

## **Comportamiento higiénico de las abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) en apiarios del estado Lara, Venezuela**

Judith Principal<sup>1</sup>, Ramón D' Aubeterre<sup>2</sup>, Carlos J. Barrios<sup>1</sup>, Spiridione Puzzar<sup>3</sup>, Susana B. García de la Rosa<sup>4</sup> y Sandra R. Fuselli<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup> Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Decanato de Ciencias Veterinarias. Estación de Apicultura. Tarabana, Lara. Venezuela.

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Lara. Carretera Barquisimeto-Duaca. Km 7. Sector El Cují, Lara. Venezuela.

<sup>3</sup> UCLA, Dep.. Ciencias Sociales y Económicas. Bioestadística. Decanato de Ciencias Veterinarias. Tarabana, Lara. Venezuela.

<sup>4</sup> Universidad Nacional de Mar del Plata, Fac. Ciencias Exactas y Naturales, Mar del Plata, Argentina.

<sup>5</sup> Comisión de Investigaciones Científicas, La Plata, Argentina.

---

### **RESUMEN**

Se evaluó el comportamiento higiénico de las abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) en apiarios de tres localidades diferentes del estado Lara, Venezuela. Se seleccionaron al azar 82 colonias de abejas en similares condiciones de manejo. Se evaluó el comportamiento higiénico en cada colonia de abejas mediante la técnica de muerte de la cría por congelación utilizando una escala arbitraria especialmente establecida para esta subespecie. La mayor tasa de remoción de pupas muertas fue obtenida en la localidad El Corozo con valores superiores a 95%. La manifestación del comportamiento higiénico presentó una asociación baja con respecto a la localidad y no guarda relación con el grado de africanización de las colonias estudiadas. Se concluye que el comportamiento higiénico presentó gran variación en el grado de manifestación en las colonias de abejas africanizadas, observándose 17, 24 y 59% de colonias con patrón de comportamiento higiénico leve, moderado y alto, respectivamente.

*Palabras clave:* Comportamiento higiénico, abeja melífera, *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, pupas muertas.

---

### **Hygienic behavior of Africanized honeybees (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) in apiaries of Lara state, Venezuela**

### **ABSTRACT**

The hygienic behavior of Africanized honeybees (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) was evaluated in apiaries of three localities of Lara state, Venezuela. Eighty two honeybee colonies in similar management conditions were selected. Hygienic behavior was evaluated using the freezing dead pupae technique with an arbitrary scale specially established for this subspecies. The highest removing of dead pupae was registered in El Corozo locality, with values higher than 95%. The hygienic behavior had a great variation in the Africanized honeybee colonies considered, as 17, 24, and 59% of the honeybee colonies had a low, moderate, and high hygienic behavior, respectively.

**Keywords:** Hygienic behavior, honeybees, *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, dead pupae.

## INTRODUCCIÓN

El comportamiento higiénico de la abeja melífera *Apis mellifera* L. se puede definir como la habilidad que tienen las obreras para detectar, desopercular y remover las crías enfermas desde la cámara de cría hacia el exterior de la colonia. Este comportamiento es considerado como un mecanismo primario de resistencia de estos insectos ante ciertas enfermedades de origen bacteriano de la larva y de la pupa, como Loque Americana causada por *Paenibacillus larvae* (Rothenbuhler, 1964), de origen fungoso, como la ascosferosis producida por *Ascosphaera apis* (Gilliam *et al.*, 1983) o de origen parasitario como es el caso de *Varroa destructor* (Rath y Drescher, 1990; Guerra *et al.*, 2000).

Estudios realizados por Rothenbuhler (1964) demostraron que el comportamiento higiénico de las abejas es controlado por dos genes recesivos independientes: uno responsable de desopercular la cría enferma y el otro responsable de remover la cría enferma fuera del nido de cría. Otros estudios postularon que la determinación genética del comportamiento higiénico podría estar controlada por tres loci (Moritz, 1988) No obstante, estudios recientes han demostrado que el comportamiento higiénico está regulado por siete loci diferentes (Lapidge *et al.*, 2002). Por otra parte, se ha determinado que las abejas higiénicas poseen una mayor sensibilidad olfatoria y son capaces de discriminar entre las crías normales y anormales a una baja intensidad del estímulo, detectando y removiendo las crías enfermas, muertas o parasitadas de una manera rápida y eficiente (Gramacho y Spivak, 2003).

El comportamiento higiénico en las abejas melíferas es influenciado por diversos factores que inciden en la manifestación de esta característica en de la colonia. En ciertas épocas del calendario apícola se observa una mayor manifestación de este comportamiento; especialmente, cuando las abejas están colectando grandes cantidades de néctar en campo. Algunos factores como la fortaleza y desarrollo de la colonia, composición de la población de obreras y estado sanitario, entre otros, pueden también influenciar la manifestación de este comportamiento en mayor o menor grado. En estos casos, se ha postulado que las abejas higiénicas pueden intercambiar la actividad de acopio de néctar con el comportamiento higiénico de

acuerdo a las necesidades de la colonia (Thompson, 1964; Momot y Rothenbuhler, 1971).

La resistencia natural observada en las abejas africanizadas para controlar a *Varroa destructor* y su relación con el comportamiento higiénico ha sido bien documentada en Brasil (Guerra *et al.* 2000; Aumeier *et al.*, 2000; Correa-Marques *et al.*, 2002; Moretto *et al.*, 2006) demostrando que estas abejas remueven de manera significativa mayor proporción de los ácaros de la cría parasitada, exhibiendo mayor tolerancia a la varroosis en las colonias. Por el contrario, en Venezuela donde la población apícola está conformada en su mayoría por híbridos de abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) este comportamiento higiénico en las abejas ha sido poco estudiado.

Por lo antes expuesto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento higiénico de las abejas africanizadas (*A. m. scutellata* Lepeletier) en apiarios del estado Lara, Venezuela, y determinar si existe alguna correlación entre la localidad y el grado de africanización con respecto a la manifestación del comportamiento higiénico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en apiarios ubicados en tres localidades de los municipios Palavecino, Simón Planas e Iribarren del estado Lara, Venezuela. Los apiarios pertenecen a apicultores comerciales y a la Estación de Apicultura del Decanato de Ciencias Veterinarias de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Los apiarios están conformados por colonias de abejas africanizadas a las cuales no se les había cambiado las reinas en los últimos cinco años y fueron seleccionados para formar parte del estudio mediante un muestreo de tipo intencional no probabilístico (Bravo y Paparella, 1992). Se hicieron dos determinaciones consecutivas en cada colmena siguiendo la metodología de Spivak (1996), a un total de 82 colonias de abejas africanizadas que cumplían con los requisitos antes señalados. Dichas colonias fueron mantenidas en colmenas tipo Langstroth, compuesta por una cámara de cría que aloja en su interior diez panales cubiertos de abejas, con un promedio de siete cuadros de cría, similares condiciones de manejo biotécnico y suficiente reservas alimenticias. Todas las colonias utilizadas fueron de la subespecie *A. m. scutellata* Lepeletier,

a las cuales no se les había cambiado la reina en los últimos cinco años, lo cual indicaría alta frecuencia de genes africanizados en la población bajo estudio.

La técnica utilizada para este estudio se conoce como técnica de muerte de la cría por congelación (Taber, 1982) mediante la cual se procedió a recortar de las colonias donadoras una sección de panal de 5 x 6 cm con cría operculada, en cuya superficie se alojaban entre 100 y 200 pupas jóvenes. Las secciones de panal de cría fueron introducidas en bolsas plásticas identificadas y transportadas en cavas refrigeradas hasta el Laboratorio de la Estación de Apicultura de la UCLA, donde se determinó el número de celdas operculadas en cada sección de panal. Posteriormente, con el objeto de producir la muerte de las pupas, cada sección fue sometida a congelación por 24 h en un congelador a  $-4^{\circ}\text{C}$ . Estas secciones de panales congeladas fueron insertadas y dejadas por 48 h dentro de la cámara de cría de las colonias cuyo comportamiento higiénico se iba a evaluar. Al finalizar este período, a fin de calcular la tasa de remoción de pupas muertas, se registró el número de pupas desoperculadas y completamente removidas por las abejas obreras en cada sección del panal insertado en la colonia evaluada.

Como un indicador indirecto del grado de africanización en las colonias seleccionadas, le fue asignado un puntaje arbitrario fijado por dos evaluadores expertos de acuerdo a la manifestación de la conducta defensiva de las abejas obreras al ser manipuladas, como se expresa a continuación: 1 poco agresiva, 2 agresiva y 3 muy agresiva.

El criterio para la interpretación del comportamiento higiénico se realizó siguiendo la metodología de Spivak (1996). Las colonias cuyas abejas obreras detectaron, desoperularon y removieron más del 95% de la cría congelada en 48 h en dos ensayos consecutivos fueron consideradas altamente higiénicas (AH), aquellas colonias cuyas abejas removieron entre 75 y 95% de la cría congelada fueron consideradas moderadamente higiénicas (MH) y las colonias cuyas obreras removieron la cría congelada con una tasa menor al 75% fueron consideradas levemente higiénicas (LH).

En virtud de que las variables bajo estudio (localidad, grado de africanización y tasa de remoción) son medidas en escala de tipo nominal y ordinal, se analizaron los datos colectados mediante pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y correlación de

Spearman (asumiendo la significancia al 0,01) (SAS, 1999), para determinar si existe alguna asociación entre la expresión del grado de remoción de pupas y las localidades estudiadas, tomando en cuenta el grado de africanización estimado a través del comportamiento defensivo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 (a) y (b) se ilustran las celdas de cría desoperculadas y removidas por las abejas en una de las colonias evaluadas como una manifestación del comportamiento higiénico.

El comportamiento higiénico de las colonias de abejas, agrupadas de acuerdo a su grado de africanización para las tres localidades estudiadas se presenta en la Figura 2. En la localidad El Corozo se observan los mayores valores en la tasa de remoción de pupas congeladas (mayor a 95%,  $P < 0,0001$ ), lo que evidencia una alta expresión del comportamiento higiénico en las colonias estudiadas, la cual es independiente del grado de africanización ( $Rho = 0,11$ ;  $P > 0,01$ ), por lo que al parecer, las variables indicadoras del comportamiento defensivo no están asociadas con el comportamiento higiénico.

Es importante señalar que en la localidad Gamelotal se observaron colonias muy agresivas que presentaron la más baja tasa de remoción de pupas muertas, mientras que en la localidad Tarabana se observaron colonias poco agresivas con una moderada tasa de remoción de pupas muertas, sugiriendo que la expresión del comportamiento higiénico no guarda relación con el grado de africanización de las colonias estudiadas. No obstante, esta característica puede considerarse subestimada, ya que el criterio tomado en cuenta para evaluar el grado de africanización, fue estimado indirectamente a través de la manifestación de la conducta defensiva manifestada por las abejas y no en base a un análisis morfométrico o molecular de las obreras en las colonias de abejas bajo estudio.

El comportamiento higiénico involucra el reconocimiento y la remoción de la cría enferma por parte de las abejas obreras. Estudios recientes han demostrado que las obreras higiénicas remueven la cría enferma de la colonia antes que el patógeno pueda ser infeccioso, de tal manera que sólo las abejas que son altamente higiénicas realizan esta tarea de una forma rápida y eficiente con el fin de limitar el brote de la enfermedad, mientras que las obreras no

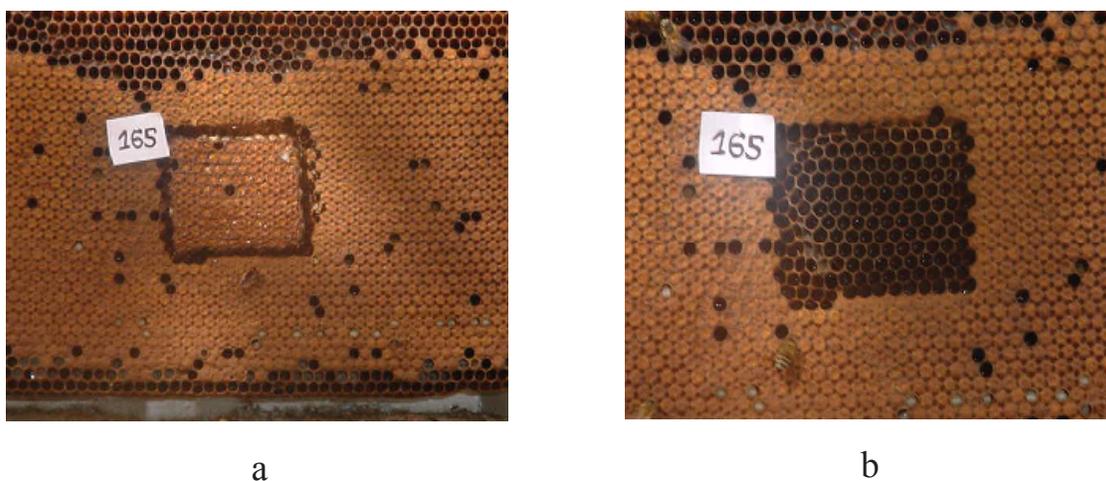


Figura 1. Pupas a) congeladas, b) removidas

higiénicas desoperculan y remueven la cría enferma solamente después que la cría se ha convertido en infecciosa (Arathi *et al.*, 2006).

En este estudio se observaron abejas obreras que rápidamente desoperculaban y removían las crías muertas por congelación consistentemente en los dos ensayos consecutivos de la misma colonia, indicando un alto grado de comportamiento higiénico. De acuerdo a estos resultados, es importante que los apicultores establezcan programas de selección por comportamiento higiénico de sus mejores colmenas tomando en consideración las características de mansedumbre y producción de las obreras en las colonias. Dado que la cópula de reina garantiza gran variabilidad genética al cruzarse con un gran número de zánganos procedentes de diferentes colmenas, este fenómeno podría explicar la gran variabilidad encontrada en este estudio, concerniente a la manifestación del comportamiento higiénico en las colonias de *A. mellifera*.

Es importante señalar que no hubo diferencias significativas en la manifestación del comportamiento higiénico de las abejas africanizadas en los dos ensayos consecutivos para la misma localidad ( $P < 0,05$ ), lo cual significa que las abejas son consistentes en la expresión de este comportamiento en las colonias estudiadas. En la Figura 2 se puede observar que la localidad El Corozo presentó la tasa de remoción más alta para todos los niveles de africanización en las colonias, aunque la variable localidad tuvo una baja asociación con relación a la tasa de remoción de pupas muertas ( $Rho = 0,338$ ;  $P = 0,01$ ). Aunque el

comportamiento higiénico en las colonias se mantuvo estable en los dos ensayos consecutivos, sería necesario realizar mediciones en diferentes épocas del calendario apícola para determinar si existe algún efecto de las variables climáticas, ya que algunos estudios han determinado que el comportamiento higiénico de una colonia puede estar influenciado por ciertas condiciones ambientales y por el estado de vigor que las colonias presentan en una determinada época del año. Colonias menos vigorosas reducen marcadamente su capacidad higiénica y la abundancia de flujo nectarífero guarda una relación directa con la expresión de este comportamiento (Spivak y Gilliam, 1993). Estos autores argumentan que la expresión del comportamiento higiénico es facultativa y depende de ciertos factores ambientales, condición de fortaleza de la colonia, requerimientos de espacio de la colonia, estructura y composición de la edad de las obreras, entre otros. En este estudio se observó que la tasa de remoción de pupas de las colonias se mantuvo en un alto porcentaje considerando que las colonias de abejas estaban en la fase de postcosecha y que la entrada de néctar había disminuido notablemente en todas las localidades.

La expresión del comportamiento higiénico de las obreras en una colonia es controlada por un número que oscila entre dos y siete genes recesivos e independientes, responsables de la desoperculación y remoción de la cría enferma o parasitada (Rothenbuhler, 1964; Moritz, 1988; Lapidge *et al.*, 2002). La selección por este comportamiento permitiría obtener abejas tolerantes a las enfermedades y de esta manera

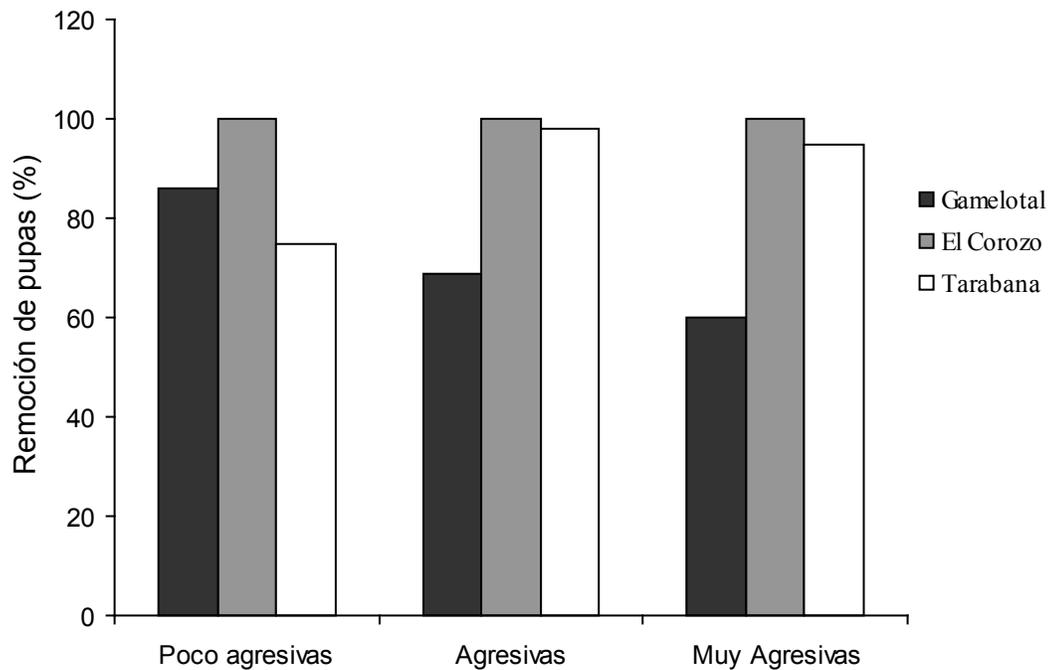


Figura 2. Comportamiento higiénico de las colonias de abejas, agrupadas de acuerdo al grado de africanización en las distintas localidades estudiadas.

disminuir la propagación e incidencia de las mismas en las colonias, evitando el uso de los quimioterápicos y la contaminación de los productos de la colmena.

El comportamiento higiénico en las abejas africanizadas se considera un importante mecanismo de tolerancia contra *V. destructor*, ya que las abejas son capaces de reconocer y remover las celdas de cría naturalmente infestadas con el ácaro, interrumpiendo de esta forma el ciclo de vida del parásito (Moretto *et al.*, 2006; Aumeier *et al.*, 2000).

Los resultados de la expresión del comportamiento higiénico de las abejas obreras en las colonias estudiadas, categorizadas según el grado de su manifestación, indicaron una gran variación en este comportamiento. El 59% de las colonias de abejas evaluadas exhibió una alta expresión del comportamiento higiénico (AH), con valores promedio mayores al 95% en la tasa de remoción de pupas muertas. El 17% de las colonias presentaron una leve manifestación del comportamiento higiénico (LH) con valores promedio menores al 75%, mientras que el 24% de las colonias presentaron un comportamiento higiénico moderado (MH) con una tasa de remoción de pupas muertas entre 75 y 95% (Figura 3).

Estos resultados concuerdan con Spivak y Downey (1998) para estudios de campo realizados en Minnesota (USA) quienes evaluaron el comportamiento higiénico en colonias de abejas *Apis mellifera ligustica* mediante dos métodos distintos. Estos autores reportaron que las colonias presentaron valores variables en la tasa de remoción de pupas muertas congeladas agrupadas como colonias con patrones de comportamiento higiénico, no higiénico e intermedio. Las colonias que removieron más del 95% de la cría muerta congelada en 48 h fueron consideradas altamente higiénicas y las que demoraron más de 6 días en remover la cría muerta congelada fueron consideradas no higiénicas. Recientemente, estudios realizados por Palacio *et al.* (2005) indicaron que puede determinarse el comportamiento higiénico de una colonia luego de pocas horas de perforar las celdas con un alfiler (“pin-killing test”) debido a que las abejas limpiadoras perciben más fácilmente el olor que producen las crías muertas a través de la perforación experimentalmente realizada para matar a la cría.

En el presente trabajo, los valores de 75 y 95% en la tasa de remoción de pupas muertas en 48 h fueron utilizados para categorizar los diferentes patrones de comportamiento higiénico de las colonias de abejas

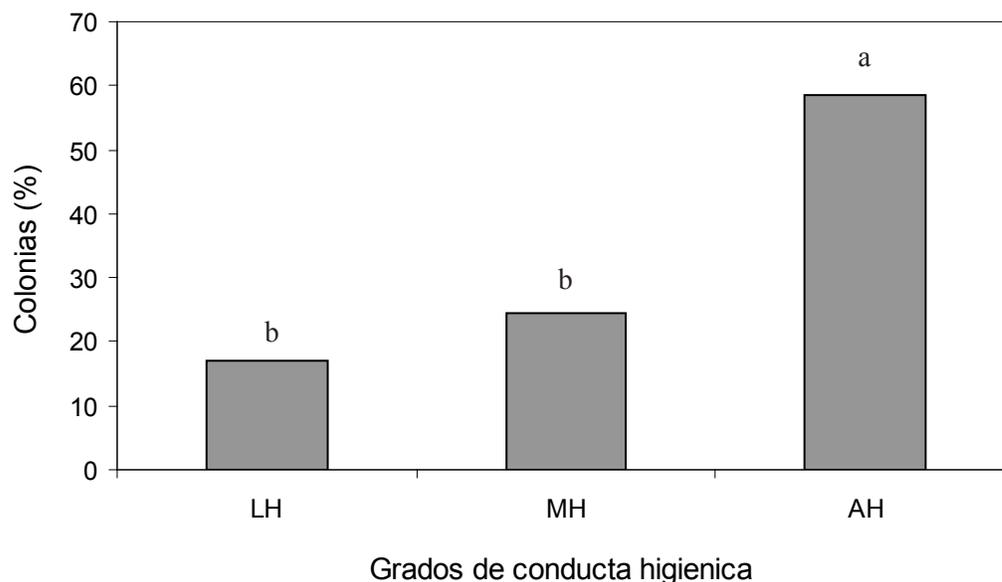


Figura 3. Patrones del comportamiento higiénico observado en las colonias de abejas evaluadas (N = 82). LH: Leve higiene, MH: Moderada higiene y AH: Alta higiene.

para la subespecie *A. m. scutellata* estudiada. Estudios similares conducidos en Argentina por Ponce y Marcangeli (2000) en híbridos de *A. m. mellifera* x *A. m. ligustica* indicaron gran variación en el grado de manifestación del comportamiento higiénico en las abejas, categorizando las colonias en patrones de comportamiento higiénico alto y bajo para aquellas colonias que expresaron una tasa de remoción mayor del 80% y menor del 70%, respectivamente. Las colonias con alto comportamiento higiénico presentaron menor incidencia de enfermedades infectocontagiosas (Spivak y Gilliam, 1993; Spivak, 1996; Palacio *et al.*, 2000), de tal manera que, si los productores apícolas realizan un manejo biológico de las colmenas que favorezca la presencia de este comportamiento, se podría evitar el uso de quimiosintéticos que no siempre son efectivos y que suelen dejar residuos en los productos de comercialización de la colmena (McKee, 2004).

### CONCLUSIONES

Esta investigación permitió demostrar la presencia del comportamiento higiénico en las abejas africanizadas en los apiarios de tres localidades del estado Lara, Venezuela, observándose que la tasa de remoción de pupas muertas más alta fue obtenida en la localidad El Corozo. Se concluye que

el comportamiento higiénico presentó gran variación en el grado de manifestación en abejas africanizadas observándose un 17, 24 y 59% de colonias con patrón de comportamiento higiénico leve, moderado y alto, respectivamente.

### LITERATURA CITADA

- Aumeier P., P. Rosenkranz y L.S. Gonçalves. 2000. A comparison of the hygienic response of Africanized and European (*Apis mellifera carnica*) honey bees to *Varroa*-infested brood in tropical Brazil. *Gen. Molec. Biol.*, 23(4): 787-791.
- Arathi H. S., G. Ho y M. Spivak. 2006. Inefficient task partitioning among nonhygienic honeybees, *Apis mellifera* L., and implications for disease transmission. *Anim. Beh.*, 72(2): 431-438.
- Bravo H. y L. Paparella. 1992. Estadística Aplicada para el Sector Agrícola. Conceptos, Procedimientos y Aplicaciones. Editorial UCLA, Barquisimeto, Venezuela.
- Correa Marques M.H., D. De Jong, P. Rosenkranz y L.S. Gonçalves. 2002. *Varroa*-tolerant Italian honey bees introduced from Brazil were not more efficient in defending themselves against

- the mite *Varroa destructor* than Carniolan bees in Germany. *Gen. Molec. Res.*, 1(2): 153-158.
- Gilliam M., S. Taber y G.V. Richardson. 1983. Hygienic behavior of honey bees in relation to Chalkbrood disease. *Apidologie*, 14: 29-39.
- Gramacho K. P. y M. Spivak. 2003. Differences in olfactory sensitivity and behavioral responses among Money bees bred for hygienic behavior. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 54: 472-479.
- Guerra Jr. J. C. V., L. S. Gonçalves y D. De Jong. 2000. Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) are more efficient at removing worker brood artificially infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans than are Italian bees or Italian/Africanized hybrids. *Gen. Molec. Biol.*, 23(1): 89-92.
- Lapidge K. L., B. P. Oldroyd y M. Spivak. 2002. Seven suggestive quantitative loci influence hygienic behavior of honey bees. *Naturwissenschaften*, 89: 565-568.
- McKee B. 2004. Contamination issues for honey in Australia. Intern. Workshop of Quality Honey. Capilano Group of Companies, Rafaela, Santa Fé, Argentina.
- Momot J. P. y W. C. Rothenbuhler. 1971. Behavior genetics of nest-cleaning in honeybees. VI. Interactions of age and genotype of bees and nectar flow. *J. Apic. Res.*, 10: 11-21.
- Moretto G., J.C.V. Guerra Jr. y C.V. Bittencourt. 2006. Uncapping activity of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) towards worker brood cells infested with the mite *Varroa destructor* Anderson & Treuman (Mesostigmata: Varroidae). *Neotrop. Entomol.*, 35(3): 299-301.
- Moritz R.F.A. 1988. A re-evaluation of the two locus model for hygienic behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Hered.*, 79: 257-262.
- Palacio M. A., E. Figini, S. Ruffinengo, E. Rodríguez, M. del Hoyo y E. Bedascarrasbure. 2000. Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected for hygienic behavior and its relation to brood disease tolerance. *Apidologie*, 31: 471-478.
- Palacio M. A., J. M. Flores, E. Figini, S. Ruffinengo, A. Escande, E. Bedascarrasbure, E. Rodríguez y L.S. Gonçalves. 2005. Evaluation of the time of uncapping and removing dead brood cells by hygienic and non-hygienic honey bees. *Gen. Molec. Res.*, 4(1): 106-114.
- Ponce A. y J. Marcangeli. 2000. Comportamiento higiénico de la abeja *Apis mellifera* L. en el Sudeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Apiacta*, 35(4): 176-182.
- Rath W. y W. Drescher. 1990. Response of *Apis cerana* Fab. towards brood infested with *Varroa jacobsoni* Oud. and infestation rate of colonies in Thailand. *Apidologie*, 21: 311-321.
- Rothenbuhler W. C. 1964. Behavior genetics of the nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F<sub>1</sub> and backcross generations to disease-killed brood. *Am. Zoo.*, 4: 111-123.
- SAS Institute. 1999. SAS user's guide. Statistics. 6<sup>ta</sup> ed. SAS Inst., Cary, NC.
- Spivak M. y D. Downey, 1998. Field assays for hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.*, 91: 64-70.
- Spivak M. y M. Gilliam. 1993. Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. *J. Apic. Res.*, 32 (3-4): 147-157.
- Spivak M. 1996. Honey bees hygienic behavior as a defense against *Varroa jacobsoni* *Apidologie*, 27: 245-260.
- Taber S. 1982. Determining resistance to brood diseases. *Am. Bee J.*, 122: 422-425.
- Thompson V.C. 1964. Behavior genetics of nest-cleaning in honeybees. III. Effect of age of bees of a resistant line on their response to disease-killed brood. *J. Apic. Res.*, 3(1): 25-30.