

TESIS

COMPORTAMIENTO HIGIÉNICO Y *GROOMING*, MÉTODOS DE ESTUDIO DE VARROOSIS EN APIARIOS DE CORRIENTES

Hygienic and *grooming* behavior, study methods of varroosis in apiaries of Corrientes

Reyes Joaquín E.¹; Maggi Matías D.²; Salgado Laurenti Cristina R.¹

¹Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE.

²IIPROSAM-CONICET, UNMDP

Email: crsalgado2009@gmail.com

Trabajo Final de Graduación en modalidad **Pasantía** (Plan de Trabajo aprobado por Resol. 13246/23 CD) para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. El pasante obtuvo una Beca de Estímulo a las Vocaciones Científicas CIN 2022. "Evaluación de la dinámica poblacional de *Varroa destructor* y del comportamiento higiénico y *grooming* en colonias de *Apis mellifera* pertenecientes a apiarios comerciales de la Ecorregión del Chaco Húmedo" RN 13246/23.

RESUMEN

El parásito *Varroa destructor* es el principal responsable de la muerte de colonias de abejas registradas en Argentina. Sin embargo, algunos linajes de *Apis mellifera* parecen tener cualidades, que le brindan mayor resistencia a la parasitosis respecto de otras colonias que son gravemente afectadas, hasta el colapso y la muerte. El comportamiento higiénico, la alta capacidad de acicalamiento o *grooming* y la enjambrazón, pueden ser algunas de esas características. El objetivo fue estudiar el comportamiento higiénico y *grooming* en colonias de *A. mellifera* y su relación con el porcentaje de infestación de *V. destructor*. La metodología fue: 1. Selección de apiarios. 2. Evaluación de la infestación con *Varroa* en abejas adultas y en cría. 3. Determinación de capacidad de limpieza de la población de abejas y 4. Estimación del comportamiento de *grooming* de la población de abejas. Respecto al comportamiento higiénico evaluado en las colmenas seleccionadas, se observó que las abejas de la zona presentan alto porcentaje de eficiencia en remoción de la cría muerta. Los valores porcentuales de *varroa* desprendida por acción de *grooming* fue alto en las colmenas del ensayo C1 y C14 y alcanzó el 51% en la C12. Las poblaciones de abejas estudiadas presentan características sanitarias que las distinguen de abejas de otras regiones del país: 1- Muestran tolerancia a los porcentajes de infestación con *varroa* y 2- Expresan alto comportamiento higiénico y *grooming*. Estas cualidades, sumadas a estudios de morfometría alar, podrían sentar las bases para diferenciar y caracterizar las abejas del nordeste argentino.

Palabras clave: *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, infestación por ácaros, pisos técnicos, Nordeste Argentino.

ABSTRACT

Varroa destructor is the main parasite responsible for the death of registered bee colonies in Argentina. However, some lineages of *Apis mellifera* appear to have qualities that make them more resistance towards parasitism than other severely affected colonies, until collapse and death. Hygienic behavior, high grooming capacity, and swarming may be some of those characteristics. The aim was to study the hygienic behavior and *grooming* in *A. mellifera* colonies and its relationship with the percentage of *V. destructor* infestation. The methodology was: 1. Selection of apiaries; 2. Evaluation of *Varroa* infestation in adult and brood bees; 3. Assessment of the cleaning capacity of the bee population; and 4. Estimation of grooming behavior in the bee population. Regarding the hygienic behavior evaluated in the selected hives, it was observed that the bees in the area have a high percentage of efficiency in the removal of dead brood. The percentage of the *Varroa* shed by the grooming action was high in the hives of the C1 and C14 trials, reaching 51% in the C12 trial. Bee populations studied have sanitary characteristics that distinguish them from bees from other regions of the country: 1- They show tolerance to the percentages of *Varroa* infestation and 2- They express high hygienic behavior and grooming. These qualities, added to studies of wing morphometry, could lay the foundations for differentiating and characterizing the bees of the Argentine Northeast.

Key words: *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, mite-infested bees, screen floors, Northeast Argentine.

INTRODUCCIÓN

La apicultura del Nordeste Argentino posee un desarrollo promisorio, debido en parte a las condiciones favorables de la región. Su clima subtropical favorece la disponibilidad de flores durante todo el año (Salgado y Pire, 1998; 1999, Salgado et al. 2014, 2017; Salgado 2016), generando que la trashumancia de las colmenas no sea un factor decisivo para el éxito comercial de la actividad como sucede en zonas de clima templado. Por otra parte, el predominio de la vegetación nativa ofrece amplia oferta de néctar y polen tanto en cantidad como en calidad. La riqueza y posibles formas de producción sustentable en la Ecorregión Chaco Húmedo han sido mencionada por Morello et al. (2012).

Entre los factores bióticos que afectan a las abejas melíferas, el parasitismo ocasionado por *Varroa destructor* puede afectar drásticamente la nutrición de las mismas comprometiendo su desarrollo y su tiempo de vida media (Aronstein et al. 2012). Este parásito, es el principal responsable biótico de las muertes de colonias de abejas registradas en Argentina (Maggi et al. 2016). Sin embargo, algunos linajes de *Apis mellifera* parecen tener una serie de cualidades, que en su conjunto le brindar mayor resistencia a la parasitosis respecto de otras colonias que son gravemente afectadas, hasta el colapso y muerte (Noel et al. 2020; Mondet et al. 2020). El comportamiento higiénico, la alta capacidad de *grooming* y la enjambrazón, pueden ser algunas de esas características (Ronsenkranz 1999).

Argentina se caracteriza por poseer diferentes linajes de abejas a lo largo de su latitud (Porrini et al. 2020). Entre ellos, los linajes africanizados han demostrado en otras partes de América, tener la capacidad de sobrevivir al parasitismo ocasionado por el ácaro en ausencia de tratamientos sanitarios frente al mismo (Invernizzi et al. 2015, Rosenkranz 1999). La región del Chaco Húmedo se caracteriza por tener en su territorio, un gran porcentaje de poblaciones de abejas africanizadas (Porrini et al. 2020). Respecto de la biología de *Varroa destructor*, sus virosis y su impacto en las abejas melíferas existen antecedentes en otras zonas productoras del país (Maggi et al. 2009a-b, 2010, 2012a-b) como así también el registro de pérdida de colonias de abejas (García et al. 2019, Maggi et al. 2016, Requier et al. 2018).

Bajo este contexto, resulta importante comprender la relación parasitaria ácaro/abeja en poblaciones de *A. mellifera* ubicadas en regiones del país aún no estudiadas, como lo es la región del Chaco Húmedo. Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que la región cuenta con un importante potencial apícola. En Corrientes, los estudios referidos a sanidad apícola son incipientes, especialmente los referidos al impacto de *Varroa destructor* en las colonias de abejas, el comportamiento higiénico y *grooming* (Mazepa et al. 2022).

Varroosis: breve descripción de la enfermedad

La Varroosis, provocada por el ácaro *Varroa destructor* (Figura 1) conocido vulgarmente como “varroa”, es considerada como la parasitosis más severa de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.). La aparición del ectoparásito en La Argentina se remonta a la década del '70. Durante esa época se lo detecta por primera vez en 1976 en colmenas de Laguna Blanca en la provincia de Formosa. Sin embargo, se estima que el ácaro ingresó al país unos años antes, fundamentalmente teniendo en cuenta que, en 1971, apicultores de Paraguay habían importado abejas melíferas desde Japón introduciendo el parásito por primera vez en América del Sur (De La Sota y Bacci 2005).

La abeja melífera es perjudicada de diversas maneras, las larvas y pupas en desarrollo representan claramente las etapas más sensibles del huésped. Hasta el momento, la opinión aceptada sostenía que el ácaro consumía la hemolinfa de las abejas. Sin embargo, recientemente Rampsey et al. (2019) han descubierto que este parásito no está consumiendo hemolinfa, sino que daña a las abejas huésped al consumir cuerpos grasos, tejido más o menos análogo al hígado de los mamíferos y fundamental para el correcto funcionamiento inmunológico. La pérdida de peso depende del número de ácaros madre y de la cantidad de reproducción de ácaros, pero incluso una sola infestación da como resultado una pérdida promedio de peso corporal del 7% para la abeja que nace (De Jong et al. 1982, Schatton-Gademayer y Engels 1988). Esto también ha sido probado para zánganos parasitados, que pierde del 11 al 19% de su peso corporal dependiendo de la infestación (Duay et al. 2003), lo que condujo a una disminución del rendimiento de vuelo (Duay et al. 2002). Las abejas obreras que fueron parasitadas durante su desarrollo comienzan antes con la búsqueda de alimento y tienen una esperanza de vida significativamente reducida (Amdam et al. 2004; De Jong et al., 1982; Schneider y Drescher, 1987). Las abejas pecoreadoras parasitadas muestran una capacidad disminuida de aprendizaje no asociado, prolongada ausencia de la colonia y una menor tasa de retorno a la colonia (Kralj y Fuchs 2006, Kralj et al. 2007).

Van Dooremalen et al. (2013) estudiaron la relación entre la parasitosis y la baja disponibilidad de alimento proteico (pan de las abejas) determinando la influencia negativa en las reservas proteicas de las abejas y su peso corporal. Por otro lado, observaron que el abundante suministro de polen no puede compensar la pérdida de peso ocasionada por la parasitosis en los primeros estadios de vida de las abejas (larvas).

V. destructor es un vector de varios virus de las abejas melíferas. Hasta ahora, se han aislado alrededor de 18 virus diferentes de las abejas melíferas (Chen y Siede 2007) y muchos de ellos pueden ser vectorizados por los ácaros varroa.

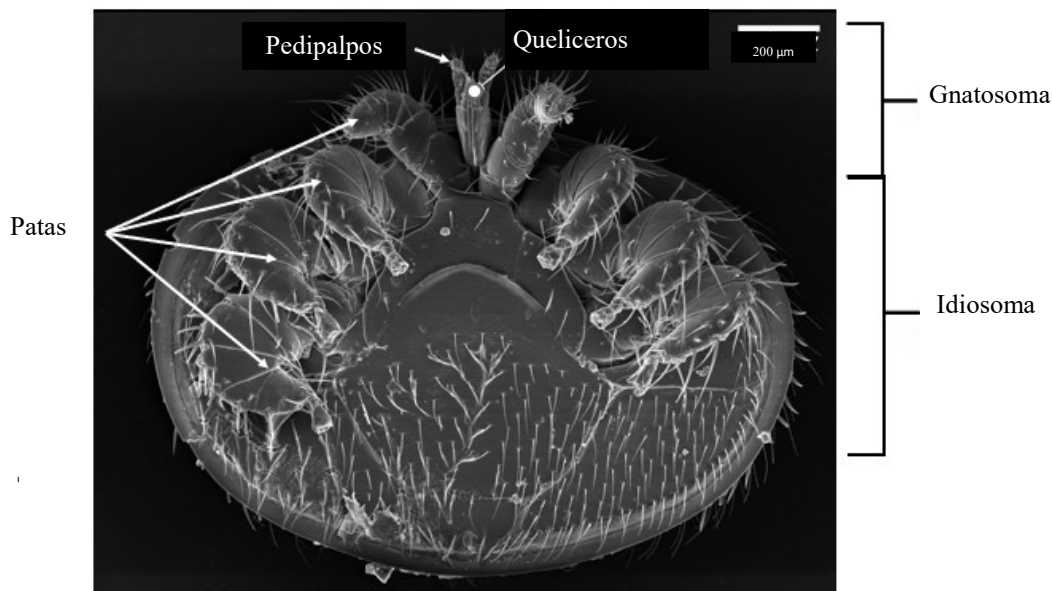


Figura 1. Partes constitutivas del cuerpo de una varroa hembra.

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar destrezas en métodos de estudio y de evaluación de varroosis, comportamiento higiénico y *grooming* en colonias de *Apis mellifera*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS (O.E.)

O.E. I. Estimar la población total de *Varroa destructor* en abeja adulta y en cría en apiarios de los Dptos. Capital y San Luis del Palmar, Corrientes.

O.E. II. Determinar la capacidad de limpieza de las poblaciones de abejas removiendo larvas muertas.

O.E. III. Evaluar la capacidad de *grooming* de las colonias en estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los objetivos específicos propuestos se alanzo mediante una serie de tareas que se cumplirán mediante la ejecución de actividades organizadas de la siguiente manera:

Trabajo de campo

Área de trabajo y apiarios: los apiarios en estudio están ubicados en dos localidades de la provincia de Corrientes, API 1: San Luis del Palmar del Dpto. San Luis del Palmar y API 2:- localidad de Riachuelo del Dpto. Capital (Figura 2).

Se seleccionaron 11 colmenas en cada apiario, los criterios utilizados fueron:

Tamaño de la población. Para esto se tomó en cuenta la clasificación propuesta por PROAPI (INTA) la cual propone: Categoría I: 9 a 10 cuadros. Categoría II: 6 a 8 cuadros y Categoría III: 3 a 5 cuadros. Se seleccionaron colmenas en la Categoría I.

Antigüedad de al menos 1 año en el apiario. Esto pone de manifiesto que la colmena se encuentra estable y ha pasado al menos una campaña apícola.

Localización espacial en el apiario buscando una homogeneidad entre las colmenas.



Figura 2. Ubicación de los apiarios. A. API 1. Localización de las 11 colmenas seleccionadas. GPS: 27° 35'54''S 58°42'47''W. B. API 2. Localización de las 11 colmenas seleccionadas. GPS: 27°28'27''S 58° 42'52''W

Selección de colmenas para registro de la cámara de cría

Para realizar el muestreo y registro detallado de la cámara de cría se seleccionaron 2 colmenas en cada apiario (API 1: Col. 1 y Col. 10 – API 2: Col. 12 y Col. 14). Se tomó en cuenta que se encontraran bien pobladas y alejadas una de otra para mantener una homogeneidad en el apiario. La evaluación de la cámara de cría consistió en trazar líneas imaginarias para dividir los cuadros en 10 partes en ambos lados del cuadro y estimar visualmente las áreas con cría y alimento (miel y polen) y expresarlos en porcentajes. La “lectura” de los cuadros se realizó de izquierda a derecha y con el operador parado detrás de la colmena. los datos se registraron en una planilla de campo y expresados en porcentajes: área de cría, reservas de polen, miel y celdas vacías (Figura 3).



Figura 3. Revisión de la cámara de cría. A. Colmenas en estudio tipo Langstroth (Colmena 1 del API I). B. Colmenas 12 y 13 del API 2. C. Colmena en Categoría I. D. Cuadro de la cámara de cría.

Porcentaje de infestación de *Varroa* en cría

El muestreo se realizó en la cámara de cría de las 2 colmenas seleccionadas por apiario procurando que en el cuadro seleccionado se encuentren tanto pupas de obreras como de zánganos. Se desopercularon 100 pupas de obreras y 50 de zánganos, siguiendo un patrón oblicuo en el cuadro. Esta diferencia en el número de pupas muestreadas de cada casta se realiza por la preferencia del paracito a las celdas de zánganos cuyo ciclo de vida es mayor (24 días) en relación a las de obreras, permitiendo mayor desarrollo del paracito. Las celdas de obreras y zánganos son diferentes en tamaño y forma del opérculo, lo que permite diferenciarlas claramente. Se estimó la prevalencia de la infestación de *Varroa destructor* en las colonias de abejas monitoreadas, se colectó panales de cría de abejas operculado y según lo establecido por Dietemann et al. (2013) se estimó el porcentaje de celdas parasitadas por el ácaro (Figura 4).



Figura 4. Evaluación de varroa de cría. A. Celdas de pupas hembras desoperculadas. B. Operador realizando la tarea de revisión. C. Pupa extraída con 3 varroas adheridas. D. Detalle de una varroa sobre la pupa. E. Celda de zángano con 3 ácaros.

Porcentaje de infestación con *Varroa* en abejas adultas

Se tomó una muestra de aproximadamente 300 abejas nodrizas cepilladas de dos o tres cuadros de cría diferentes y se colocaron en un frasco debidamente rotulado, conteniendo agua y alcohol (1:1) según lo propuesto por Marcangeli (2000) (Fig. 5). Se registró el número de ácaros y el número de abejas y se calculó el porcentaje de parasitación de *Varroa destructor*, aplicando la fórmula: (número de ácaros/número de abejas que componen la muestra) * 100.



Figura 5. Evaluación de varroa forética en abeja adulta. A y B. Operador tomando la muestra de abejas nodrizas con frasco muestreador. C. Frasco muestreador con la muestra de abejas. D. Análisis de las muestras en laboratorio y con equipo óptico. E. Abejas y ácaros contabilizados correspondientes a una muestra. F. Ácaros en tubos Eppendor.

Determinación de capacidad de limpieza de la población de abejas

Se llevó a cabo según la técnica propuesta por Büchler et al. (2013). Con fines prácticos, se utilizó una planilla con un área de dimensiones conocidas (55 mm x 44 mm) que incluya aproximadamente 100 celdas. En cada una de las poblaciones de abejas monitoreadas se punzaron con una aguja entomológica 100 celdas que tengan pupas jóvenes; a las 24 horas se contabilizó la cantidad de pupas removidas y el resultado se expresó en porcentaje de celdas limpias por remoción de la larva muerta (Figura 6).

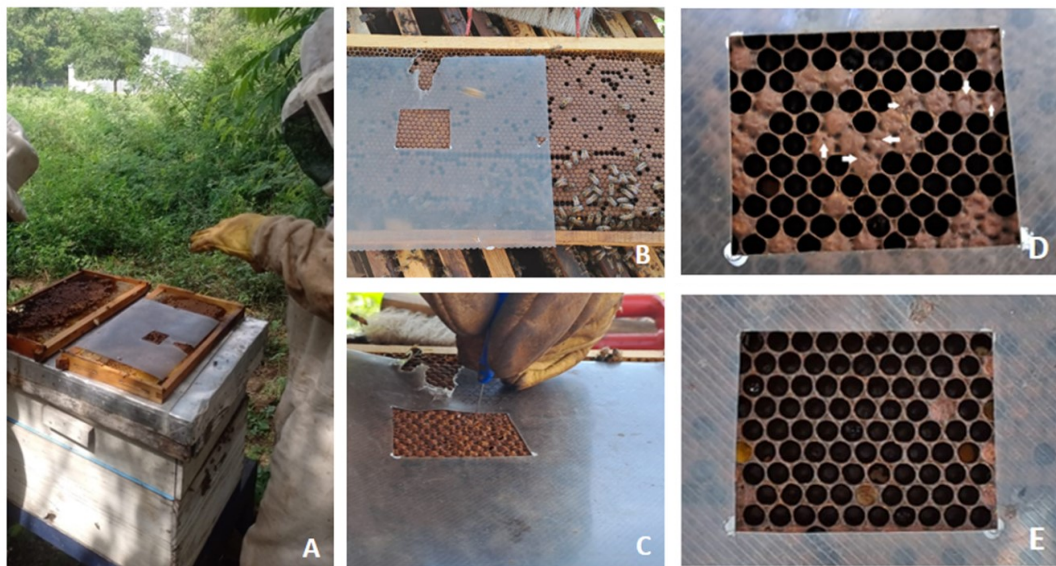


Figura 6. Determinación de capacidad de limpieza de la población de abeja. A. Operador seleccionando el cuadro con área de cría para realizar el ensayo. B. Área seleccionada. C. Operador realizando punciones en las pupas. D. Ensayo realizado el 1/3/2023, las flechas indican las perforaciones en el opérculo reparadas. E. Ensayo realizado el 20/4/2023.

Comportamiento de *grooming* de la población de abejas: se llevó a cabo según la técnica propuesta por Invernizzi et al. (2016). En todas las colmenas de estudio, se introdujo en el piso de la colmena una cartulina plastificada y embebida en la parte superior con vaselina. De esta manera, todos los ácaros caídos naturalmente y los ácaros que fueron despegados de los cuerpos de las abejas, se caerán y serán retenidos por la cartulina con vaselina. Siete días después se contabilizarán los ácaros caídos y cada uno de ellos se observó en el microscopio analizando presencia de mutilaciones y se clasificaron como propone Nganso (2006) (Figura 7).



Figura 7. Comportamiento de *grooming* de la población de abejas. A. Preparación de pisos técnicos. B. Colocación del piso técnico en la colmena del ensayo. C. Estado del piso técnico al momento de la extracción. D. Rescate de ácaros de cada piso técnico. E. Ácaros obtenidos en cada muestra. F. Ácaros mutilados vistos bajo el microscopio estereoscópico.

Estudios de laboratorio

Análisis y registro fotográfico de varroas

Una vez colectadas se observó bajo microscopio estereoscópico y se tomó registro fotográfico de los ácaros roídos y dañados. El porcentaje de *grooming* se estimó como porcentaje de la siguiente manera: $\% \textit{grooming} = \frac{\text{número de ácaros con mutilaciones}}{\text{total de ácaros examinados}}$.

Las micrografías se obtuvieron directamente con un microscopio estereoscópico marca LEICA modelo EZ4. Para el registro fotográfico con microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo 5800LV se utilizó el protocolo sugerido por Salgado y Galindez (2023), los ácaros fueron adheridos a una lamina de aluminio con cinta bifaz y cubiertos con una delgada capa de oro (Figura 8).



Figura 8. Análisis y registro fotográfico de varroas. A. Microscopio estereoscópico marca LEICA modelo EZ4 con soporte para sostener dispositivo celular Samsung A33 con cámara fotográfica. B. Microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo 5800LV. C. Muestra de ácaros removidos por *grooming*.

Trabajo de gabinete

Consulta bibliográfica: se utilizó la bibliografía clásica y específica relacionada a los temas que incluye el proyecto.

Registro de datos: los datos obtenidos fueron sistematizados y cargados a una planilla de cálculo, para luego realizar las operaciones de acuerdo a lo requerido para cada tipo de determinación.

Elaboración de Informe y presentación del Trabajo Final: al finalizar la pasantía se confeccionó un informe detallando los resultados obtenidos y la interpretación de los mismos.

RESULTADOS

Revisión y selección de colmenas

La evaluación del estado de la cámara de cría de las colmenas seleccionadas para realizar la Actividad 2 se expresan en porcentajes y se detallan en la Tabla 1 para el Apiario I y en la Tabla 2 para el Apiario II.



Tabla 1. Relevamiento de la cámara de cría (API I).

API I cuadros	Colmena: 1		Categoría: I		Colmena: 10		Categoría: I	
	Área/ Cría	Área/ Polen	Área/ Miel	celdas vacías	Área/ Cría	Área/ Polen	Área/ Miel	celdas vacías
1a	10%	0%	20%	70%	0%	0%	30%	70%
1b	30%	0%	20%	50%	0%	0%	70%	30%
2a	90%	2%	0%	5%	90%	0%	10%	0%
2b	100%	0%	0%	0%	70%	1%	29%	0%
3a	80%	0%	0%	20%	80%	0%	20%	0%
3b	98%	0%	0%	2%	80%	2%	18%	0%
4a	98%	0%	0%	2%	98%	1%	1%	0%
4b	100%	0%	0%	0%	98%	1%	1%	0%
5a	100%	0%	0%	0%	90%	2%	8%	0%
5b	100%	0%	0%	0%	90%	0%	10%	0%
6a	95%	5%	0%	0%	70%	0%	30%	0%
6b	95%	5%	0%	0%	70%	0%	30%	0%
7a	50%	0%	0%	50%	60%	0%	40%	0%
7b	50%	0%	0%	50%	60%	0%	40%	0%
8a	100%	0%	0%	0%	65%	0%	35%	0%
8b	100%	0%	0%	0%	65%	0%	30%	5%
9a	0%	0%	0%	No labrado	0%	2%	98%	0%
9b	0%	0%	0%	No labrado	0%	0%	100%	0%
10a	10%	0%	0%	90%	0%	0%	100%	0%
10b	20%	0%	0%	80%	0%	0%	100%	0%

Tabla 2. Relevamiento de la cámara de cría (API II).

API II cuadros	Colmena: 12		Categoría: I		Colmena: 14		Categoría: I	
	Área/ Cría	Área/ Polen	Área/ Miel	celdas vacías	Área/ Cría	Área/ Polen	Área/ Miel	celdas vacías
1a	0%	0%	25%	75%	0%	0%	80%	20%
1b	10%	10%	80%	0%	0%	0%	80%	20%
2a	80%	0%	20%	0%	10%	0%	80%	10%
2b	80%	10%	10%	0%	15%	0%	80%	5%
3a	95%	0%	5%	0%	0%	0%	70%	30%
3b	100%	0%	0%	0%	0%	0%	80%	20%
4a	85%	5%	10%	0%	0%	0%	80%	20%
4b	85%	5%	10%	0%	2%	0%	50%	48%
5a	90%	10%	0%	0%	90%	0%	10%	0%
5b	95%	5%	0%	0%	90%	0%	10%	0%
6a	95%	5%	0%	0%	75%	5%	10%	10%
6b	99%	5%	0%	0%	80%	10%	10%	0%
7a	98%	1%	0%	1%	88%	2%	10%	0%
7b	75%	2%	0%	23%	88%	2%	10%	0%
8a	70%	30%	0%	0%	88%	10%	10%	0%
8b	100%	0%	0%	0%	85%	5%	10%	0%
9a	80%	5%	5%	10%	0%	20%	10%	70%
9b	88%	2%	10%	0%	70%	10%	20%	0%
10a	0%	10%	40%	50%	0%	10%	70%	30%
10b	0%	0%	50%	50%	0%	10%	90%	0%

Porcentaje de infestación de *Varroa* en cría

Los resultados de la presencia de varroa en celdas de cría en las 4 (cuatro) colmenas seleccionadas para realizar la Actividad 3 se resumen en la Tabla 3, expresadas en porcentajes.

Tabla 3. Cuadro sinóptico con los datos.

COLMENAS	CELDAS/ hembras	VARROAS	CELDAS/ machos	VARROAS	TOTAL	
1 (API I)	100	4	50	3	7	5%
10 (API I)	100	1	50	1	2	1,3%
12 (API II)	100	7	50	42	49	33%
14 (API II)	100	6	0	0	6	4,0%

Porcentaje de infestación con *Varroa* en abejas adultas

Los resultados correspondientes a la Actividad 4 se resumen en la Tabla 4 e incluye el resultado del cálculo de infestación de varroa forética expresado en porcentaje según la correspondiente formula.

Tabla 4. Datos de infestación en abeja adulta con varroa forética. Las colmenas indicadas en color amarillo fueron seleccionadas para realizar el test de comportamiento higiénico.

Apiario 1				Apiario 2			
Colmenas	N° Varroa	N° Abejas	%	Colmenas	N° Varroa	N° Abejas	%
1	4	258	2	12	9	142	6,3
2	2	180	1	13	7	239	2,9
3	8	167	5	14	13	213	6,1
4	6	273	2	15	12	258	4,7
5	3	510	1	16	20	339	5,9
6	1	434	0	17	10	288	3,5
7	3	510	1	18	9	450	2
8	0	337	0	19	10	211	4,7
9	14	194	7	20	23	414	5,6
10	5	246	2	21	16	189	8,5
11	1	225	0	22	3	210	1,4

Determinación de capacidad de limpieza de la población de abejas

Los resultados obtenidos a partir del ensayo se detallan en las Tablas 5 y 6. Se tuvo en cuenta contabilizar el número de celdas que se encontraban vacías en el área del ensayo.

Tabla 5. Comportamiento de limpieza.

1/3/2023	N° celdas punzadas	N° celdas vacías	N° larvas removidas	%
Colmena 1	98	6	81	77
Colmena 10	89	3	44	46
Colmena 12	103	0	80	78
Colmena 14	100	0	60	60



Observación importante: ante el bajo porcentaje de remoción de larvas registrado y la evidencia de opérculos reparados se deduce que hubo fallas al momento de matar efectivamente algunas larvas. Vale decir que la metodología puede tener altas posibilidades de error ya que al no haber punzado correctamente y matado a la pupa las abejas volvieron a sellar el opérculo siendo así subvalorado el resultado.

Por el motivo descrito, se volvió a realizar el procedimiento esta vez asegurando la muestra efectiva de las larvas. Los resultados obtenidos, en las mismas colmenas, para el mismo ensayo se exponen en la Tabla 6.

Tabla 6. Comportamiento de limpieza.

20/4/2023	N° celdas punzadas	N° celdas vacías	N° larvas removidas	%
Colmena 1	98	6	81	83
Colmena 10	89	3	84	94
Colmena 12	103	0	90	87
Colmena 14	100	0	90	90

Estos resultados, ponen en evidencia que el procedimiento realizado en primera instancia no fue realizado correctamente, por lo tanto, los resultados obtenidos están sub-representados. Además, se observó que las abejas una vez removida la pupa colocaron rápidamente néctar o polen en esas celdas.

Comportamiento de *grooming* de la población de abejas

En las 2 colmenas en estudio por apiario, se introdujo en el piso de la colmena una cartulina y embebida en la parte superior con vaselina (piso técnico). De esta manera, todos los ácaros caídos naturalmente y los ácaros que fueron despegados de los cuerpos de las abejas por auto y allogrooming, se cayeron y fueron retenidos en la cartulina con vaselina. Siete días después se contabilizaron los ácaros caídos y cada uno de ellos se observó en el microscopio estereoscópico analizando presencia de mutilaciones y se clasificaron como propone Nganso (2006). Los resultados se resumen en la Tabla 7 correspondientes al primer muestreo y Tabla 8 del segundo ensayo.

Tabla 7. Registro de la actividad de *grooming* en las colmenas del primer ensayo. Referencias: A: patas dañadas + gnatosoma dañado. B: patas dañadas + gnatosoma dañado + escudo dañado. C: escudo dorsal vacío o dañado. D: gnatosoma dañado. E: escudo dorsal vacío. F: daño en escudo. G: escudo dañado y patas dañadas. H: patas dañadas. I: escudo dorsal hundido. J: escudo dorsal hundido y patas dañadas.

01/03/23	Varroa	Categorías de daño según (Nganso, 2006)											
		Colmena	N	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
	1	11	1				1	1	3	3	1		Hembra adulta sin daño (muerte natural): 1
	10	2			1			1					
	12	45			1		2	2	5	5	1	6	Hembras adultas sin daños: 13 y jóvenes: 8. Macho: 1
	14	11	1				1	1	3	3	1		Hembra joven: 1

Observación importante: en el caso de la colmena número 10 se produjo un error en la metodología ya que las abejas pudieron ingresar al piso técnico y por consiguiente limpiar el mismo por eso en la tabla se recolectó una baja cantidad de parásitos.

Tabla 8. Registro de la actividad de *grooming* en las colmenas del segundo ensayo.

20/04/23	Varroa	Categorías de daño según (Nganso, 2006)										
Colmena	N	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	otras
1	42	1	1				1		1			Hembra adulta sin daño (muerte natural): 30 y jóvenes: 8
10	4											Hembra adulta sin daño (muerte natural): 3 y jóvenes: 1
16*	22	1	1	1		2		1		1		Hembra adulta sin daño (muerte natural): 10 y jóvenes: 5
14	8					2	1					Hembra adulta sin daño (muerte natural): 3 y jóvenes: 2

Observación importante: * fue reemplazada por la Colmena 12 debido a que ésta perdió la reina y devino zanganera.

Análisis y registro fotográfico de varroas

El análisis se realizó con microscopía óptica y electrónica de barrido (Figura 9, Figura 10 y Figura 11).

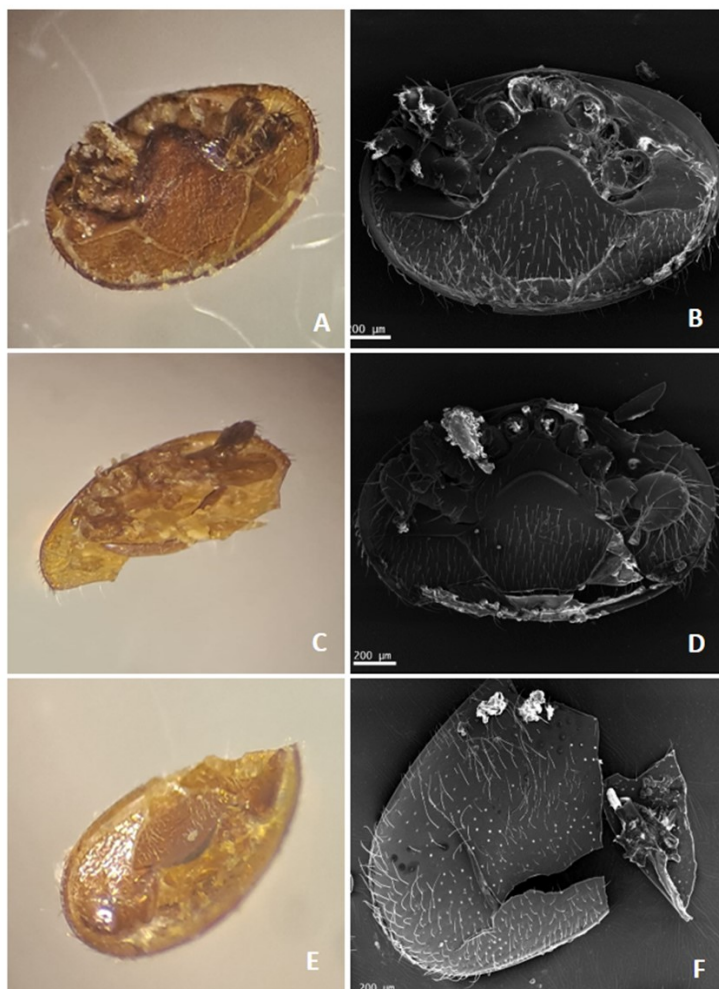


Figura 9. Categorías de daño por *grooming*. (A y B) Cat. A: patas dañadas + gnatosoma dañado. (C y D) Cat. B: patas dañadas + gnatosoma dañado + escudo dañado. (E y D) Cat. C: escudo dorsal vacío o dañado.

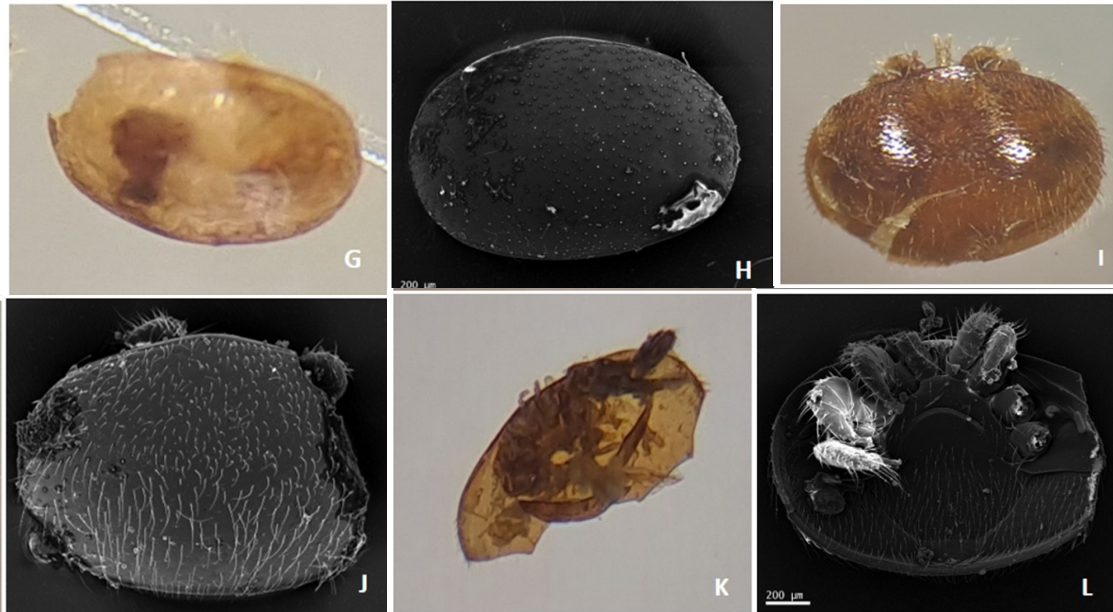


Figura 10. Categorías de daño por *grooming*. (G y H) Cat. E: escudo dorsal vacío. (I y J) Cat. F: daño en escudo. (K y L) Cat. G: escudo dañado y patas dañadas.

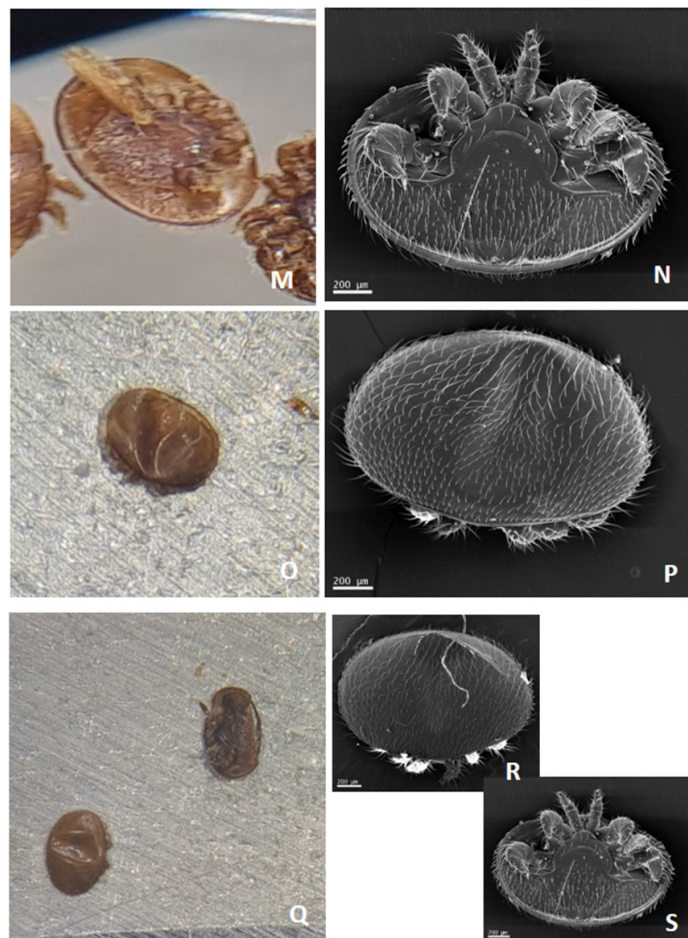


Figura 11. Categorías de daño por *grooming*. (M y N) Cat. H: patas dañadas. (O y P) Cat. I: escudo dorsal hundido. (Q, R y S) Cat. J: escudo dorsal hundido y patas dañadas.

En base a las actividades desarrolladas y los resultados obtenidos durante el entrenamiento en métodos de estudio de varroosis, evaluación del comportamiento higiénico y *grooming* en las colonias de *Apis mellifera* analizadas, se pueden realizar las siguientes apreciaciones:

Respecto a la parasitosis producida por *Varroa destructor*

En cuanto a la metodología de muestreo

Para evaluar varroa en cría la técnica fue fácil de llevar a cabo y tiene una efectividad alta lo que permitió tener una buena estimación de la presencia de varroa en celdas de cría. Aunque su principal problema es que no siempre es posible encontrar celdas de zánganos en la estación otoñal para tener un número de 50 pupas de machos como pide la técnica publicada (ver Tabla 3 dato en la Col. 14 - API II).

Para determinar varroa forética es necesario que el operador tenga en cuenta tomar un número de abejas uniforme en todas las colmenas, de acuerdo a lo que sugiere la técnica publicada serían unas 300 abejas nodrizas. Debido a que la misma depende de la subjetividad del operador es recomendable utilizar un frasco muestreador que indique un número aproximado de abejas cercano al número ideal, de otro modo existen altas probabilidades de error en la estimación de número abeja recolectadas como se muestra en la Tabla 4 (API I: Col. 2: 180 y Col. 7: 510, API II: Col. 12: 142 y Col. 18: 450). Además, hay que tener en cuenta que frasco muestreador está diseñado para contener abejas de mayor tamaño respecto de las que contamos en esta zona. En este sentido, se utilizó la marca de titulación para 200 abejas de manera que la muestra se aproxime más al número ideal.

En cuanto a los resultados obtenidos

Se pudo observar que el porcentaje de varroa fonética fue menor en el API I (18%) respecto del API II (72%), en este último se encontró mayor nivel de incidencia de varroa con respecto a lo que indica la bibliografía (más del 3% de varroa forética en cada colmena) para iniciar algún tratamiento de control.

Vistos los resultados, se podría realizar un manejo integrado con aplicación de ácido orgánico (por ej. oxálico), algún producto de síntesis (por ej. amidina) y biológico (por ej. panales trampa).

Respecto de la determinación de la capacidad de limpieza

En cuanto a la metodología de muestreo

El operador a la hora de punzar tiene que asegurar la muerte efectiva de la pupa ya que esto es crucial para la efectividad del método. Si la pupa no está muerta no es removida como se observa en la Tabla 6 conduciendo a una subestimación del resultado. Sin embargo, al realizar correctamente el ensayo matando las pupas, el resultado obtenido para determinar la capacidad de limpieza es notablemente mejor como se puede ver en la Tabla 7.

Esta metodología es fácil de realizar, no conlleva mayores problemas y permite conocer el comportamiento de las obreras limpiadoras frente a la eliminación de cuerpos extraños (pupas muertas). Evitando de esta manera la proliferación de malos olores dentro de la colmena y previniendo el desarrollo de algún organismo patógeno.

En cuanto a los resultados obtenidos

Esta metodología requiere realizar correctamente la punción, ya que de otra manera los resultados sobre la capacidad de limpieza pueden ser subestimados.

Un comportamiento interesante de analizar posteriormente fue que, al no punzar correctamente, la larva quedó viva y las nodrizas volvieron a sellar el orificio producido por la punción como se ilustra en la Fig. 5.D.

Respecto a la evaluación de la capacidad de grooming

En cuanto a la metodología de muestreo

El procedimiento es relativamente simple, pero requiere de la participación de al menos dos operarios para la correcta, rápida y efectiva colocación del piso técnico como se ilustra en la Fig. 6.B.

Es conveniente evaluar el tiempo de muestreo ya que en 7 días la cartulina dentro de la colmena se encuentra acumulando impurezas, deyecciones, hormigas y ácaros muertos lo que provoca el desarrollo de olores y



podría generar un ambiente propicio para el desarrollo de otros organismos. Este tiempo de muestreo podría reducirse a 24 horas siendo igualmente efectivo y minimizando la situación de estrés que genera en la colonia.

En cuanto a los resultados obtenidos

En el caso de la Colmena 10 estos fueron erróneos ya que las abejas consiguieron ingresar al piso técnico y limpiarlo lo que genera una subestimación del resultado.

CONCLUSIONES

La puesta en marcha de distintos ensayos simples para determinar infestación con varroa y comportamiento de las abejas en el marco de la Pasantía permitió que el pasante pueda:

Adquirir destrezas y habilidades en el trabajo a campo, de laboratorio, análisis con microscopía óptica y electrónica.

Detectar errores en el procedimiento en base a la lectura bibliográfica.

Comparar los resultados obtenidos por otros autores para la misma técnica.

Comunicar los resultados del trabajo realizado en las Jornadas Científicas de la UNNE y el Congreso Argentino de Apicultura.

Finalmente, los conocimientos adquiridos sobre sanidad y métodos sencillos de monitoreo y evaluación de comportamiento, podrán ser aplicados y transferidos a fin de mejorar prácticas apícolas en colmenas de la región.

REFERENCIAS

Amdam, G.V., Hartfelder, K., Norberg, K., Hagen, A. y Omholt, S.W. (2004). Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): a factor in colony loss during overwintering?. *Journal of Economic Entomology*, 97:741–747. <https://doi.org/10.1093/jee/97.3.741>

Aronstein, K. A., Saldivar, E., Vega, R., Westmiller, S., y Douglas, A. E. (2012). How Varroa parasitism affects the immunological and nutritional status of the honey bee, *Apis mellifera*. *Insects*, 3(3), 601-615.

Brodschneider, R. y Crailsheim, K. (2010). Nutrition and health in honeybees. *Apidologie*, 41: 278-294. <https://doi.org/10.1051/apido/2010012>.

Chen, Y.P. y Siede, R. (2007). Honey bee viruses. *Adv. Virus Res.*, 70: 33–80. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(07\)70002-7](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(07)70002-7)

De Jong, D., De Jong, P.H. y Gonçalves, L.S. (1982). Weight Loss and Other Damage to Developing Worker Honeybees from Infestation with *Varroa Jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research*, 21(3), 165-167. <http://dx.doi.org/10.1080/00218839.1982.11100535>

De La Sota, M. y Bacci, M. (2005). Enfermedades de las abejas: Manual de Procedimientos. SENASA. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/manual_enfermedades_abejas_senasa_abril2020.pdf

Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S.J., Anderson, D., Locke, B., Delaplane, K.S., Wauquiez, Q., Tannahill, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P. y Ellis, J.D. (2013) Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1): 1-54. <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.09>.

Duay, P., De Jong, D. y Engels, W. (2002). Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bee (*Apis mellifera*) slightly infested by varroa destructor mites during pupal development. *Genet. Mol. Res.* 1 (3), 227–232.

Duay, P., De Jong, D. y Engels, W. (2003). Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by varroa destructor mites. *Apidologie* 34 (1): 61–65. <https://doi.org/10.1051/apido:2002052>.

Frias, B.E.D., Barbosa, C.D. y Lourenço, A.P. (2016). Pollen nutrition in honeybees (*Apis mellifera*): impact on adult health. *Apidologie*, 47:15-25.

- Garcia, M.L.G., Plischuk, S., Bravi, C.M., y Reynaldi, F.J.** (2019). An overview on honeybee colony losses in Buenos Aires Province, Argentina. *Sociobiology*, 66(1), 75-80.
- Invernizzi, C., Zefferino I., Santos E., Sánchez L. y Mendoza Y.** (2015). Multilevel assessment of grooming behavior against *Varroa destructor* in Italian and Africanized honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 54:4, 321-327.
- Kralj, J., Brockmann, A., Fuchs, S. y Tautz, J.** (2007). The parasitic mite *Varroa destructor* affects non-associative learning in honey bee foragers, *Apis mellifera* L. *J. Compar. Physiol. A: Neuroethol. Sens. Neu. Behav. Physiol.*, 193 (3): 363-370. <https://doi.org/10.1007/s00359-006-0192-8>
- Kralj, J. y Fuchs, S.** (2006). Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie*, 37 (5), 577-587. <https://doi.org/10.1051/apido:2006040>
- Maggi, M., Ruffinengo, S., Damiani, N., Sardella, N. y Eguaras, M.** (2009a). A First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos in Argentina. *Experimental and Applied Acarology*, 47(4): 317-320.
- Maggi, M., Sardella, N., Ruffinengo, S. y Eguaras, M.** (2009b). Morphotypes of *Varroa destructor* mites in different geographic locations from Argentina. *Parasitology Research* 105(6): 1629. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1605-8>
- Maggi, M., Damiani, N., Ruffinengo, S., Principal, J., De Jong, D. y Eguaras, M.** (2010). Brood cell size of *Apis mellifera* modifies the reproductive behavior of *Varroa destructor*. *Experimental and Applied Acarology*, 50(3):269-79. <https://doi.org/10.1007/s10493-009-9314-7>
- Maggi, M., Medici, S., Quintana, S., Ruffinengo, S., Marcángeli, J., Gimenez Martínez, P., Fuselli, S. y Eguaras, M.** (2012a). Genetic structure of *Varroa destructor* populations infesting *Apis mellifera* colonies in Argentina. *Experimental and Applied Acarology*, 56(4): 309-318. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9526-0>.
- Maggi, M., Peralta, L., Ruffinengo, S. y Eguaras, M.** (2012b). Body size variability of *Varroa destructor* and its role in acaricide tolerance. *Parasitology Research*, 110(6): 2333-2340. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2768-7>.
- Maggi, M., Negri, P., Plischuk, S., Szawarski, N., De Piano, F., De Feudis, L., Eguaras, M. y Audisio, C.** (2013a). Effects of the organic acids produced by a lactic acid bacterium in *Apis mellifera* colony development, *Nosema ceranae* control and fumagillin efficiency. *Veterinary Microbiology*, 167(3-4): 474-483. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.07.030>.
- Maggi, M., Ruffinengo, S., Negri, P., Brasesco, C., Medici, S., Quintana, S., Szawarski, N., Gimenez Martínez, P., De Piano, F., Revainera, P., Mitton, G. y Eguaras, M.** (2013b). The status of bee health and colony losses in Argentina. En: *Honeybees: Foraging Behavior, Reproductive Biology and Diseases*. Ed. Cameron Molley. Nova Publishing Group.
- Maggi, M., Antúnez, K., Invernizzi, C., Aldea, P., Vargas, M., Negri, P., Brasesco, C., De Jong, D., Message, D., Teixeira, Principal, J., Barrios, C., Ruffinengo, S., Rodríguez, R. y Eguaras, M.** (2016). Honeybee health in South America. *Apidologie* 47, 835–854. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0445-7>
- Marcangeli, J.A.** (2000). Aplicación de una nueva técnica para determinar los niveles de infección de *Varroa jacobsoni* en colmenas de *Apis mellifera*. *Natura Neotropicalis* 31(1-2): 81-85.
- Martin, S.J.** (1998) A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling*, 109: 267–281.
- Mazepa, C.I., Salgado, C. y Maggi, M.D.** (2022). Evolución del estado sanitario en colmenas de *Apis mellifera* L. bajo distintas condiciones de manejo y su relación con el aporte nutricional del polen. *Agrotecnia*, 32: 34-56. <https://doi.org/10.30972/agr.0326339>
- Mondet, F., Beaupaire, A., McAfee, A., Locke, B., Alaux, C., Blanchard, S., ... y Le Conte, Y.** (2020). Honey bee survival mechanisms against the parasite *Varroa destructor*: a systematic review of phenotypic and genomic research efforts. *International journal for parasitology*, 50(6-7): 433-447.
- Morello, J., Matteucci, S.D., Rodríguez, A.F. y Silva, M.E.** (2012). Ecorregiones y complejos Ecosistémicos de Argentina. *Orientación Gráfica Editora*, Buenos Aires
- Murilhas A.M.** (2002). *Varroa destructor* infestation impact on *Apis mellifera carnica* capped worker brood production, bee population and honey storage in a Mediterranean climate. *Apidologie*, 33(3): 271-281.



Nganso, B.T., Fombong, A.T., Yusuf, A.A., Pirk, C.W.W., Stuhl, C. y Torto, B. (2017). Hygienic and grooming behaviors in African and European honeybees—New damage categories in *Varroa destructor*. PLoS ONE 12(6): e0179329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179329>

Noël, A., Le Conte, Y., y Mondet, F. (2020). *Varroa destructor*: how does it harm *Apis mellifera* honey bees and what can be done about it?. *Emerging Topics in Life Sciences*, 4(1), 45-57.

Porrini, L.P., Quintana, S., Brasesco, C., Porrini, M.P., Garrido, P.M., Eguaras, M.J., ... y Fernandez Iriarte, P. (2020). Southern limit of Africanized honey bees in Argentina inferred by mtDNA and wing geometric morphometric analysis. *Journal of Apicultural Research*, 59(4), 648-657.

Ramsey, S. D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J. D., Cohen, A., ... & vanEngelsdorp, D. (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(5), 1792-1801.

Requier, F., Antúnez, K., Morales, C.L., Aldea Sánchez, P., Castilhos, D., Garrido, P.M., ... y Garibaldi, L.A. (2018). Trends in beekeeping and honey bee colony losses in Latin America. *Journal of Apicultural Research*, 57(5), 657-662.

Rosenkranz, P. (1999). Honey bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie*, 30(2-3), 159-172.

Salgado, C.R. (2016). Caracterización botánica y geográfica de las mieles producidas por *Apis mellifera* L. en la provincia del Chaco, a partir de su composición polínica y parámetros físico-químicos. PhD Thesis, Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad del Nordeste (UNNE-IBONE), Corrientes, Argentina. 185pp.

Salgado, C.R. y Galíndez, M.C. (2023). Fast and simple biological sample preparation and observation procedure for scanning electron microscopy. *Acta Microscópica*, 32 (1): 13-26.

Salgado, C.R. y Pire, S.M. (1998). Análisis polínico de mieles del Noroeste de la provincia de Corrientes (Argentina). *Darwiniana*, 36(1-4): 87-93.

Salgado C.R. y Pire S.M. (1999). Contribución al conocimiento del contenido polínico de mieles de Corrientes (Argentina). *Ameghiniana*, A.P.A. publicación especial 6: 95-99.

Salgado, C.R., Pieszko, G. y Tellería, M.C. (2014). Aporte de la melisopalínología al conocimiento de la flora melífera de un sector de la Provincia Fitogeográfica Chaqueña, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 49(4): 513-524.

Salgado C.R., Tellería M.C y Coronel J.M. (2017). Botanical and geographical origin of honey from the dry and humid Chaco ecoregions (Argentina). *Grana*, 56 (6): 450-461. <https://doi.org/10.1080/00173134.2016.1276619>