de mejoramiento genético se realizó con abejas europeas *Apis mellifera mellifera*, que son las que prevalecen en Uruguay, hibridadas en distinto grado con abejas africanas *A. mellifera scutellata* (4, 6).

El apiario de selección estaba ubicado en una zona de alta densidad de colmenas próximo a la ciudad de San José y no existían barreras físicas que limitaran el libre cruzamiento de las reinas con zánganos provenientes de otros apiarios. El trabajo comenzó en la primavera del año 2001 con 40 colonias sin selección previa. En los siguientes cinco años el apiario inició la invernada con 40-60 colonias. En cada año la evaluación de las colonias se realizó durante los meses de otoño, invierno y primavera, mientras que durante el verano se multiplicaron las reinas de las colonias seleccionadas para reemplazar a las de la generación anterior.

La detección de colonias con buena resistencia a las enfermedades de la cría se basó en la inspección sanitaria rutinaria de la cría y en la evaluación del comportamiento higiénico de las colonias. Para considerar que una colonia estaba enferma era suficiente con que presentara una sola larva con síntomas clínicos claros en al menos una inspección, sin tomar en cuenta que en las demás inspecciones la colonia no mostrase síntomas. El comportamiento higiénico de las colonias se evaluó en los meses de noviembre o diciembre, cuando normalmente la población de abejas adultas cubría toda la cámara de cría. Para ello se escogía un panal conteniendo cría recién operculada y se mataban aproximadamente 130 prepupas pinchándolas con un alfiler entomológico a través del opérculo. El panal se colocaba en el centro de la cámara de cría y 24 horas después se retiraba para contar el número de celdas desoperculadas por las abejas (13). La proporción de celdas experimentales desoperculadas

se expresó como Tasa de Desoperculado (TD%).

La infestación de *V. destructor*, medida como la proporción de ácaros foréticos en abejas adultas, se determinó en la primavera del año 2001 y en invierno y primavera de los años 2002, 2003 y 2004. En los años 2005 y 2006 las colonias fueron tratadas con acaricidas en otoño para evitar excesivas pérdidas invernales.

La evaluación de las colonias se completó atendiendo parámetros poblacionales y productivos, así como la expresión de comportamientos indeseables como la agresividad y la tendencia a enjambrar.

Se aplicó un método de selección masal evaluando cada característica separadamente. Se eligieron como madres únicamente aquellas colonias que superaron los valores mínimos exigidos para cada característica (Independent Culling Selection) (26). Desde el punto de vista sanitario los criterios excluyentes fueron la presencia de alguna enfermedad, TD menores a 95% (90% solo en el año 2001) e infestaciones de varroas mayores al 10% en invierno y 3% al final de la primavera.

RESULTADOS

El número de colonias que llegaron a la primavera superando la invernada en las seis generaciones evaluadas, y que posteriormente no recambiaron su reina o enjambieron, fue de 28 (2001), 27 (2002), 29 (2003), 24 (2004), 42 (2005) y 47 (2006) y son las consideradas en la presentación de los resultados.

El comportamiento higiénico de las colonias presentó un aumento importante en la primera generación de colonias seleccionadas pasando de una TD de $77,7 \pm 20,9\%$ a $92,8 \pm 17,0\%$. En las siguientes cuatro generaciones este valor fue aumentando levemente y disminuyendo la variabilidad entre colonias. En la última generación evaluada prácticamente todas las colonias manifestaron un elevado comportamiento higiénico (TD = $98,7 \pm 1,7\%$) (figura 1).

La proporción de colonias con enfermedades en la cría disminuyó marcadamente entre la primera y la segunda generación evaluada (de 50 a 14,8 %), en las

tres siguientes se mantuvo por debajo del 10 % y en la última no se detectaron colonias enfermas en el apiario (figura 2).

Considerando la totalidad de colonias evaluadas en las seis generaciones se encontró que el comportamiento higiénico de las colonias que presentaron alguna enfermedad en la cría fue significativamente menor que el de las colonias sanas (test de Mann Whitney; $P < 0,001$) (figura 3).

Las diferentes enfermedades de la cría aparecieron con frecuencias diferentes en los seis años (Cuadro 1). Se destaca la Loque Europea que estuvo presente en los primeros cinco años, mientras que la Ascosteriosis solo apareció en los dos primeros y la Cría Ensacada en el cuarto y quinto año. En 8 colonias se encontraron síntomas claros de dos enfermedades simultáneamente: cinco con Loque Europea y Ascosteriosis y tres con Loque Europea y Cría Ensacada.

Respecto a la Varroasis es difícil analizar si la capacidad de limpieza de las colonias se relaciona con el grado de infestación porque, con la excepción del primer año, la enorme mayoría de las colonias presentaron poca variabilidad, con TD mayores a 90%. En estas colonias higiénicas la presencia de *V. destructor*, tanto en invierno como en primavera, presentó diferencias importantes. De todos modos, el nivel de infestación de las colonias de la primera generación en

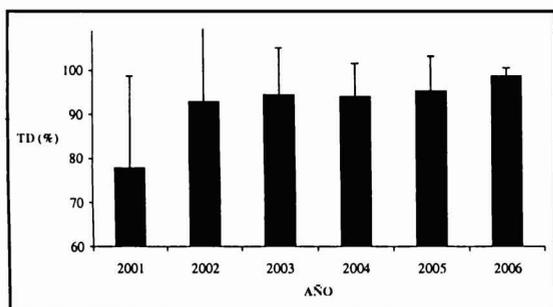


Figura 1. Comportamiento higiénico de las colonias del Apiario de Selección en las seis generaciones evaluadas.

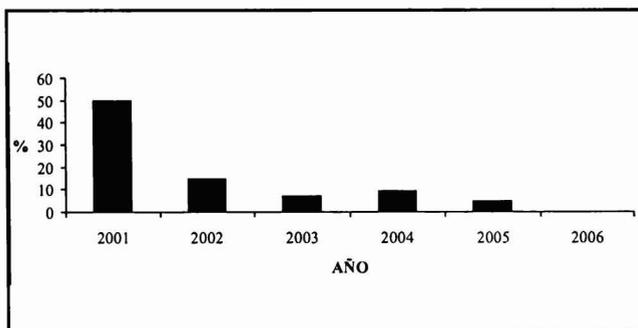


Figura 2. Proporción de colonias enfermas en el Apiario de Selección en las seis generaciones evaluadas.

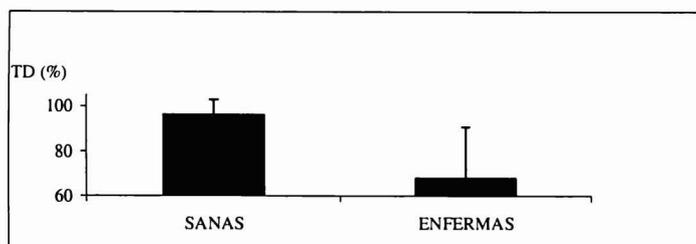


Figura 3. Comportamiento higiénico de colonias sanas y enfermas del Apiario de Selección.



Cuadro 1. Enfermedades de la cría presentes en las colonias del Apiario de Selección en las seis generaciones evaluadas.

Generación	ENFERMEDADES DE LA CRÍA				Total casos	Total colonias
	LA	LE	CE	CY		
2001	1	12	0	5	18	14
2002	0	3	0	2	5	4
2003	1	1	0	0	2	2
2004	0	2	3	0	5	3
2005	0	1	2	0	3	2
2006	0	0	0	0	0	0
Total	2	19	5	7	33	25

LA = Loque Americana; LE = Loque Europea; CE = Cría Ensacada; CY = Cría Yesificada

primavera (no se registró en invierno), donde las colonias expresaron una amplia gama de respuestas higiénicas, se presentó moderadamente asociado al comportamiento higiénico ($r = -0,31$; $n = 28$; $P < 0,05$).

DISCUSION

Los patógenos y parásitos que atacan a las abejas melíferas prácticamente no pueden ser erradicados de los países una vez que aparecen, determinando que actualmente éstos se encuentren ampliamente distribuidos en todas las regiones con actividad apícola desarrollada. Es así que la búsqueda de abejas con mayor grado de resistencia sanitaria es un objetivo prioritario en muchos países del mundo para paliar los perjuicios económicos causados por las enfermedades y parasitosis sin necesidad de recurrir al empleo excesivo de medicamentos.

Los resultados obtenidos en seis años de mejoramiento genético demuestran que se puede conseguir una reducción drástica de las enfermedades de la cría en poco tiempo aplicando solamente un programa de pequeña escala de selección masal en un sistema abierto. Las enfermedades de la cría que se presentaron en el apiario fueron la Loque Europea, Loque Americana, Cría Yesificada y Cría Ensacada, las que frecuentemente se encuentran en los apiarios de producción, siendo la Loque Europea la más persistente.

La mejora encontrada aparece muy asociada al incremento rápido del comportamiento higiénico de las colonias; este componente de resistencia resultó ser muy importante para controlar las cuatro enfermedades de la cría detectadas en el apiario. También en Argentina habían obtenido una mejora sustancial en la sanidad de la cría seleccionando abejas higiénicas. (23).

Sin embargo, respecto a la Varroasis los resultados no son tan claros. Aunque en la primavera del primer año de evaluación la infestación de las colonias aparece asociada al comportamiento higiénico, en los siguientes tres años que permanecieron sin curar las colonias presentaron cargas parasitarias muy diferentes pese a ser todas muy higiénicas. Spivak y Reuter (34) encontraron que las colonias higiénicas se defienden activamente de *V. destructor* si el nivel de infestación es bajo, pero si supera el 15% las colonias requieren tratamiento para evitar que colapsen. La expresión de otros mecanismos de resistencia podría explicar los diferentes grados de Varroasis registrados en las colonias del apiario de selección. En este sentido, se estudiaron diferentes mecanismos de resistencia a *V. destructor* hallando que un aspecto de la reproducción del ácaro (número de hembras adultas apareadas producidas por cada varroa madre) y la proporción de ácaros mutilados (consecuencia del comportamiento de *grooming*) eran los más

efectivos, explicando el 97% de la variación de varroas entre las colonias (21). Estos dos mecanismos de resistencia específicos deberían contemplarse si se busca mejorar la resistencia de las abejas a *V. destructor*.

El hecho de que se haya trabajado con las abejas híbridas locales, a partir de un apiario constituido por colonias sin selección previa (la mitad estaban enfermas), indica que las abejas en Uruguay cuentan con mecanismos de resistencia importantes, entre ellos el comportamiento higiénico, que pueden incrementarse por selección. De este modo, no sería necesario introducir otras razas o ecotipos de abejas para conseguir mejor tolerancia a las enfermedades, evitando así los riesgos de introducir al país nuevas enfermedades, susceptibilidades genéticas o comportamientos indeseables.

La multiplicación de esta experiencia de mejoramiento genético, fundamentalmente entre los criadores de reinas profesionales, puede constituir una forma sencilla y viable para la apicultura uruguaya de mitigar en el mediano plazo el impacto negativo de las enfermedades de la cría.

Agradecimientos

El proyecto fue parcialmente financiado por el Programa de Reconversión y Desarrollo de la Granja (PREDEG-MGAP).

Referencias bibliográficas

1. Alippi, A. M. (1996). Caracterización de aislamientos de *Paenibacillus larvae* mediante tipo biológico y resistencia a oxitetraciclina. Revista Argentina de Microbiología 28: 197-203.
2. Bailey, L.; Ball, B. V. (1991). Honey bee pathology. Academic Press, London, 193 pp.
3. Boecking, O.; Drescher, W. (1992). The removal response of *Apis mellifera* L. colonies to brood in wax and plastic cells after artificial and natural infestation with *Varroa jacobsoni* Oud. and to freeze killed brood. Experimental and Applied Acarology 16: 321-329.
4. Burgett, M.; Shorney, S.; Cordara, J.; Gardiol, G.; Sheppard, W. S. (1995). The present status of Africanized honey bees in Uruguay. American Bee Journal 135: 328-330.
5. Büchler, R. (1994). Varroa tolerance in honey bees – occurrence, characters and breeding. Bee World 75: 54-70.
6. Diniz, N. M.; Soares, A. E. G.; Sheppard, W. S.; Del Lama, M. A. (2003). Genetic structure of honeybee populations from southern Brazil and Uruguay. Genetics and Molecular Research 26: 47-52.
7. Elzen, P. J.; Baxter, J. R.; Spivak, M.; Wilson, W. T. (2000). Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using cumaphos. Apidologie 31: 437-441.
8. Faucon, J. P.; Drajnudel, P.; Fleche, C. (1995). Mise en évidence d'une diminution de l'efficacité de l'Apistan utilisé contre la Varroose de l'abeille (*Apis mellifera* L.). Apidologie 26: 291-296.
9. Gilliam, M.; Taber, S. III; Richardson, G. V. (1983). Hygienic behavior of honey bees in relation to chalkbrood disease. Apidologie 14: 29-39.
10. Gilliam, M.; Taber, S. III; Lorenz, B.; Prest, D. B. (1988). Factors affecting development of chalkbrood disease in colonies of honey bees, *Apis*

- mellifera*, fed pollen contaminated with *Ascosphaera apis*. Journal of Invertebrate Pathology 52: 314-325.
11. Harbo, J. R.; Harris, J. W. (1999). Heritability in honey bees (Hymenoptera: Apidae) of characteristics associated with resistance to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). Journal of Economic Entomology 92: 261-265.
 12. Holm, S. N. (1986). Breeding honeybees for resistance to chalkbrood disease. Proceedings of the XXXth International Congress of Apiculture, Nagoya, Japón, pp. 100-102.
 13. Invernizzi, C. (2000). Importancia de las etapas de desoperculado y remoción dentro del comportamiento higiénico y su relación con la remoción de larvas vivas en las abejas *Apis mellifera*. Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay 12: 22-31.
 14. Invernizzi, C. (2001). Resistencia a la enfermedad de Cría Yesificada por colonias de *Apis mellifera* con eficiente comportamiento higiénico (Hymenoptera, Apidae). Iheringia, Série Zoologia 91: 109-114.
 15. Invernizzi, C. (2006). Resistencia comportamental y fisiológica de las abejas *Apis mellifera* a la Cría Yesificada. Tesis de Doctorado. Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay.
 16. Marcangeli, J. A. (1997). Relación entre el comportamiento higiénico de la abeja *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) y el tamaño poblacional del ácaro *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). Natura Neotropicalis 28: 125-129.
 17. Milani, N. (1999). The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. Apidologie 30: 229-234.
 18. Milne, C. P. (1983) Honey bee (Hymenoptera: Apidae) hygienic behavior and resistance to chalkbrood. Annals of the Entomological Society of America 76: 384-387.
 19. Miyagi, T.; Peng, C. Y. S.; Chuang, R. Y.; Mussen, E. C.; Spivak, M. S.; Doi, R. H. (2000). Verification of oxytetracycline-resistant American foulbrood pathogen *Paenibacillus larvae* in the United States. Journal of Invertebrate Pathology 75: 95-96.
 20. Momot, J. P.; Rothenbuhler, W. C. (1971). Behavior genetics of nest cleaning in honey bees. VI. Interactions of age and genotype of bees, and nectar flow. Journal of Apicultural Research 10: 11-21.
 21. Mondragón, L.; Spivak, M.; Vandame, R. (2005). A multifactorial study of the resistance of honeybees *Apis mellifera* to the mite *Varroa destructor* over one year in Mexico. Apidologie 36: 345-358.
 22. Morse, R. A.; Flottum, K. (1997). Honey bee pests, predators, & diseases. 3rd. ed. A. I. Root Company, Medina, Ohio, 718 pp.
 23. Palacio, M. A.; Figini, E. E.; Ruffinengo, S. R.; Rodríguez, E. M.; Del Hoyo, M. L. (2000). Changes in a population of *Apis mellifera* L. Selected for hygienic behaviour and its relation to brood disease tolerance. Apidologie 31: 471-478.
 24. Piccirillo, G. A.; De Jong, D. (2003). The influence of brood comb cell size in the reproductive behavior of the ectoparasite mite *Varroa destructor* in Africanized honey bee colonies. Genetics and Molecular Research 2: 36-42.
 25. Piccirillo, G. A.; De Jong, D. (2004). Old honey bee brood combs are more infested by the mite *Varroa destructor* than are new brood combs. Apidologie 35: 359-364.
 26. Rinderer, T. E. (1986) Selection. En: Rinderer, T. E. (ed). Bee Genetics and Breeding. Academic Press, Orlando, Florida, 426 pp.
 27. Rothenbuhler, W. C. (1964a). Behavior genetics of nest cleaning in honey bees. I. Responses of four inbred lines to disease-killed brood. Animal Behaviour 12: 578-583.
 28. Rothenbuhler, W. C. (1964b). Behavior genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F1 and backcross generations to disease killed-brood. American Zoologist 4: 111-123.
 29. Shimanuki, H.; Knox, D. A.; Furgala, B.; Caron D. M.; Williams, J. L. (1992). Diseases and pest of honey bees. En: Graham, J. M. (ed). The hive and the honey bee. Dadant & Sons, Hamilton, Illinois, pp. 1083-1151.
 30. Spivak, M. (1996). Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. Apidologie 27: 245-260.
 31. Spivak, M.; Gilliam, M. (1993). Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. Journal of Apicultural Research 32: 147-157.
 32. Spivak, M.; Reuter, G. S. (1998). Performance of hygienic behavior in a commercial apiary. Apidologie 29: 291-232.
 33. Spivak, M.; Reuter, G. S. (2001). Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. Apidologie 32: 555-565.
 34. Spivak, M.; Reuter, G. S. (2001). *Varroa destructor* infestation in untreated honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies selected for hygienic behavior. Journal of Economic Entomology 94: 326-331.
 35. Spreafico, M.; Eördedgh, F. R.; Bernardinelli, I.; Colombo, M. (2001). First detection of strains of *Varroa destructor* resistant to coumaphos. Results of laboratory tests and field trials. Apidologie 32: 49-55.
 36. Thompson, V. C. (1964). Behavior genetics of nest cleaning in honey bees. III. Effect of age of bees of a resistant line on their response to disease killed brood. Journal of Apicultural Research 3: 25-30.
 37. Woodrow, A W; Holst, E. C. (1942). The mechanism of colony resistance to American foulbrood. Journal of Economic Entomology 35: 327-330.
 38. Woodrow, A. W.; States, H. J. Jr. (1943). Removal of disease brood in colonies infected with AFB. American Bee Journal 83: 22-23.

