

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**ESTUDIO DEL DESARROLLO DE LA CÁMARA DE CRÍA DE COLMENAS
SANAS Y AFECTADAS POR EL “MAL DEL RÍO”, UTILIZANDO ANÁLISIS DE
IMÁGENES**

"por"

Br. Sofía BALBUENA
Br. Nadia COPPOLA
Br. Pablo JURI*

TESIS DE GRADO presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de Doctor en
Ciencias Veterinarias
Orientación: Tecnología de los Alimentos
Producción animal*

MODALIDAD: Ensayo experimental

MONTEVIDEO

URUGUAY

2017

II. PÁGINA DE APROBACIÓN

TESIS aprobada por:

Presidente de Mesa:

Dr. Gustavo CASTRO

Segundo Miembro:

Dr. Enrique NOGUEIRA

Tercer Miembro:

Dr. Juan CALVO

Cuarto Miembro:

Dra. Graciela PEDRANA

Fecha:

17/08/17

Autores:

Br. Sofía BALBUENA

Br. Nadia COPPOLA

Br. Pablo JURI

III. AGRADECIMIENTOS

En principio queremos agradecerle al Dr. Enrique Nogueira por habernos brindado la oportunidad de participar en este trabajo.

A la Dra. Graciela Pedrana por su co-tutoría.

Al personal de Biblioteca por la ayuda brindada a la hora de como citar ciertos trabajos y por la corrección de la bibliografía que fue utilizada para el armado de esta tesis.

A nuestros padres por habernos apoyado a lo largo de todo este proceso, así como por creer en nosotras y nunca dudar de nuestro potencial.

A nuestras familias por su apoyo incondicional y por su confianza durante toda nuestra carrera.

A nuestros amigos y compañeros por ayudarnos y acompañarnos en estos años de estudio.

Tabla de contenido

II. PÁGINA DE APROBACIÓN	2
III. AGRADECIMIENTOS	3
IV. LISTADO DE FIGURAS.....	5
RESUMEN	8
SUMMARY.....	9
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
1.Historia de la apicultura y la evolución de las abejas.....	10
2.La taxonomía de la abeja.....	12
3.A. Eusocialidad. La colonia de abejas y sus habitantes. Ciclo de vida.	13
3.B. Genética de la abeja. Integrantes de la colmena y etapas del desarrollo.	13
3.C. Ciclo biológico de los integrantes de la colmena.	20
3.D. Ciclo natural de una colmena. Mortalidad, despoblamiento y colapso.	23
4. A. Definición de Apicultura. Diferentes productos obtenidos de la colmena de las abejas Apis mellifera.....	25
4.B. Importancia de la polinización en el mundo.	26
5. La Apicultura en el Uruguay.....	27
6. Pérdidas de colonias en USA, Europa y en Uruguay.	29
7. Enfermedades de las Abejas.	30
8. Intoxicaciones.....	40
9. Mal del Rio.....	42
HIPÓTESIS.....	45
OBJETIVOS.....	45
MATERIALES Y MÉTODOS	45
1.Material vivo y equipamiento utilizado.....	45
2.Apiarios de Seguimiento	46
3. Fotografía de la Cámara de Cría.....	46
4. Procesamiento de las imágenes	49
5. Análisis Estadístico	52
RESULTADOS.....	52
DISCUSIÓN	56
CONCLUSIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	59
ANEXOS	67

IV. LISTADO DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Una “cosecha” de miel en la época prehistórica (gruta de la Araña, Bicorp, provincia de Valencia.	10
Figura 2. Pintura en la tumba 100 de Rekhmire, Cisjordania, Egipto superior 1450 a.C.....	11
Figura 3. Comportamiento normal en las colmenas de abejas Apis mellifera. Imagen extraída del artículo científico: Genética del comportamiento: Abejas como modelo.....	14
Figura 4. Duración del ciclo de desarrollo de la reina, la obrera y del zángano.....	15
Figura 5. Abeja reina.....	15
Figura 6. Esquema de cuadro de una colmena que muestra parte del área de cría, mostrando ambos lados del mismo.	16
Figura 7. Abeja obrera.....	17
Figura 8. Distribución de las diferentes tareas de las abejas obreras dentro y fuera de la colmena.....	18
Figura 9. Representación simplificada de las tareas de las abejas obreras a lo largo de su vida y de cómo estas se distribuyen dentro de la colmena.....	19
Figura 10. Zángano.....	20
Figura 11. Ciclo de vida de los miembros de la colmena.....	21
Figura 12. Cuadro que contiene diferentes áreas: 1 cría de obreras operculadas; 2 cría de obrera abierta; 3 celdas con polen; 4 celdas con miel.....	22
Figura 13. Ciclo natural de una colmena a lo largo de dos años en el Uruguay.....	23
Figura 14. Tabla esquemática sobre los diferentes procesos patológicos en las abejas y sus características, siendo la muerte, debilitamiento, despoblamiento y colapso de colonias de abejas	24
Figura 15. Número y porcentaje de apicultores y de colmenas dividido en 5 zonas.....	28
Figura 16. Mapa de Uruguay dividido según número de colmenas por departamento.....	28

Figura 17. Aspecto de un panal de cría sano (la cría operculada se ve continua) (A) en comparación con un panal de cría enfermo (la cría operculada se ve salteada) (B).....	33
Figura 18. Observación de pupas afectadas de loque americana secándose en el interior de sus celdas (A) y celda que muestra restos de la lengua de la cría muerta (B).....	33
Figura 19. Prueba del palillo, técnica muy útil en el diagnóstico de campo de las loques americana y europea.....	34
Figura 20. Observación del proceso de desecación de las larvas, así como su cambio de coloración (A).....	35
Figura 21. Crías afectadas por ascosferosis en la piquera de una colmena. Las abejas sacan las crías momificadas de la colmena.....	37
Figura 22. Larva afectada de cría ensacada dentro de su celda.....	37
Figura 23. Una hembra de Varroa destructor sobre el tórax de una abeja obrera...39	
Figura 24. Resumen de las diferentes rutas por las cuales las abejas pueden estar expuestas a xenobióticos potencialmente tóxicos.....	41
Figura 25. Expansión de la enfermedad MDR en el Uruguay desde 1951 hasta el año 2016.....	43
Figura 26. Pérdidas por la enfermedad Mal del Rio en el periodo 2010-2012.....	43
Figura 27. Imagen de la carpa utilizada para el proyecto que buscó identificar el agente causal de la enfermedad MDR.....	44
Figura 28. Imágenes que muestran al flátido productor de la secreción que contiene el agente causal del MDR.....	44
Figura 29. Ubicación de los apiarios utilizados para el ensayo experimental; campo seguro (Campo Libertad) y campo problema (Campo de Durazno).....	46
Figura 30. Imagen de la cámara fotográfica utilizada para la obtención de las fotos presentadas en esta tesis.....	47
Figura 31. Esquema del bastidor que se utilizó para apoyar los cuadros de la colmena.....	47
Figura 32. Imagen de bastidor utilizado para la toma de fotografías y fotografía de las dos caras de un cuadro de la colmena.....	48
Figura 33. Imagen pseudocoloreada de un lado del cuadro usando el programa Corel.....	49

Figura 34. Imagen de la composición del cuadro de cría: A- Celdas vacías, B- Huevos, C- Diferentes estadios larvarios (L1-L5) y D- Cría operculada.....	50
Imagen 35. Observación del área de cría: huevos, diferentes estadios larvarios y cría operculada.....	50
Figura 36. Imagen de captura de pantalla del programa Image J haciendo el cálculo de las áreas.....	51
Figura 37. Esquema del procedimiento realizado sobre las fotografías tomadas hasta lograr la medición del área de cría total así como de sus tres componentes: huevo, larvas y cría operculada por separado.....	51
Figura 38. Área de la cámara de cría en campo problema (Durazno -color rojo) y campo seguro (Libertad- color azul).....	52
Figura 39. Área de huevo en campo problema (Durazno -color rojo) y campo seguro (Libertad- color azul).....	53
Figura 40. Área de larva en campo problema (Durazno -color rojo) y campo seguro (Libertad- color azul).....	53
Figura 41. Área de cría operculada en campo problema (Durazno -color rojo) y campo seguro (Libertad- color azul).....	54
Figura 42. Área de cría (huevo, larva y cría operculada) en el campo seguro (A) y en el campo problema (B).....	55

RESUMEN

En el año 1834 se introdujo la primera colmena de miel de Francia a Uruguay y desde 1929 nuestro país comenzó a exportar miel. Hoy en día, Uruguay exporta aproximadamente el 90% de la miel producida, siendo el segundo producto más exportado del sector agrícola, detrás de los cítricos. Esto significa que Uruguay exporta cerca de 12.000 toneladas anuales de miel. En el año 2016 había un registro de 587.512 colmenas distribuidas en todo el país y un total de 3071 apicultores. Entre los años 2013-2014 se observó que las pérdidas de colmenas anuales totales fueron del 28,5%. Estas pérdidas fueron causadas por una función incompetente de la reina de la colmena, parásitos, envenenamiento por pesticidas y/o enfermedades. Entre estas últimas se encuentra el Mal del río (MDR), que se caracteriza por una mortalidad larvaria masiva causada por un rocío de miel tóxica que puede conducir a la muerte de la colonia por despoblación. El presente trabajo se enfocó en el desarrollo de la cámara reproductora tanto de los sanos como afectados por las colmenas de MDR, utilizando el análisis de imagen, un método objetivo moderno. Para ello, 10 colmenas se localizaron en un campo seguro (sin MDR) y otras 10 en un campo problemático (tratando de ser afectadas por MDR), además fue necesario tener una cámara Nikon (modelo D5300), un bastidor fijo cámara-portacuardo. Los resultados fueron los esperados, fue posible visualizar el desarrollo normal de la cámara reproductora en las colmenas del campo seguro. Por otro lado, el campo problemático mostró la presencia del MDR ya que las colmenas terminaron muriendo. Por lo tanto, el registro de la evolución de la cámara de reproducción de una colonia afectada por MDR ha significado un avance no sólo en la comprensión de la enfermedad, sino también en la evaluación de la respuesta a los tratamientos y manejo de las colonias afectadas.

SUMMARY

The first honey bee hive was introduced in 1834 from France to Uruguay and since 1929 our country started exporting honey. Nowadays, Uruguay exports approximately 90% of the produced honey, which is the second most exported product of the farming sector, behind the citrus. This means that Uruguay exports nearly 12000 tons per year of honey. In 2016 there was a register of 587,512 hives distributed throughout the country and a total of 3071 beekeepers. Between the years 2013 and 2014 it was observed that losses of total annual hives were 28.5%. These losses were caused by an incompetent function of the queen of the hive, parasites, pesticide poisoning and/or diseases. One of these diseases is the river disease (RD), which it is characterized by a massive larval mortality caused by toxic honey dew that can lead to the death of the colony by depopulation. The present work was focused on the development of the breeding chamber of both healthy and affected ones by the RD hives, using image analysis, a modern objective method. For this purpose, 10 hives were located in a safe field (without RD) and another 10 in a problem field (seeking to be affected by RD), besides it was necessary to have a Nikon camera (D5300 model), a fixed frame camera holder. The results were as expected, it was possible to visualize the normal development of the breeding chamber in the hives of the safe field. On the other hand, the problem field showed the presence of the RD since the hives ended up dying. Therefore, registering the evolution of the breeding chamber of an RD-affected colony has meant an advance not only in the understanding of the disease but also in the evaluation of the response to treatments and management of the affected colonies.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Historia de la apicultura y la evolución de las abejas.

La relación entre las abejas y el ser humano es muy antigua, un ejemplo que demuestra esto son las pinturas rupestres encontradas en la Cueva de la Araña, en Bicorp (Valencia, España) (Fig. 1), las cuales fueron realizadas hacia el año 7.000 a.C. aproximadamente, o bien las pinturas descubiertas en las cuevas y refugios de las Montañas Drakensberg (Natal, Sudáfrica), que a pesar de la gran distancia geográfica son muy parecidas (Crane, 1990).

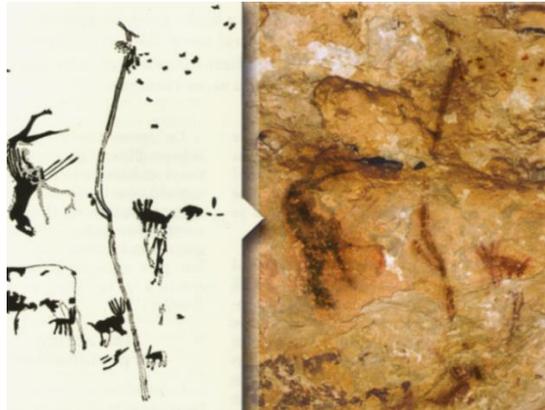


Figura 1. Una “cosecha” de miel en la época prehistórica (gruta de la Araña, Bicorp, provincia de Valencia). Esta pintura muestra a un hombre escalando hasta poder llegar a un nido de abejas en el que parece estar metiendo una mano y con la otra estar sosteniendo una cesta en forma de campana, para así poder colocar la miel extraída de la misma. Imagen extraída del libro Tratado de apicultura, el conocimiento y el cuidado de la abeja, las técnicas apícolas y los productos de la colmena, Clément et al., 2012.

Al comienzo el hombre primitivo saqueaba las colmenas silvestres para poder obtener la miel, utilizando humo y fuego, lo que muchas veces provocaba la muerte de la colonia (Graham, 1992). La apicultura propiamente dicha, comenzó cuando el hombre logro proteger, cuidar y controlar el futuro de las colonias de abejas (Crane, 1990). Un pueblo antiguo muy avanzado en la apicultura fueron los egipcios hace 2,000 a. C. En la figura 2 se observa el tipo de colmena que éstos utilizaron, la forma de extracción de la miel y los métodos de almacenamiento. Otros pueblos que dedicaron cuidado y estudio de la abeja, fueron los Griego (750 a. C.) y los Romanos (Graham, 1992).



Figura 2. Pintura en la tumba 100 de Rekhmire, Cisjordania, Egipto superior 1450 a.C. Imagen extraída del libro: *The World History of Beekeeping and Honey Hunting* de Crane, 1999.

El desarrollo de la apicultura moderna comienza en 1807 con el intento de fabricar una colmena moderna. En el año 1951 Langstroth diseña una nueva colmena, la cual presenta una distancia entre los cuadros (espacio de abeja), que no puede ser menor a 6mm, ni mayor de 9mm para que los mismos no se adhieran entre sí. Luego se fabricaron muchos modelos diferentes de colmenas pero ninguno logró desplazar del mercado a la colmena Langstroth perfeccionada. En materia de cuadros, también hubo una evolución, hasta que se perfeccionó el famoso cuadro Hoffman, en 1927, el cual es usado en la actualidad en la mayoría de las colmenas (Rizzi et al., 1975).

La evolución de las abejas productoras de miel (*Apis mellifera*) se asocia con la aparición y difusión de las plantas con flores. Hace unos 100 millones de años, cierta familia de avispas comenzó a diferenciarse para lograr explotar una nueva y creciente fuente de alimentos, como es el néctar y polen que ofrecían las plantas. Así fue que estas avispas modificaron su aparato bucal para poder succionar el néctar de las flores y su cuerpo se cubrió de pelos para lograr recoger los granos de polen. Este proceso evolutivo es un fenómeno de coevolución, donde las plantas lograron producir más semillas al ser polinizadas por los insectos, a la vez que los insectos se beneficiaron con los alimentos ofrecidos por las plantas (Crane, 1990).

Este proceso continuó hasta la aparición de las primeras abejas *Apis mellifera* las que se vieron enfrentadas a las características geográficas de Europa, dando como resultado la aparición de diferentes subespecies. Entre las más importantes a nivel mundial tenemos: la *A. mellifera ligustica* (italiana) en el noroeste de Italia, *A. mellifera carnica* (Carnolian) en los Alpes orientales y partes de los Balcanes, *A. mellifera caucasica* (Caucasica) en Georgia y las montañas del Cáucaso y también *A. mellifera mellifera* al norte de los Alpes (Crane, 2009a).

2.La taxonomía de la abeja.

Filo	Arthropoda	Son el filo más diverso de los metazoos (animales pluricelulares), con más de un millón de especies descritas. Incluyen, entre otros grupos, alas arañas, insectos, crustáceos y miriápodos.	Ribera et al., 2015.
Clase	Insecta	Cuerpo con cabeza, tórax (con tres pares de patas y generalmente 2 pares de alas) y abdomen diferenciado, un par de antenas; piezas bucales. Existen más de 1.1 millones de especies.	Hickman et al., 2006.
Orden	Hymenoptera	Incluye grupos tan conocidos como las hormigas, las avispas y las abejas. Se conocen alrededor de 150.000 especies.	Gayubo & Villar, 2015.
Suborden	Apocrita	Por presentar un estrangulamiento más o menos acusado, formando el peciolo, entre la segunda y tercera región corporal.	
Superfamilia	Apoidea	Comportamiento social o solitario. Alimentan a las larvas con polen y néctar.	Fierro, 1995.
Familia	Apidae	Familia extremadamente diversa con muchas especies; con abejas tanto solitarias como eusociales. Se pueden encontrar desde especies parásitas en nidos de otras abejas hasta formas cuasi-sociales (pequeñas colonias en las que dos o más hembras construyen, aprovisionan y ovipositan las celdas cooperativamente, generalmente son de la misma edad y la misma generación o comunales).	Nates, 2005.
Subfamilia	Apinae	Existen 19 grupos de abejas de las que cuatro son corbiculadas; es decir, poseen corbícula (un órgano más especializado para transportar el polen). Sus cuerpos están cubiertos de pelo y se alimentan de néctar y polen.	SIAP, 2016.
Género	Apis	Contiene 11 especies conocidas; dentro de las cuales se encuentran: Apis mellifera, Apis cerana, Apis dorsata y Apis florea.	Crane, 2009a.
Especie	A. mellifera	Cada colonia contiene una sola hembra apareada (la reina), muchas hembras no reproductivas (obreras) y, durante la época reproductiva, un número menor de machos reproductores (zánganos). Las colonias se reproducen por enjambre durante una temporada cuando se dispone de mucha comida.	
	A. cerana A. dorsata A. florea	Distribución limitada al continente asiático.	

3.A. Eusocialidad. La colonia de abejas y sus habitantes. Ciclo de vida.

La formación de verdaderas sociedades solo ocurre en determinados grupos de insectos, tradicionalmente se consideran eusociales a los abejorros, avispa eusociales, hormigas, termitas y a las abejas (Quero, 2004). Cabe destacar que dentro de las aproximadamente 20.000 especies de abejas que existen en el mundo solamente el 5 al 10% son sociales, como es el caso de la Abeja *Apis mellifera* (Guiomar, 2011).

La eusocialidad se caracteriza por la división del trabajo reproductivo, cuidado de la cría cooperativa y por la superposición de generaciones (Wilson, 1975; Kilani et al., 1999; Quero, 2004; Jordá & Peinado, 2009; Guiomar, 2011). Las abejas cumplen los tres criterios antes descritos; División reproductiva del trabajo, encontrándose a la reina (hembra reproductora), a las obreras (no reproductivas) y a los zánganos (machos). Cuidado cooperativo de la cría, las obreras cuidan a los hijos de la reina. Generaciones solapadas, las reinas de abejas pueden vivir varios años y convivir en la colmena con sus descendientes (obreras y zánganos) (Mortensen et al., 2015). Otra característica apreciable en los insectos eusociales es la existencia de castas estériles (individuos que no se reproducen dentro de las colmenas) (Kilani et al. 1999; Guiomar, 2011).

La vida social confiere a los animales que la presentan determinadas ventajas en el aprovechamiento de los recursos que hace que logren un mayor éxito evolutivo. Como ser: un mayor número de descendiente por cada madre, lograr mantener una independencia del medio externo (superando el invierno) y una mayor longevidad que el resto de los Insectos (Quero, 2004).

3.B. Genética de la abeja. Integrantes de la colmena y etapas del desarrollo.

Una colonia de abejas comprende tres castas: una única hembra, sexualmente madura o reina; unos pocos cientos de zánganos, siendo los machos sexualmente maduros y las obreras, que son hembras sexualmente inactivas (Page & Robinson, 1991; Kilani, 1999; Hickman et al., 2006).

Hay que tener en cuenta que una colonia presenta varias subfamilias diferentes de abejas obreras debido a la poliandria (la abeja reina se acopla con varios zánganos (entre 7- 17) luego de unos días de estar en vuelos de apareamiento) y a la mezcla de espermatozoides de diferentes machos dentro de la espermoteca (órgano de almacenamiento de espermatozoides de la reina) (Page & Robinson, 1991). Cada subfamilia a su vez, está constituida por la reina, uno de los machos que la fecundaron y sus hijas obreras (Guiomar, 2011).

Los miembros de la misma subfamilia se llaman "super-hermanas", cuya característica es la de compartir tanto la reina madre como el mismo zángano padre, teniendo en promedio un 75% de sus genes en común por descendencia. En el caso de que dichas obreras pertenezcan a diferentes subfamilias se las consideran

medias hermanas, ya que difieren en el padre, compartiendo tan solo un promedio del 25% de sus genes en común (Page & Robinson, 1991).

La reina de las abejas sociales tiene la posibilidad de poner dos tipos de huevos: haploides (n), sin fecundar de los cuales nacen machos, y huevos diploides ($2n$) fecundados, que van a dar origen a hembras diploides (Fig. 3). En colonias con reina, las obreras no pueden poner huevos no solo por el efecto inhibitor de la feromona real, sino también por la actividad de las obreras vigilantes; en abejas europeas (*A. mellifera*) tan solo un 1% de obreras tienen ovarios activos y pueden poner huevos. Generalmente, el sistema de feromonas y la acción de las obreras vigilantes mantienen la división de labores reproductiva en colonias con reina (Guiomar, 2011).

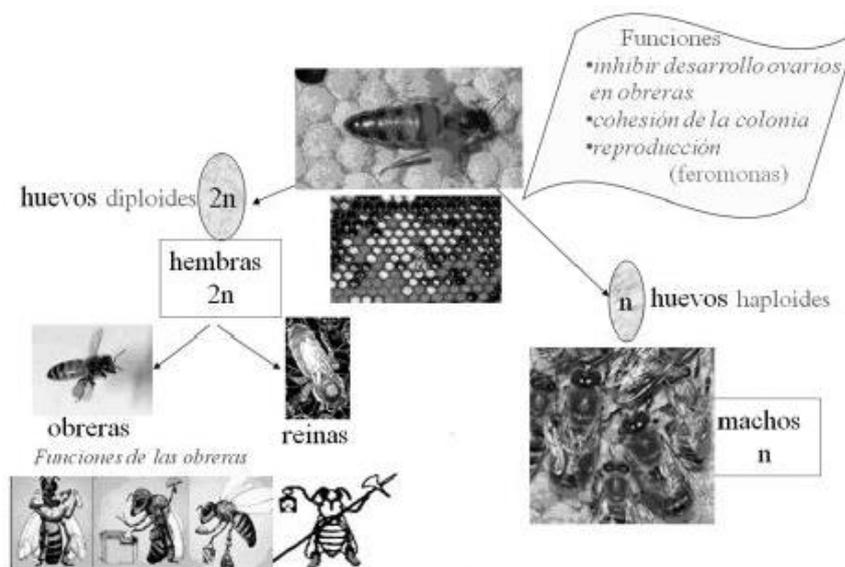


Figura 3. Comportamiento normal en las colmenas de abejas *Apis mellifera*. Imagen extraída del artículo científico: Genética del comportamiento: Abejas como modelo de Guiomar, 2011.

Sin embargo, todos los sistemas cooperativos tienen una mezcla de genotipos altruistas (colonias normales con reina) y genotipos anárquicos (colonias con reina y abejas obreras ponedoras de huevos). El síndrome de colonias anárquicas sucede cuando muchas obreras activan sus ovarios y producen huevos, de manera que logran evadir a las obreras vigilantes haciendo que sus huevos no sean removidos o se eliminen lentamente (Guiomar, 2011).

Cada colmena de abejas cuenta con 40.000 a 60.000 individuos durante la estación cálida, con un índice de caída a 15.000 o incluso 5.000 en invierno (AFSSA, 2009). Todos los integrantes exhiben sorprendentes diferencias específicas de castas en la longevidad. La reina vive en promedio 3 a 5 años, mientras que las obreras viven 4-6 semanas en el verano y los zánganos viven entre 1,5 a 2 meses apareciendo en verano y desapareciendo en el otoño (Kilani et al., 1999). Otra diferencia a destacar es la duración del ciclo de desarrollo de cada uno. En el caso de la reina demora en

total 16 días, en los zánganos 24 días y en las abejas obreras un total de 21 días (Fig.4) (Quero, 2004; Yadav et al., 2017).

	Huevo	larva	pupa	total
Obrera	3 días	6 días	12 días	21 días
Reina	3 días	5 ½ días	7 ½ días	16 días
Machos	3 días	6 ½ días	14 ½ días	24 días

Figura 4. Duración del ciclo de desarrollo de la reina, la obrera y del zángano. Imagen extraída: Las abejas y la apicultura, Quero, 2004.

Integrantes de la colmena:

La reina

Se distingue por su aspecto largo y esbelto (Mortensen et al., 2015; Yadav et al., 2017), debido al desarrollo de los ovarios en su abdomen, siendo más alargada que un zángano u abeja obrera, midiendo aproximadamente unos 2 cm de largo con un abdomen cónico. La lengua de la reina es corta, sus mandíbulas débiles, sus ojos son como los de las abejas obreras y tienen alas cortas, apenas más de la mitad respecto a la longitud del abdomen y carece de cestas de polen (Fig. 5) (Yadav et al., 2017).



Figura 5. Abeja reina. Fuente: <http://www.alexanderwild.com/Insects/Stories/Honey-Bees/i-tLLsCHK/A>

Es la única abeja hembra de la colonia capaz de poner huevos fertilizados (Kilani, 1999; Mortensen et al., 2015; Yadav et al., 2017). Normalmente existe una sola reina por colonia, aunque a veces aparecen dos reinas cuando la vieja reina está siendo reemplazada. La función principal de la reina es simplemente poner huevos para así mantener la colonia poblada. La reina controla el sexo de su descendencia;

cuando un huevo pasa de su ovario a su oviducto, la reina determina si el óvulo es fertilizado con esperma de la espermateca. Un huevo fertilizado se convierte en una abeja hembra, ya sea obrera o una reina, mientras que un huevo no fertilizado se convierte en un zángano (Yadav et al., 2017).

En regiones templadas la puesta es mínima e intermitente durante el invierno y aumenta durante la primavera, siendo la máxima postura a principios del verano, disminuyendo al llegar al otoño. La puesta de huevos es prolífica durante los meses de verano; pudiendo la reina poner un huevo cada 30 segundos, lo que significa más de 2000 huevos al día (Kilani, 1999).

La ovoposición normal consiste en el depósito de los huevos en celdas vacías y limpias por parte de la reina. Luego la misma va a la celda adyacente y repite la operación. La necesidad de mantener la temperatura de la cría, hace que la reina distribuya su postura en forma de espiral (del centro hacia fuera). Pone sus huevos en ambas cara del cuadro y una buena reina no saltea celdas. Un ejemplo didáctico de cómo es la postura de la reina es cortar una naranja en rodajas paralelas de 1 cm de espesor, luego atravesarla con una varilla de metal, por su centro en forma perpendicular a las rodajas y finalmente separar las mismas 1 cm entre cada una, sin sacarlas de la varilla. En este ejemplo la naranja sería el área de cría total de una colmena, donde cada rodaja de la misma son los cuadros de la colmena que contienen parte del área de cría (Fig. 6). La separación entre las rodajas es el espacio que existe entre los cuadros (Mendizabal, 2005), por lo que se puede decir entonces que el área de cría total es de forma elipsoidal, está en la parte media de los cuadros y en esta zona concéntrica hay alternancia de huevos, larvas y ninfas (Prost et al., 2007). Es importante mencionar que una vez que nacen las abejas, la reina vuelve a poner huevos en las celdas que van quedando vacías y que a su vez que las abejas obreras almacenan polen y miel alrededor de la zona destinada a la cría (Mendizabal, 2005).

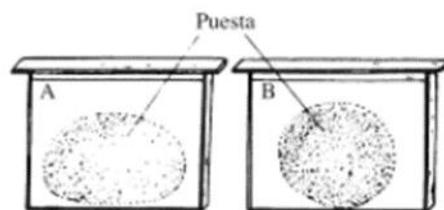


Figura 6. Esquema de cuadro de una colmena que muestra parte del área de cría, mostrando ambos lados del mismo. Imagen extraída del libro: Apicultura: Conocimiento de la abeja. Manejo de la colmena de Prost et al., 2007.

La segunda función de la reina es la secreción de feromonas. Las feromonas de insectos son análogos a las hormonas, pero secretados externamente y actúan sobre otros individuos de la misma especie, a veces a gran distancia. Son segregadas por las glándulas mandibulares de la reina, que son grandes estructuras en forma de saco con sus conductos que se abren en la base de las mandíbulas. La secreción, llamada "Sustancia de la reina", cubre toda la superficie del cuerpo

externo de la reina. Dicha sustancia puede presentar un efecto atractivo sobre las obreras al acercarse a la reina, y a través del contacto con la misma la distribuyen a dicha feromona por toda la colonia. También tiene un efecto inhibitor en el desarrollo ovárico de la obrera, cabe de destacar que en el caso de que la reina fallezca algunas obreras podrán desarrollar la capacidad de poner huevos no fertilizados. Otro efecto de la feromona es la inhibición de la construcción de celdas reales por parte de las obreras así como resultar atractiva para los zánganos durante el vuelo nupcial (Kilani, 1999).

Las obreras

Son los miembros más pequeños de la colonia, midiendo aproximadamente 1,5 cm, tienen peculiaridades de estructura que de inmediato las distinguen tanto de la reina como de los zánganos. Sus lenguas son casi el doble de largas con respecto al zángano o la reina, sus mandíbulas son mucho más fuertes y sus alas alcanzan la extremidad del cuerpo. Las últimas articulaciones de los miembros posteriores, conocidos como la tibia y el tarso, se ahuecan para formar cestas de polen. La presencia de las mismas las diferencia de los zánganos y de la reina, puesto a que éstos carecen de ellas. Las abejas obreras poseen a su vez un arma natural de defensa, el aguijón, el cual lo utilizan cuando la ocasión lo requiere, y por lo general mueren después de usarlo. Los ojos son más pequeños que los del zángano pero no difieren con los ojos de la reina (Fig. 7) (Yadav et al., 2017).



Figura 7. Abeja obrera. Fuente: <http://www.alexanderwild.com/Insects/Stories/Honey-Bees/i-tLLsCHk/A>

Las abejas obreras generalmente no son hembras reproductoras (Mortensen et al., 2015; Yadav et al., 2017) y conforman aproximadamente el 98% de la colonia, donde su número varía de 20.000 a 40.000 en una buena colonia (Yadav et al., 2017). Las tareas dentro de la colmena varían según la edad que presente la obrera, a esto se le denomina politeísmo temporal, ya que en diferentes edades, las abejas obreras están mejor adaptadas para realizar algunas tareas respecto a otras (Fig. 8) (Mortensen et al., 2015).

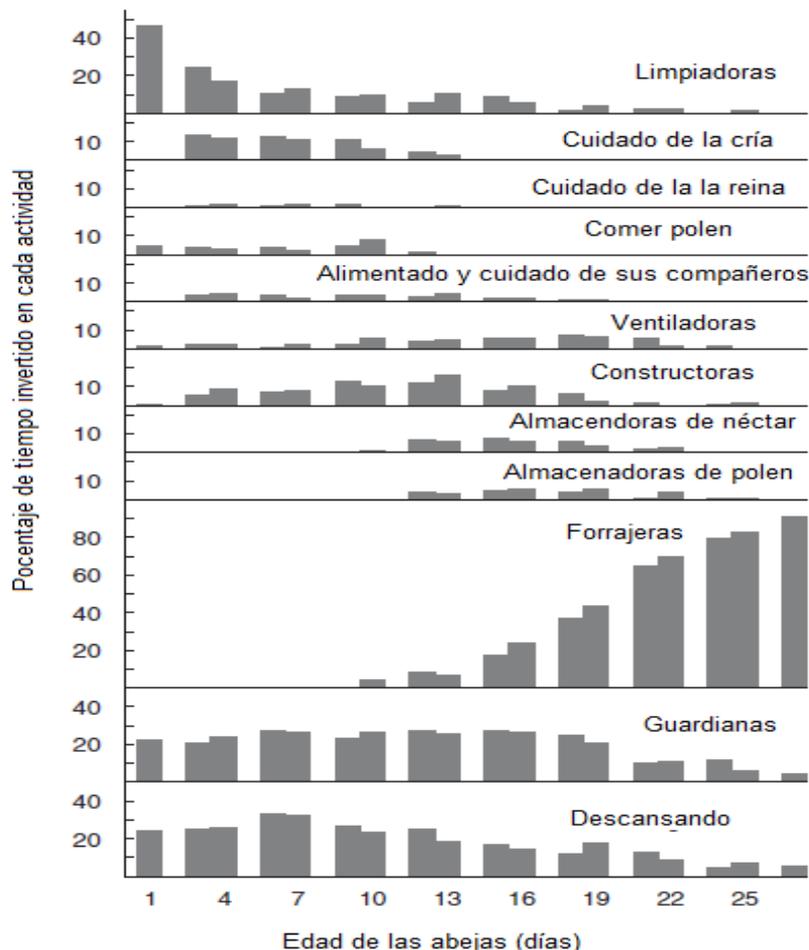


Figura 8. Distribución de las diferentes tareas de las abejas obreras dentro y fuera de la colmena. Imagen extraída y traducida del libro *The wisdom of the hive: The social physiology of honey bee colonies* de Seeley, 1995.

En los primeros dos días de vida las abejas obreras se convierten en **limpiadoras**, eliminando los restos de larvas, pupas y otros desechos de las celdas (Kilani, 1999). Del tercer hasta aproximadamente los 10 días se convierten en abejas **nodrizas**, alimentando a las larvas de las obreras y a las larvas de los zánganos con jalea real, miel, polen, así como a las larvas de reina solo con jalea real (Seeley, 1995; Kilani, 1999). En general, éstas obreras jóvenes realizan su trabajo en el área central de la colmena donde se encuentra la cría (abejas inmaduras) (Seeley, 1995; Mortensen et al., 2015). Del 10 al 15 día las abejas abandona el área central para trabajar principalmente en la periferia, donde se convierten en **almacenadoras**. Éstas recolectan el néctar y el polen de las abejas forrajeras almacenándolos como provisiones para la colmena (Seeley, 1995; Kilani, 1999).

Entre los días 15 y 17 son abejas **constructoras** (Kilani, 1999), encargadas de los trabajos de construcción realizados en el interior de la colmena. Del día 18 al 20 se convierten en **ventiladoras**, siendo abejas que practican la ventilación para controlar

el microclima de la colonia, especialmente la temperatura (Clément et al., 2012). Así como en **guardianas**, las cuales se encargan de defender a la colmena contra otros insectos, especialmente contra las abejas obreras de otras colmenas que son atraídas por la miel almacenada ya que los zánganos de otras colonias son por el contrario tolerados. Cerca del día 21 las abejas se convierten en **forrajeras o pecoreadoras**, dejando la colonia para cosechar polen y néctar de las flores y, secundariamente, algunas otras sustancias, como el propóleo (Kilani, 1999).

Otro aspecto a destacar es que durante las tres primeras semanas de vida las abejas permanecen dentro de la colmena. Después de este período de vida salen hasta su muerte, que puede ocurrir en su cuarta semana de vida si la actividad de forraje es intensa (Kilani, 1999). En la Figura 9 se muestra la distribución de las tareas de las obreras a lo largo de su vida así como su ubicación dentro de la colmena (Mortensen et al., 2015).

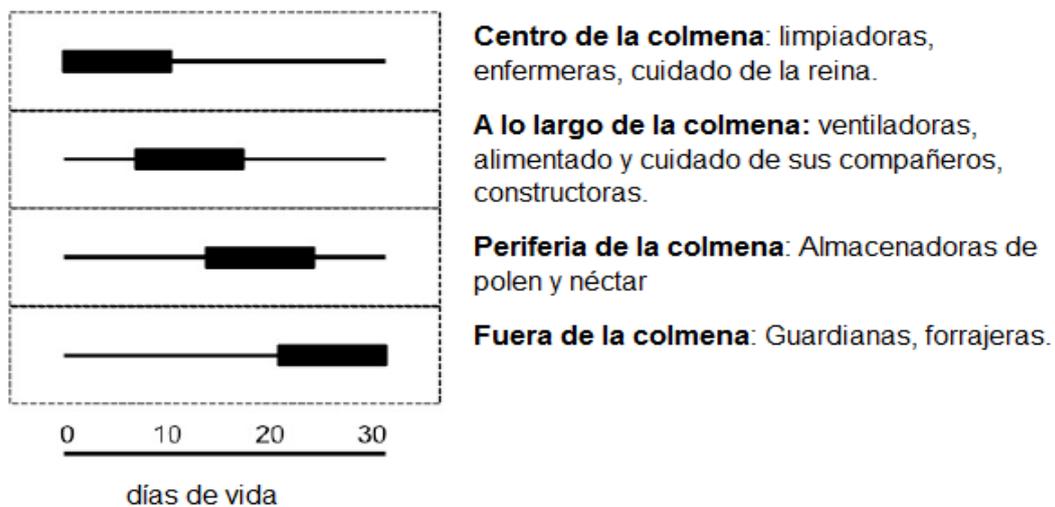


Figura 9. Representación simplificada de las tareas de las abejas obreras a lo largo de su vida y de cómo estas se distribuyen dentro de la colmena. Imagen extraída y traducida del artículo científico The Social Organization of Honey Bees de Mortensen et al., 2015.

Los zánganos

Las abejas macho son más largas que las obreras, siendo su tamaño de alrededor de 2 cm y más voluminosos que la reina u obreras. Su vuelo es pesado, y pueden ser conocidos por su profundo y bajo zumbido. Su lengua es corta, las mandíbulas débiles. Tampoco tienen ninguna de las estructuras necesarias para recoger el néctar y el polen. Los ojos se encuentran arriba y son muy prominentes. Carecen de aguijón (Fig. 10) (Yadav et al., 2017).



Figura 10. Zángano. Fuente: <http://www.alexanderwild.com/Insects/Stories/Honey-Bees/i-tLLsCHK/A>

Los zánganos contribuyen a la vida dentro de la colonia. Su función primaria y casi única es fertilizar la reina (Kilani, 1999).

3.C. Ciclo biológico de los integrantes de la colmena.

Las abejas sufren metamorfosis completa, y su desarrollo se divide en cuatro fases (huevo, larva, ninfa o pupa y edad adulta) (Fig. 11) (Wang et al., 2015). Las abejas obreras emergen de sus celdas a los 21 días después de que los huevos hayan sido puestos. Estas abejas siempre provienen de huevos provenientes de una reina fértil y siempre se colocan en las celdas horizontales más pequeñas. Los huevos tienen forma de un cilindro corto, ligeramente curvados y están sujetos por un extremo a la parte inferior de la celda. Los mismos demoran en eclosionar aproximadamente 3-4 días, dando origen a una larva blanca, sin pies, la cual se encuentra enroscada flotando en un líquido blanquecino previamente colocado en la celda. Luego de transcurridos 5 días, las celdas son tapadas por las abejas (cría operculada) y dentro de ellas la larva comienza a rodearse de un delgado capullo hecho de seda fina y en 3 días asume el estado pupa, también conocida como ninfa. Ahora se ve como una abeja, excepto que los miembros, las alas y la lengua están doblados y el insecto es ahora incoloro. Al día 21, la abeja emerge de la celda (Yadav et al., 2017).

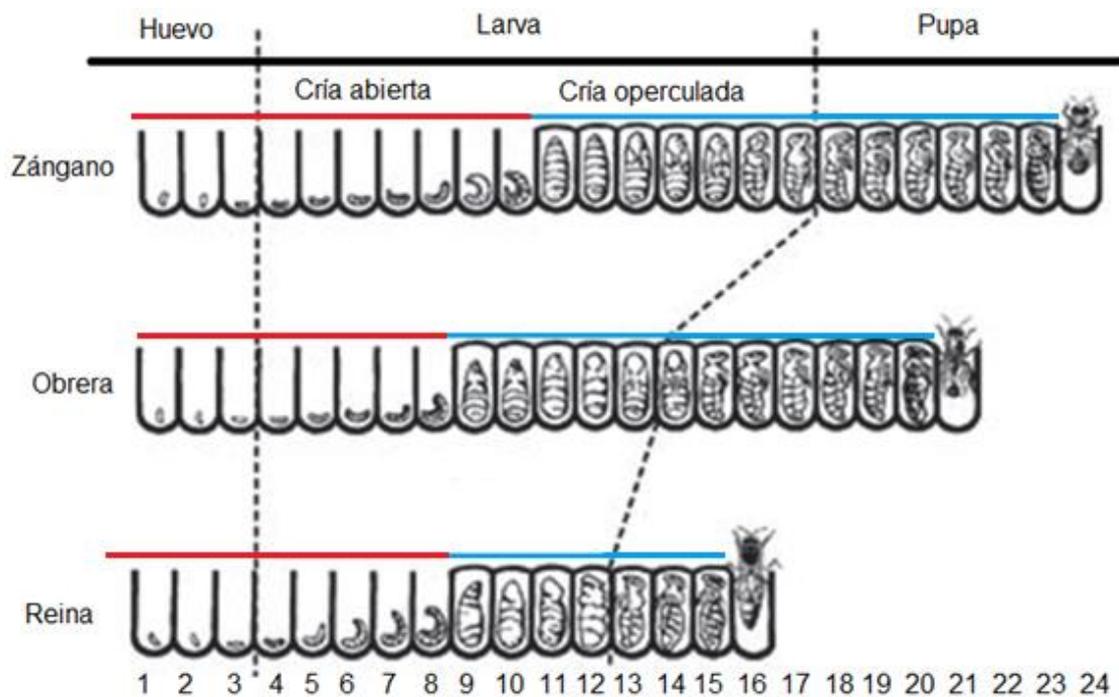


Figura 11. Ciclo de vida de los miembros de la colmena. Imagen extraída, traducida y modificada del libro Industrial Entomology de Omkar, 2017.

El tiempo de desarrollo de la reina es el más corto, de tan solo de 16 días. Al igual que las abejas obreras, la abeja reina se desarrolla a partir de un huevo proveniente de una reina fértil. Dichos huevos se colocan en las celdas de la reina, que son generalmente construidas en el borde o alrededor de una abertura en el cuadro y suelen extenderse verticalmente o diagonalmente hacia abajo. Éstos se asemejan a un cacahuete en forma y tamaño. Los huevos son colocados en estas celdas, ya sea por las abejas obreras, que los transfieren de celdas de obreras a celdas reales, o bien por la reina. La reina puede desarrollarse a partir de un huevo o de una larva de obrera de menos de 3 días de edad, que luego será transferida desde una celda de obrera a una celda real. El desarrollo de la reina es muy parecido al de una obrera aunque su alimentación es diferente, la larva reina en desarrollo está siempre rodeada de jalea real, un alimento altamente nutritivo. Por su parte, las futuras obreras reciben jalea real solo durante los primeros 3 días de vida. Después del tercer día, las larvas de obreras cambian su alimentación progresivamente a una mezcla de jalea real, miel y polen. El polen se utiliza para alimentar a las crías más viejas y es consumido en grandes cantidades por las abejas enfermeras que están produciendo jalea real de las glándulas de la cabeza. Esta diferencia explica la gran variación en la anatomía y función entre las abejas obreras y las reinas (Yadav et al., 2017).

En el caso de los zánganos la duración de su ciclo es de 24 días y se originan a partir de huevos no fertilizados. Dichos huevos pueden provenir de una reina no fecundada, de una obrera fértil o de una reina fecundada que puede evitar voluntariamente la fertilización. Los mismos se colocan en las celdas horizontales

más grandes a diferencia de lo que ocurre con las obreras, cuyos huevos se hayan dispuestos en celdas horizontales más pequeñas como ya se mencionó anteriormente. Su metamorfosis es esencialmente como la de las abejas obreras, aunque no salen hasta el día 24 desde la puesta del huevo. La diferencia de temperatura y otras condiciones puede aumentar o retardar ligeramente el desarrollo de cualquier cría en las diferentes etapas. El zángano cuando sale por primera vez de la celda presenta un color gris. Cabe destacar que su alimentación es igual que para el caso de las abejas obreras como ya fue explicado con anterioridad (Yadav et al., 2017).

Otro aspecto importante a mencionar es la ubicación de las celdas de reina, obrera o de zángano dentro de los cuadros de cría; en la zona central más grande se encuentran las celdas de la cría de las obreras; en la zona del borde están las celdas más grandes con una tapa convexa para la cría de los zánganos y en la zona más baja, en ciertos períodos de desarrollo de la colmena, se observan celdas muy grandes y prominentes con una forma irregular, que son para el reemplazo de la reina (Fig. 12). Existen dos tipos de cría: la cría abierta, la cual la constituyen los huevos y las larvas y la cría tapada u operculada, compuesta por el último periodo larval, las prepupas y las pupas (Kilani et al., 1999).

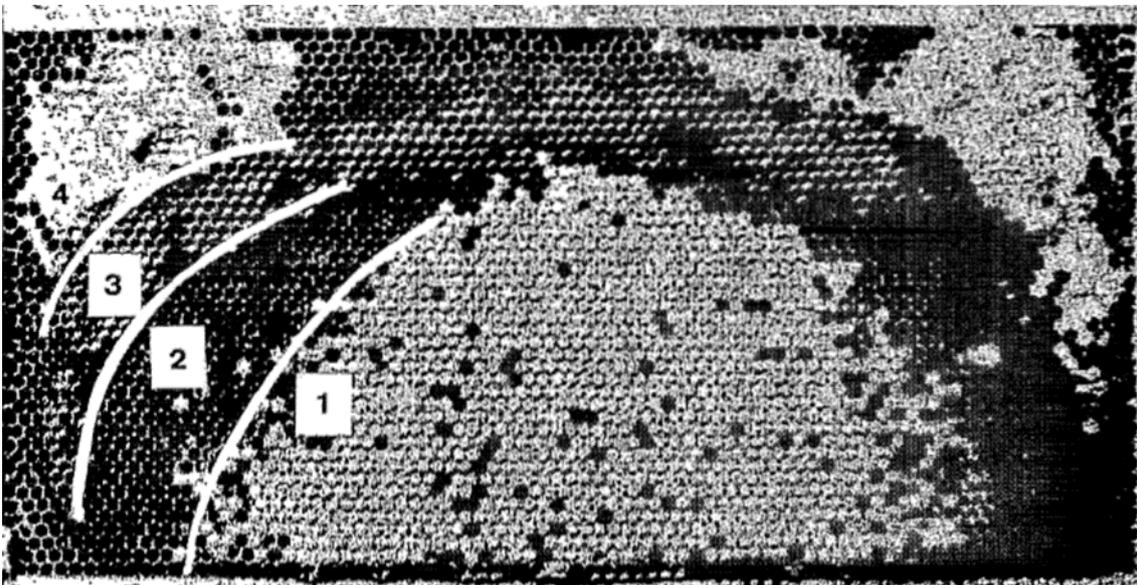


Figura 12. Cuadro que contiene diferentes áreas: 1- cría de obreras operculadas; 2- cría de obrera abierta; 3- celdas con polen; 4- celdas con miel Imagen extraída del artículo: *Biology of the honeybee*, Kilani et al., 1999.

3.D. Ciclo natural de una colmena. Mortalidad, despoblamiento y colapso.

El ciclo natural de la colmena es anual y es fuertemente dependiente de la vegetación existente en el medio ambiente. En las regiones templadas, el ciclo comienza en la primavera y se caracteriza por cuatro fases sucesivas (Fig. 13)(AFSSA, 2009):

- **La fase de desarrollo** (en la primavera), durante el cual la reina pone intensamente entre 1.500 a 2.000 huevos por día, seguido de una etapa de relativa estabilidad de la población que continúa hasta el otoño, con disminución progresiva de la postura de la reina (AFSSA, 2009).

- **La fase de enjambre** (después de la primavera) correspondiente al fenómeno de la reproducción asexual. Éste fenómeno sucede cuando los picos de población son altos haciendo que la reina abandone su colmena con algunas de sus obreras para fundar una nueva más lejos. Esto obliga a que en la colmena abandonada se desarrolle una nueva reina para reemplazar a la vieja reina que enjambó (AFSSA, 2009). Existen de dos tipos: las naturales y las artificiales. La enjambrazón natural está dada por la necesidad que tiene la colmena de abejas, como todos los seres vivientes, de perpetuar y propagar la especie. Por otra parte existe la enjambrazón artificial, donde el apicultor moderno, por el contrario, evita dicha división natural, esforzándose en dirigir el trabajo de sus obreras hacia la producción de miel, polen o jalea real en detrimento de los enjambres espontáneos que hacen perder miel. Cualquiera que sea la técnica seguida, la enjambrazón natural o artificial no puede, hasta hoy, ser evitada (Prost et al., 2007).

- **La fase de preparación para la invernada** para permitirle a la colmena llegar en mejores condiciones al invierno (AFSSA, 2009).

- **La temporada de invierno**, llamada "invernada", donde la población de la colmena se reduce a unas pocas miles de obreras alrededor de la reina y sobreviven gracias a las reservas acumuladas durante la estación cálida (AFSSA, 2009).

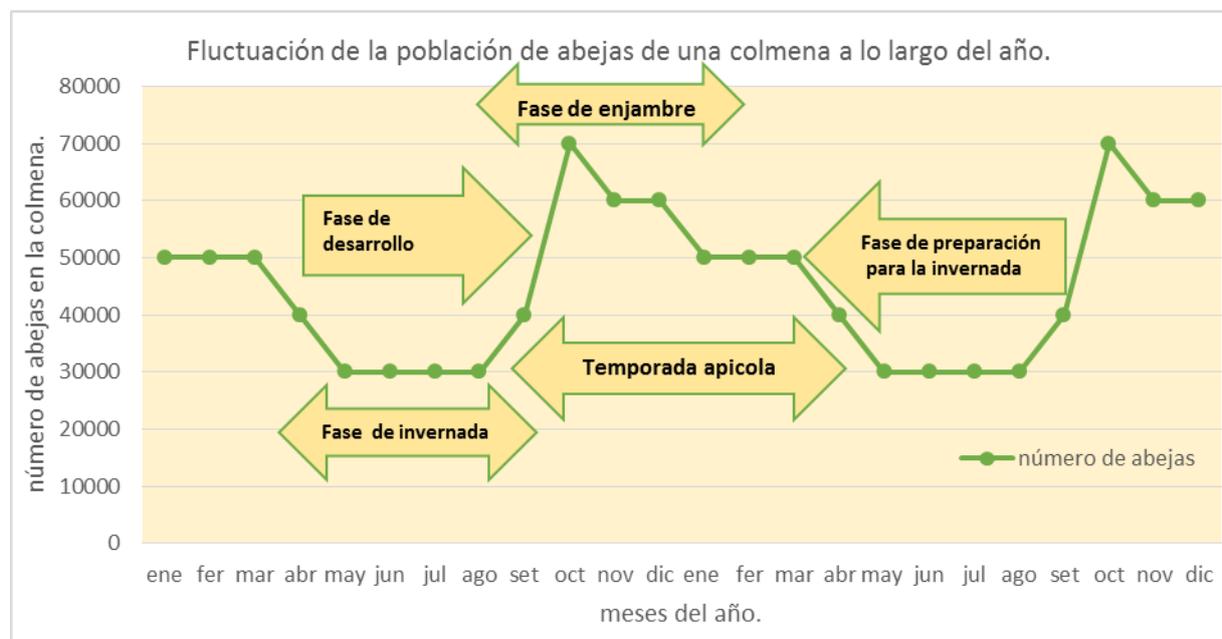


Figura 13. Ciclo natural de una colmena a lo largo de dos años en el Uruguay.

Posibles situaciones problema dentro de una colmena y/o el apiario:

Muerte: indica la pérdida definitiva de las abejas, sin el conocimiento exacto de su naturaleza o de la velocidad en que ésta ocurrió (Fig.14) (AFFSA, 2009).

Debilitamiento: describe la falta de fuerza de la colmena el cual está vinculado a una disminución en la densidad de la población en el tiempo, por lo general acompañado por la reducción en la actividad de la colmena (para el período del año en que tales reducciones no se esperan) (Fig. 14) (AFSSA, 2009).

Despoblamiento: es la reducción gradual del número de abejas en el tiempo sin causa aparente hasta que desaparece por completo, debido a la incapacidad de las abejas en realizar las tareas esenciales para la supervivencia de la colmena. Este síndrome puede estar vinculado a una serie de señales, tales como la reducción en la recolección de miel y el polen (Fig. 14) (AFSSA, 2009).

Colapso de la colmena: se caracteriza por la rápida pérdida de abejas dentro de la colmena, lo que lleva a su completa destrucción. Este síndrome es conocido como colapso de colmena o CCD (Fig. 14) (AFSSA, 2009).

Diferentes procesos patológicos	Disminución en el número de las abejas.		Disminución de la actividad de la colonia.		Disminución de la producción de miel.	
	Rápido	Gradual	Sí	No	Sí	No
Muerte	X	X	X		X	X
Debilitamiento	X	X	X		X	
Despoblamiento		X	X		X	
Colapso	X		X		X	X(1)

(1) Las abejas no producen grandes cantidades de miel durante todo el año. Existen períodos conocidos como "flujo de miel" * durante los cuales grandes cantidades de néctar son acumulado. Si el colapso se produce después del último flujo de miel, no habrá una reducción notable en la producción de miel.

* Flujo de miel: es el transporte de néctar secretado por las flores para producir miel.

Figura 14. Tabla esquemática sobre los diferentes procesos patológicos en las abejas y sus características, siendo la muerte, debilitamiento, despoblamiento y colapso de colonias de abejas. Imagen extraída y traducida de la publicación *Mortalités, effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles*, AFSSA, 2009.

4. A. Definición de Apicultura. Diferentes productos obtenidos de la colmena de las abejas *Apis mellifera*.

La apicultura es el establecimiento y mantenimiento de colmenas de abejas sociales de cualquier especie, de las cuales el apicultor obtiene una cosecha (Crane, 2009b). Es por lo tanto una actividad productiva que tiene como finalidad generarle ingresos al apicultor (Grandjean & O Campo, 2002). El producto que se suele obtener es la miel, pero también pueden ser otros productos como polen, cera, propóleos, jalea real, veneno y la producción de material vivo, como lo son las propias abejas (por ejemplo: las reinas o colmenas para la polinización) (Crane, 2009b).

Miel: es una sustancia dulce natural producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas. La miel se compone esencialmente de diferentes azúcares, predominantemente fructosa y glucosa además de otras sustancias como ácidos orgánicos, enzimas y partículas sólidas derivadas de la recolección. El color de la miel varía de casi incoloro a pardo oscuro. Su consistencia puede ser fluida, viscosa, o total o parcialmente cristalizada. El sabor y el aroma varían, pero derivan de la planta de origen (Codex Alimentarius, 2001).

Polen: es el elemento masculino de las flores, que es recogido por las abejas obreras, depositado en la colmena y aglutinado en granos para su alimentación como fuente proteica (Código alimentario Argentino, 2010).

Propóleo: puede ser una exudado (resina y látex) o una secreción (sustancias lipofílicas, mucílago y goma) de las plantas y árboles. Es utilizado por las abejas en la construcción y adaptación de sus colmenas. Presenta varias propiedades farmacológicas debido al contenido de flavonoides (Crane, 2009b).

Cera: es secretada por cuatro pares de glándulas cereras. Con la cera las abejas construyen sus panales y también la usan junto con propóleos para sellar pequeñas grietas (Crane, 2009b).

Veneno: es una secreción de las glándulas de veneno de las abejas obreras. Los principales componentes del veneno liofilizado de las abejas *Apis mellifera* son 15 - 17% enzimas, 48 - 58% de pequeñas proteínas, 3% de aminos fisiológicamente activos y un 0,8 - 1,0% de aminoácidos y numerosos componentes secundarios (Crane, 2009b).

Jalea Real: es secretada por la glándula hipofaríngea. Entre los componentes de la jalea real están el ácido 10-hidroxi-2-decenoico y las vitaminas del grupo B. Se ha demostrado que la jalea real tiene actividad bactericida para numerosas especies de bacterias y también es un excelente complemento dietético (Crane, 2009b).

4.B. Importancia de la polinización en el mundo.

La polinización es vital para nuestros ecosistemas y para las sociedades humanas, por lo que la salud y el bienestar de los insectos polinizadores son cruciales para la vida, ya sea en el mantenimiento de hábitats naturales o contribuyendo en las economías locales y globales (Kluser et al., 2010).

La polinización es la transferencia del polen del órgano masculino de una flor al órgano hembra de otra flor. Este proceso es fundamental para la producción de frutos y semillas (Kluser et al., 2010). Dicho proceso puede ser llevado a cabo tanto por vectores abióticos (agua o viento) así como bióticos (animales) (Gordón et al., 2002; Maglianesi, 2016); cabe destacar que la gran mayoría de plantas con flores (angiospermas) dependen de éstos últimos, principalmente de aquella mediada por insectos, (Pantoja et al., 2014; Maglianesi, 2016) siendo aproximadamente el 80 % (FAO, 2009).

La gran mayoría de las especies de plantas con flores sólo se reproducen gracias a los animales polinizadores. Por ende si este servicio no se realizara, muchas especies vinculadas entre ellas y muchos procesos del ecosistema desaparecerían. Con más de 200 000 especies de plantas floríferas que dependen de la polinización a cargo de más de 100 000 otras especies, la polinización es esencial para el mantenimiento general de la diversidad biológica (FAO, 2009).

Las abejas, son los insectos que por excelencia participan en esta labor, por lo que poseen una gran importancia económica y ecológica en los agro-ecosistemas; de hecho, una gran parte de los alimentos que hoy en día se consumen y comercializan masivamente, dependen directa o indirectamente de la polinización realizada por abejas. La especie de abeja más reconocida a nivel mundial para poder realizar dicho trabajo es la *Apis mellifera*, la cual cuenta hoy en día con más de 20.000 especies a nivel mundial, donde algunas de éstas son utilizadas además para la producción de miel, cera y resinas, entre otros productos, que al ser comercializados constituyen un ingreso adicional (Pantoja et al., 2014).

Globalmente, las abejas ofrecen servicios de polinización a aproximadamente el 75% de las especies de plantas en cultivos, mientras que contribuyen con la reproducción de aproximadamente un 80% de los angiospermas en los ecosistemas naturales (Maglianesi, 2016); específicamente en los ecosistemas tropicales alcanza valores de hasta el 95% mientras que en los templados llega a un 78% (Ollerton et al., 2011).

En Latinoamérica, los polinizadores desempeñan un papel clave para la producción agrícola, especialmente para los cultivos hortícolas y forrajeros, así como en la producción de semillas destinadas al cultivo de fibras y raíces. Otros aspectos importantes donde intervienen también los polinizadores son en la seguridad alimentaria, la diversidad de los alimentos, la nutrición humana y los precios de los alimentos. Por tanto es probable que la disminución de los polinizadores afecte a la producción y los costos de los cultivos ricos en vitaminas como las frutas y hortalizas, lo cual determinará cada vez más desequilibrios alimentarios y problemas de salud (FAO, 2009).

Desafortunadamente, en los últimos años y en todos los continentes (excepto en la Antártica), se ha documentado la disminución de poblaciones y especies de abejas en los agro-ecosistemas y áreas naturales, lo cual ha generado una gran preocupación general, tanto ambiental como económica. Dentro de las posibles causas de la denominada “crisis de los polinizadores” o “crisis de la polinización”, pueden ser la introducción de especies que compiten o son portadoras de parásitos nuevos para los polinizadores nativos, la presencia de algunas plantas invasivas que modifican la composición florística, la deforestación, al uso intensivo e indiscriminado de agroquímicos, cambios en el uso del suelo para la agricultura, la minería o el desarrollo urbano (Pantoja et al., 2014), así como el cambio climático y los efectos combinados de la malnutrición, las enfermedades y los plaguicidas sobre la fisiología de las abejas melíferas (Vanbergen, 2013).

En el año 2005 se realizó una evaluación de la contribución de los servicios de polinización animal a la economía mundial donde se estimó el valor económico total de la polinización en 153 000 millones de euros, lo que representa el 9,5 % del valor de la producción agrícola mundial utilizada para la alimentación humana (Gallai et al., 2009). A su vez los cultivos que dependen de los servicios de polinización son de alto valor, alcanzando un promedio de 761 euros por tonelada frente a los 151 euros por tonelada de los cultivos que no dependen de la polinización animal. La polinización también representa un una valor económico para los agricultores desde el punto de vista de la calidad, no sólo de la cantidad (FAO, 2009).

5. La Apicultura en el Uruguay.

La primera introducción de abejas melíferas en Uruguay data de 1834, cuando Bernardino Rivadavia introdujo desde Francia una colmena. Entre los primeros productores se destacan los colonos pioneros de Colonia Suiza, San Javier y Nuevo Berlín. En Salto, Antonio Malaquina introdujo reinas desde Italia en 1902, y se convirtió en un referente dentro de la incipiente actividad apícola (Cordara, 2010).

En el siglo XX, comienzan a aumentar el número de apicultores y a incorporar colmenas modernas, pero el crecimiento sostenido y la profesionalización del sector comienza a consolidarse a partir de 1950, respondiendo a una fuerte demanda externa, que generó una corriente exportadora que continúa hasta nuestros días (Cordara, 2010).

En la década de 1920 Uruguay importaba miel, pero en 1929 se realizó la primera exportación (Cordara, 2010). Actualmente Uruguay exporta aproximadamente el 90% de la miel que produce, comprometiendo, de esta manera, a los operadores apícolas a producir miel acorde a los requerimientos de un mercado nacional e internacional exigente. Al igual que en otras agroindustrias, la aplicación de controles de calidad en cada uno de los puntos del sistema de producción de miel, permite obtener un producto final de mejor calidad, minimizando rechazos (MGAP, 2016). Los principales países a los que se exporta miel son: Alemania, EE.UU y España (DIEA, 2010). La apicultura ha sido en los últimos años el segundo rubro de exportación del sector granjero, detrás de los cítricos. En el periodo 2001-2010 se exportó miel por un valor promedio de U\$S 19.193.000 por año (DIEA, 2010).

De acuerdo a la base de datos generada en el año 2016, existe actualmente 3071 propietarios de colmenas. Este dato incluye a los propietarios que ingresaron por

primera vez al RNPC (Registro Nacional de Propietarios de Colmenas) y aquellos que actualizaron su declaración jurada (Fig. 15) (DIGEGRA, 2016). La cantidad de colmenas es de 587.512 a nivel nacional, siendo los departamentos con mayor cantidad de colmenas Soriano, Paysandú y Río Negro (Fig.16) (DIGEGRA, 2016).

Zona	Nº de colmenas	% de colmenas	Nº de apicultores	% de apicultores
1	90937	15,5	439	14,3
2	210601	35,8	847	27,58
3	78545	13,4	606	19,73
4	34226	5,8	257	8,37
5	173203	29,5	922	30,02
TOTAL	587512	100	3071	100

Figura 15. Número y porcentaje de apicultores y de colmenas dividido en 5 zonas: zona 1: Artigas, Paysandú y Salto, zona 2: Colonia, Río Negro y Soriano, zona 3: Cerro Largo, Rivera y Tacuarembó, zona 4: Lavalleja, Maldonado, Rocha y Treinta y Tres y zona 5: Canelones, Durazno, Flores, Florida, Montevideo y San José. Datos extraídos de: Registro nacional de propietarios de colmenas (RNPC) 2016, disponible: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/web_apicultura_2016.pdf

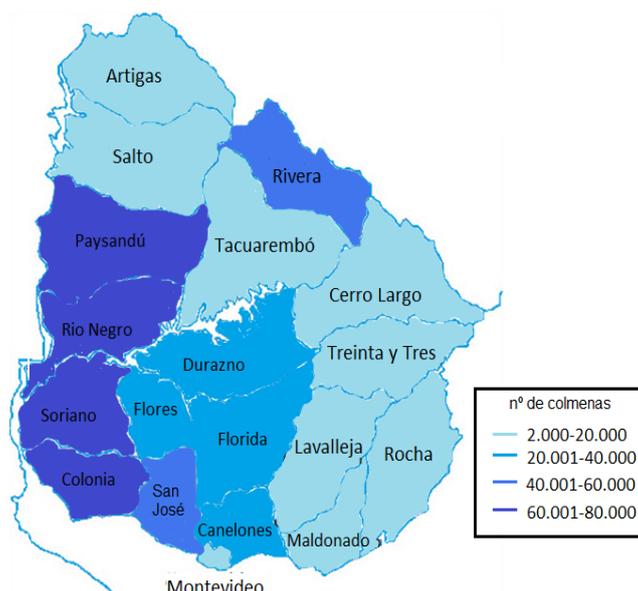


Figura 16. Mapa de Uruguay dividido según número de colmenas por departamento. Datos extraídos de: Registro nacional de propietarios de colmenas (RNPC) 2016, disponible: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/web_apicultura_2016.pdf

La producción apícola se ha visto disminuida en los últimos años por la expansión de la agricultura que trae como consecuencias la pérdida de diversidad floral, disminuyendo la oferta de recursos nectaríferos y poliníferos disponibles para las abejas. Esta pérdida obedece a dos fenómenos; por un lado a que en los últimos años ha disminuido el número de establecimientos pequeños y fragmentados en el

uso de la tierra, que aseguraban una mayor diversidad floral y por otro lado al crecimiento sostenido de la superficie dedicada a la agricultura desplazando a actividades tradicionales como la ganadería y la lechería. Todo esto se observa en los datos de la DIEA donde en la temporada 2002/2003 de las 456.000 ha de chacras destinadas a cultivos agrícolas el 34% pertenecían a productores de más de 1.000 ha, mientras que en la temporada 2009/2010 además del aumento significativo en el número de hectáreas destinadas a la agricultura, también se observa que de las 1.177.000 ha de chacras sembradas el 69% pertenecían a productores de más de 1.000 ha. Esto se ha constatado especialmente en los departamentos del litoral oeste y centro sur del país, donde tradicionalmente se concentraba gran parte de la actividad apícola y se producía volúmenes importantes de miel (DIEA, 2010).

6. Pérdidas de colonias en USA, Europa y en Uruguay.

Como ya se mencionó anteriormente los polinizadores han estado disminuyendo en número, principalmente en los países industrializados, donde las pérdidas de las abejas se relacionan a elementos del medio ambiente, incluidos los agentes biológicos infecciosos (depredadores, parásitos, hongos, bacterias y virus) y agentes no biológicos (diversas toxinas, cambio climático, limitaciones de producción, etc.). Históricamente los problemas de las abejas estaban relacionados con los agentes biológicos pero actualmente la presencia de sustancias químicas en el medio ambiente de las abejas causan intoxicaciones en las colmenas dando como consecuencia debilitamiento y mortalidad de la misma (AFSSA, 2009).

En la Unión Europea (EU) en las últimas décadas también se registró un descenso importante en la población de abejas, por lo que se gestionaron políticas de investigación con el objetivo de encontrar el agente causal y un posible tratamiento (Moritz et al., 2010).

En los EE.UU entre las principales enfermedades que afectan a las colmenas están la Loque Americana y Loque Europea que producen un importante descenso de la población de abejas melíferas así como el ácaro *Varroa destructor*, junto con el complejo de virus asociados. Otro problema son los plaguicidas, la reducción del forraje para las abejas, el clima, el estrechamiento del grupo genético, las reinas pobres y los factores socio-económicos (VanEngelsdorp & Meixner, 2010).

El “Síndrome del Colapso de la Colonia” (SCC), es una patología que tiene gran importancia en los EE.UU desde octubre de 2006 por la desaparición alarmante de las abejas obreras en las colmenas de la costa este de éste país. Este fenómeno se caracteriza por la desaparición abrupta de las abejas obreras que lleva a la muerte de la colonia y tiene la particularidad de desconocerse el agente causal por lo que los investigadores lo consideran de origen multifactorial. Hasta el momento se han reportado casos que coinciden con el SCC en EE.UU en Canadá, España, Italia e Inglaterra. Este síndrome tiene graves implicancias económicas y biológicas, ya que al perderse grandes poblaciones de abejas se reduce el número de agentes polinizadores, lo que trae como consecuencia pérdidas económicas de consideración, debido a una insuficiente polinización de cultivos agrícolas lo que

afecta a la cadena alimenticia; además de tener un impacto en la biodiversidad, pues su valor ecológico es incalculable (Espinosa et al., 2012a).

En Latino América (LA) la agricultura se está intensificando, el uso de pesticidas está aumentando, los organismos genéticamente modificados se están volviendo más comunes y la vegetación natural se está perdiendo. Para que no ocurra, al igual que en EE.UU y Europa, en Latino América se deben desarrollar planes de vigilancia para lograr la conservación de la diversidad de polinizadores (Vandame & Palacio, 2010).

En el caso de Uruguay entre los años 2013- 2014 se observó que las pérdidas de colmenas anuales totales fueron del 28,5 % (Antúnez et al., 2017). Dichas pérdidas de colonias de abejas reportadas por los apicultores son causadas por: una reina incompetente en su función dentro de la colmena (57,7 % promedio), enfermedades y parásitos (52,85 % promedio) y envenenamiento por pesticidas (36,55% promedio). Lo que muestra que entre los años 2013- 2014 las pérdidas causadas por los pesticidas se ubicó en el tercer lugar, mostrando la importancia de los pesticidas como agentes causales de pérdidas de colonias en el Uruguay (Antúnez et al., 2016). Otro problema detectado en las colmenas, es que al ser trasladadas a plantaciones de Eucaliptus grandis corren riesgo de que las abejas se debiliten rápidamente y que todas se enfermen de Nosemosis, permitiendo así el incremento de la carga del ácaro V. destructor. Por ende la presencia de estos dos patógenos explicarían las pérdidas de colmenas en estas situaciones demostrando que la unión de varios factores patológicos puede causar la muerte de las colmenas (Invernizzi et al., 2011b).

7. Enfermedades de las Abejas.

Las abejas mellíferas, como cualquier otro organismo vivo, son susceptibles a ser afectadas por una variedad de enfermedades, parásitos y plagas, que pueden tener un efecto nocivo en el desarrollo y productividad de sus colonias (Guzmán, 2012). Afortunadamente ninguna enfermedad de las abejas se transmite al ser humano en condiciones naturales (no hay zoonosis) (IICA & PRONAGRO, 2009; Guzmán, 2012). Existen más de 20 enfermedades conocidas de la abeja mellífera occidental (Ver Anexo 2), dentro de las cuales 7 son las causantes de grandes daños económicos año tras año en Latino América (Guzmán, 2012). Cabe destacar que solo 6 de éstas, están consideradas dentro del Código de los animales terrestres de la OIE: Loque Americana, Loque Europea, Varroosis, Acariosis, infestación por Tropilaelaps y Aethina tumida (OIE, 2012).

En el Uruguay la Varroosis se encuentra ampliamente distribuida en todo el país (Anido, 2013; Anido et al., 2015), aunque probablemente las zonas más afectadas sean el litoral oeste y sur del país (Bounous & Boga, 2005), mostrando una prevalencia del 75.7% (Anido, 2013; Anido et al., 2015). Por su parte la Loque Europea es considerada un problema menor, pues suele ser autolimitante (Invernizzi et al., 2011a), mientras que la Loque Americana actualmente tiene una prevalencia muy baja del 2 % (Antúnez et al., 2012; Anido, 2013). En el caso de la Acariosis, la prevalencia de este ácaro es muy baja, no encontrándose variaciones estacionales

significativas a lo largo del año (Antúnez et al., 2013a). En cuanto a la infestación por *Tropilaelaps* actualmente su distribución se encuentra restringida al sureste asiático y su propagación representa una amenaza para la apicultura en otras partes del mundo (Invernizzi et al., 2011a). Por su parte el escarabajo *Aethina tumida* no se encuentra en el Uruguay pero existe riesgo de su ingreso a través de Brasil (INIA, 2016).

Otras enfermedades importantes a mencionar son: La Ascoferosis o también llamada Cría Yesificada, la cual es una enfermedad que se encuentra distribuida en casi todo el mundo incluyendo Uruguay, en donde su detección tuvo un aumento considerable en el año 2001 pudiéndose encontrar tanto en colonias sanas como enfermas, fundamentalmente durante la primavera y el verano (Invernizzi, 2001). Sin embargo, en los últimos años se ha percibido una sensible disminución de la prevalencia de esta enfermedad, siendo difícil encontrar colonias afectadas, apareciendo en forma esporádica y generalmente asociada a un desbalance poblacional de la colonia (Invernizzi et al., 2011a). La Nosemosis por su parte, es una enfermedad de las abejas adultas, la cual es causada por dos especies *N. ceranae* y *N. apis* (Antúnez et al., 2013), actualmente solo se ha encontrado *N. ceranae* en el Uruguay con una prevalencia baja de un 15% (Anido, 2013).

Existen también enfermedades virales que afectan a las abejas tales como: el virus de la parálisis crónica (CBPV), el virus de la parálisis aguda (ABPV), el virus de la celda negra (BQCV), el virus de la cría ensacada (SBV), el virus de las alas deformadas (DWV), el Kashmir virus (KV) y el virus de la parálisis Israeli (IAPV) (Invernizzi 2011a; Antúnez et al., 2013a, Anido 2013). Al analizar la prevalencia nacional, el virus CBPV fue el que tuvo el porcentaje más alto (87,4%). El resto de los virus presentaron prevalencias muchos menores; 14,6% el ABPV, 29,1% el DWV y 19,4% el SBV, por su parte los virus IAPV y KBV no fueron detectados. El virus BQCV mostró una amplia distribución, detectándose altas prevalencias en todos los departamentos, mientras que los restantes virus se concentraron preferencialmente en el sur-oeste y en el litoral oeste del país. En dichas zonas se encontraron tasas de prevalencia medias y medias altas (Anido, 2013).

Las enfermedades de las abejas, en la mayoría de los textos suelen dividirse como enfermedades de las abejas adultas y enfermedades de la cría, de acuerdo a la etapa en la que se afectan las abejas. Normalmente el diagnóstico de campo de las enfermedades de la cría no significan un problema, pero las enfermedades de las abejas adultas son más difíciles de diagnosticar por observación directa, ya que los signos no son únicos ni específicos de cada enfermedad y por lo tanto es necesario recurrir a estudios de laboratorio (IICA & PRONAGRO, 2009; Guzmán, 2012). Es por ello que muchas veces los apicultores no se explican el porqué de los bajos rendimientos de sus colonias a pesar de estar “correctamente” manejadas. Por eso es recomendable muestrear un número representativo de apiarios una vez al año, con suficiente tiempo antes de la floración (3 a 4 meses antes) y enviar las muestras de abejas aun laboratorio para su diagnóstico (Guzmán, 2012).

A continuación se explicarán en detalle aquellas enfermedades que afectan a la cría, tales como Loque Americana, Loque Europea, Cría tiza o Ascoferosis y Cría ensacada (SBV), así como la Varroosis que afecta tanto a las cría como a la abeja

adulta y finalmente la Nosemosis, la cual afecta solamente a las abejas adultas (IICA & PRONAGRO, 2009; Guzmán, 2012).

Loque Americana:

La Loque Americana es una enfermedad de las abejas mellíferas en sus estadios de larva y de pupa. El agente etiológico es una bacteria llamada *Paenibacillus larvae* la cual produce más de mil millones de esporas en cada larva infectada (Guzmán & Zozaya, 2012; OIE, 2012). Dicho microorganismo es aerobio, Gram-positivo y tiene forma de bastón, midiendo de 3 a 5 μ de largo por 0.5 μ de ancho, tendiendo a crecer agrupándose en cadenas. Se puede encontrar en dos estadios, en su forma vegetativa cuando se reproduce en las larvas de las abejas y como espora, siendo su forma de resistencia fuera del cuerpo de las larvas (Guzmán & Zozaya, 2012). Dichas esporas son muy longevas y sumamente resistentes al calor y a los agentes químicos, y son las únicas capaces de ocasionar la enfermedad (OIE, 2012).

Esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, siendo muy pocos los países que están libres de la misma. Puede aparecer en cualquier época del año, pero es más frecuente durante las lluvias y durante la época de desarrollo poblacional de las colonias (Guzmán & Zozaya, 2012). En el Uruguay se logró aislar la primera bacteria de las colmenas con y sin signos clínicos a partir de muestras de los departamentos de Colonia y Paysandú (adyacentes a la Argentina) en el año 2000. Durante los años 2001 y 2002 se realizó un estudio a nivel nacional para evaluar la distribución y prevalencia de las esporas de *P. larvae* en muestras de miel procedentes de Uruguay. El resultado obtenido fue que dicha bacteria se encontraba ampliamente distribuida por todo el país, siendo el litoral oeste (Colonia, Soriano, Flores, Salto y San José) la zona más afectada. La prevalencia de esporas de *P. larvae* en la miel se estimó en 51% (Antúnez et al., 2004).

En un estudio más reciente realizado en el año 2011 no se detectaron signos clínicos de la enfermedad, pero sí una prevalencia de las esporas de *P. larvae* en la miel del 2 % y la bacteria solo fue detectada en el departamento de Soriano (Antúnez et al., 2012).

Los signos clínicos que se pueden observar son cría salteada (Fig. 17), es decir, no se ve continuidad en los opérculos. Éstos últimos están oscuros, hundidos, con aspecto grasiento y algunos presentan una pequeña perforación. El olor de los panales enfermos es fétido. Si se destapa un opérculo sospechoso, se encuentra el cadáver de una larva o pupa con aspecto de una masa viscosa, de un color que va del amarillo cremoso al café y luego al negro, según su grado de putrefacción (Hansen & Brodsgaard, 1999; Guzmán & Zozaya, 2012).

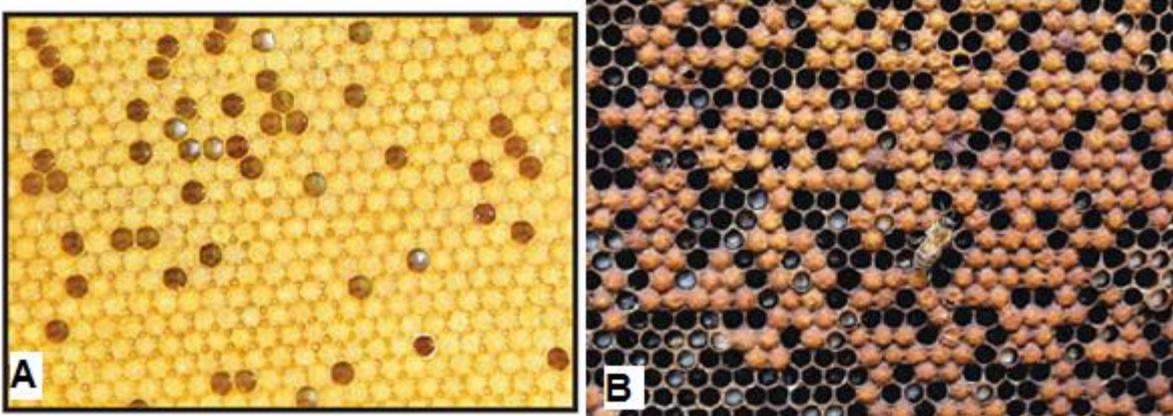


Figura 17. Aspecto de un panal de cría sano (la cría operculada se ve continua) (A) en comparación con un panal de cría enfermo (la cría operculada se ve salteada) (B). Fotos tomadas del libro Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas de Guzmán et al., 2012.

Finalmente las crías muertas se secan completamente (Fig. 18a), dejando una escama que queda fuertemente adherida a la celda, lo que la hace difícil de desprender (a diferencia de la escama de Loque Europea que es fácil de desprender). En ocasiones en las que la cría muere al final del período de pupa, es bastante común que sobre las escamas se vea su lengua seca apuntando hacia arriba (esto no se observa en casos de Loque Europea) (Fig. 18b). Cabe destacar que se presenta tanto en las larvas de obreras como de zánganos y ocasionalmente en larvas de reinas (Guzmán & Zozaya, 2012).

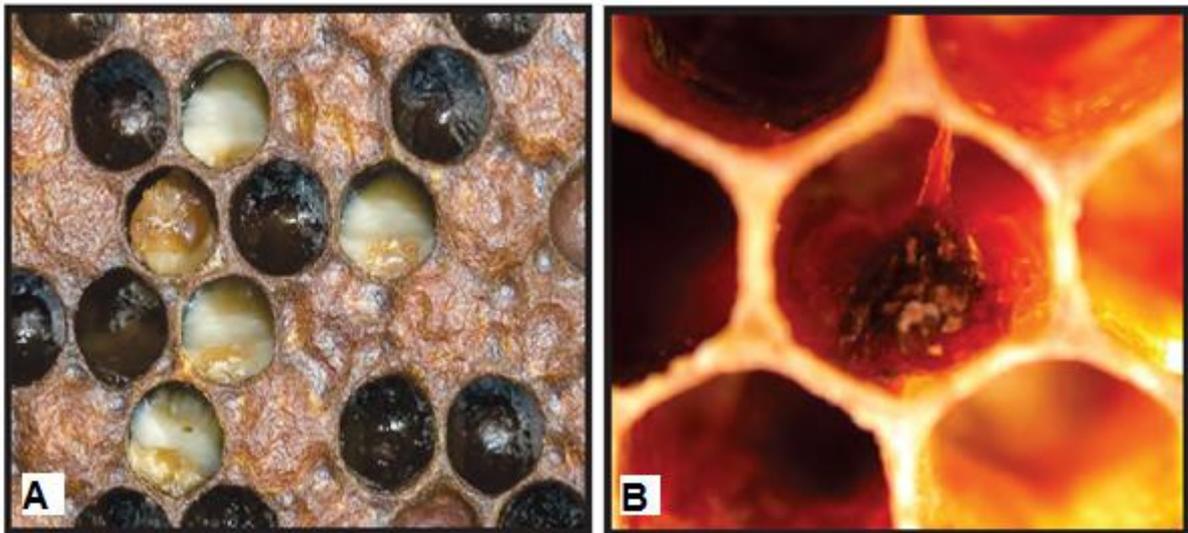


Figura 18. Observación de pupas afectadas de loque americana secándose en el interior de sus celdas (A) y celda que muestra restos de la lengua de la cría muerta (B). Fotos tomadas del libro Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas de Guzmán et al., 2012.

El diagnóstico de campo es muy seguro y se basa en la prueba del “palillo” (Fig. 19) la cual consiste en introducir un palillo o un palito delgado a una celda afectada y retirarlo suavemente. Si al retirarlo se forma una hebra viscosa y gelatinosa como liga que se estira (parecida a la hebra de queso fundido) a por lo menos una distancia de 2 cm de la base de la celda, se puede afirmar con alta certeza que se trata de Loque Americana. Sin embargo, si el apicultor desea tener la total certeza del diagnóstico, deberá obtener una muestra de una sección de panal de aproximadamente 10 cm de largo por 10 cm de ancho con cría muerta, la cual deberá remitir a un laboratorio especializado para su identificación. A nivel de laboratorio, existen exámenes microscópicos y pruebas bioquímicas para identificar el P. larvae. También existen pruebas inmunológicas y moleculares (Guzmán & Zozaya, 2012).

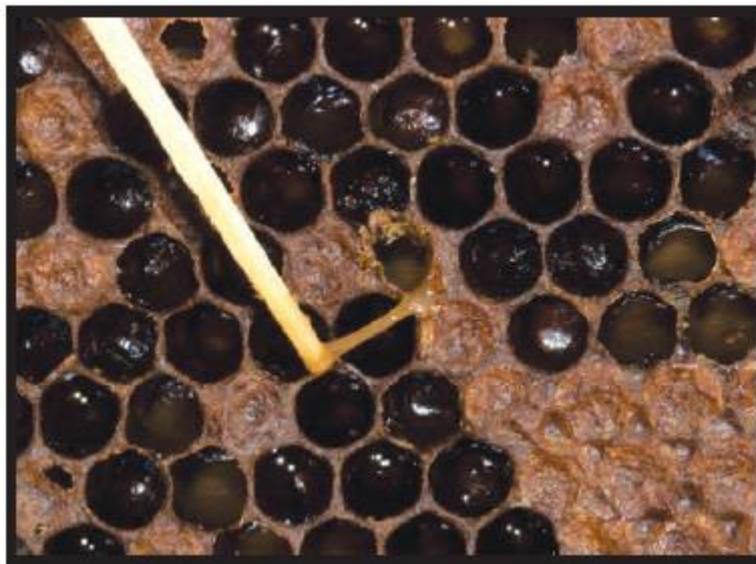


Figura 19. Prueba del palillo, técnica muy útil en el diagnóstico de campo de las loques americana y europea. Foto tomada del libro Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas de Guzmán et al., 2012.

Loque Europea:

La Loque Europea es una enfermedad de las abejas mellíferas en sus estadios de larva y de pupa. El agente etiológico llamado *Melissococcus plutonius*, es una bacteria Gram-positiva que no forma esporas, (Guzmán & Zozaya, 2012; OIE, 2012) con forma de coco ligeramente oval que mide 0.7 x 1.0 μ . Crece formando cadenas, pero también es muy común encontrarlo en pares (como diplococo). Puede mantenerse viable de una temporada a otra en las paredes de las celdas, en el excremento de las abejas, o en el piso de la colmena. El *M. plutonius* es altamente susceptible a antibióticos y a la mayoría de los desinfectantes (Guzmán & Zozaya, 2012).

La enfermedad se ha reportado en casi todos los países donde existe apicultura. Se puede presentar en cualquier época del año, pero suele ser más frecuente antes del inicio de las floraciones y cuando la colonia ha sido sometida a algún tipo de estrés

(Guzmán & Zozaya, 2012). En Uruguay la Loque Europea se presenta como brotes puntuales en los inicios de Primavera y en algunos años en Otoño. En la mayoría de los casos desaparece cuando las condiciones ambientales son favorables (Invernizzi et al., 2011a).

Los síntomas clínicos que se pueden observar son cría salteada, siendo la cría no operculada la más afectada, (Guzmán & Zozaya, 2012) aunque existen casos donde algunas larvas también pueden morir después de ser sellada la celda, lo que resulta en una cubierta hundida similar a los síntomas de Loque Americana (Forsgren, 2010).

El olor de las larvas afectadas es agrio, parecido al del vinagre, o en ocasiones parecido al de la grasa rancia. En su proceso de desecación, la larva cambia su coloración, tornándose más oscura conforme pasa el tiempo (Fig. 20a). Del color blanco nacarado normal pasa al amarillo, café con leche y café oscuro. Las larvas se observan enrolladas en forma de "C" en el interior de las celdas y es frecuente el hecho de que el sistema traqueal se hace muy notorio a la vista (Fig. 20b). La escama que se forma es fácilmente desprendible, lo cual constituye otra diferencia con la Loque Americana. El intestino de las larvas enfermas a menudo se muestra a través de la piel larval como una línea blanca o masa intestinal blanquecina debido a que está lleno de bacterias (Gregory, 2010). Se presenta tanto en larvas de obreras, como en las de zánganos y ocasionalmente en larvas de reinas (Guzmán & Zozaya, 2012). Esta enfermedad suele matar a las larvas a los 4-5 días de edad (Forsgren, 2010).

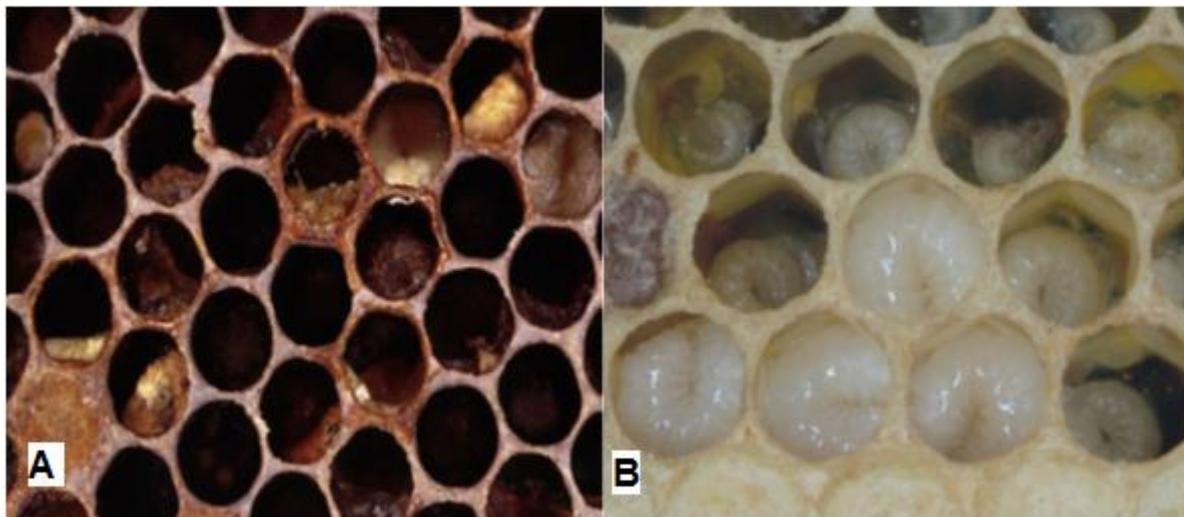


Figura 20. Observación del proceso de desecación de las larvas, así como su cambio de coloración (A). Foto tomada del artículo científico: European foulbrood in honey bees de Forsgren, 2010. Visualización de larvas en forma de "C" desplazadas hacia el fondo de las celdas con el sistema traqueal marcado (B). Foto tomada de la revista BeeCraft: European Foul Brood: Part 1 de Gregory, 2010.

Es muy importante hacer un diagnóstico correcto para diferenciar la enfermedad de la Loque Americana, ya que en el caso de Loque Europea, no se requiere la destrucción del equipo para controlar la enfermedad. Además, es muy raro que se presenten infecciones mixtas de las dos loques. La identificación de la enfermedad

en el campo se hace con base en el cuadro clínico y mediante la prueba del "palillo" ya antes explicada, la cual resulta negativa (no se forma la hebra). A nivel de laboratorio, existen exámenes microscópicos y pruebas bioquímicas para identificar a los diferentes microorganismos involucrados en la enfermedad. También se pueden usar pruebas inmunológicas y moleculares. Para poder identificar la enfermedad sin confundirla con la Loque Americana, es necesario tomar en cuenta la edad de la cría afectada. En la Loque Americana, el estadio afectado es el de cría operculada, mientras que en la europea, es el de cría chica sin opercular (en la mayoría de los casos). Los rudimentos de la lengua son específicos de la Loque Americana, al igual que las escamas fuertemente adheridas y su olor característico (Guzmán & Zozaya, 2012).

Ascosperosis o Cría Tiza o Cría de Cal

Es una enfermedad infectocontagiosa causada por un hongo que afecta a las crías de las abejas llamado *Ascospaera apis*. Las esporas producidas por este hongo son muy resistentes y pueden permanecer viables en el medio ambiente durante por lo menos 15 años. En la colmena, el hongo se desarrolla a temperaturas que oscilan entre los 20 y los 30° C (Correa & Tanús, 2012).

En la actualidad, la cría de cal es enzoótica en todos los continentes. La enfermedad suele ser más común durante las lluvias y épocas de frío. El hongo por sí solo no causa grandes estragos sin la ayuda de factores predisponentes que le permiten desarrollarse, como son la humedad, bajas temperaturas, mala ventilación dentro de la colmena y su presencia en colonias débiles, así como en colmenas donde se ha abusado del uso de antibióticos (Correa & Tanús, 2012). En Uruguay la Ascosperosis se hizo muy visible en el año 1980, aunque seguramente ya estaba presente con anterioridad. En los años 90 era frecuente encontrar colmenas enfermas en los apiarios de producción, fundamentalmente durante la primavera y el verano. Sin embargo, en los últimos años ha disminuido notoriamente su prevalencia (Invernizzi et al., 2011a).

Al comienzo de la enfermedad se observa a las larvas muertas cubiertas por un moho blanco esponjoso, donde más tarde se secan y se encogen en "momias", adquiriendo un tono gris a negro (Heath, 1982). Esto se observa tanto en celdas abiertas como en operculadas, así como en el suelo al frente de las piqueras de las colmenas (ya que las obreras limpiadoras las sacan de la misma) (Fig. 21). El color blanquecino de las crías afectadas se debe al color de los micelios del hongo. Cuando la infección es severa, si se agita el panal, en ocasiones suena como "maraca," ya que las momias no están perfectamente adheridas a las celdas y golpetean con las paredes de éstas. La enfermedad puede presentarse en las larvas de las tres castas de abejas melíferas, pero suele ser más recurrente en la cría de zánganos. Las larvas presentan mayor susceptibilidad a enfermarse entre los 3-4 días de edad (Correa & Tanús, 2012).



Figura 21. Crías afectadas por ascosferosis en la piquera de una colmena. Las abejas sacan las crías momificadas de la colmena. Fotos tomadas del libro Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas de Guzmán et al., 2012.

El diagnóstico es muy fácil de realizar con base en el cuadro clínico, pero también puede hacerse en un laboratorio a través de un frotis húmedo que muestre las esporas bajo el microscopio óptico. La muestra se toma de la superficie de momias que se hayan tornado oscuras. También existen pruebas moleculares (Correa & Tanús, 2012).

Cría ensacada (SBV):

Es una enfermedad infectocontagiosa de origen viral que afecta a las crías de las abejas mellíferas. Es también conocida como cría sacciforme y se caracteriza porque las crías mueren en el interior de su cutícula, dando la impresión de ser un saco lleno de líquido (Fig. 22). Se presenta con cierta frecuencia pero son pocas las crías que se enferman (Correa & Tanús, 2012).

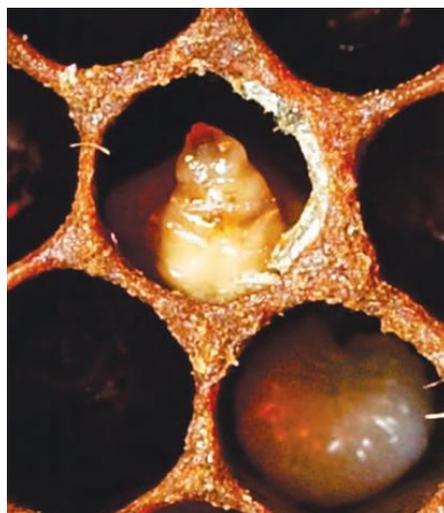


Figura 22. Larva afectada de cría ensacada dentro de su celda. Imagen extraída del manual: Patología, Diagnóstico y Control de las Principales Enfermedades y Plagas de Las Abejas Mellíferas Guzman et al., 2012.

El agente etiológico es un virus ARN hexagonal de 30 nm de diámetro. El cual tiene preferencia por ciertos tejidos del cuerpo de la larva, como los cuticulares, musculares, adiposo y nervioso, en cuyas células se reproduce (Correa & Tanús, 2012).

Se considera que la cría ensacada existe en todo el mundo, aunque muchos países no la han reportado. La enfermedad puede presentarse todo el año pero es más frecuente antes de las floraciones y durante la época de lluvias, sobre todo en colonias débiles o que han sido expuestas a alguna situación de estrés (Correa & Tanús, 2012). En Uruguay el virus de SBV está presente (Antunez et al., 2006, Invernizzi et al., 2011a), apareciendo puntualmente en algunas colonias (Invernizzi et al., 2011a).

Los signos clínicos que se observan son los opérculos hundidos, perforados y con aspecto grasiento en las celdas con crías afectadas (como en la Loque Americana). En el interior de las celdas, es característico observar a las crías muertas dentro de un saco lleno de líquido y con la cabeza estirada; luego adquieren el aspecto de un cono invertido. Conforme pasa el tiempo la cría se va secando y toma una tonalidad más oscura hasta que queda una costra fácilmente removible del piso de la celda. Las costras están libres del virus, por lo que no constituyen una fuente de contagio (Correa & Tanús, 2012). Los síntomas tienden a desaparecer cuando se produce un fuerte ingreso de néctar a la colmena (Invernizzi et al., 2011a).

El diagnóstico a nivel de campo se basa en el cuadro clínico, o en remover las crías con unas pinzas entomológicas. En el laboratorio se requiere de pruebas inmunológicas o de un microscopio electrónico porque el virus no puede verse con microscopios normales. El diagnóstico también puede hacerse en el laboratorio con métodos moleculares (Correa & Tanús, 2012).

Varroasis:

La Varroosis es una parasitosis externa y contagiosa que afecta tanto a la cría como a las abejas mellíferas adultas, su agente etiológico es un ácaro llamado Varroa destructor (Espinosa et al., 2012b; OIE, 2012). El mismo durante su ciclo biológico presenta dos fases; una fase forética en la cual las hembras de Varroa están parasitando a las abejas adultas diseminando la enfermedad y una fase reproductiva que ocurre dentro de las celdas donde se desarrollan en las crías de obreras y zánganos (Espinosa et al., 2012b).

El ácaro Varroa destructor se caracteriza por presentar dimorfismo sexual, en el caso de la hembra presenta un cuerpo ovalado, aplanado dorso-ventralmente, con una coloración castaño-rojiza o marrón oscura; sus dimensiones son de 1 a 1.7 mm de largo por 1.5 a 1.9 mm de ancho, lo que la hace visible a simple vista. Por su parte el macho tiene un cuerpo de forma triangular y de color blanquecino; mide de 0.7 a 0.9 mm de largo por 0.9 mm de largo por 0.7 a 0.8 mm de ancho (Espinosa et al., 2012b).

Actualmente este parásito se encuentra distribuido en todas las regiones donde se practica la apicultura, aunque hasta el año 2012 no se había reportado oficialmente en Australia (Espinosa et al., 2012b). En Uruguay el ácaro se detectó por primera vez en 1978 en Montevideo y rápidamente se dispersó a todo el territorio nacional. Los registros del MGAP muestran que en el periodo de 1985- 2005 el promedio de infestación es del 7,9%, mientras que en los años 1994 y 2005 los promedios de infestación son más altos (10,0% y 11,1%, respectivamente). A pesar de estos datos esta enfermedad no causó un daño tan importante como el reportado en otros países, pudiendo en algunos casos prescindir de tratamiento acaricida (Invernizzi et al., 2011a).

Los signos clínicos pasan desapercibidos en el comienzo de la enfermedad (OIE, 2012), ya que los ácaros son muy difíciles de ver en el tórax o en el abdomen de una abeja adulta durante las inspecciones normales de las colmenas (Ben Hamida et al., 1999). Luego cuando la infección es importante, se ve claramente la parasitosis donde los ácaros se observan sobre el cuerpo de las abejas adultas (Fig. 23) o dentro de celdas con cría operculada (principalmente las de los zánganos) (Espinosa et al., 2012b). A su vez dichos síntomas se hacen más evidentes después de un intenso flujo de néctar, porque el área de cría se reduce considerablemente, lo que obliga a los ácaros foréticos a infestar un elevado número de celdas de cría. Algunas semanas más tarde, una gran proporción de las abejas recién emergidas se deforman y no pueden realizar las actividades normales de la colmena, lo que provoca el colapso repentino de la misma (Ben Hamida et al., 1999). En los cuadros que contienen la cría parasitada pueden verse los opérculos roídos y cría salteada (SENASA, 2005).



Figura 23. Una hembra de *Varroa destructor* sobre el tórax de una abeja obrera. Imagen extraída del manual: Patología, Diagnóstico y Control de las Principales Enfermedades y Plagas de Las Abejas Melíferas Guzman et al., 2012.

El diagnóstico de la presencia de *V. destructor* en una colmena de abejas es sencillo, más si la infestación es alta, dado que es fácil detectar los ácaros a simple vista sobre el cuerpo de abejas adultas o dentro de celdas con cría operculada, especialmente la de los zánganos (Espinosa et al., 2012b).

Nosemosis:

Es una parasitosis infecciosa del tracto digestivo de las abejas adultas causada por dos especies de hongos (*Nosema apis* y *Nosema ceranae*). La enfermedad es altamente contagiosa y los daños que ocasiona son graves solo cuando el nivel de infección en las abejas es alto. En esos casos, la enfermedad se caracteriza por el debilitamiento y muerte prematura de las abejas (Gúzman & Prieto, 2012). Otra característica es que presenta diversos grados de infección, lo que sugiere que hay diferentes niveles de resistencia contra el patógeno (Antúnez et al., 2013b).

En Uruguay la única especie detectada es *N. ceranae* (Invernizzi et al., 2009), en los departamentos de Rivera, Colonia, Durazno, Florida, Soriano, Salto, Paysandú, Río Negro y Tacuarembó (Anido, 2013), lo que coincide con las áreas de mayor densidad de forestaciones de *E. grandis* del país (Anido 2013; Mendoza et al., 2014). El único tratamiento efectivo para controlar la nosemosis es el antibiótico fumagilina, pero su uso está prohibido en Europa (Fries, 2010) y en Uruguay está habilitado solo para los criaderos de reinas (MGAP, 2010).

8. Intoxicaciones.

Las abejas están expuestas a una gran variedad de sustancias tóxicas que se encuentran en el entorno donde obtienen sus recursos, desde las utilizadas por el hombre en la agricultura y la apicultura, hasta las producidas en forma natural por las plantas (Johnson, 2015).

Miles de abejas pecoreadoras (forrajeras) se trasladan hasta 15 km² de la colmena (Couvillon et al., 2014) para poder recolectar néctar, polen, agua y propóleos que necesitan para alimentar y sostener una colmena que tiene una población de miles de abejas. Durante el proceso de pecoreo, las abejas se encuentran con materiales tóxicos de origen natural y sintético, de modo que pueden trasladar xenobioticos (compuestos químicos producidos por el hombre, que pueden ser tóxicos para los seres vivos) a la colmena (Fig.24) (Singaravelan et al., 2005).

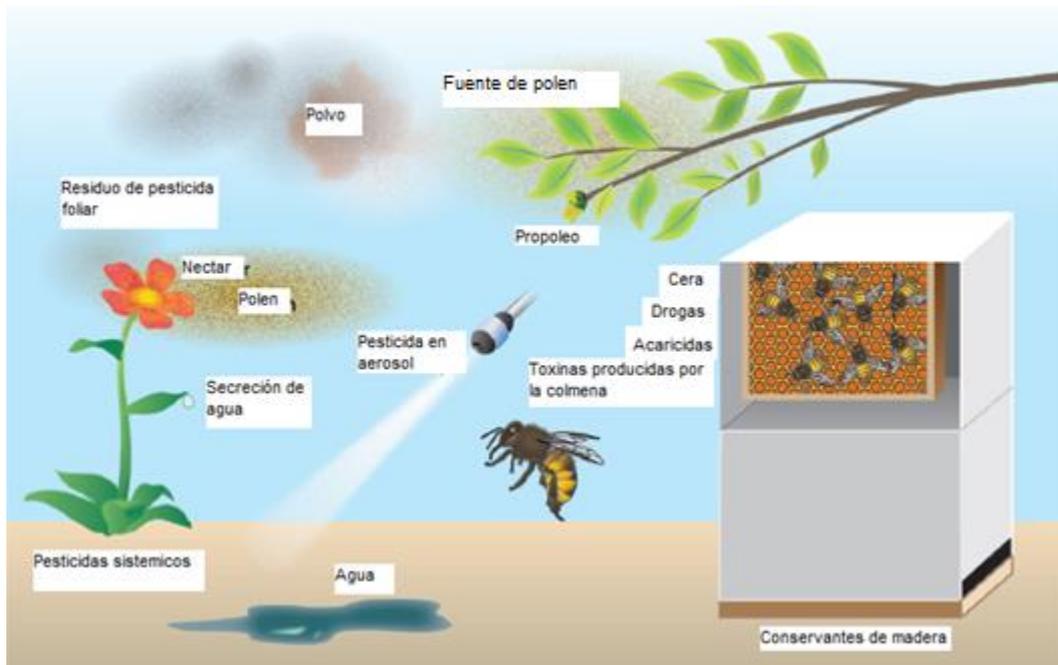


Figura 24. Resumen de las diferentes rutas por las cuales las abejas pueden estar expuestas a xenobióticos potencialmente tóxicos. Incluyendo los materiales recogidos mediante el forrajeo por parte de las abejas. Imagen extraída de artículo científico: Honey Bee Toxicology de Johnson, 2015.

Las abejas recogen el néctar para satisfacer las necesidades de carbohidratos de la colmena, pero esta fuente de alimentos no es enteramente inocua, del 9 al 55% de los néctares producidos por flores contienen xenobióticos (Singaravelan et al., 2005). Estos también se encuentran en el polen que las abejas utilizan como fuente principal de aminoácidos y esteroides (Johnson, 2012; Bonvehí, 2001; Barker, 1977).

En el caso de los propóleos que las abejas utilizan como sellante, pegamento y agente antimicrobiano dentro de la colmena, éstos pueden contener una rica cantidad de compuestos fenólicos con actividad biológica (Burdock, 1998). Además las abejas trasladan el agua de fuentes ambientales para diluir la miel y enfriar la colmena. Tanto el agua superficial como el agua que contienen las plantas en las hojas pueden estar contaminadas con altas concentraciones de insecticidas sistémicos (Fig. 24) (Johnson, 2015).

Las sustancias tóxicas también pueden aparecer dentro de la colmena por otros medios, incluyendo hongos y bacterias que producen compuestos tóxicos (Patil et al., 2010; Gonzalez et al., 2005) y también por los apicultores al agregar drogas al ambiente de la colmena para el control de patógenos y parásitos (Van den Heever et al., 2014; Reybroeck et al., 2012; Johnson et al., 2010). Es importante saber que tanto los fármacos como los pesticidas agrícolas pueden persistir durante muchos años en la cera de los cuadros de las colmenas (Mullin et al., 2010) y que además, cuando el pecoreo es escaso, los apicultores pueden alimentar a las abejas con azúcar

y suplementos de proteínas que contienen hidratos de carbono tóxicos para las abejas (Johnson, 2015; Barker, 1977).

Por otro lado muchas de las plantas que atraen a sus agentes polinizadores necesitan protegerse de la herbivoría (proceso por el cual un animal se alimenta de una parte viva de la planta, siendo bueno para él y perjudicial para la planta), para evitar este proceso las plantas realizan la producción de sustancias tóxicas (Alves, 2010), también llamados aleloquímicos (Detzel & Wink, 1993) o compuestos secundarios (Alder, 2000; Singaravelan et al., 2005) y los depositan en el polen, el néctar floral (Detzel & Wink, 1993; Alves, 2010), el néctar extra floral, la savia y en las secreciones de homópteros. Estos compuestos tóxicos acaban afectando a las abejas *A. melíferas* produciendo efectos letales y sub-letales (Alves, 2010). En la mayoría de las regiones donde se practica apicultura existen reportes de colonias intoxicadas por néctares y pólenes tóxicos, de la gran cantidad de especies botánicas que existen, sólo 36 géneros se han confirmado como causantes de intoxicación en las abejas (Cintra et al., 2005). En algunos casos afecta solo a las etapas larvarias de las abejas (Pimentel & Message, 2004) y en otros únicamente a los adultos (Palmer-Jones & Line, 1962; Batista & Cardoso, 2013).

9. Mal del Río

En la apicultura uruguaya, existe una enfermedad que los apicultores llaman Mal del Río (Maggi et al., 2016). Lo más parecido en el mundo a este cuadro es un problema que afecta a los apicultores en California (Estados Unidos), causado por el néctar y el polen de los Castaños de Indias (*Aesculus californica*) donde se registra mortalidad de larvas, pero a diferencia del “Mal del Río”, afecta también a los estadios adultos (Barker, 1990).

El Mal del Río (MDR) o también llamado “Mal de Santa Lucía”, es una enfermedad que se caracteriza por la muerte masiva de larvas jóvenes de abejas (específicamente 1 y 2 días de edad) (Maggi et al., 2016). Las colonias de abejas afectadas se encuentran cerca de cursos de agua importantes con abundante vegetación y la época del año en que se presenta es a finales de la primavera e inicios del verano (Vandame & Palacio, 2010; Invernizzi et al., 2011a; Maggi et al., 2016). Las colonias afectadas por el MDR tiene un componente geográfico muy importante, afectándose todos los apiarios y todas las colonias de cada apiario de la zona donde se presenta (Invernizzi et al., 2011a).

La primera descripción de este síndrome fue en 1951 en apiarios ubicados en las cercanías del río Santa Lucía, en esa época se consideraba que la causa de este cuadro era la Amebiasis que afecta a las abejas adultas. En los últimos años el MDR se ha presentado principalmente en el litoral oeste del país en la zonas de la cuenca del río Uruguay (Invernizzi et al., 2011a) y los últimos casos reportados fueron en el centro del país (Fig. 25) (Juri et al., 2016a, Nogueira et al., 2016a).

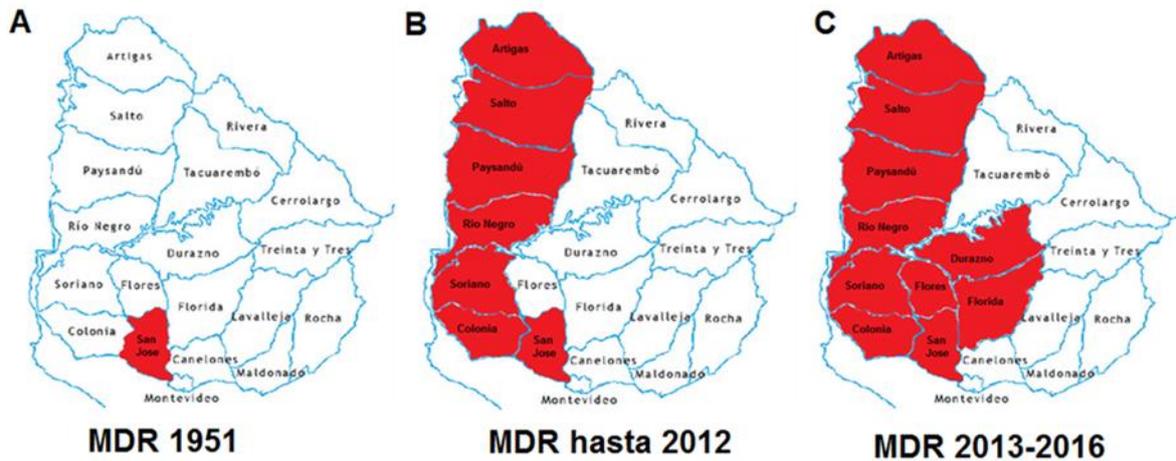


Figura 25. Expansión de la enfermedad MDR en el Uruguay desde 1951 hasta el año 2016.

El MDR ocasiona pérdidas económicas importantes a los productores apícolas afectados. En un relevamiento de pérdidas económicas producidas en el período 2010-2012 realizado a 16 apicultores socios de la Cooperativa CALAY de Young, que tenían 6040 colmenas en explotación, dio como resultado pérdidas de 19,90 dólares por colmena por año, debiéndose fundamentalmente a pérdidas de producción (51,8%), muertes de colonias (36,5 %) y manejo extra (10,3%) (Fig. 26) (Haller et al., 2014).



Figura 26. Pérdidas por la enfermedad Mal del Río en el periodo 2010- 2012.

A partir de 2012, se comenzó a realizar el seguimiento del MDR, logrando avances en el diagnóstico del cuadro clínico en forma temprana en condiciones de campo (Nogueira et al., 2014), así como la detección de cuadros subclínicos (Nogueira et al., 2016b). Se pudo comprobar que los embriones (huevo) no eran afectados

(Nogueira et al., 2016c) y que además el único manejo recomendado hasta el momento es el traslado temprano de las colmenas a campos que no presenten la enfermedad (Maggi et al., 2016). Dicho traslado no resulta efectivo si se trasladaban en forma tardía (Juri et al., 2016a), e incluso puede llevar a transmitir el MDR a colonias sanas, que ya estaban en los campos seguros, mediante el pillaje por parte de éstas a las colmenas con MDR trasladadas (Nogueira et al., 2016a)

La marcada estacionalidad de la enfermedad, y el hecho de que las colonias que eran trasladadas en las etapas iniciales del cuadro clínico, se recuperaran espontáneamente, sugería que se trataba de una intoxicación por alguno de los recursos que las abejas estaban explotando en la vegetación asociada a los cursos de agua. Por ello se realizaron ensayos en carpas (Fig. 27) a efectos de establecer cuál era la vía por la que ingresaba el agente causal del MDR a la colonia, las pruebas demostraron que el agente causal del MDR se encontraba en el néctar y los análisis de laboratorio orientaban a un mielato (Juri et al., 2016b)



Figura 27. Imagen de la carpa utilizada para el proyecto que buscó identificar el agente causal de la enfermedad MDR.

En la siguiente temporada, se pudo reproducir la mortalidad de larvas en cría artificial (laboratorio), tanto por el néctar depositado en colonias afectadas, como por las secreciones de un Flátido (Insecta, flatidae) que estaba sobre árboles de Sarandí Colorado (*Cephalanthus glabratus*) (Fig. 28)(Arredondo et al., 2016).



Figura 28. Imágenes que muestran al flátido productor de la secreción que contiene el agente causal del MDR.

Estudios histológicos de larvas de abejas afectadas con el MDR demostraron que los trofocitos y los oenocitos que son células componentes del cuerpo graso de las larvas y que tienen una función similar a la de los hepatocitos (Da Cruz, 2008) estaban alteradas, lo que sugiere que intentaban detoxificar el organismo (Pedrana et al., 2017).

El MDR se trata entonces de un cuadro de mortalidad larvaria masiva, causado por un mielato tóxico que puede ocasionar la muerte de la colonia por despoblamiento. Es importante poder determinar cómo evoluciona la cámara de cría de una colonia afectada por MDR, para avanzar en la comprensión de la enfermedad, así como para poder tener una referencia para evaluar la respuesta a tratamientos y manejos de las colonias afectadas.

HIPÓTESIS

El análisis de imágenes de la cámara de cría permite discriminar colonias sanas y afectadas por el Mal del Río.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Estudiar el desarrollo de la cámara de cría de colmenas sanas y afectadas por el Mal del Río, utilizando análisis de imágenes.

Objetivos Específicos:

- Estudiar la evolución de la proporción de huevos, larvas y pupas en colmenas sanas y afectadas por el Mal del Río.
- Armar curvas de desarrollo de colonias normales para utilizarlas como referencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Material vivo y equipamiento utilizado.

Se usaron 20 núcleos de 4 cuadros, de abejas criollas, adquiridos en el mes de Noviembre a un criadero de San José. Las reinas de los 20 núcleos eran hijas de la misma madre, y las colonias tenían similar estado de desarrollo poblacional.

Estos núcleos se trasladaron al Campo Experimental N° 2, de Libertad, donde recibieron un tratamiento preventivo para la varroosis con Apilife Var ®, y posteriormente se transfirieron de los nucleros a colmenas estandar. Los cuadros de

cada colmena fueron numerados del 1 al 10, en la parte superior de los cabezales, siguiendo el mismo orden de izquierda a derecha, del lado de la piquera.

En la segunda sesión de fotografía, una colonia de cada grupo estaba en el proceso de cambiar reinas, lo que determinó que fueran retiradas del ensayo, ya que en los siguientes 15 a 25 días no iban a tener postura.

Para poder lograr manipular a las abejas fue necesario contar con el uso de un equipamiento adecuado, el cual consiste en: ahumador, guantes, careta, mameluco, palanca y cepillo (ver Anexo 1).

2. Apiarios de Seguimiento

Campo Problema: Campo en Durazno, donde la temporada anterior se registraron casos graves de MDR.

Km 173 de Ruta 14. Coordenadas Geográficas -33.381179, -56.601394 (Fig. 29).

Campo Seguro: Campo donde nunca se presentó el Mal del Río.

Campo N° 2 de Facultad de Veterinaria

Km 42,500 de Ruta 1. Coordenadas Geográficas -34.676884, -56.534640 (Fig. 29).



Figura 29. Ubicación de los apiarios utilizados para el ensayo experimental; campo seguro (Campo Libertad) y campo problema (Campo de Durazno).

3. Fotografía de la Cámara de Cría

Cámara de fotos réflex digital con control remoto de disparo, marca Nikon, modelo D5300 con lente de 50 mm marca Nikkor (Fig. 30).



Figura 30. Imagen de la cámara fotográfica utilizada para la obtención de las fotos presentadas en esta tesis. Fuente: <https://www.ephotozine.com/article/nikon-d5300-hands-on-preview-23190> y <http://www.electrodelnorte.com/lente-nikon-50mm-f1-4g/>

Bastidor fijo cámara-portacuadro, donde ya están establecidas la altura, inclinación y distancia entre la cámara de fotos y el cuadro que se coloca en un soporte, logrando ahorro de tiempo y fotos uniformes (Fig. 31 y 32).



Figura 31. Esquema del bastidor que se utilizó para apoyar los cuadros de la colmena.



Figura 32. Imagen de bastidor utilizado para la toma de fotografías y fotografía de las dos caras de un cuadro de la colmena.

La metodología de trabajo utilizada fue la descrita en “Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies”. En donde se plantea que existen dos modos de medir la fortaleza o la cantidad de abejas de una colmena; Métodos subjetivos los cuales son muy rápidos y no necesitan equipos pero tienen gran error y dependen del operador y métodos objetivos, los cuales utilizan un instrumento y son exactos, divididos en clásicos (donde queda mucho tiempo la colmena abierta pudiendo causarle enfermedades aunque sea más exacto) y modernos (basados en fotografía digital y análisis de imágenes. Es por todo esto que se decidió implementar un método objetivo moderno, gracias al seguimiento fotográfico, logrando sacar las fotos de los cuadros de una colmena en menos de 3 minutos para de esta forma no estresar a las abejas y así evitar la aparición de alguna enfermedad en las mismas (Delaplane et al., 2013).

A las 10 colmenas de cada apiario, una vez ahumadas, se le retiraron en orden los cuadros de la cámara de cría, se le cepillaron las abejas que estaban posadas en el mismo, se colocaron en el soporte y fueron fotografiados en sus caras A y B. Este procedimiento se realizó en total 5 veces en los meses de Noviembre y Diciembre del año 2014 y Enero 2015.

4. Procesamiento de las imágenes

1. Las celdas de cada fotografía fueron pseudocoloreadas utilizando el programa Corel Photo Paint X5™, siguiendo el siguiente criterio (Fig. 33):

Huevos: azul

Larvas (cría abierta): amarillo

Pupas (cría operculada): verde

Cada foto pseudocoloreada fue archivada en carpetas, con la siguiente sistematización fecha, apiario, colmena, cuadro y cara del cuadro

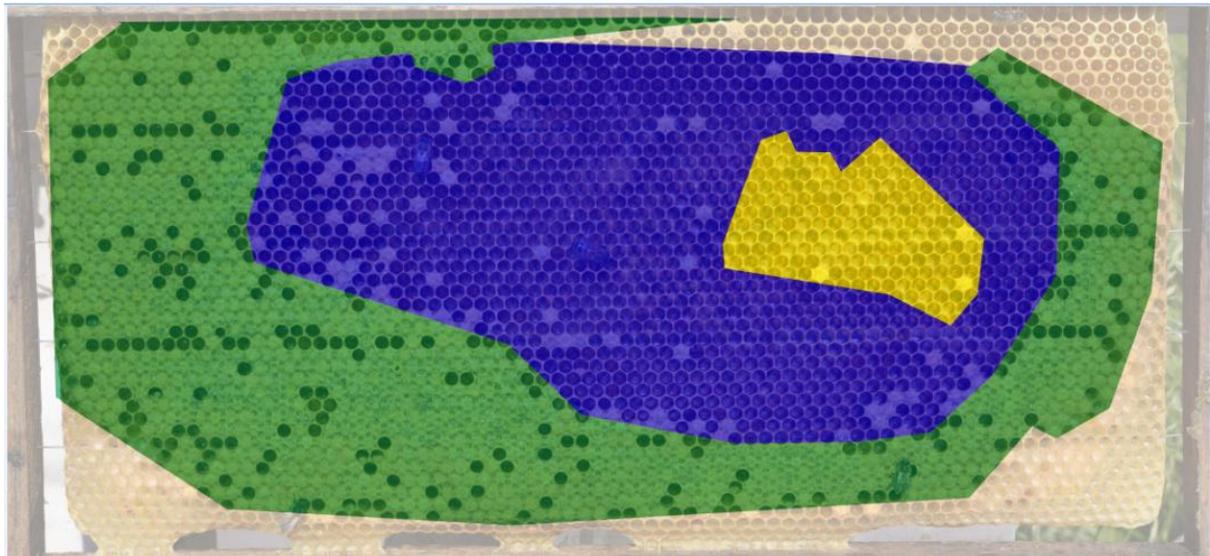


Figura 33. Imagen pseudocoloreada de un lado del cuadro usando el programa Corel.

Cabe destacar que para poder lograr lo mencionado previamente es necesario conocer en detalle cómo se visualizan los huevos, las larvas y la cría operculada en cada imagen obtenida, así como lograr diferenciar las mismas de celdas vacías. Esto es muy importante ya que es indispensable poder identificar correctamente las áreas de huevo, de larva y de cría operculada para así lograr pseudocolorear adecuadamente cada imagen obtenida (Fig. 34 y 35).

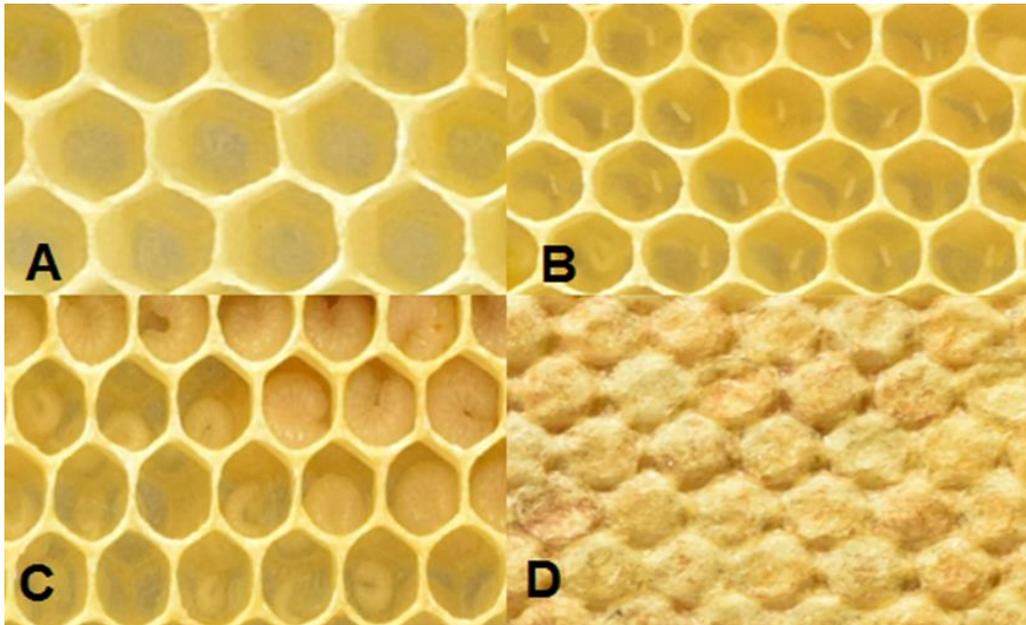


Figura 34. Imagen de la composición del cuadro de cría: A- Celdas vacías, B- Huevos, C- Diferentes estadios larvarios (L1-L5) y D- Cría operculada.

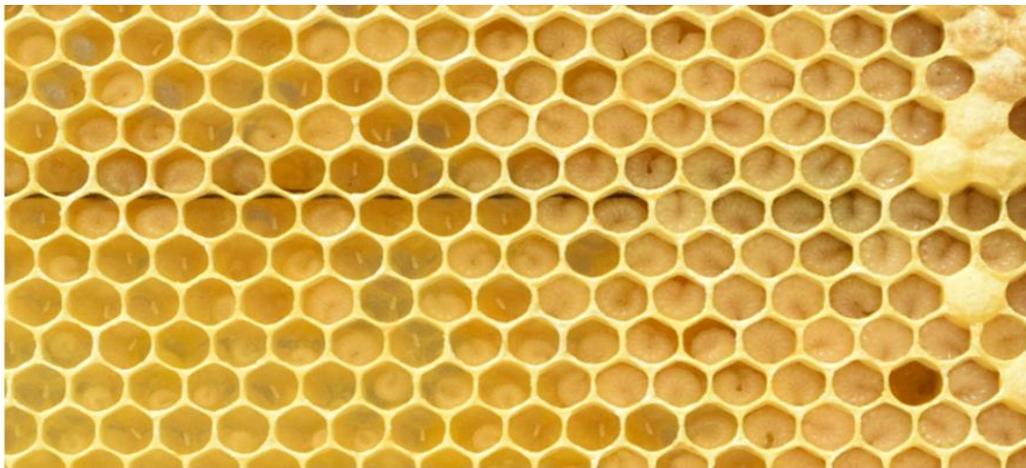


Figura 35. Observación del área de cría: huevos, diferentes estadios larvarios y cría operculada.

2. Cálculo de áreas de acuerdo al contenido de las celdas

Con el software libre, de procesamiento y análisis de imágenes en Java, Image J, se seleccionó cada foto pseudocoloreada previamente y se calcularon las áreas correspondientes a cada color. De esta forma obtuvimos el área de cada componente (huevos, larvas y pupas), y el total del área de cría, de cada colmena en cada una de las sesiones de fotografía (Fig. 36 y 37).

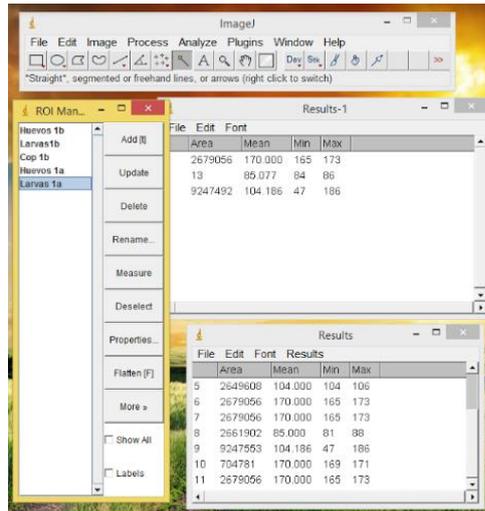


Figura 36. Imagen de captura de pantalla del programa Image J haciendo el cálculo de las áreas.

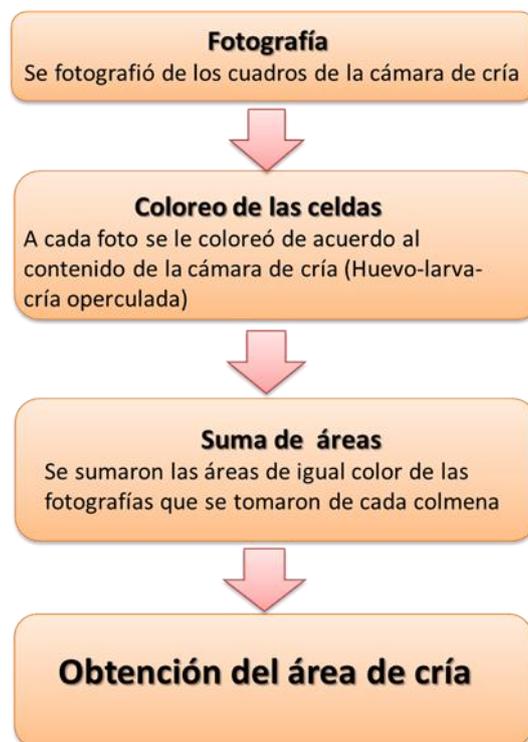


Figura 37. Esquema del procedimiento realizado sobre las fotografías tomadas hasta lograr la medición del área de cría total así como de sus tres componentes: huevo, larvas y cría operculada por separado.

5. Análisis Estadístico

Se utilizó el modelo general lineal GLM para comparar los cambios en las siguientes variables dependientes: Área de cámara de cría, área de huevo, área de larva y área de cría operculada.

Se utilizó en programa estadístico SAS® para comparación de medias teniendo en cuenta el efecto fecha y el efecto de establecimiento, obteniendo curvas de evolución de las áreas de cría de las colmenas sanas y afectadas.

Para la comparación entre medias de las variables de áreas antes mencionadas y las correlaciones se consideró un valor de P menor a 0,05.

RESULTADOS

Área de la cámara de cría

Se evidenció que en el campo problema la cámara de cría fue disminuyendo mientras que se observó el efecto opuesto en el campo seguro (Fig. 38). Por su parte el campo seguro tuvo un aumento significativo en la cámara de cría a partir de la 3er fecha en adelante. Existió efecto del lugar, del día y de la interacción lugar-día (en el modelo experimental en el SAS error tipo 1 y tipo 3 con $p < 0,0001$), no hubo diferencias entre las colmenas (son homogéneas) pero si entre los campos en las fechas 2, 3, 4 y 5 ($p < 0,0001$).

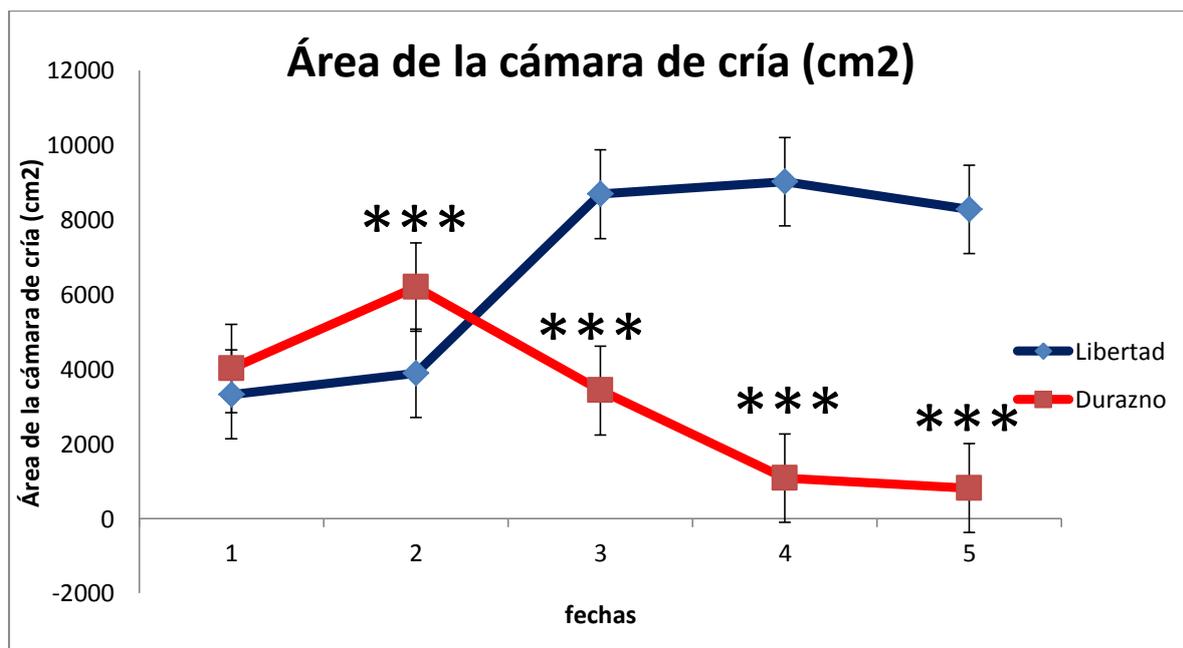


Figura 38. Área de la cámara de cría en campo problema (Durazno -color rojo) y campo seguro (Libertad- color azul).

Área de huevo

En la figura 39 se observa que en la fecha 1 no hubo diferencias entre los campos por $p > 0,05$. En la fecha 2 el campo problema tuvo un área de huevo mayor

respecto al campo seguro. Mientras que en la fecha 3 el campo seguro es quien presentó una mayor área de huevo en relación al campo problema. Finalmente en las fechas 4 y 5 el campo problema evidenció menor área de huevo que el campo seguro. Existió efecto del día y de la interacción lugar-día (en el modelo experimental en el SAS error tipo 1 y tipo 3 con $p < 0,0001$), no hay diferencias entre las colmenas (son homogéneas).

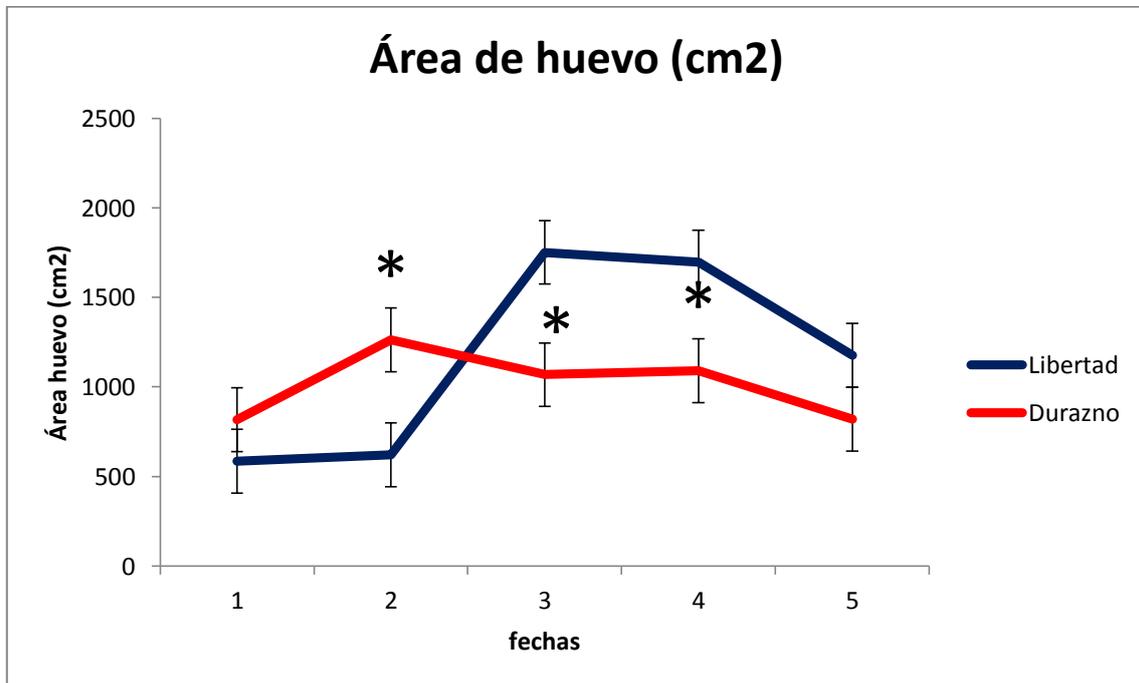


Figura 39. Área de huevo en campo problema (Durazno -color rojo) y campo seguro (Libertad- color azul).

Área de larva

En la figura 40 se observó que en las fechas 1 y 2 no hubieron diferencias entre los campos por $p > 0,05$. Por su parte en las fechas 3, 4 y 5 el campo problema tuvo ausencia de larvas mientras que en el campo seguro hubo un marcado crecimiento. Existió efecto del día y de la interacción lugar-día (en el modelo experimental en el SAS error tipo 1 y tipo 3 con $p < 0,0001$), no hay diferencias entre las colmenas (son homogéneas).

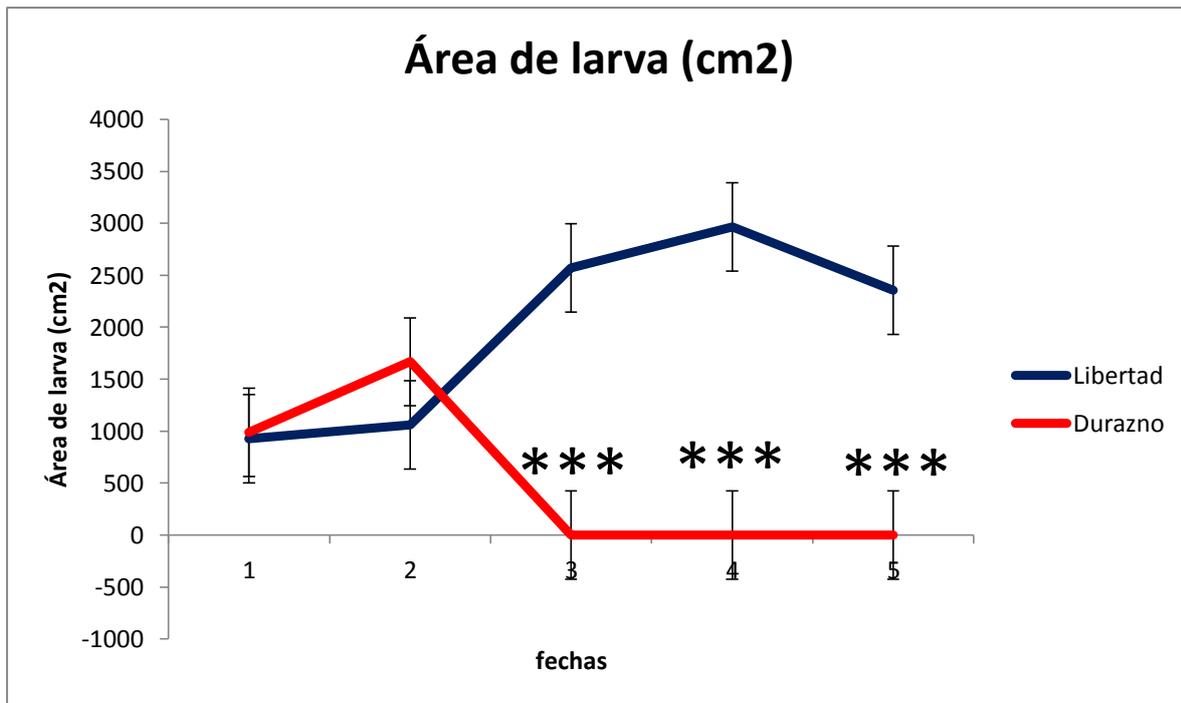


Figura 40. Área de larva en campo problema (Durazno -color rojo) y campo seguro (Libertad- color azul).

Área de cría operculada

En la figura 41 se observó que en la fecha 1 no hubieron diferencias entre los campos por $p > 0,05$. En la fecha 2 y 3 en el campo problema se observó que el área de cría operculada es menor que en el campo seguro. Finalmente en las fechas 4 y 5 el campo problema evidenció ausencia de cría operculada, mientras que en el campo seguro ésta aumentó notoriamente. Existió efecto del día y de la interacción lugar-día (en el modelo experimental en el SAS error tipo 1 y tipo 3 con $p < 0,0001$), no hay diferencias entre las colmenas (son homogéneas).

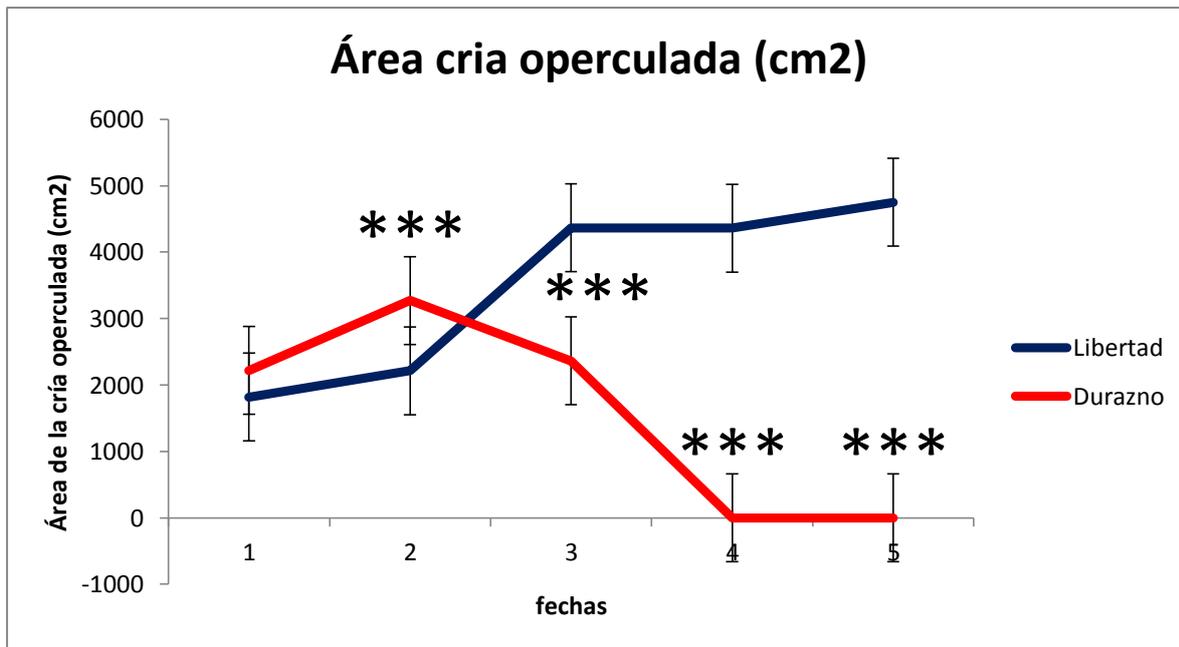


Figura 41. Área de cría operculada en campo problema (Durazno -color rojo) y campo seguro (Libertad- color azul).

Las relaciones entre los componentes de la cámara de cría (huevo, larva y cría operculada) en función del tiempo (5 fechas) están afectadas claramente en las colonias del campo problema con respecto al campo seguro (Fig. 42).

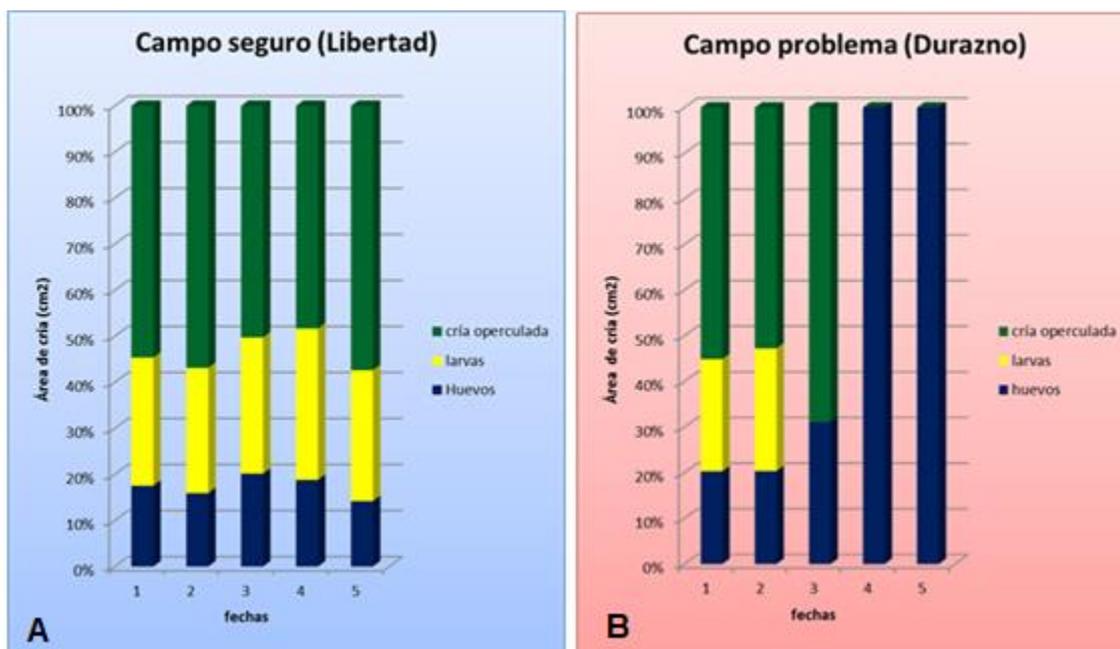


Figura 42. Área de cría (huevo, larva y cría operculada) en el campo seguro (A) y en el campo problema (B).

DISCUSIÓN

En el campo seguro se evidenció el crecimiento esperado de las colmenas (Fig. 42a), donde se mantuvo la relación normal entre huevo-larva y cría operculada de 1, 2, 4 (huevo: 3 días: 1; larva: 6 días: 2; cría operculada: 12 días: 4) planteado por Prost et al., 2007). Además todas las colmenas evolucionaron de pequeñas a grandes colmenas productivas como se espera en esta época (primavera-verano) teniendo un notorio crecimiento de la cámara de cría (Ochoa, 1977).

En el caso del campo problema las colmenas no mantuvieron la relación esperada de 1, 2, 4 en el ciclo normal del crecimiento de la abeja (Prost et al., 2007) ya que hubo ausencia de larvas en las fechas 3, 4 y 5 (Fig. 42b). Las colmenas afectadas por Mal del Río (MDR) redujeron su población por falta de reposición de abejas y si el cuadro clínico se extiende, puede ocasionar la muerte de las mismas (Invernizzi et al, 2011a).

Otro aspecto importante es que las colmenas que estaban en el campo problema, luego de la 3era sesión fotográfica son afectadas por el MDR en forma grave, no logrando criar larvas desde ese momento hasta el final del seguimiento. La falta de reposición de abejas provocó el despoblamiento y posterior muerte de todas las colmenas afectadas tal como lo planteó Invernizzi et al., 2011a.

Al comparar ambos campos (seguro y problema) se observó lo esperado: hubo una mayor área de huevos en el campo problema-Durazno con respecto al campo seguro-Libertad. En cuanto al área de larvas fue menor en campo problema respecto al campo seguro. Por último en relación a la cría operculada hubo una menor área en el campo problema que en el campo seguro.

Este cuadro puede ser considerado como MDR debido a que se pudieron descartar otras causas como la intoxicación por plantas las cuales afectan más a la forma adulta y en muy raras ocasiones a las larvas como es el caso de la planta del té (Cintra et al, 2005; Kluser et al., 2010; Wu et al., 2011). El agua, tampoco puede ser el vehículo del agente causal debido a que en primavera- verano con las altas temperaturas la abeja la evapora (Root, 1973; Cooper et al, 1985) y a su vez al ser época de floración (primavera) las abejas evaporan el agua para transformar el néctar a miel (Caballero, 2007). La Varroasis, cuyo agente etológico es el ácaro *Varroa destructor*, afecta tanto a las abejas adultas así como a las larvas (Rosenkranz et al., 2010; Flores et al., 2015), y por eso es descartada ya que la enfermedad presentada en el campo problema solo afectó a las larvas y no se observó la presencia de dicho ácaro en cantidades significativas en las colmenas enfermas como para generar un cuadro de varroasis en las mismas.

En el caso de la Loque Americana también se pudo descartar debido a que las larvas más susceptibles son las que tienen menos de 24 horas de edad (Hansen & Brodsgaard, 1999) y en este caso se dejaron de ver larvas en estadios aún más tempranos de la enfermedad presentada en el campo problema. Otro aspecto a considerar es que en la Loque Americana las larvas afectadas cambian su color variando del pardo amarillento al pardo oscuro y hasta finalmente negro parduzco y siguen conservando su forma (Root, 1973) dando un mal olor (Hansen & Brodsgaard, 1999), depositándose una materia viscosa y pegajosa sobre el lado de

abajo de la celda (Root, 1973). Todas estas características anteriormente mencionadas tampoco fueron visualizadas en las larvas del campo problema, por lo que reafirma que la Loque Americana no es nuestro agente causal.

Por su parte, la Loque Europea, afecta principalmente a la cría no operculada que tienen entre 4-5 días de edad y el color de las larvas afectadas cambia de blanco perlado a amarillo, luego marrón y finalmente, cuando se descomponen a grisáceo negro (Forsgren, 2010). Como ninguna de estas características fueron observadas en las larvas de las colmenas afectadas, se puede decir que efectivamente no estábamos frente a un cuadro de Loque Europea ya que los signos clínicos evidenciados en el campo problema fueron la ausencia absoluta de larvas desde sus primeros estadios, no pudiéndose llegar a ver ningún cambio en las características de las larvas.

En la Ascosferosis los síntomas típicos que se observan en una colmena afectada son capas de cera irregulares sobre la cría y celdas sin tapar esparcidas sobre los marcos de cría. Los cadáveres larvarios o momias se pueden ver a menudo en la entrada de la colmena o se encuentran en el piso. Dichas momias desecadas blancas parecen pequeños trozos de tiza dando lugar al nombre de la enfermedad (Jensen et al., 2013). Todas estas características antes mencionadas nos permitieron descartar esta enfermedad, las colmenas ubicadas en el campo problema no tenían larvas con micelios, ni tampoco momias en su entrada.

Finalmente en el caso de la cría sacciforme o cría ensacada, la cual es una enfermedad viral que afecta a las larvas, pupa y abejas adultas (Ball, 1999), fue descartada puesto a que el cuadro observado en el campo problema solo afectó a las larvas y no a las abejas adultas. Otra característica de esta enfermedad viral es que las larvas afectadas removidas van a tener la apariencia de un saco lleno de agua (Sanford, 1987). Además la coloración de las larvas muertas va cambiando desde tonos amarillos a amarronados (White, 1917). Dado que ninguno de estos aspectos se encontró en el campo problema se pudo descartar esta enfermedad.

Otro aspecto importante a considerar es que el cuadro que se observó en el campo problema fue muy grave llevando a que se afecten todas las colmenas y se terminen muriendo, ya que desaparecen por completo las larvas desde sus primeros estadios (Invernizzi et al., 2011a) y solo se observan la presencia de huevos. Es por todo esto que a su vez, ninguna de las enfermedades antes mencionadas pudo ser el agente causal de este cuadro ya que ninguna de ellas afecta a todas las colmenas de la misma manera, es decir que, algunas colmenas tienen una mayor fortaleza para lograr combatir a las mismas y no se mueren mientras otras son más débiles y se terminan muriendo.

CONCLUSIONES

El análisis de imágenes de la cámara de cría permitió determinar el momento aproximado en el cual se inició la mortalidad larvaria, así como el seguimiento de la evolución de la cámara de cría de las colonias ubicadas tanto en el campo problema como en el campo seguro. Asimismo, se logró evidenciar que las colonias situadas en el campo seguro se desarrollaron hasta llegar a ser colonias fuertes y productivas. La situación opuesta se presentó en las colmenas del campo problema, las cuales desarrollaron cuadros graves del MDR. Esto último se manifestó por una rápida muerte de todos los estadios larvarios en todas las colonias del apiario, derivando en colonias despobladas y poco viables. Debido a la gravedad de esta enfermedad resulta clave el diagnóstico temprano de la misma para poder realizar los manejos pertinentes y de ésta forma lograr salvar a las colonias enfermas. Por tanto, en aquellos apiarios cercanos a cursos de agua importantes, es conveniente una revisión en la primera quincena de Diciembre, buscando la ausencia de estadios larvarios para así poderlas trasladar a tiempo y lograr salvarlas. Otro aspecto a destacar, es que al haberse podido detectar el MDR en el campo problema, fue posible ubicar espacial y temporalmente dicha enfermedad. Esta información resultó relevante para el desarrollo de proyectos que buscaron profundizar en el conocimiento del MDR, como es el caso del proyecto INIA FPTA: "Agente etiológico del Mal del Río". Dicho proyecto permitió, a través de la búsqueda en la vegetación relacionada a los cursos de agua de la zona, encontrar al insecto que producía las secreciones que ocasionaron el MDR, lo cual fue un avance importante en el conocimiento de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. AFSSA (2009) Mortalités, effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles. París, AFSSA, 218 p.
2. Alder LS (2000) The ecological significance of toxic nectar. *OIKOS*, 91: 409-420.
3. Alves J E (2010) Néctar e pólen tóxicos para *Apis mellifera*. X Congreso Íbero Latinoamericano de Apicultura, 2010, Natal. p1-8.
4. Anido Fernández M (2013) Epidemiología de los principales patógenos de interés apícola en Uruguay. Tesis. Facultad de Ciencias-PEDECIBA, Udelar, 109 p.
5. Anido M, Branchiccela B, Castelli L, Harriet J, Campá J, Zunino P, Antúnez K (2015) Prevalence and distribution of honey bee pests and pathogens in Uruguay. *Journal of Apicultural Research*, 54(5): 532–540.
6. Antúnez K, D'Alessandro B, Piccini C, Corbella E, Zunino P (2004) *Paenibacillus* larvae spores in honey samples from Uruguay: a nationwide survey. *Journal of Invertebrate Pathology*, 86: 56–58.
7. Antúnez K, D'Alessandro B, Corbella E, Ramallo G, Zunino P (2006) Honeybee viruses in Uruguay. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93: 67–70.
8. Antúnez K, Anido M, Branchiccela B, Harriet J, Campá J, Zunino P (2012) American Foulbrood in Uruguay: Twelve years from its first report. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110 (1): 129–131.
9. Antúnez K, Anido M, Branchiccela, MB; Harriet, J; Campá, J; Invernizzi, C; Martín-Herández R, Higes M, Zunino P (2013a) Despoblación de colmenas. Proyecto FPTA-258 Despoblación de colmenas: determinación de sus causas en Uruguay. INIA Serie FPTA N° 41, 36 p.
10. Antúnez K, Mendoza Y, Santos E, Invernizzi C (2013b) Differential expression of vitellogenin in honeybees (*Apis mellifera*) with different degrees of *Nosema ceranae* infection. *Journal of Apicultural Research* 52: 227-234.
11. Antúnez K, Invernizzi C, Mendoza Y, VanEngelsdorp D, Zunino P (2017). Honeybee colony losses in Uruguay during 2013–2014. *Apidologie*, 48(3): 364-370.
12. Arredondo D, Juri P, Nogueira E, Santos E, Branchiccela B, Antúnez K, Invernizzi C (2016), Toxic nectar is responsible of River disease syndrome in Uruguay. 7º Internacional European Conference of Apidology, Cluj-Napoca, Rumania. p 277-278.
13. Ball BV Sacbrood (1999). En: Colin ME, Ball BV, Kilani M (Eds.) Bee disease diagnosis. Zaragoza, Options Méditerranéennes, pp 91- 97.

14. Barker RJ (1977). Some carbohydrates found in pollen and pollen substitutes are toxic to honey bees. *Journal of Nutrition*, 107(10): 1859–1862.
15. Barker RJ (1990) Envenenamiento por plantas. En: Morse RA, Nowogrodzki R. (Eds.) *Miel de abejas plagas, depredadores y enfermedades*. Ithaca, Cornell University Press, pp 309-315.
16. Batista IR, Cardoso M (2013). The pollen of *Caesalpinia pyramidalis* Tulis toxic to honeybees (*Apis mellifera*). *Arthropod-Plant Interactions*, 7: 463–466.
17. Bonvehí JS, Torrentó MS, Lorente EC (2001) Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 49(4): 1848–1853.
18. Bounous C, Boga V (2005) *Fundamentos para el control de Varroa y Loque Americana*. Montevideo, Unidad de Agronegocios y Difusión del INIA, 54p.
19. Burdock GA (1998) Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36(4):347–63.
20. Caballero, T (2007) *Productos apícolas (1)*. España, Disponible en: <http://www.ual.es/personal/tcabello/Temarios/ApiTema10Web.pdf>. Fecha de consulta: 10/03/2017.
21. Cintra P, Malaspina O, Bueno OC (2005) Plantas tóxicas para abejas. *Arquivos do Instituto Biológico, San Pablo*, 72 (4): 547-551.
22. Clément H, Bruneau E, Barbançon JM, Bonnaffé P, Domerego R, Fert G, Le Conte Y, Ratia G, Reeb C, Vaissière B (2012) *Tratado de Apicultura*. Barcelona, Ediciones Omega, 528p.
23. Codex alimentarius (2001) Norma para la miel. Disponible en: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-standards/es/>. Fecha de consulta: 6/7/2017.
24. Código alimentario argentino (2010) Alimentos azúcarados. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_X.pdf. Fecha de consulta: 6/7/2017.
25. Cooper PD, Schaffer WM, Buchmann SL (1985) Temperature Regulation of Honey Bees (*Apis mellifera*) Foraging in the Sonoran Desert. *Journal of Experimental Biology* 114: 1–15.
26. Cordara J (2010) Apicultura: la primera colonia de abejas. *Cuadernos de Historia de la Apicultura*, 1 (1): 1-21.
27. Correa Benítez A, Tanús Sánchez E (2012) Enfermedades micóticas y virales de la cría. En: Guzmán Novoa E, Correa Benítez A, Zozaya Rubio A, Espinosa Montaña LG, Prieto Merlos D, Reyes Cuayahuitl MS, López Ramírez A, Gris Valle AG, Anguiano Baez R, Vasquez Valencia I, Tanús Sánchez E, Vázquez Castillo R (Eds.) *Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas*. México, Imagen Editorial Yire, pp 35-44.
28. Couvillon MJ, Schurch R, Ratnieks FLW (2014). Waggle Dance Distances as Integrative Indicators of Seasonal Foraging Challenges. *PLoS ONE* 9(4): 1-7.
29. Crane E (1990) *Bees and Beekeeping Science, Practice and World Resources*. New York. Comstock Pub. Associates. 614 p.

30. Crane E (1999) *The World History of Beekeeping and Honey Hunting*. New York. Rutledge, 682p.
31. Crane E (2009a) *Apis Species: (Honey Bees)*. En: Resh VH, Cardé RT (Eds.) *Encyclopedia of Insects*. 2ª ed. Burlington. Elsevier, pp 31-32.
32. Crane E (2009b) *Bee*. En: Resh VH, Cardé RT (Eds.) *Encyclopedia of Insects*. 2da edición. Burlington, Elsevier, pp 66-75.
33. Da Cruz C (2008) *Abelhas: Morfología e função de sistemas*. 2da edición. Sao Pablo, UNESP, 407p.
34. Delaplane KS, Van der Steen J, GuzmanNovoa E (2013) Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apicultural Research*, 52(1): 1-12.
35. Detzel A, Wink M (1993). Attraction, deterrence or intoxication of bees (*Apis mellifera*) by plant allelochemicals. *Chemoecology*, 4(1): 8-18.
36. DIEA (2010) *Anuario Estadístico Agropecuario 2010*. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/diea-anuario-2010w.pdf> . Fecha de consulta: 07/03/17.
37. DIGEGRA, (2016), *Registro nacional de propietarios de colmenas (RNPC) 2016*. Disponibles en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/web_apicultura_2016.pdf . Fecha de consulta: 07/03/17.
38. Espinosa Montaña LG, Correa Benítez A, Guzmán Novoa E (2012a) Síndrome del colapso o despoblamiento de la colonia. En: Guzmán Novoa E, Correa Benítez A, Zozaya Rubio A, Espinosa Montaña LG, Prieto Merlos D, Reyes Cuayahuitl MS, López Ramírez A, Gris Valle AG, Anguiano Baez R, Vasquez Valencia I, Tanús Sánchez E, Vázquez Castillo R (Eds.) *Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas*. México, Imagen Editorial Yire, pp 86-91.
39. Espinosa Montaña LG, Guzmán Novoa E, López Ramírez A, Vázquez Castillo R (2012b) *Enfermedades parasitarias de las abejas adultas*. En: Guzmán Novoa E, Correa Benítez A, Zozaya Rubio A, Espinosa Montaña LG, Prieto Merlos D, Reyes Cuayahuitl MS, López Ramírez A, Gris Valle AG, Anguiano Baez R, Vasquez Valencia I, Tanús Sánchez E, Vázquez Castillo R (Eds.) *Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas*, D.F, México, Imagen Editorial Yire, pp 49-73.
40. FAO (2009) *Tratado internacional sobre los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Los polinizadores: su biodeversidad poco apreciada, pero importante para la alimentación y la agricultura*. 3ª Reunión del Órgano Rector. Túnez, Túnez, 15 p. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-be104s.pdf>. Fecha de consulta: 26/ 06/2016.
41. Fierro-Lopéz (1995) *Apoideos de México: Generalidades*. *Dugesiana*, 2(2): 29-44.
42. Flores JM, Gil S, Padilla F (2015) Reliability of the main field diagnostic methods of *Varroa* in honey bee colon. *Archivos de Zootecnia*, 64 (246): 161-165.

43. Forsgren E (2010) European foulbrood in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(1): S5–S9.
44. Fries I (2010) *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S73-S79.
45. Gallai N, Salles JM, Settele J, Vaissière BE (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* 68 (3): 810–821.
46. Gayubo SF, Villar JP (2015) Orden Hymenoptera. *Revista IDE@ - SEA*, 59: 1-36.
47. Gonzalez G, Hinojo MJ, Mateo R, Medina A, Jiménez M (2005) Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. *International Journal of Food Microbiology*, 105(1): 1–9.
48. Gordón MAR, Atlántico JB, Ornos C (2002) Polinizadores y biodiversidad. *Asociación española de Entomología, Jardín Botánico Atlántico y Centro Iberoamericano de la Biodiversidad Eds.*, 159 p.
49. Graham JM (1992) *The Hive and the Honey Bee*. Hamilton, Dadant, 1324p.
50. Grandjean JPM, O Campo S (2002). *Manual de buenas prácticas para la apicultura*. Santiago de Chile. MarkUp Publicidad, 49p.
51. Gregory P (2010) European Foul Brood: Part 1. *The official journal of the british beekeeper's association (Bee Craft)*: 1-2.
52. Guiomar NP (2011) Genética del comportamiento: Abejas como modelo. *Acta Biológica Colombiana*, 16 (3): 213-229.
53. Guzmán Novoa E (2012) Introducción. En: Guzmán Novoa E, Correa Benítez A, Zozaya Rubio A, Espinosa Montaña LG, Prieto Merlos D, Reyes Cuayahuitl MS, López Ramírez A, Gris Valle AG, Anguiano Baez R, Vasquez Valencia I, Tanús Sánchez E, Vázquez Castillo R (Eds.) *Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas*, D.F, México, Imagen Editorial Yire, pp 15-17.
54. Guzmán Novoa E, Prieto Merlos D (2012) Enfermedades micóticas de las abejas adultas. En: Guzmán Novoa E, Correa Benítez A, Zozaya Rubio A, Espinosa Montaña LG, Prieto Merlos D, Reyes Cuayahuitl MS, López Ramírez A, Gris Valle AG, Anguiano Baez R, Vasquez Valencia I, Tanús Sánchez E, Vázquez Castillo R (Eds.) *Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas*, D.F, México, Imagen Editorial Yire, pp 75-82.
55. Guzmán Novoa E, Zozaya Rubio A (2012) Enfermedades bacterianas de la cría. En: Guzmán Novoa E, Correa Benítez A, Zozaya Rubio A, Espinosa Montaña LG, Prieto Merlos D, Reyes Cuayahuitl MS, López Ramírez A, Gris Valle AG, Anguiano Baez R, Vasquez Valencia I, Tanús Sánchez E, Vázquez Castillo R (Eds.) *Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas*, D.F, México, Imagen Editorial Yire, pp 21-34.
56. Haller A, Juri P, Plaván E, Nogueira E (2014) Cuantificación de pérdidas económicas causadas por el mal del río a productores apícolas de la

- cooperativa calay en 3 temporadas (2010 – 2012). XI Congreso Latinoamericano de Apicultura – FILAPI 2014, Misiones, Argentina. P152.
57. Hansen H, Brodsgaard C (1999) American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World*, 80(1): 5-23.
 58. Hamida B, Colin ME, García Fernández P (1999) Varroosis. En: Colin ME, Ball BV, Kilani M (Eds.) *Bee disease diagnosis*. Zaragoza, Options Méditerranéennes, pp 121-142.
 59. Heath LAF (1982) Development of Chalk Brood in a Honeybee Colony: A Review, *Bee World*, 63: 119-130.
 60. Hickman CP, Roberts LS, Larson A, L´Anson H, Eisenhour DJ (2006) *Principios integrales de zoología*. 13ª Ed. Madrid, McGraw-Hill Interamericana, 1022p.
 61. IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura), PRONAGRO (Programa Nacional de Desarrollo Agroalimentario (2009) *Manual de enfermedades apícolas*. Tegucigalpa., IICA, 54p.
 62. INIA (2016) Reconocimiento del pequeño escarabajo de las colmenas (PEC): *Aethina tumida*. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/cartilla_escarabajo_colmenaweb.pdf. Fecha de consulta: 28/06/2017.
 63. Invernizzi (2001) Resistencia a la enfermedad de Cría Yesificada por colonias de *Apis mellifera* con eficiente comportamiento higiénico (Hymenoptera, Apidae). *Iheringia, Série Zoologia*, (91): 109-114.
 64. Invernizzi C, Abud C, Tomasco I, Harriet J, Ramallo G, Campá J, Katz H, Gardiol G, Mendoza Y (2009) Presence of *Nosema ceranae* in honeybee (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Journal of Invertebrate Pathology* 101: 150-153.
 65. Invernizzi C, Antúnez K, Campa JP, Harriet J, Mendoza Y, Santos E, Zunino P (2011a) Situación sanitaria de las abejas melíferas en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)* 47(181): 15–17.
 66. Invernizzi C, Santos E, García E, Daners G, Di Landro R, Saadoun A, Cabrera C (2011b). Sanitary and nutritional characterization of honeybee colonies in eucalyptus grandis plantations. *Archivos de Zootecnia* 60 (232): 1303-1314.
 67. Jensen AB, Aronstein K, Flores JM, Vojvodic S, Palacio MA, Spivak M (2013) Standard methods for fungal brood disease research. *Journal of Apicultural Research*, 52 (1): 1–20.
 68. Johnson RM, Ellis MD, Mullin CA, Frazier M (2010) Pesticides and honey bee toxicity—USA. *Apidologie*, 41 (3): 312–331.
 69. Johnson RM, Mao W, Pollock HS, Niu G, Schuler MA, Berenbaum MR (2012) Ecologically appropriate xenobiotics induce cytochrome P450s in *Apis mellifera*. *PLOS ONE*, 7(2): 1-9.
 70. Johnson RM (2015). Honey bee toxicology. *Annual Review of Entomology*, 60: 415–434.
 71. Jordá M, Peinado MA (2009) La regulación genética de las abejas. *Investigación y ciencia*, 395: 40-43.
 72. Juri P, Nogueira E, Invernizzi C (2016a) Evolución de las colonias de un apiario afectado por el Mal del Río, que fue trasladado en forma tardía a una

- zona segura. XII Congreso Latinoamericano de Apicultura y VI Congreso Cubano de Apicultura, La Habana, Cuba, CD Rom.
73. Juri P, Nogueira E, Mendoza Y, Santos E, Branchiccela B, Invernizzi C (2016b) El agente causal de la muerte de las larvas en colmenas afectadas por el “Mal del Río” se encuentra en el néctar. XII Congreso Latinoamericano de Apicultura y VI Congreso Cubano de Apicultura, La Habana, Cuba, CD Rom.
 74. Kilani M (1999) Biology of the honeybee. En: Colin ME, Ball BV, Kilani M (Eds.) Bee disease diagnosis. Zaragoza, Options Méditerranéennes, pp 9-24.
 75. Kluser S, Neumann P, Chauzat MP, Pettis JS (2010) Global Honey Bee Colony Disorder and Other Threats to Insect Pollinators. United Nations Environment Program, Nairobi, Kenya, 17p.
 76. Maggi M, Antúnez K, Invernizzi C, Aldea P, Vargas M, Negri P, Brasesco C, De Jong D, Message D, Teixeira EW, Principal J, Barrios C, Ruffinengo S, Rodríguez Da Silva R, Eguaras M (2016). Honeybee health in South America. *Apidologie*, 47(6): 835-854.
 77. Maglianesi MA (2016) Efectos del cambio climático sobre la polinización y la producción agrícola en América tropical. *Journal of Tropical Engineering*, 26 (1): 25-38.
 78. Mendizabal F (2005) Abejas. Buenos Aires, editorial Albatros, 259p.
 79. Mendoza Y, Antúnez K, Branchiccela B, Anido M, Santos E, Invernizzi C (2014) Nosema ceranae and RNA viruses in European and Africanized honeybee colonies (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Apidologie*, 45 (2): 224–234.
 80. MGAP (2010) Decreto presidencial 14/6/ 2010- Oxitetraciclina y Fumagilina- Retiro y/o limitación uso en Uruguay. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/307_Oxitetraciclina_14062010.pdf. Fecha de consulta: 19/06/2017.
 81. MGAP (2016) Guía de buenas prácticas apícolas en la buenas prácticas apícolas en la producción de miel. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/guia_de_buenas_practicas_apicolas_2016.pdf. Fecha de consulta: 07/03/17.
 82. Moritz R, De Miranda J, Fries I, Le Conte Y, Neumann P, Paxton R (2010). Research strategies to improve honeybee health in Europe. *Apidologie* 41: 227–242.
 83. Mortensen AN, Smith B, Ellis JD (2015) The Social Organization of Honey Bees. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu/in1102> Fecha de consulta: 24/07/2017.
 84. Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, Ashcraft S, Simonds R, VanEngelsdorp D, Pettis JS (2010) High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLOS ONE*, 5(3):1-19.
 85. Nates-Parra G (2005) Abejas silvestres y polinización. *Manejo integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*, 75: 7-20.
 86. Nogueira E, Haller A, Juri P, Plaván E (2014) Mal del río: diagnóstico temprano y seguimiento del cuadro. XI Congreso Latinoamericano de Apicultura – FILAPI 2014, Misiones, Argentina. p162.

87. Nogueira E, Juri P, Pedrana G, Invernizzi C (2016a) Diagnóstico subclínico del Mal del Río en abejas melíferas utilizando análisis de imágenes de la cámara de cría. XII Congreso Latinoamericano de Apicultura y VI Congreso Cubano de Apicultura, La Habana, Cuba. CD Rom.
88. Nogueira E, Juri P, Pedrana G, Invernizzi C (2016b) Los embriones de colonias afectadas por el Mal del Río son viables. XII Congreso Latinoamericano de Apicultura y VI Congreso Cubano de Apicultura, La Habana, Cuba. CD Rom.
89. Ochoa A (1977) Hojas Divulgadoras del Ministerio de Agricultura de España. Disponible en:
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1977_22.pdf.
Fecha de consulta: 10/03/2017.
90. OIE (2012) Código Sanitario para los Animales Terrestres 21 ed. Paris, Editorial OIE, V.2.
91. Ollerton J, Winfree R, Tarrant S (2011) How many flowering plants are pollinated by animals?. *Oikos* 120: 321–326.
92. Page RE, Robinson GE (1991) The genetics of division of labour in honey bee. *Advances in Insect Physiology* 23:117-169.
93. Palmer-Jones T, Line L (1962) Poisoning of honey bees by nectar from the karaka tree (*Corynocarpus laevigata* J. R. et G. Forst.), New Zealand. *Journal of Agricultural Research*, 5: 433-436.
94. Pantoja A, Smith-Pardo A, García A, Sáenz A, Rojas A (2014) Principios y avances sobre la polinización como servicio ambiental para la agricultura sostenible en países de Latinoamérica y el Caribe. Santiago, Chile, FAO, 56p.
95. Patil PB, Zeng Y, Coursey T, Houston P, Miller I, Chen S (2010) Isolation and characterization of a *Nocardiosis* sp. from honeybee guts. *Federation of European Microbiological Societies*, 312(2): 110–118.
96. Pedrana G, Viotti H, Lombide P, Presentado ML, Juri P, Nogueira E, Verdes JM, Arredondo D, Invernizzi C (2017) Estudio morfológico y cuantitativo en larvas de abejas *Apis Mellíferas* sanas y afectadas por el Mal del Río en Uruguay. Congreso Nacional Biociencias 2017, Montevideo, Uruguay.
<http://opc.biociencias.gegamultimedios.net/opc/index.php?page=buscarProgramaExtendido&key=MTAO>
97. Persano AL (1996) Apicultura práctica. Buenos Aires, Hemisferio sur, 297p.
98. Pimentel AC, Message D (2004) A scientific note on the toxic pollen of *Stryphnodendron polyphyllum* (Fabaceae, Mimosoideae) which causes sacbrood-like symptoms. *Apidologie*, 35: 89–90.
99. Prost P, Médori P, Le Conte Y (2007) Apicultura: Conocimiento de la abeja. Manejo de la colmena. 4ta ed., Madrid, Mundi-Prensa, 789p.
100. Quero A (2004) Las abejas y la apicultura. Cursos de verano: Las abejas y la apicultura en Asturias. Universidad de Oviedo, 214 p.
101. Ribera I, Melic A, Torralba A (2015) Introducción y guía visual de los artrópodos. *Revista IDE@ - SEA*, 2: 1–30.
102. Reybroeck W, Daeseleire E, De Brabander HF, Herman L (2012) Antimicrobials in beekeeping. *Veterinary Microbiology* 158(1–2):1–11.

103. Rizzi O, Escalante O, Castagnino de Rizzi N, Mattone H, Courtade J, Rubinstein J, Persano AL, Tresarrieu de Persano M, Núñez J, Bregante H, Vitez P, Garcia Geniz J, Bierzychudek A, Naveiro J (1975) Manual de apicultura. Cuarta edición. Buenos Aires, Librería editorial Juan Angel Peri, 365p.
104. Root AI (1973) ABC y XYZ de la apicultura. Enciclopedia de la cría científica y práctica de las abejas. 8 ed. Buenos Aires, Librería Hachette, 670p.
105. Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B (2010) Biology and control of Varroa destructor. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103: S96–S119.
106. Sanford MT (1987) Diseases and Pests of the Honey Bee. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.566.802&rep=rep1&type=pdf> Fecha de consulta: 24/07/2017.
107. Seeley TD (1995) The wisdom of the hive: The social physiology of honey bee colonies. Massachusetts, Harvard University Press, 295p.
108. SENASA (2005) Enfermedades de las abejas. Trámites en Apicultura. Manual de procedimientos. Disponible en: http://senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/ABEJAS/PROD_PRIMARIA/SANID_APICOLA/EES/INFLUENZA/manual_de_enfermedades_de_las_abejas_2005.pdf. Fecha de consulta: 19/06/2017.
109. SIAP (2016) Miel de abeja: Abeja domestica Apis mellifera. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166548/mielabeja_monografia.pdf. Fecha de consulta: 23/06/2017.
110. Singaravelan N, Nee'man G, Inbar M, Izhaki I (2005). Feeding responses of free-flying honeybees to secondary compounds mimicking floral nectars. *Journal of Chemical Ecology*, 31(12): 2791–2804.
111. Singaravelan N, Inbar M, Ne'eman G, Distl M, Wink M, Izhaki I (2006) The effects of nectar-nicotine on colony fitness of caged honeybees. *Journal of Chemical Ecology*, 32(1):49–59.
112. Vanbergen AJ (2013) Threats to an ecosystem service: pressures on pollinators. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11:251-259.
113. Vandame R, Palacio MA (2010) Preserved honey bee health in Latin America: a fragile equilibrium due to low-intensity agriculture and beekeeping? *Apidologie*, 41: 243–255.
114. Van den Heever JP, Thompson TS, Curtis JM, Ibrahim A, Pernal SF (2014) Fumagillin: an overview of recent scientific advances and their significance for apiculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(13):2728–37.
115. VanEngelsdorp D, Meixner MD (2010). A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S80–S95.
116. Wang Y, Ma L-T, Xu B-H (2015) Diversity in life history of queen and worker honey bees, *Apis mellifera* L. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 18: 145–149.
117. White, G. F. (1917) Sacbrood. Washington, Printing office Washington DC, 56p.

118. Wilson EO (1975) The evolutionary significance of the social insects. *Insects, Science & Society*, 25–31.
119. Wu JY, Anelli CM, Sheppard WS (2011) Sub-Lethal Effects of Pesticide Residues in Brood Comb on Worker Honey Bee (*Apis mellifera*) Development and Longevity. *PLoS ONE*, 6(2): 1-11.
120. Yadav S, Kumar Y, Lal Jat B (2017) Honeybee: diversity, castes and life cycle. En: Omkar (Ed.) *Industrial Entomology*. Singapore, Springer, pp 5- 34.

ANEXOS

ANEXO 1. EQUIPAMIENTO UTILIZADO EN APICULTURA PARA EL MANEJO DE LAS COLONIAS

AHUMADOR (44a): es una de las herramientas indispensable, ya que toda intervención en una colmena obliga a utilizar humo para controlar el comportamiento de las abejas (Clément et al., 2012).

PALANCAS O LEVANTACUADROS (44b): La palanca constituye una herramienta básica del apicultor. Es aconsejable utilizar una de acero de buena calidad. Sirve para despegar la entre-tapa, separar los marcos, y también las alzas y el piso, partes que siempre están unidas por el propóleo de las abejas. En el comercio también existe, y su uso se está generalizando, una palanca combinada con una pinza levanta-cuadros, que agiliza el trabajo y lo facilita, puesto que mientras se levantan los cuadros se puede accionar el ahumador con la otra mano (Persano, 1996).

CEPILLO (44c): se utiliza para la recolección de los productos apícolas de menos de diez cuadros. Puede ser un vector de enfermedades y es necesario desinfectarlo con lejía con regularidad. Un puñado de hierbas también puede servir de cepillo (Clément et al., 2012).



Figura 44. a- Ahumador, b- Levanta cuadros o palanca y c- Cepillo. Imagen del libro *Tratado de apicultura, el conocimiento y el cuidado de la abeja, las técnicas apícolas y los productos de la colmena*, Clément et al. 2012.

MÁSCARA O CARETA (45a): es necesario para defenderse de las picaduras en la cara y cabeza. En los comercios especializados pueden encontrarse desde la simple máscara de cuatro lados, plegables y muy práctica, hasta trajes completos tipo “astronauta” (Persano, 1996).

MAMELUCO O VESTIMENTA (45b): es otro implemento esencial para el apicultor, cabe destacar que su color es importante, puesto que, al igual que otros insectos, la abeja es menos propensa a agredir los tonos claros. Por eso el blanco es tan popular entre los apicultores. Hay que evitar el uso de ropa de lana o cuero (Persano, 1996).

GUANTES (45c): pueden ser de tela gruesa, plástico o látex y resultan muy apropiados cuando se trabaja con abejas agresivas o en casos de emergencia (Persano, 1996).



Figura 45. a- Velo o careta, b- Guantes y c- Vestimenta. Imagen del libro Tratado de apicultura, el conocimiento y el cuidado de la abeja, las técnicas apícolas y los productos de la colmena, Clément et al. 2012

ANEXO 2: LISTADO DE ENFERMEDADES DE LAS ABEJAS

Tabla 2: Tabla sinóptica de los principales patógenos biológicos de las abejas (depredadores, parásitos, hongos y bacterias, excluidos los virus), clasificados en orden de tamaño.

Patógeno	Enfermedad o nombre común.	Tipo de agente	Población afectada		Síntomas clínicos	Importancia de la enfermedad
			Abeja adulta	Larva		
Predadores						
Vespa velutina	Avispón asiático	Insectos Himenópteros	Si	Si	Vuelo estacionario de avispas delante de la colonia: depredación directa	El debilitamiento de las colonias debido a una reducción en el número de abejas obreras (puede progresar al colapso en <i>A. cerenae</i>)
Aethina tumida	Pequeño escarabajo de la colmena*	Insectos Coleoptera	Sí	Si	Túneles en los peines, destrucción de cría, excrementos en miel	Pérdida de cosecha, pérdida de colonias
Galleria mellonella	Polillas de cera o polillas de colmena de abeja.	Insectos Lepidópteros	No	Si	Daño a las colmenas y marcos, túneles en los peines, peine cubierto con una red blanca	La pérdida de la colonia es debido a que se había debilitado antes de la infestación con el parásito. Posible transmisión de agentes patógenos (Loque americana)
Achroea grisella		Insectos Lepidópteros	No	Si	Daños a los marcos, túneles en los peines, cría calva	La pérdida de la colonia es debido a que se había debilitado antes de la infestación con el parásito. Posible transmisión de agentes patógenos (Loque americana)

Patógeno	Enfermedad o nombre común	Tipo de agente	Población afectada		Síntomas clínicos	Importancia de la enfermedad
			Abeja adulta	Larva		
Parásitos						
Varroa destructor	Varroasis	Ácaro Mesostigmata	Si	Si	Abejas que se arrastran, abejas con alas atrofiadas, canibalismo (cría), durante la mortalidad invernal se observa un pequeño paquete de abejas en la colmena con grandes cantidades de miel y polen almacenado	Alta tasa de mortalidad invernal, transmisión de otros patógenos
Acarapis woodi	Acariosis	Ácaro Trombidiformes	Si	No	Abejas paralizadas y / o incapaces de volar (las abejas se arrastran o se agarran sobre el pasto)	El acortamiento de la vida útil de las abejas, el aumento de la mortalidad primaveral, la elevada mortalidad invernal, reducción de la cría y producción de miel
Tropilaelaps clareae	Tropilaelaps clareae	Ácaro	Si	Si	Abejas que se arrastran, malformaciones de las alas, patas y abdomen, cría irregular	Reducción de la longevidad, mortalidad de colonias
Braula caeca	Piojo de abeja	Díptera	Si (Reina)	No	Ectoparásitos presentes predominantemente en el tórax de la reina	La infestación masiva de la reina puede causar puesta reducida y muerte de la reina
Malpighamoeba mellificae	Amebiasis	Protozoo	Si	No	Abejas incapaces de volar, abdomen hinchado, diarrea, manchas fecales amarillentas y redondeadas en el tablero de vuelo, cría escasa	Debilitamiento y muerte de colonias

Patógeno	Enfermedad o nombre común	Tipo de gente	Población afectada		Síntomas clínicos	Importancia de la enfermedad
			Abeja adulta	Larva		
Fungi						
Nosema apis Nosema ceranae	Nosemosis	Microsporidio	Si	No	Dificultades de vuelo, abdomen hinchado, reemplazo de una reina fuera de la temporada de enjambre sin relación con el ciclo biológico de la colonia. Reducción en la recolección de polen, reducción o cese de la colocación, reducción en la producción miel	Despoblamiento y reducción de la fortaleza colonia, reducción de la longevidad, desarrollo de enfermedades secundarias, mortalidad invernal
Ascospaera apis	Ascospherosis (Cría calcificada)	Ascomycota (hongo)	No	Si	Larvas de abejas muertas, momificadas y secas, cubiertas con micelio blanco y / o frutos negros como momias que yacen en el hueco de vuelo frente de la colmena	Debilitamiento de las colonias
Aspergillus flavus	Aspergillosis (Cría piedra)	Ascomycota (hongo)	Si	Si	Agitación de las abejas, vuelo laborioso o incluso imposible, filamentos amarillo-verdoso desde los orificios naturales de las abejas muertas, cría escasa	Debilitamiento de las colonias

Patógeno	Enfermedad o nombre común	Tipo de agente	Población afectada		Síntomas clínicos	Importancia de la enfermedad
			Abeja adulta	Larva		
Bacterias						
Paenibacillus larvae	Loque Americana	Bacteria esporulante	No	Sí	Daño a la cría operculada, larvas muertas de color pardo, transformadas en una masa viscosa líquida, prepupadas con forma alterada y segmentación. Escamas irregulares pegadas a la pared de la celda de cría	Mortalidad de la cría, debilitamiento y mortalidad de las colonias
Melissococcus plutonius (Agente primario)	Loque Europea	Bacteria capsulada no esporuladora.	No	Sí	Daño a la cría operculada, larvas encogidas amarillentas y de color pardo. Básculas de color marrón oscuro a negro en la celda de cría, fácilmente separables de su soporte	Mortalidad de la cría, debilitamiento y mortalidad de las colonias
Bacillus alvei Streptococcus faecal (Agentes secundarios).						
Spiroplasma apis Spiroplasma melliferum	Piroplasmosis		Sí	No	Síntomas nerviosos	La mortalidad de las abejas pecoreadoras. Debilitación
Bacillus apisepcticus	Septicemia		Sí	No	Dificultades de vuelo	Debilitamiento
Bacillus sp	Larva enfriada		No	Sí	Agentes que se multiplican en abejas inmaduras (larvas), muriendo como resultado de ser demasiado frío	Debilitamiento

Tabla 3: Los principales doce virus de la abeja (clasificados en orden alfabético): la historia de su descubrimiento, sus características específicas demostradas en las infecciones inducidas experimentalmente, su relación con otros patógenos, junto con el supuesto o demostrado impacto de la enfermedad viral en la salud de las colonias y los síntomas descritos en los apiarios.

Virus	Descubrimiento	Infección experimental	Consecuencias* de la enfermedad viral y sus síntomas
Virus de Parálisis de Abejas Agudas (ABPV)	Durante los estudios sobre CBPV (1963)	Los síntomas de parálisis temprana (2-4 d), Mortalidad rápida (3-5 d)	Se cree que está involucrado en el debilitamiento, vinculado con V. destructor (1) causando la mortalidad de las abejas obreras y la cría, NS
Virus de la Reina Negra (BQCV)	De larvas de reinas en celdas de cría operculada (1977)	Reducción de la vida útil de las abejas infectadas, dependiente de N. apis para la infección de adultos por la ruta trófica o alimenticia	Se cree que está involucrado en la mortalidad de las abejas obreras, vinculado con N. apis. Se cree que causa mortalidad de larvas de reinas, NS
Virus de la Abeja X (BVX)	Durante estudios sobre otros virus (1974)	Sin síntomas, acortamiento de la vida adulta	Se cree que está involucrado en la mortalidad de las abejas obreras, vinculado con M. mellificae, NS
Virus de la Abeja Y (BVY)	De abejas muertas en Inglaterra (1980)	Dependiente de N. apis para la infección de adultos. Aumento de la patogenicidad de N. apis	Se cree que está involucrado en la mortalidad de las abejas obreras, vinculado con N. apis, NS
Virus de Parálisis Crónica de las Abejas (CBPV) (a)	Enfermedad conocida desde la antigüedad (Aristóteles): Enfermedad negra o Parálisis crónica	Síntomas de parálisis (5 días) varios días antes de la muerte (7 d)	Causa mortalidad, a veces significativa, las abejas obreras pierden el pelo negro con síntomas de temblor
Virus del ala nublada (CWV)	De abejas con alas opacas (1980)	Sin síntomas precisos, estudios sujetos controversias	Consecuencias poco claras. La propagación del virus puede estar V. destructor, NS
Virus de ala deformado (DWV)	De las abejas de Japón (1983)	Deformaciones del ala y del cuerpo en las abejas incubadas	Involucrado en el debilitamiento, vinculado con V destructor (1,2) causando mortalidad de las abejas obreras y deformidades en las abejas incubadas

Virus	Descubrimiento	Infección experimental	Consecuencias* de la enfermedad viral y sus síntomas
El virus filamentoso (FV)	De la hemolinfa de las abejas en los Estados Unidos (1977)	Sin síntomas ni mortalidad	Consecuencias poco claras. Virus considerado común, pero no patógeno, NS
Virus de Parálisis Aguda de Israel (IAPV)	Después de la mortalidad de las abejas en Israel (2002)	Mortalidad rápida (4 días) sin síntomas	Muy correlacionada con la CCD en los Estados Unidos. En ausencia de cualquier relación patogénica demostrada, considerado como un marcador significativo
Virus del Cachemira(KBV)	De Apis cerana abejas de Cachemira (1974)	Mortalidad rápida (3 días) sin síntomas	Se cree que está involucrado en el debilitamiento, V. destructor (1), NS
Virus de la cría ensacada o sacciforme (SBV)	Primer virus identificado como Responsable de una enfermedad: cría ensacada o sacciforme (1917)	Mortalidad de las larvas en forma de saco	La mortalidad de larvas en forma de saco (fluido entre el integumento y el cuerpo), causando debilitamiento de las colonias
Virus de parálisis de la abeja lenta (SBPV)	Durante el estudio de BVX (1974)	Los síntomas de parálisis tardía (10-11 días), seguido de mortalidad (12 d)	Se cree que están involucrados en la mortalidad de las abejas obreras, vinculado con V. destructor (1), NS

d: días después de la contaminación por inoculación.

* Virus persistentes con infecciones no aparentes, consecuencias sobre la salud de las colonias en caso de enfermedades víricas clínicas.

(1) Transporte pasivo del virus por el parásito.

(2) Multiplicación del virus en el parásito, que actúa como vector y huésped.

CCD: Desorden de Colapso de Colonia.

NS: sin síntomas conocidos específicos de la enfermedad viral en condiciones naturales.

(a) hay una partícula viral asociada con CBPV: CBPASV (Virus de Satélites Asociados con Parálisis Crónica) clasificado como un virus satélite, cuya multiplicación se cree que es enteramente dependiente de CBPV.

