

**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*.**

**Ciro Invernizzi**

Sección Etiología, Facultad de Ciencias. Iguá 4225, CP 14000, Montevideo, Uruguay.  
E-mail: ciro@fcien.edu.uy

**RESUMEN**

El comportamiento higiénico de las obreras de *Apis mellifera* consiste en la limpieza de las celdas operculadas que contienen larvas muertas. En su desarrollo se reconocen dos etapas: el desoperculado de las celdas y la posterior remoción de las larvas muertas. El objetivo de este trabajo fue determinar la importancia relativa de las etapas de desoperculado y remoción dentro del comportamiento higiénico y asociar estas etapas con la remoción de larvas vivas. Para ello se le presentó a cada una de las 20 colonias de un apiario un panal contenido (a) larvas muertas en celdas operculadas, (b) larvas vivas en celdas operculadas, (c) larvas muertas en celdas desoperculadas manualmente, y (d) larvas vivas en celdas desoperculadas manualmente. A las 24 horas se retiró el panal y se determinó a partir de (a) y (b) el número de celdas desoperculadas, de (c) el número de larvas removidas y de (d) el número de celdas reoperculadas por las abejas. Esta prueba se repitió 4 veces consecutivas. Los resultados indican que el reconocimiento de la muerte de la cría seguido del desoperculado de las celdas, es la etapa del comportamiento higiénico donde las abejas encuentran mayor dificultad, pese a haber diferencias entre las colonias. En cambio, las abejas realizan sin problemas la remoción de las larvas muertas, independientemente de la capacidad mostrada para realizar la etapa anterior. El reoperculado de las celdas con larvas vivas fue muy variable, pero no estuvo asociado a la capacidad de desopercular celdas. Entonces, la remoción "equivocada" de larvas sanas por abejas muy higiénicas (posiblemente debida a un bajo umbral para detectar cría muerta debajo del opérculo), no parece constituir una presión de selección contraria a la fijación de un eficiente comportamiento higiénico.

**Palabras claves:** Abejas melíferas, *Apis mellifera*, comportamiento higiénico, resistencia.

**ABSTRACT**

**Importance of uncapping and removal in the hygienic behaviour and its relation with live larvae removal in the bee *Apis mellifera*.**

The hygienic behaviour of *Apis mellifera* workers consists in cleaning capped cells containing dead larvae. Two steps can be recognized: cell uncapping and removal of dead larvae. The goal of this paper was to establish the relative importance of each one of the two steps for the hygienic behaviour and associate this steps with the removal of healthy larvae. Each one of the 20 colonies of an apiary was presented with a comb containing (a) dead larvae in capped cells, (b) healthy larvae in capped cells, (c) dead larvae in manually uncapped cells, and (d) healthy larvae in manually uncapped cells. After 24 hours the comb was retired and for (a) and (b) treatments the number of uncapped cells,

for (c) treatment the number of removed larvae and for (d) the number of recapped cells were determined. This essay was repeated 4 times consecutively. Results show that the recognition of larvae death followed by cell uncapping is the step where the bees find great difficulty, even if there are differences among the colonies. Nevertheless, bees perform correctly the dead larvae removal independently of the capabilities showed in the anterior step. Cell recapping was highly variable in cells with healthy larvae, but it was not associated with cell uncapping abilities. Thus, the "wrong" removal of healthy larvae by highly hygienic bees (probably due to a low threshold for detecting dead larvae under the cap) does not constitute a selective constraint against the fixation of an efficient hygienic behaviour.

**Key Words:** Honey bees, *Apis mellifera*, hygienic behaviour, resistance.

## INTRODUCCIÓN

En las abejas melíferas se denomina comportamiento higiénico a la limpieza de las celdas que contienen larvas muertas operculadas. Esta limpieza es realizada por las obreras, reconociéndose dos etapas: primero el desoperculado de las celdas y luego la remoción de las larvas muertas. Inicialmente, el comportamiento higiénico fue investigado como un mecanismo de resistencia a la enfermedad de la cría llamada Loque Americana, causada por la bacteria *Paenibacillus larvae* (Park, 1937; Woodrow & Holst, 1942; Rothenbuhler, 1964). En los últimos años este comportamiento ha sido considerado importante para controlar también la Varroasis, provocada por el ácaro parásito *Varroa jacobsoni* (Boecking & Drescher, 1992; Spivak, 1996), y la Ascisferiosis, cuyo responsable es el hongo *Ascospaera apis* (Gilliam *et al.*, 1988; Spivak & Gilliam, 1993). Las tres patologías mencionadas matan o dañan a la cría, cuando las celdas ya han sido operculadas para iniciar la fase de pupa.

El comportamiento higiénico de las colonias se evalúa habitualmente a partir de la presentación, durante 24 o 48 horas, de un panal con larvas muertas operculadas y contabilizando posteriormente el número de celdas totalmente limpias. O sea, se exige una remoción completa de las larvas muertas por parte de las abejas. Los métodos más comunes para matar las larvas son el congelamiento o el pinchazo con un alfiler entomológico a través del opérculo (Newton & Ostasiewski, 1986; Spivak & Downey, 1998; Spivak & Gilliam, 1998). Cualquiera sea la técnica de evaluación utilizada, se considera que el desoperculado y la remoción son etapas de similar dificultad para las abejas, y no se le atribuye a ninguna de ellas mayor peso dentro del comportamiento higiénico.

Rothenbuhler (1964), estudiando los aspectos hereditarios de este comportamiento, encontró que las actividades de desoperculado y de remoción responden cada una en forma independiente a la presencia de un único gen recesivo. De este modo, solamente las abejas doble recesivas realizarían el comportamiento higiénico completo.

Cuando se evalúa repetidamente el comportamiento higiénico de un grupo de colonias, éstas presentan muchas diferencias entre sí y cada una entre las diferentes pruebas, con excepción de las colonias consideradas muy higiénicas (las que limpian más del 80 % de las celdas en 24 horas), que presentan valores muy similares en todas ellas (Invernizzi & Corbella, 2000). Parte de la variabilidad encontrada se puede explicar por influencias ambientales (por ejemplo, flujos de néctar) y coloniales (por ejemplo, reducción de la población adulta y estructura de edad de la colonia) (Thompson, 1964; Momot & Rothenbuhler, 1971; Spivak & Gilliam,

1993).

Considerando la importancia que se le atribuye al comportamiento higiénico en la resistencia a enfermedades larvales, resulta llamativo desde el punto de vista evolutivo que su manifestación no alcance valores óptimos en todas las colonias, sino que, por el contrario, las diferencias en la naturaleza sean tan marcadas. Sobre este punto, Seeley (1985) sugiere que las abejas muy higiénicas, eventualmente podrían remover de las celdas larvas viables, debido a un bajo umbral para detectar larvas muertas debajo del opérculo, costo que podría impedir la fijación de un eficiente comportamiento higiénico. En este sentido, Spivak y Gilliam (1993) trabajando con colonias de abejas higiénicas y no higiénicas en colmenas de observación, no encontraron diferencias entre estos dos grupos en la capacidad de reopercular celdas conteniendo larvas vivas, luego de que éstas se desopercularan manualmente. Estas autoras parten de colonias ya seleccionadas hacia extremos opuestos respecto al comportamiento higiénico, de modo que éste comportamiento no se evaluó conjuntamente con el de reoperculado de celdas conteniendo cría viable, ambos sujetos a las mismas condiciones ambientales y coloniales.

El objetivo de este trabajo es determinar la importancia relativa de las etapas de desoperculado y remoción dentro del comportamiento higiénico y conjuntamente asociar estas etapas con la remoción de larvas vivas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó un apiario formado por 20 colonias ubicadas en colmenas de cuadros móviles tipo Langstroth. La población adulta de todas las colonias cubría al menos los 10 marcos de la cámara de cría y todas contaban con más de 4 marcos con cría. Las diferencias de tamaño de la población adulta y de cría entre las colonias y el desarrollo primaveral de las mismas no incide en la manifestación del comportamiento higiénico (Invernizzi & Corbella, 1996; Palacio et al., 1996). A cada una de las colonias se le realizaron 4 pruebas sucesivas durante los días soleados de los meses de noviembre y diciembre, entre las 10 y 17 horas, cuando las abejas podían salir a pecorear al campo. En cada prueba se tomó un panal con cría conteniendo celdas recién operculadas (larvas de 9 a 12 días de edad) y se marcaron en su superficie cuatro áreas con los siguientes tratamientos:

- Área 1: Celdas con larvas recién operculadas, matadas con un alfiler entomológico a través del opérculo (aproximadamente 100 celdas).
- Área 2: Celdas con larvas recién operculadas, que actuaron como testigo del Área 1 (aproximadamente 50 celdas).
- Área 3: Celdas con larvas muertas (como en el Área 1) pero desoperculadas manualmente (aproximadamente 50 celdas) (en las colonias N° 2 y 9 se hicieron sólo 3 pruebas por no disponer del número suficiente de celdas recién operculadas).
- Área 4: Celdas con larvas vivas recién operculadas y que fueron desoperculadas manualmente (aproximadamente 100 celdas).

Las áreas de celdas experimentales se identificaron con clavos que se insertaron en los extremos de las filas de celdas. Los panales fueron reintroducidos en el nido y se retiraron a las 24 horas para registrar la actividad realizada por las abejas.

A partir del número observado de celdas desoperculadas por las abejas en el Área 1, se estimó la Tasa de Desoperculado (DO) en porcentaje. Se consideró que una celda estaba

desoperculada cuando el orificio hecho por las abejas superó el 75 % de la superficie del mismo. En los casos en que en el Área 2 (testigo) se desopercularan celdas, el valor de DO se corrigió restándole el valor porcentual de las celdas desoperculadas en esta última área.

En el Área 3 se contabilizaron las celdas totalmente limpias para determinar la Tasa de Remoción (R) en porcentaje. Además se registró el número de celdas que fueron reoperculadas por las abejas y las que contenían restos larvales.

En el Área 4 se tuvieron en cuenta el número de celdas reoperculadas para obtener la Tasa de Reoperculado (RO) en porcentaje. También se registró el número de celdas limpiadas por las abejas y aquellas en las que aparecieron larvas enteras sin reopercular.

## RESULTADOS

Los valores de DO, R y RO encontrados en las 4 pruebas realizadas a las colonias se detallan en la Tabla 1, 2 y 3.

- Áreas 1 y 2: Las DO encontradas (Tabla 1) muestran que hay colonias que mantuvieron valores elevados en las cuatro pruebas (colonias Nº 1 a 14), mientras que otras presentaron valores más variables con promedios intermedios (colonias Nº 15, 16 y 17), o bajos (colonias Nº 18, 19 y 20). En algunas pruebas, además de las celdas operculadas y de las celdas

**Tabla 1.** Valores de Tasa de Desoperculado (DO) obtenidas a partir del número de celdas desoperculadas en el Área 1 en las cuatro pruebas realizadas a 20 colonias. Las colonias están ordenadas según un orden decreciente de los valores promedios de DO.

Col Nº	Prueba Nº 1	Prueba Nº 2	Prueba Nº 3	Prueba Nº 4	Promedio
	DO	DO	DO	DO	DO
1	97,8	97,5	97,8	98,3	97,8 ± 0,3
2	94,8	97,0	100	99,1	97,7 ± 2,3
3	79,7	100	97,3	98,0	93,7 ± 9,4
4	96,0	87,1	97,1	92,2	93,1 ± 4,5
5	95,0	94,1	99,1	84,4	93,1 ± 6,2
6	90,9	93,9	90,9	96,5	93,0 ± 2,8
7	95,8	86,4	90,7	99,0	93,0 ± 5,6
8	84,8	93,7	94,7	94,9	92,0 ± 4,8
9	75,6	90,7	96,9	100	90,8 ± 10,8
10	86,4	92,3	93,2	84,4	89,1 ± 4,3
11	80,0	100	68,2	94,5	85,7 ± 14,4
12	93,6	75,8	70,7	99,0	84,8 ± 13,6
13	89,7	57,3	89,8	93,7	82,6 ± 17,0
14	99,1	71,7	90,5	66,7	82,0 ± 15,3
15	85,8	63,6	67,4	91,7	77,1 ± 13,7
16	69,0	81,0	91,9	64,3	76,6 ± 12,4
17	84,7	33,9	77,7	90,5	71,7 ± 25,7
18	54,0	65,0	36,4	88,3	60,9 ± 21,7
19	71,9	41,9	37,0	78,0	57,2 ± 20,7
20	58,4	46,8	31,5	61,0	49,4 ± 13,4

**Tabla 2.** Valores de Tasa de Remoción (R) obtenidas a partir del número de celdas totalmente limpias en el Área 3 en las 4 pruebas realizadas a 20 colonias. También se incluyen los porcentajes de celdas reoperculadas (CR) y de celdas con restos larvales (RL) encontradas en esta área. El guión (-) indica las dos pruebas en las que el Área 3 no pudo ser marcada.

Col Nº	Prueba Nº 1			Prueba Nº 2			Prueba Nº 3			Prueba Nº 4			Promedio R
	R	CR	RL	R	CR	RL	R	CR	RL	R	CR	RL	
1	100	0	0	94,8	5,2	0	100	0	0	100	0	0	98,7 ± 2,6
2	96,4	3,6	0	100	0	0	100	0	0	97,2	2,8	0	98,4 ± 1,9
3	100	0	0	100	0	0	95,9	4,1	0	100	0	0	99,0 ± 2,0
4	100	0	0	97,9	2,1	0	100	0	0	98,2	0	1,8	99,0 ± 1,1
5	100	0	0	97,7	2,3	0	96,6	3,4	0	95,9	0	4,1	97,6 ± 1,8
6	100	0	0	85,5	4,8	9,7	100	0	0	100	0	0	96,4 ± 7,25
7	100	0	0	100	0	0	100	0	0	97,9	2,1	0	99,5 ± 1,0
8	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100 ± 0,0
9	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100 ± 0,0
10	100	0	0	97,9	2,1	0	100	0	0	100	0	0	99,5 ± 1,0
11	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100 ± 0,0
12	100	0	0	100	0	0	98,3	0	1,7	100	0	0	99,6 ± 0,8
13	100	0	0	61,8	14,7	23,6	85,4	14,6	0	100	0	0	86,8 ± 18,0
14	100	0	0	97,5	2,5	0	100	0	0	96,4	0	3,6	98,5 ± 1,8
15	100	0	0	97,3	2,7	0	80,0	20,0	0	100	0	0	94,3 ± 9,6
16	95,7	0	4,3	91,1	8,9	0	92,9	0	7,1	94,1	0	5,9	93,4 ± 1,9
17	100	0	0	74,6	25,4	0	100	0	0	94,1	0	5,9	92,2 ± 12,0
18	97,9	2,1	0	-	-	-	84,6	7,7	7,7	98,4	0	1,6	93,6 ± 7,8
19	95,3	4,7	0	100	0	0	88,1	0	11,9	86,0	0	14,0	92,3 ± 6,5
20	100	0	0	94,7	5,3	0	97,1	2,9	0	-	-	-	97,3 ± 2,6

limpias, se encontraron unas pocas celdas desoperculadas con restos larvales que no fueron registradas.

- Área 3: En 24 horas, la remoción de las larvas muertas fue prácticamente total en todas las colonias a lo largo de las cuatro evaluaciones (Tabla 2). Los valores promedios de R se ubicaron por encima de 90 % con la única excepción de la colonia N° 13 (86,8 %), indicando que la remoción es una actividad que las abejas realizan sin dificultad, independientemente de los valores de DO presentados por las colonias. Repetidas veces se pudo apreciar celdas experimentales limpias en las que las abejas ya habían depositado néctar y polen. Ante la contundencia de los resultados no se realizó ninguna constatación estadística de la independencia de la R respecto a las DO y RO mostradas por las colonias. Entre las escasas celdas no limpiadas por las obreras se encontraron celdas operculadas y/o con restos larvales. La primera situación sólo apareció en 22 de las 78 pruebas realizadas en el apiario. Los valores más altos corresponden a la segunda prueba de la colonia N° 17 (25,4 %) y a la tercera prueba de la colonia N° 15 (20,0 %). En 18 pruebas los valores fueron menores a 9 %. Las celdas con restos larvales se encontraron únicamente en 14 de las 78 pruebas y el valor más alto corresponde a la segunda prueba de la colonia N° 13 (23,6 %).

- Área 4: La capacidad de reconocer la cría viva desoperculada experimentalmente y reopercularla (RO) apareció en la mayoría de las colonias como un comportamiento muy variable (Tabla 3), pero no asociado a la TD ( $r = -0,151$ ;  $P > 0,05$ ). Todas las celdas que no fueron reoperculadas se encontraron vacías en 62 de las 80 pruebas realizadas. Sin embargo, en 18 pruebas aparecieron larvas intactas en celdas desoperculadas. En 17 ocasiones el número de celdas en esta situación estuvo por debajo del 11 % mientras que en la cuarta prueba de la colonia N° 10 se encontró un valor excepcionalmente alto (30,5 %).

**Tabla 3.** Valores de Tasa de Reoperculado (RO) obtenidas a partir del número de celdas reoperculadas en el Área 4 en las cuatro pruebas realizadas a 20 colonias. También se incluyen los porcentajes de celdas totalmente limpias (CL) y de celdas conteniendo larvas intactas sin opercular (L) en esta área.

Col Nº	Prueba N° 1			Prueba N° 2			Prueba N° 3			Prueba N° 4			Promedio RO
	RO	CL	L	RO	CL	L	RO	CL	L	RO	CL	L	
1	37,4	62,6	0	70,9	24,6	4,5	80,0	20,0	0	54,2	45,8	0	60,6 ± 18,8
2	78,1	21,9	0	73,0	27,0	0	89,0	11,0	0	84,4	15,6	0	81,1 ± 7,0
3	95,7	4,3	0	85,8	14,2	0	94,3	5,7	0	97,4	2,6	0	93,3 ± 5,1
4	56,6	43,4	0	81,8	10,1	8,1	74,3	22,8	2,9	93,0	7,0	0	76,4 ± 15,3
5	93,0	3,0	4,0	93,7	6,3	0	90,4	9,6	0	95,6	4,4	0	93,2 ± 2,1
6	63,4	36,6	0	82,6	17,4	0	90,3	9,7	0	41,3	58,7	0	69,4 ± 21,9
7	88,7	11,3	0	74,5	25,5	0	100	0	0	93,5	3,7	2,8	89,2 ± 10,8
8	80,5	19,5	0	94,9	5,1	0	73,4	26,6	0	93,0	7,0	0	85,4 ± 10,3
9	60,0	40,0	0	77,9	11,6	10,5	62,6	37,4	0	90,9	9,1	0	72,8 ± 14,4
10	64,8	35,2	0	77,1	22,9	0	58,4	41,6	0	46,3	23,2	30,5	61,6 ± 12,8
11	91,8	8,2	0	92,0	8,0	0	93,7	6,3	0	96,1	3,9	0	93,4 ± 2,0
12	79,1	20,9	0	51,5	48,5	0	90,4	3,9	5,7	75,0	22,1	2,9	74,0 ± 16,3
13	75,6	24,4	0	88,5	9,4	2,1	81,5	18,5	0	75,0	14,8	10,2	80,1 ± 6,3
14	90,5	9,5	0	64,8	33,6	1,6	80,2	19,8	0	98,1	1,9	0	83,4 ± 14,4
15	93,1	6,9	0	75,0	23,8	1,2	95,4	4,6	0	91,4	8,6	0	88,7 ± 9,3
16	83,7	16,3	0	98,0	2,0	0	98,1	1,9	0	92,9	7,1	0	93,2 ± 6,8
17	57,1	42,9	0	96,4	3,6	0	74,8	25,2	0	97,8	2,2	0	81,5 ± 19,4
18	86,0	14,0	0	88,5	5,8	5,7	83,9	13,8	2,3	58,5	41,5	0	79,2 ± 13,9
19	82,5	17,5	0	92,6	7,4	0	94,5	5,5	0	98,8	1,2	0	92,1 ± 6,9
20	87,6	12,4	0	62,3	33,8	3,9	85,7	8	6,3	78,1	14,1	7,8	78,4 ± 11,5

## DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que todas las colonias remueven prácticamente la totalidad de la cría muerta desoperculada manualmente en 24 horas, indicando que la remoción es una etapa que no presenta dificultad en el desarrollo del comportamiento higiénico total. El mayor peso de este proceso recae en el desoperculado de las celdas, que implica el previo reconocimiento de la muerte de las larvas a través del opérculo. Para ésto las abejas adultas tendrían en cuenta la falta de movimiento (Visscher, 1980), la pérdida de temperatura (Gramacho *et al.*, 1998), o estímulos provenientes de la hemolinfa de las larvas muertas (Spivak y Downey, 1998).

De esta forma, la evaluación experimental del comportamiento higiénico en el campo se puede reducir a medir la capacidad de desoperculado de las celdas con cría muerta por parte de una colonia. Considerar únicamente las celdas limpias en la evaluación puede conducir a subestimar el comportamiento higiénico de las colonias.

Iguales resultados obtuvieron Spivak y Gilliam (1993) colocando panales con pupas muertas por enfriamiento y desoperculadas manualmente dentro de colonias higiénicas y no higiénicas. En ambos tipos de colonias la remoción fue completa en 24 horas. De todos modos, las investigadoras no plantean que la etapa de desoperculado sea la más relevante del comportamiento higiénico.

En algunas pruebas del Área 1 aparecieron celdas con pequeños restos larvales, seguramente correspondientes a las celdas que se desopercularon en las últimas horas de la prueba, debido a lo cual las abejas podrían no haber tenido tiempo para completar la remoción de las larvas muertas (ingiriéndolas o eventualmente retirándolas enteras). Normalmente, este fenómeno es considerado, a mi juicio, equivocadamente por los investigadores como una insuficiencia de las abejas para completar la limpieza de las celdas.

Otro resultado inesperado es la aparición de algunas celdas operculadas en el Área 3, en donde las larvas se mataron y las celdas se desopercularon manualmente. Posiblemente las abejas no reconocieron en estos casos la muerte de la cría, e iniciaron el reoperculado de la celda como si estuviera viva. Este fenómeno podría explicar la presencia de los escasos restos larvales encontrados en esta área, ya que las celdas reoperculadas seguramente se vuelven a desopercular para limpiarlas. Otra explicación es que las larvas no hayan muerto por el pinchazo del alfiler, Spivak y Downey (1998) encontraron que el 30 % de la cría pinchada desde el fondo de las celdas sobrevive al tratamiento (las investigadoras utilizaron cajas Jenter de experimentación). Algunos ensayos realizados anteriormente mostraron que efectivamente había un pequeño porcentaje de cría que no moría al pincharlas a través del opérculo (datos no publicados). De todos modos, la efectividad del proceso es total cuando el alfiler se introduce en el centro del opérculo en forma vertical y se mueve de arriba a abajo. Además, el desoperculado de la mayoría de las celdas del Área 1 en las cuatro pruebas por parte de algunas colonias (por ejemplo las colonias Nº 1 a 9 manifestaron un DO superior a 90 %) y la remoción casi total de la cría del Área 3 por todas las colonias (como lo indican los elevados valores de R promedio), contradicen los niveles de sobrevivencia al método del pinchazo planteado por Spivak y Downey.

Rothenbuhler (1964) consiguió seleccionar abejas incapaces de retirar larvas muertas por la enfermedad de Loque Americana, aún después de desopercular las celdas manualmente. Estos resultados, contrarios a los obtenidos en este trabajo, fueron muy cuestionados por Moritz (1988), tanto por el modelo de herencia del comportamiento higiénico extremadamente sencillo que Rothenbuhler plantea, como por el proceso de selección de las colonias resistentes y susceptibles a la Loque Americana utilizadas en el experimento. Estas colonias con un alto grado de endocría podrían mantener alelos o combinaciones de alelos raros. Además, en las experiencias de Rothenbuhler las obreras debían remover larvas muertas por Loque Americana, las que presentan un aspecto totalmente diferente al de las larvas sanas ya que son de color amarillo-marrón, de muy mal olor y de textura elástica, aspecto que se utiliza para la diagnosis de la enfermedad (Bailey & Ball, 1991). Es probable que las abejas de la línea susceptible a la Loque Americana presentasen aversión a las larvas en este estado y no las ingriesen, pero no tuvieran dificultad en remover las larvas que habitualmente mueren por otros motivos (enfriamiento, zánganos diploides, etcétera). Sobre este punto no hay referencias en los trabajos de

Rothenbuhler.

El hecho de plantear el reconocimiento de la muerte de la cría a través del opérculo, y el consecuente desoperculado de la celda como la etapa clave del comportamiento higiénico, concuerda con el hecho de que la cría abierta (larvas de 0 a 5 días de edad) no presenta patologías importantes, seguramente debido a la rápida remoción de las larvas enfermas. La enfermedad más difundida a nivel mundial es la Loque Europea, causada por la bacteria *Melissococcus pluton*, y su aparición es estacional causando poco daño a las colonias (Bayley & Ball, 1991). En cambio, la Loque Americana, la Varroasis y la Ascoseferosis, las tres enfermedades de la cría que más daño causan a las colonias, se desarrollan una vez que las larvas son operculadas. Es de destacar que más allá del origen diverso del agente patógeno (bacterias, ácaros, hongos), todos aprovechan el carácter "protector" que ejerce el opérculo sobre la cría, dificultando a las abejas adultas la detección clara de anomalías en el desarrollo de la misma.

Respecto al reconocimiento de las larvas vivas en celdas desoperculadas (medido por el reoperculado de las celdas en el Área 4), éste no se relacionó estadísticamente con la detección de las larvas muertas en celdas operculadas (medido por el desoperculado de las celdas en el Área 1). Como ya vimos, esta última actividad constituye la etapa más importante del comportamiento higiénico. Por tanto, es difícil que la remoción equivocada de larvas sanas constituya una presión de selección contraria a la fijación de un eficiente comportamiento higiénico. Spivak y Gilliam (1993) en un experimento similar, pero utilizando colonias seleccionadas para altos y bajos niveles de limpieza, tampoco encontraron diferencias en el reoperculado de las celdas. Estas investigadoras plantean que la manifestación del comportamiento higiénico es facultativa, dependiendo del tamaño y la composición de la colonia, y sugieren que las abejas pueden optar por no remover una larva enferma para no dispersar esporas en el nido. Recientemente se encontró que en *Apis cerana* las abejas no desoperculaban celdas de zánganos parasitados con *Varroa jacobsoni* (Boecking, 1999). Desde esta perspectiva la opción de dejar en las celdas operculadas las larvas enfermas tiene valor adaptativo y podría considerarse dentro de los comportamientos de resistencia de las abejas.

Las diferencias de comportamiento higiénico entre las distintas colonias podrían explicarse, en otra línea de razonamiento, si se tiene en cuenta que las colonias encabezadas por reinas libremente apareadas, están conformadas por varios grupos de medias hermanas, de acuerdo al número de zánganos que hayan copulado con la reina. Es posible que para que la colonia manifieste un buen comportamiento higiénico, alcance con poseer un conjunto pequeño de grupos de medias hermanas capaces de realizar una limpieza eficiente. En este sentido, se debe considerar la influencia que tiene el genotipo de las abejas en la distribución de actividades de la colonia (Frumhoff & Baker, 1988; Robinson & Page, 1988). Como genotipos diferentes tienen distinta predisposición a responder a un estímulo, puede ocurrir que las abejas más higiénicas inviertan más tiempo en limpiar panales que las menos higiénicas, en detrimento de otras tareas. Así, una colonia fenotípicamente higiénica, podría albergar muchas obreras no higiénicas que no fueran contraseleccionadas a nivel colonial. De este modo, podrían vivir y reproducirse reinas y zánganos que no trasmisirán los caracteres para formar colonias higiénicas. Al respecto, Trump *et al.* (1967), mezclando en diferentes proporciones abejas seleccionadas, higiénicas y no higiénicas, determinaron que la mínima proporción de abejas higiénicas que debe tener una colonia no higiénica para que limpие los panales de cría es entre 13 y 50 %. En cambio, Spivak y Gilliam (1993) no consiguieron mejorar la respuesta de limpieza de colonias no higiénicas agregando 20-30 % de abejas higiénicas entre 2 y 7 días de edad. Es posible que los resultados de este último experimento estuviesen condicionados por la edad de las

abejas agregadas, ya que Invernizzi y Corbella (1999) encontraron que la edad media de las abejas que desoperculán las celdas y remueven las larvas muertas es de 11,7 y 11,4 respectivamente.

## AGRADECIMIENTOS

A Marila y Bettina por la lectura crítica del trabajo. A dos revisores anónimos por sus valiosas sugerencias que mejoraron el manuscrito. Este trabajo es parte de una tesis de Mestría realizada dentro del Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA).

## BIBLIOGRAFÍA

- Bailey, L. y Ball, B. V. 1991. Honey Bee Pathology. Academic Press, London. 193 pp.
- Boecking, O. 1999. Sealing up and non-removal of diseases *Varroa jacobsoni* infested drone brood cells is part of the hygienic behaviour in *Apis cerana*. Journal of Apicultural Research, 38: 159-168.
- Boecking, O. y 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.
- Frumhoff, P. C. y Baker, J. 1988. A genetic component to division of labour within honey bee colonies. Nature, 333: 358-361.
- Gilliam, M., Taber, S. III, Lorenz, B. J. y Prest, D. B. 1988. Factors affecting development of chalkbrood disease in colonies of honey bees, *Apis mellifera*, fed pollen contaminated with *Ascospaera apis*. Journal of Invertebrate Pathology, 52: 314-325.
- Gramacho, K. P., Gonçalves, L. S. y Rosenkranz, P. 1998. Study of the temperature of brood killed by the pin-killing method in worker bees of *Apis mellifera carnica*. Apicta, 33: 33-41.
- Invernizzi, C. y Corbella, E. 1996. Consideraciones sobre el test de comportamiento higiénico. V Congreso Ibero Latinoamericano de Apicultura, Mercedes, Uruguay: 78-79.
- Invernizzi, C. y Corbella, E. 1999. Edad de las obreras que realizan comportamiento higiénico y otros comportamientos en las abejas *Apis mellifera*. Revista de Etología, 2: 79-87.
- Invernizzi, C. y Corbella E. 2000. Presencia de colonias de abejas melíferas con eficiente comportamiento higiénico en apiarios de producción en Uruguay. Trabajos del XVI Congreso de la Sociedad Latinoamericana de Producción Animal (CD-Rom).
- Momot, J. P. y Rothenbuhler, W. C. 1971. Behaviour 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.
- Moritz, R. F. A. 1988. A reevaluation of the two locus model for hygienic behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.). Journal of Heredity, 79: 257-262.
- Newton, D. C. y Ostasiewski, N. J. Jr. 1986. A simplified bioassay for behavioral resistance to American foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.). American Bee Journal, 126: 278-281.
- Palacio, M. A., Figini, E., Rodriguez, E., Del Hoyo, M., Ruffinengo, S. y Bedascarrasbure, E. 1996. Relación entre el comportamiento higiénico en *Apis mellifera* y la fortaleza de la

- colonia. V Congreso Ibero Latinoamericano de Apicultura, Mercedes, Uruguay: 153.
- Park, O. W. 1937. Testing for resistance to American foulbrood in honeybees. *Journal of Economic Entomology*, 30: 504-512.
- Robinson, G. E. y Page, R. E. 1988. Genetic determination of guarding and undertaking in honey bee colonies. *Nature*, 333: 356-358.
- Rothenbuhler, W. C. 1964. Behavior genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F1 and back-cross generations to disease-killed brood. *American Zoologist*, 4: 111-123.
- Seeley, T. D. 1985. Honeybee ecology: a study of adaptation in social life. Princeton University Press, New York. 201pp.
- Spivak, M. 1996. Honey bee hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 27: 245-260.
- Spivak, M. y Downey, D. L. 1998. Field assays for hygienic behavior in honey bees (Apidae: Hymenoptera). *Journal of Economic Entomology*, 91: 64-70.
- Spivak, M. y Gilliam, M. 1993. Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. *Journal of Apicultural Research*, 32: 147-157.
- Spivak, M. y Gilliam, M. 1998. Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and varroa. *Bee World*, 79: 169-186.
- Thompson, V. C. 1964. Behaviour 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.
- Trump, R. F., Thompson, V. C. y Rothenbuhler, W. C. 1967. Behaviour genetics of nest cleaning in honeybees: V. Effect of previous experience and composition of mixed colonies on response to disease-killed brood. *Journal of Apicultural Research*, 3: 25-30.
- Visscher, P. K. 1980. Adaptations of honey bees (*Apis mellifera*) to problems of nest hygiene. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 5: 249-260.
- Woodrow, A. W. y Holst, E. C. 1942. The mechanism of colony resistance to American foulbrood. *Journal of Economic Entomology*, 35: 327-330.