

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**IMPACTO DE LA PRODUCCIÓN DE APITOXINA EN EL DESARROLLO DE LAS  
COLONIAS EN ABEJAS MELÍFERAS**

**“por”**

**Br. Yessica LIPIEJKO  
Br. Carla STOLETNIY**

TESIS DE GRADO presentada como uno de los  
requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias  
Orientación: Higiene, Inspección-Control y Tecnología de los Alimentos  
Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Ensayo experimental

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2022

**PÁGINA DE APROBACIÓN**

Tesis de Grado aprobada por:

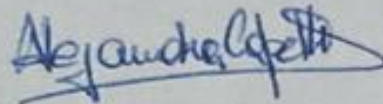
Presidente de Mesa: Dra. Catherine Fagúndez



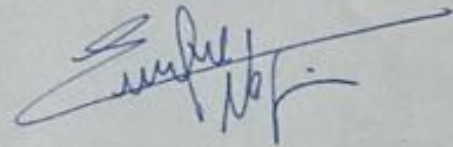
Segundo Miembro (tutor): Dr. Pablo Juri



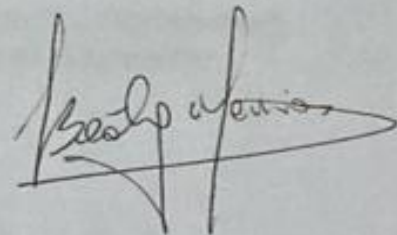
Tercer Miembro: Dra. Alejandra Capelli



Cuarto Miembro (co- tutor): Dr. Enrique Nogueira



Quinto miembro: (co- tutora): Lic. Beatriz Mernies



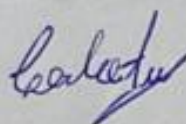
Fecha: 4/11/22

Autores:

Br. Yessica Lipiejko



Br. Carla Stoletniy



## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestra familia, por su cariño y apoyo incondicional, sin los cuales no hubiese sido posible lograr esta meta.

A nuestros tutores Dr. Pablo Juri, Dr. Enrique Nogueira y Lic. Beatriz Mernies por brindarnos sus conocimientos y guía para la realización de este trabajo.

A nuestros amigos de la vida y compañeros de esta casa de estudios, por siempre estar ahí.

Y especialmente a la Facultad de Veterinaria Udelar, por permitirnos realizar esta hermosa carrera.

## TABLA DE CONTENIDO

|  | <b>Página</b> |
|--|---------------|
| <b>PAGINA DE APROBACIÓN</b> .....                        | 2             |
| <b>AGRADECIMIENTOS</b> .....                             | 3             |
| <b>LISTA DE TABLAS Y FIGURAS</b> .....                   | 5             |
| <b>RESUMEN</b> .....                                     | 7             |
| <b>SUMMARY</b> .....                                     | 8             |
| <b>1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....                   | 9             |
| 1.1. Historia de la apicultura.....                      | 9             |
| 1.2. Situación actual de la apicultura mundial.....      | 10            |
| 1.3. Apicultura en Uruguay.....                          | 10            |
| 1.4. La colonia y sus individuos.....                    | 11            |
| 1.5. Las abejas y su importancia como polinizadoras..... | 13            |
| 1.6. Productos de la colmena.....                        | 13            |
| <b>2. HIPÓTESIS</b> .....                                | 20            |
| <b>3. OBJETIVOS</b> .....                                | 21            |
| 3.1. Objetivo general.....                               | 21            |
| 3.2. Objetivos específicos.....                          | 21            |
| <b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....                     | 21            |
| 4.1. Producción de material vivo.....                    | 21            |
| 4.2. Preparación de los grupos.....                      | 21            |
| 4.3. Protocolo de cosecha de apitoxina.....              | 22            |
| 4.4. Extracción de apitoxina.....                        | 23            |
| 4.5. Medición de área de cría operculada.....            | 24            |
| 4.6. Evaluación de la producción de miel.....            | 24            |
| 4.7. Estimación de la población de abejas adultas.....   | 24            |
| 4.8. Procesamiento estadístico.....                      | 24            |
| <b>5. RESULTADOS</b> .....                               | 25            |
| <b>6. DISCUSIÓN</b> .....                                | 29            |
| <b>7. CONCLUSIONES</b> .....                             | 30            |
| <b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....                             | 32            |

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Página

### TABLAS

**Tabla 1:** Fechas de cosecha de apitoxina.....21

**Tabla 2:** Medias de área de cría operculada (dm<sup>2</sup>) y población de abejas adultas, según los grupos de tratamientos.....27

**Tabla 3:** Medias de área de cría operculada (dm<sup>2</sup>) y población de abejas adultas, según fecha de cosecha de apitoxina.....28

### FIGURAS

**Figura 1:** Pintura rupestre, datada entre los años 9000 AC y 6000 AC y evolución de las colmenas.....9

**Figura 2:** Individuos habitantes de una colmena y desarrollo de las abejas .....11

**Figura 3:** Miel y cera procesadas.....15

**Figura 4:** Abejas propolizando. Reina alimentándose de jalea real.....16

**Figura 5:** Abeja obrera, recolectando polen. Polen de diferentes colores.....17

**Figura 6:** Anatomía del aparato de veneno de abejas reinas y obreras.....18

**Figura 7:** Métodos de cosecha ..... 22

**Figura 8:** Materiales utilizados para la extracción de veneno.....23

**Figura 9:** Equipos utilizados para la cosecha de veneno, marca EXAP II.....24

**Figura 10:** Materiales utilizados para la extracción de veneno..... 23

**Figura 11:** Fotografías del área de cría operculada.....23

**Figura 12:** Cosecha de apitoxina, promedios por colmenas según método (E: Externo, I: Interno) y fechas.....26

**Figura 13:** Representación gráfica de área de cría operculada (dm<sup>2</sup>) y población de abejas adultas.....26

**Figura 14:** Medias de área de cría (dm<sup>2</sup>), considerando grupos y fechas

|  |    |
|--|----|
| de cosecha de apitoxina.....   | 28 |
| <b>Figura 15:</b> Medias de población de abejas adultas, considerando grupos y fechas de cosecha de apitoxina.....           | 29 |
| <b>Figura 16:</b> Correlación fenotípica entre población de abejas adultas y área de cría operculada (dm <sup>2</sup> )..... | 29 |

## RESUMEN

La apicultura a nivel nacional está volcada casi en exclusividad a la producción de miel, siendo poco o nada explotados los otros rubros como por ejemplo la cosecha de apitoxina, propóleos, polen y jalea real. La producción de apitoxina tiene un gran potencial en Uruguay para el desarrollo y la producción de productos de uso terapéutico y cosmético. Estudios actuales acerca de esta temática son muy escasos, por lo que falta aún el desarrollo de las capacidades productivas de los propios apicultores que permitan luego avanzar en otros campos. El objetivo de este ensayo experimental fue conocer el impacto de la producción de apitoxina en el desarrollo de las colonias. Este proyecto se llevó a cabo en conjunto a la cooperativa CALAY de la ciudad de Young, debido al interés que tenían los productores en sumar este rubro a su línea de producción. Se presentó un proyecto en el MGAP Y DGSG de Fortalecimiento Organizacional y Capacidades Asociativas, obteniendo así la financiación para la compra de equipamiento para la cosecha de veneno e insumos para la creación del apiario. Se utilizaron dos equipos de electro-estimulación conectados a las bandejas con parrilla de metal, por la cual circuló electricidad. Por debajo de la parrilla fueron colocados los vidrios extraíbles, los que las abejas picaban al sentir la electro-estimulación, depositando allí la apitoxina sin perder el aguijón. Los métodos de cosecha que se utilizaron fueron: bandejas internas (colocadas en el interior de las colmenas de forma vertical) y bandejas externas (colocadas en la puerta de la colmena, o piquera, de forma horizontal). Se dejó un grupo control, sin extracción de apitoxina. La frecuencia de cosecha fue cada 30 días, realizando cuatro cosechas. Como indicadores del desarrollo de las colonias se consideraron las variables área de cría operculada ( $\text{dm}^2$ ) y población de abejas adultas. Además, se obtuvo la producción media de miel para cada grupo (kg de miel/colmena). Se realizaron dos cosechas de miel, la primera al día 80 y la segunda al día 155 de haber comenzado el ensayo.

Entre los resultados se destaca que los métodos internos y externos utilizados para la cosecha de apitoxina no produjeron diferencias significativas en las variables área de cría operculada ( $\text{dm}^2$ ) y población de abejas adultas ( $p > 0,05$ ). La 4ª fecha de extracción (correspondiente a otoño) presentó una media significativamente inferior para ambas variables, en relación a las 3 fechas previas ( $p < 0,05$ ). Se concluye que la cosecha de apitoxina cada 30 días, utilizando tanto el método interno como el externo, no afectó al normal desarrollo de las colonias. Sugerimos realizar nuevos ensayos que determinen la influencia de la cosecha de apitoxina respecto a la capacidad de producción de miel de la colmena.

## SUMMARY

At the national level, beekeeping is devoted almost exclusively to the production of honey, with little or no exploitation of other items such as the harvest of apitoxin, propolis, pollen and royal jelly. Low diversification, with little or no exploitation of other areas. Apitoxin production has great potential in Uruguay, due to its price and its potential for the development and production of products for therapeutic and cosmetic use. Currently, studies on this subject are very scarce, therefore there is still a need to develop the productive capacities of the beekeepers themselves in order to later be able to advance in other fields. The objectives of this experimental trial were to know the impact that the production of apitoxin had in the development of the colonies and the production of honey. This project was carried out in conjunction with the CALAY cooperative in the city of Young, due to the interest that producers had in adding this item to their production line. A project was presented to the MGAP and DGSG for Organizational Strengthening and Associative Capacities, thus obtaining financing for the purchase of equipment for harvesting poison and supplies for the creation of the apiary. Two electrostimulation devices were used, connected to trays with a metal grill, through which electricity circulates. The removable glasses are placed below the grill, which the bees sting when they feel the electrostimulation and deposit apitoxin there without losing their sting; Internal trays (placed vertically inside the hives) and external trays (placed horizontally at the entrance) were used as the harvest methods. The harvest frequency was 30 days, repeating 4 times.

To evaluate honey production, two harvests were made, the first on day 80 and the second on day 155 after starting the trial. The honeycombs with honey were identified by numbering on the wood and were weighed before and after extraction.

In terms of results, we found that no significant differences were found for the capped breeding area, nor for the adult bee population variable ( $p > 0.05$ ) between the internal and external methods used for the apitoxin harvest. The 4th date of extraction (corresponding to autumn) was significantly lower in both variables, in relation to the 3 previous dates ( $p < 0.05$ ).

We can conclude that harvesting apitoxin with a frequency of 30 days using the internal or external method does not affect the normal development of the colonies, applying the breeding area and the adult population as factors. We suggest carrying out new tests that determine the influence of the apitoxin harvest with respect to the honey production capacity of the hive.



# 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

## 1.1. Historia de la apicultura

La apicultura es una actividad agropecuaria en la que se crían abejas del género *Apis*, obteniendo los productos que ellas son capaces de elaborar y recolectar. Las primeras evidencias de recolección de miel de colonias silvestres provienen de pinturas rupestres en la Cueva de la Araña en España, que datan de alrededor del 7000 AC. La abeja europea *Apis mellifera*, ha atraído el interés humano desde la época de las civilizaciones antiguas. Dos de los pueblos de la antigüedad que dejaron un gran conocimiento de las técnicas apícolas fueron los Egipcios y los Griegos, desde los tipos de utensilios que utilizaban, recipientes para albergar las colonias de abejas, el almacenamiento de la miel y métodos de conservación de la misma, entre otros (Wilde, 2014).

En los comienzos de la apicultura el hombre primitivo era recolector, localizaba las colonias silvestres y las destruía con fuego y humo para poder cosechar la miel y cera, por lo que gran parte de estas colonias morían. Más adelante pasó a ser domesticador, su intervención en las colmenas era en casos puntuales y se notaba una preocupación por la supervivencia de las mismas. Cosechaban la miel de la temporada, asegurándose de dejar suficientes abejas y reservas para mantener la colonia viable. En ese momento se crearon las colmenas rústicas. Cuando los sitios de anidación eran insuficientes, los enjambres ocupaban recipientes vacíos. Es así que se utilizaron cilindros de barro y arcilla, troncos de árboles ahuecados o canastos de paja, dependiendo de los recursos existentes en la zona donde se criaban las colonias de abejas (Crane, 1990).

La apicultura moderna comenzó cuando se estudió la forma en que las abejas construyen los panales y esto inspiró el desarrollo de las colmenas movilizadas o de marco móvil. El reverendo Lorenzo Lorraine Langstroth (1810-1895), oriundo de Massachusetts, Estados Unidos, en 1851 descubrió el "espacio abeja" (7,5 mm ± 1,5 mm), el espacio preciso dentro de una colmena en el que las abejas circulan y no depositan cera ni propóleos e ideó una colmena con marcos móviles respetando estas medidas, lo que permite que los marcos puedan ser extraídos de la colmena sin necesidad de destruir los panales (FAO, 2021). El uso de estas colmenas de marco móvil permitió a los apicultores tener rendimientos más altos ya que no se veía mayormente afectada la colonia al retirarle la miel (Crane, 1990). (Figura 1)



Figura 1. A) Pintura rupestre que muestra a una persona recogiendo miel de una colonia de abejas. Datado entre 9000 AC y 6000 AC. Se encuentra en la cueva de la "Araña" en Bicorp, provincia de Valencia. Fuente: <https://www.auladehistoria.org/2015/11/comentario-cueva-la-arana-bicorp.html>. B) Colmenas rústicas. Fuentes: <https://www.boal.es/la-casa-de-la-apicultura>. Colmenas modernas: Fuente: <https://www.theearthsays.cl/colmenalangstroth/>; <https://www.ecured.cu/Colmena>

## 1.2. Situación actual de la apicultura mundial

En el mercado mundial, el principal producto comercializado es la miel, con una importante concentración tanto a nivel de oferentes como de demandantes. De acuerdo con datos de la FAO, tradicionalmente cinco países han concentrado más del 50% del total de la producción de miel (China, Argentina, Turquía, Estados Unidos y Ucrania); el principal continente productor es Asia, seguido de Europa y América. China ha sido en los últimos años el principal país productor, con una participación del 22% del total y también el primer exportador (García, Morales, Puc y Bolívar, 2018).

## 1.3. Apicultura en Uruguay

Los inicios de la apicultura en Uruguay se remontan al siglo XIX con los primeros apiarios rústicos. A principios del siglo XX comienza a aumentar el número de apicultores y a incorporarse 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, 2005).

Uruguay presenta condiciones naturales muy propicias para la apicultura y de acuerdo al Registro de Propietarios de Colmenas, existen actualmente 598.982 colmenas comerciales distribuidas en 2.608 apicultores (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, MGAP, 2021).

En Uruguay se produce en promedio unas 12.000 toneladas de miel al año, de las cuales más del 90% son exportadas, lo que es apoyado por un sistema de trazabilidad de carácter obligatorio, ya que la mayor parte de lo producido debe cumplir con los estándares de calidad solicitados internacionalmente (Uruguay XXI, 2014). Sin embargo, lo que podría considerarse una fortaleza del sector es en realidad una debilidad, ya que se está orientando casi exclusivamente a la exportación de miel a granel sin diferenciación, dependiendo así de un “commodity” con precios dados y volátiles (Ferrari, 2016). No se tiene en cuenta que otros productos apícolas como el polen, propóleo, cera, veneno de abeja (apitoxina) y jalea real son igualmente importantes ya que económicamente tienen mayor valor agregado.

Por otra parte, desde finales del siglo XX, los productores manifiestan en diferentes ámbitos que están sufriendo pérdidas por mortandad muy importantes de colonias. Esto no se ve reflejado en el Registro de Propietarios de Colmenas del MGAP, donde el número de colonias declaradas se ha mantenido relativamente estable o inclusive ha aumentado en los últimos años. Cuando se comenzaron a realizar estudios sistemáticos de mortalidad de colonias fue posible determinar pérdidas anuales cercanas al 30% (Antúnez, Invernizzi, Mendoza, Engelsdorp y Zunino, 2017). A pesar de estas importantes pérdidas, el número de colmenas en Uruguay aumentó en la última década. Desde 2010 a la actualidad, el número de apicultores ha disminuido un 21,6 % (MGAP, 2010) y el número de colmenas comerciales en explotación ha aumentado un 11,5 % (MGAP, 2020). La producción de miel se ha mantenido en los rangos históricos mientras que los manejos y los costos para compensar las pérdidas de colmenas han aumentado.

Los problemas que enfrenta actualmente el sector apícola en nuestro país son múltiples, como por ejemplo el aumento de la superficie de monocultivos, el aumento en el uso de agroquímicos o fitosanitarios, el cambio climático, las elevadas pérdidas

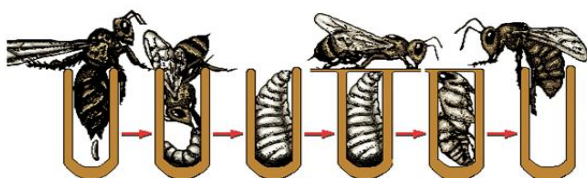
de colonias y de la biodiversidad, el aumento de exigencias de los países importadores, el escaso valor de producción, la escasa diversificación de la producción y las dificultades en el recambio generacional. El aumento registrado en el número de colmenas por apicultor no ha compensado un escenario tan negativo, por lo que el Sector Apícola deberá repensarse y trabajar más hacia el mercado interno, la diferenciación de los productos y la diversificación de rubros (Ferrari, 2016). De esta forma hay varias iniciativas a nivel nacional de diferenciación de mieles y de producción de propóleos y de polen. Sin embargo, el veneno de abeja es un producto que, pese a tener buenos precios internacionales y una demanda creciente a nivel mundial, plantea dificultades a los productores para su explotación. A diferencia de la producción de propóleos y de polen, este rubro implica la utilización de mayor tecnología, existe un riesgo en su manipulación y las colonias pueden verse afectadas en sí mismas o afectar la producción de los otros productos que se explotan (Dantas et al., 2013).

#### 1.4. La colonia y sus individuos

Los individuos que conforman las colmenas son la reina, los zánganos y las obreras. Estos desarrollan metamorfosis completa (huevo, larva, pupa y adulto). El periodo de desarrollo ocurre en el panal dentro de una sola celda. La reina pone un huevo por celda (Figura 2). Luego de tres días, la larva emerge del huevo. La longitud de la etapa larvaria es de aproximadamente seis días. La celda donde la larva crece es tapada con una fina capa de cera por una abeja adulta obrera al completar el desarrollo larvario. Luego la larva se mueve a una posición vertical y muda para convertirse en pre-pupa. Esta etapa es muy corta y rápidamente llega al estadio de pupa, donde se desarrolla la metamorfosis de la abeja, emergiendo ya como adulta. La pupa es mayormente inmóvil y no se alimenta. La reina, obrera y zángano tienen tiempos de desarrollo diferentes, siendo para la reina de 16 días y para las obreras y zánganos de 21 y de 24 días de desarrollo respectivamente. Estos tiempos son contabilizados desde la puesta del huevo hasta que emerge el adulto (Ellis, Atkinson y Graham, 2014).



A



B

Figura 2. A) Individuos habitantes de una colmena. Fuente: <https://www.abejapresumida.com/tipos-de-abejas/>

B) Desarrollo de las abejas. Fuente: [http://roble.pntic.mec.es/~groca/web\\_abeja/la\\_abeja2.htm](http://roble.pntic.mec.es/~groca/web_abeja/la_abeja2.htm)

## **Reina**

La reina es la hembra reproductora de la colonia, ya que su aparato reproductor está completamente desarrollado. Su cuerpo tiene una mayor longitud comparado con el de la obrera (Jean-Prost y Le Conte, 2010), mide aproximadamente dos cm de largo, su abdomen es cónico, la lengua es corta, tiene alas cortas y carece de cestas de polen (Yadav, 2017). Produce feromonas que mantienen la organización dentro de la colonia. Aproximadamente a los tres días después de emerger como adulta, realiza vuelos de orientación. Finalmente, realiza algunos vuelos de fecundación, donde se aparea con varios zánganos (poliandria). El esperma depositado en la reina por los zánganos es almacenado en la espermateca, permitiendo a la misma retornar a su colmena y poner huevos por toda su vida, sin necesidad de aparearse de nuevo. Puede vivir tres o cuatro años. Pero, en nuestras latitudes es difícil que supere los dos o tres años debido a que no suelen parar su postura durante el invierno, como sucede en lugares con climas más rigurosos. La reina puede poner más de 500.000 huevos a lo largo de su vida y hasta 1.500 por día. El rendimiento de la puesta de huevos contribuye directamente con la población de la colonia. La selección de la reina a utilizar en la colmena es importante ya que es la encargada de transferir la genética a su progenie (Ellis, Atkinson y Graham, 2014).

## **Zánganos**

Los zánganos son los machos de la colonia, tienen como única función conocida la reproducción. Se reconocen por tener un tamaño mayor que el de las abejas obreras, su abdomen es abultado y sus ojos grandes, lo que les confiere un campo de visión muy amplio, tienen lengua corta, antenas muy perfeccionadas, patas desprovistas de cestas para la recolección del polen, buche de poca capacidad y no poseen aguijón. Al comienzo de su vida son alimentados por las obreras. A la edad de cuatro días pueden ellos mismos tomar la miel de los panales, pero prefieren ser alimentados por sus hermanas. Su primer vuelo se da entre los 9 a 12 días y son capaces de aparearse a partir de los 12 a 20 días, alcanzando su madurez sexual a los 30 o 40 días. Viven alrededor de 50 días (Jean-Prost y Le Conte, 2010). En general, hay crías de zánganos durante la época reproductiva, en los meses cálidos de primavera y verano. Cuando comienzan los fríos del otoño son expulsados de las colonias por las abejas obreras. Las celdas de cría que contienen zánganos pupales tienen una tapa elevada, lo que hace que se puedan identificar fácilmente. Cuando una reina ingresa al área de congregación de zánganos (lugares donde se encuentran muchos zánganos en vuelo), es perseguida por un enjambre que busca aparearse con ella. El zángano se acerca a la reina desde abajo y la monta desde arriba sosteniendo su abdomen con sus seis patas, la reina debe abrir voluntariamente su cámara de aguijón para que se produzca la cópula. Tras una inseminación exitosa cada zángano se paraliza inmediatamente, cae al suelo y muere (Ellis, Atkinson y Graham, 2014).

## **Obreras**

Las obreras son hembras estériles, responsables de casi todas las tareas en la colonia y las que se encuentran en mayor número dentro de la misma. Se dividen el trabajo según la edad y pasan de una tarea a otra a medida que envejecen, a este proceso se le denomina programación normal. Pueden vivir hasta 42 días durante el verano y 140 días o más en el invierno, cuando por lo general se encuentran dentro de la

colmena (Ellis, Atkinson y Graham, 2014). Poseen la boca rodeada por dos mandíbulas y prolongada por una trompa que está adaptada a la recolección de néctar. El tórax está formado por tres segmentos soldados, posee un par de patas por segmento y dos pares de alas ensambladas. El abdomen se compone de siete segmentos unidos entre sí por una membrana flexible, presentando un saco de veneno en la parte posterior del mismo (Pierre Jean-Prost y Le Conte, 2010).

La diferencia con la reina ocurre por la nutrición que reciben en su etapa larvaria. La reina se alimenta exclusivamente con jalea real y las obreras son alimentadas tres días con jalea real y tres días con una mezcla de miel y polen.

En ausencia de una reina puede producirse el desarrollo de ovariolas en algunas obreras de la colmena. Aunque, estas obreras no pueden aparearse, por lo que ponen huevos sin fertilizar (haploides) y estos se convierten en zánganos (Ellis, Atkinson y Graham, 2014).

### **1.5. Las abejas y su importancia como polinizadoras**

La polinización es el transporte del polen desde el estambre, órgano masculino de la flor, hasta el pistilo, órgano femenino de la flor. La mayoría de las plantas destinadas a la producción de frutos y semillas deben ser polinizadas. Las flores de estas plantas deben recibir polen en cantidad suficiente para transformarse en frutos y semillas. Sin abejas se romperían numerosos equilibrios biológicos y desaparecerían muchas especies vegetales (Pierre Jean-Prost y Yves Le Conte, 2010). Hay estudios recientes que indican que la pérdida de polinizadores constituye una de las principales amenazas para el mantenimiento de las poblaciones humanas en las próximas décadas, 5.000 millones de personas se enfrentarían a una crisis alimentaria por la falta de polinización, particularmente en África y el sur de Asia (Chaplin-Kramer et al., 2019). La polinización es un servicio agroambiental muy importante, estimándose de 30 a 50 veces mayor que el valor de los productos de las colmenas (FAO, 2021).

Los factores estresantes externos interfieren con la polinización. Estos incluyen cambios en el uso de la tierra, enfermedades y plagas, uso de productos químicos como pesticidas, cambio climático, propagación de monocultivos, globalización (que implica la introducción de especies invasoras y de patógenos) y malas prácticas de manejo (FAO, 2021).

### **1.6. Productos de la colmena**

Las abejas y sus productos se usan y comercializan alrededor de todo el mundo. La abeja europea *Apis mellifera*, considerando todas sus subespecies y variedades, cubren la gran mayoría del comercio. La abeja asiática *Apis cerana* se encuentra en segundo lugar en producción de miel; esta especie está restringida al continente asiático (Wehling y Stewart, 2014).

#### **Miel**

La miel proviene de las plantas, por intermedio de las abejas. Las mismas la elaboran principalmente a partir de la extracción del néctar de las flores, aunque pueden existir mieles de néctares extra florales (Pierre Jean-Prost y Yves Le Conte, 2010). Para convertir el néctar en miel, las abejas obreras evaporan el exceso de agua, además sus glándulas hipofaríngeas secretan la enzima invertasa, que convierte la mayor parte de la sacarosa del néctar en fructosa y glucosa (Crane, 1990).

El tiempo de cosecha depende de la madurez de la miel y debe llevarse a cabo en días no lluviosos con baja humedad ambiental, para que el contenido de agua de esta no aumente debido a su higroscopicidad (Krell, 1996). En la extracción (Figura 3) el sellado de las celdas debe eliminarse con un raspador o cuchillo, antes de proceder con la extracción por centrifugación. La miel generalmente se purifica por decantación, la velocidad de este proceso depende de la humedad de la miel y de la temperatura de la habitación. De acuerdo con el Codex Alimentarius Standard la miel madura debe tener un contenido de humedad inferior al 20%, sin embargo, para una buena conservación, la humedad de la miel debe ser inferior al 18%. La cristalización sucede con el tiempo y depende de diferentes parámetros como la temperatura, siendo 14 °C la temperatura óptima de cristalización. Por encima de 25 °C y por debajo de 5 °C prácticamente no se produce cristalización; cuanto menor sea el agua y mayor sea el contenido de glucosa de la miel, más rápido se da este proceso. Oficialmente la miel puede ser pasteurizada por la industria, para evitar las fermentaciones no deseadas por levaduras osmofílicas (FAO, 2021).

Las propiedades físicas de la miel son la densidad, que varía en función del contenido de agua entre 1.410 y 1.435, la viscosidad que disminuye cuando la temperatura se eleva, el color va del blanco al negro y se aprecia por medio de colorímetros. El envejecimiento y el calentamiento acentúan la coloración. Debido a su alto contenido de azúcares, la miel es un alimento energético. Los constituyentes minerales le confieren propiedades medicinales, por ejemplo, los flavonoides mejoran la circulación venosa. Administrada por vía oral, ayuda en los trastornos intestinales, úlceras de estómago, insomnio, dolores de garganta, y ciertas afecciones cardíacas. Como agente terapéutico tópico se utiliza en quemaduras y heridas. El elemento esencial de la acción antibiótica de la miel es la enzima glucosa-oxidasa (Pierre Jean-Prost y Yves Le Conte, 2010).

## **Cera**

Es un producto de la colmena y a la vez un insumo para los apicultores. Es la sustancia grasa segregada por las glándulas cereras de las obreras jóvenes. Las abejas de 15 días de edad son las más aptas para la producción. Las escamas de cera son láminas transparentes de 1,5 mm de longitud y 1 mm aproximadamente de ancho. Las obreras las sacan al nivel de las placas cereras con sus mandíbulas y las trituran incorporándole sustancias glandulares, en particular de las glándulas mandibulares. Desde el punto de vista químico los componentes mayoritarios son los lípidos, hidrocarburos, ésteres y ácidos. La cera funde a 64 °C aproximadamente y su densidad es 0,95. Es utilizada por las abejas como material de construcción de panales. Al comienzo es de un color casi blanco, luego se colorea progresivamente de amarillo y después se vuelve más oscuro, hasta llegar a negro con los años (Pierre Jean-Prost y Yves Le Conte, 2010).

En antiguos escritos romanos, griegos y chinos se puede ver la variedad de usos que se le daba a la cera. Los egipcios la usaban para preparar las momias y preservar los rollos de papiros. En tiempos antiguos era usada en varias preparaciones médicas, velas, tablas de escritura, sellos para escribir documentos y como adhesivos. En la actualidad, la parafina y los productos petroleros han reemplazado a la cera de abejas en varios usos, pero sigue siendo usada en productos cosméticos, lubricantes, selladora de frutas, productos de limpieza, como componente de finalización de maderas, aislante de circuitos eléctricos y acondicionamiento de instrumentos musicales, entre otros.



A partir de trozos de cera derretida se obtienen láminas estampadas, estas son colocadas en marcos para retornar a la colmena. (Figura 3)

El color de la cera afecta al precio, siendo la cera más clara la de mayor valor (Wehling y Stewart, 2014).



A

B

Figura 3.

Fuente: A) Miel procesada. <https://circuitoproductivo.com/miel/>. B) Abejas construyendo panales y cera procesada. Fuente: <http://www.nectarbee.com.uy/producto/cera-estampada-5kg/>, <https://miellabarrosilla.com/tienda-bio-online/cera-de-abeja-bio/#.YwqUc3bMLIU>

## Propóleos

El propóleo o propóleos está compuesto por un 50 % de resina y bálsamo vegetal, 30 % de cera, 10 % de aceites esenciales y aromáticos, 5 % de polen y 5 % de otras sustancias, incluidos restos orgánicos, según el lugar y el momento de su recolección (Batista de Almeida, Holanda da Cunha, da Nobrega Melo Queiroga, Agra da Silva, R., y Borges Maracajá, 2017).

Sus características morfológicas varían según la disponibilidad de los diferentes vegetales y las condiciones ambientales. Su color varía del pardo rojizo al amarillo verdoso y se oscurece hasta el negro dependiendo de su origen y edad. Posee un olor aromático característico y agradable, de sabor fuerte y picante. La abeja comienza a recolectar propóleos de brotes de los árboles con sus mandíbulas, ayudándose de su primer par de patas. Durante las épocas frías la resina se encuentra más dura. Esta es ablandada mediante secreciones de las glándulas mandibulares. La porción extraída es triturada y con su segundo par de patas, la transfiere a la cesta que posee en su pata posterior. Una colmena es capaz de producir entre 150 y 300 gramos de propóleo por año. Esto puede variar según el clima, la temperatura ambiente o la cantidad de individuos en la colmena. Las abejas utilizan el propóleo con diferentes fines, como cerrar grietas, evitar las corrientes de aire, reducir al mínimo las vías de acceso para evitar la entrada de insectos y momificar los organismos vivos que se introducen en la colmena con un tamaño que no permite su expulsión. Son ejemplo de este último los gusanos de la cera, las hormigas, los roedores, los reptiles y las mariposas. Esta función es muy importante ya que el propóleo tiene una propiedad altamente bactericida; al recubrir y embalsamar los cadáveres se evita la descomposición dentro de la colmena. Para obtener un propóleos de elevada pureza se debe recolectar adecuadamente de la colmena. Actualmente se utiliza un sistema de rejilla o mallas que se coloca dentro de la colmena, despertando el instinto de las abejas obreras y logrando que cubran de propóleos los agujeros de las diferentes mallas. Estos agujeros no deben superar los cuatro mm de diámetro a fin de no sobrepasar el ancho de una abeja obrera y evitar convertirlos en lugar de paso, en vez de zona de deposición. Una vez recolectada las mallas se introducen en un congelador, para que luego sea más fácil la liberación del propóleo (Salmon y Martin, 2014).

Los propóleos poseen propiedades farmacológicas (Figura 4) las que varían según el origen botánico y geográfico. Entre sus propiedades destacan que pueden ser antisépticas, cicatrizantes, antiinflamatorias, anestésicas, bacteriostáticas y bactericidas, fungicidas, colaborando con la cicatrización de las heridas y quemaduras. En el mercado se presenta bajo forma de ungüento, extracto alcohólico o cápsulas (Pierre Jean-Prost y Yves Le Conte, 2010).

### Jalea Real

Es la secreción glandular hipofaríngea de las abejas obreras jóvenes. Se compone de 60 a 70 % de agua, hidratos de carbono (fructosa, glucosa y sacarosa) y proteínas que contienen todos los aminoácidos esenciales. Se caracteriza por su acidez, con un pH de 3 a 4. Es una sustancia gelatinosa y viscosa, su color es blanquecino a amarillo aumentando el color amarillo durante el almacenamiento; su olor y sabor son agrios y picantes. Los componentes únicos y químicamente más interesantes son los ácidos grasos libres de cadena corta, entre 8 y 10 carbonos, que son responsables de la mayoría de las propiedades biológicas. La jalea real vieja tiende a ser más oscura y puede desarrollar un sabor rancio. Para una calidad óptima debe almacenarse en estado congelado. Generalmente se produce en colonias mantenidas para ese propósito, se retira a la reina de la colmena y esta queda huérfana. Luego se inserta un marco con celdas reales artificiales, cada una de las cuales contiene larvas obreras de 12 a 36 horas de edad. Tres días después, se retira el marco, se descartan las larvas y se recolecta la jalea real (Beckh y Bogdanov, 2014).

Este producto de la colmena es muy delicado y por ello debe ser manipulado con todas las precauciones para conservar sus propiedades. Se debe evitar el contacto con el aire, la luz, el calor y debe ser envasado preferiblemente en contenedores de vidrio color ámbar. Tradicionalmente es conocida por su actividad regeneradora. Existen diferentes maneras de evaluar la calidad de la jalea real, una de ellas es el contenido de humedad que permite saber si es vieja (cuando presenta valores inferiores al 60 %) o si está adulterada por aguado (con valores de humedad superiores al 70 %). Se recomienda conservarla a temperaturas entre -17 °C y -40 °C para mantener sus propiedades durante un año (Vit, 2005). Los mayores productores de jalea real son China, Japón y Corea del Sur. Los principales mercados en América del Norte y Europa están relacionados con la industria cosmética y de la salud (Beckh y Bogdanov, 2014).

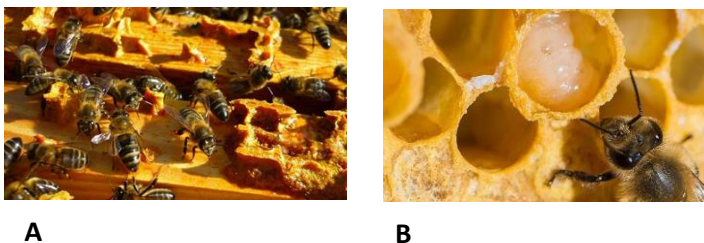


Figura 4. A) Abejas propolizando los marcos, de las colmenas. B) Reina alimentándose de jalea real.  
Fuente: <https://farmaciarex.uy/products/608590119>  
<http://www.cuncoparticipa.com/154557075?pagenum=4>



## Polen

Los granos de polen son los gametos masculinos de las flores, que contienen un conjunto completo de información genética sobre la planta masculina. El grano de polen maduro está encerrado en una estructura de doble pared, la interior llamada intine y la exterior exine. El componente característico de la exina es la esporopolenina, responsable de una alta resistencia a los ácidos y a la degradación enzimática. Es recolectado por las abejas melíferas (Figura 5) con el fin de alimentar a las larvas en las primeras etapas del desarrollo. El polen proporciona proteínas, vitaminas, grasas y minerales a la dieta de las abejas. Contiene todos los nutrientes esenciales para la producción de jalea real. Por lo tanto, es esencial para el desarrollo y el crecimiento normal de las abejas, así como para la reproducción de las colonias. Parte del polen recolectado se transforma en pan de abeja dentro de la colmena mediante la adición de miel y otras secreciones. El polen difiere en color debido al llamado pollenkitt que consiste en sustancias lipoides y pigmentadas que se acumulan sobre y dentro de la exina externa, lo que hace que los granos de polen se adhieran entre sí. Generalmente el color de las cargas de polen es uniforme, ya que las abejas visitan muchas flores de una misma especie (Beckh y Bogdanov, 2014). Para cosechar el polen de las colmenas es necesario que las abejas pecoreadoras pasen por una rejilla de malla pequeña a fin de desenganchar el polen de las patas posteriores, que luego cae a un recipiente situado debajo de la trampa. El polen se consume directamente o se procesa en extractos. Exhibe diversas propiedades farmacológicas y microbiológicas debido a que es un suplemento nutricional, por su contenido de vitaminas y por su actividad hormonal, antibiótica y antioxidante. Es utilizado en cosmetología en la elaboración de cremas nutritivas, ungüentos, emulsiones y jabones (Saavedra, Rojas y Delgado, 2013).



A

B

Figura 5. A) Abeja obrera, recolectando polen. B) Polen de diferentes colores.

Fuente: [https://elpais.com/sociedad/2013/04/29/actualidad/1367265315\\_648693.html](https://elpais.com/sociedad/2013/04/29/actualidad/1367265315_648693.html)

Fuente: <https://beekys.wordpress.com/2018/04/21/nubes-de-abejas-primaverales/polen-colores>

## Veneno

Las abejas obreras y reinas cuentan con un aparato de veneno, que consta de 3 partes, la glandular, la de almacenamiento (saco del veneno) y el aguijón, que es por dónde el veneno es conducido desde el saco del veneno hacia el exterior (Figura 6)

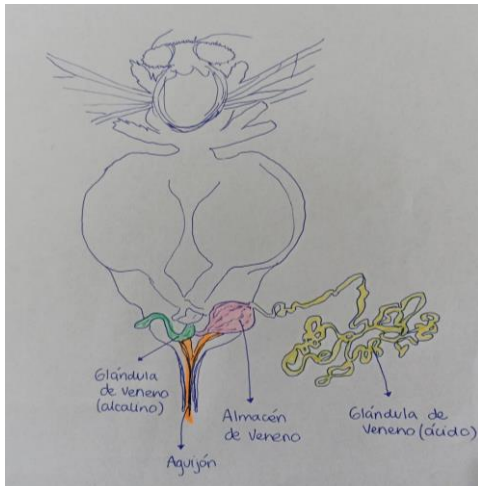


Figura 6. Disección de una reina, aparato de veneno.  
(Jean-Prost y Le Conte, 2010)

Las reinas lo utilizan únicamente para eliminar a sus hermanas o a otras reinas cuando nacen, de forma que en ese momento ya tienen el saco del veneno completo. Las obreras lo van completando en las primeras semanas de vida y lo utilizan para defender la colonia (Dotimas & Hider, 1987; Bridges & Owen, 1984). El veneno es segregado en su mayor parte por la glándula ácida, que forma parte del conjunto del aparato defensivo de la abeja. Otra glándula, la alcalina, está conectada al saco del veneno, en el abdomen de la abeja obrera, pero no se conoce exactamente su función en la producción (Pierre Jean-Prost y Yves Le Conte, 2010).

### **Cantidad de veneno cosechado**

La cantidad de veneno que se puede cosechar varía de una especie a otra, dependiendo principalmente del tamaño de la colonia. La cantidad producida también depende de la edad de las abejas, siendo influenciada por **la cantidad y calidad de sus alimentos y por la temporada de cosecha**. La mayor cantidad de veneno se puede producir durante el verano, la temporada activa de las abejas, luego le sigue la temporada de otoño y las cantidades más bajas se producen durante el período de primavera (Dirk C. de Graaf et al., 2020). Aproximadamente 0,3 mg de veneno líquido y 0,1 mg de materia seca, se pueden extraer del aguijón de una abeja con el saco de veneno completo. La cantidad máxima de veneno se obtiene de abejas de 15 a 20 días de edad, luego las glándulas secretoras se degeneran gradualmente. El veneno de todas las especies de *Apis* es similar en composición y calidad, pero hay ligeras diferencias en sus niveles de producción y toxicidad de acuerdo al tamaño y a diferencias fisiológicas entre abejas. Es un líquido transparente, incoloro y acuoso; cuando entra en contacto con membranas mucosas u ojos causa ardor e irritación. Contiene varios compuestos extremadamente volátiles que se pierden fácilmente durante la recolección. A diferencia de muchos otros mecanismos químicos de defensa, el veneno de abeja es soluble en agua, no soluble en grasa y solo se activa cuando se inyecta o se aplica a tejidos húmedos. Al almacenarlo a temperaturas inferiores a 0 °C preserva su eficacia terapéutica durante mucho tiempo y si se almacena a temperatura ambiente en lugar fresco y protegido de la luz, se puede conservar durante años sin perder sus propiedades. Se encuentra disponible en dos formas, líquido inmediatamente después de la cosecha o cuando la abeja lo inyecta

al picar a través del aguijón y seco (apitoxina), después de recogerlo usando dispositivos especiales (FAO, 2021).

Los componentes principales de la apitoxina son la melitina (Chen et al., 2016; Haggi et al., 2013) y la fosfolipasa A2 (Lee y Bae, 2016). Contiene también una cantidad de componentes menores, como apamina, histamina, hialuronidasa, catecolaminas y serotonina (Lonette et al., 2013).

La melitina representa aproximadamente el 50% del peso seco del veneno (FAO, 2021), es una sustancia con alto poder antiinflamatorio, provoca dolor y prurito, tiene un potente efecto bactericida (Leite y Rocha, 2005). Otros efectos que posee son la detención del ciclo celular, la apoptosis y la inhibición del crecimiento de diferentes células malignas. La concentración de melitina que posee el veneno, va a determinar la calidad y en consecuencia el precio del mismo (Flanjak et al., 2021).

La fosfolipasa A2 destruye las paredes celulares; el péptido MCD induce la degranulación de los mastocitos, lo que provoca una liberación masiva de histamina. Esta producirá una reacción inflamatoria y formación de edema; puede también ocasionar la vasodilatación de los vasos sanguíneos generando trastornos cardíacos y circulatorios. La apamina actúa sobre el sistema nervioso central, y la hialuronidasa hidroliza el ácido hialurónico que conecta una célula con otra, haciéndola más permeable (Leite y Rocha, 2005).

La apitoxina es utilizada con fines terapéuticos tanto en humanos como en animales. Sus propiedades curativas tienen una larga tradición. Hipócrates empleaba picaduras de abejas en sí mismo; Galeano y Carlomagno recibieron un tratamiento similar en las articulaciones artríticas (Batista de Almeida et al., 2017).

Las posibilidades terapéuticas de la apitoxina vienen siendo estudiadas extensamente (Aliyazicioglu, 2019; Zhang et al., 2018) en su utilización en tratamientos específicos, como agente antitumoral, en el tratamiento de artritis y del dolor (Dong et al., 2007), en el tratamiento de dermatitis atópica (An et al., 2018), en enfermedades neurodegenerativas (Silva et al., 2015), en lo relacionado a reacciones alérgicas, anafilaxia y terapias de-sensibilización (Elieh Ali Komi et al., 2018). Actualmente el único uso médico legal aceptado del veneno de abeja en los países de Europa Occidental y América del Norte es para desensibilizar a las personas que son hipersensibles (alérgicas) a las picaduras de abeja. Los métodos de aplicación del veneno incluyen picaduras de abeja viva, inyecciones subcutáneas, electroforesis, ungüentos, inhalaciones y tabletas (FAO, 2021).

### **Métodos de cosecha de apitoxina**

En cuanto a la cosecha de apitoxina, en los inicios se llevaba a cabo induciendo la narcosis de las abejas, este método consistía en colocar a las abejas en un recipiente de vidrio cubierto con papel de filtro empapado en éter, las abejas depositaban el veneno en las "paredes" del recipiente. Este luego se recuperaba a través del lavado, la filtración y la evaporación, el veneno obtenido era un precipitado. Este método produce desde 5 a 57 mg de veneno por cada 1000 abejas. Las desventajas son la contaminación y su rendimiento que es relativamente bajo. El método de electroestimulación es utilizado en la actualidad. El mismo implica la instalación de un dispositivo especial que expone a las abejas a una corriente eléctrica de bajo voltaje.

### **Protocolos de cosecha de veneno con bandeja interna o externa**

Las trampas internas son colocadas en el interior de las colmenas, en medias alzas de forma vertical. Las desventajas que poseen en comparación a las bandejas externas, es que no permiten observar lo que sucede en el interior de la colonia. En cambio, las bandejas externas permiten ver el comportamiento de las abejas ya que se colocan en la piquera (entrada de la colmena de forma horizontal), estas también poseen algunas desventajas, solo pueden ser utilizadas cuando hay una gran actividad de pecoreo (recolección de néctar y polen), por parte de las abejas.

La mayoría de los colectores de veneno comerciales se componen de cuatro partes:

- Batería o acumulador (24 a 30 V).
- Transformador de corriente constante a corriente alterna, con impulso.
- Frecuencia de 50 a 1000 Hz, y una duración de impulso de 3 a 6 segundos.
- Marco colector, que consiste en una red de alambre eléctrico y una placa de vidrio. Cuando las abejas aterrizan en él, se excitan con la corriente eléctrica y reaccionan picando el vidrio y liberando su veneno. La ventaja principal de este método es que después de la liberación del veneno las abejas no pierden su aguijón y se mantienen vivas. Los compuestos volátiles como la histamina pueden desaparecer cuando se recoge veneno de abeja mediante estimulación eléctrica. Sin embargo, en términos generales, cuando se utiliza estimulación eléctrica, más del 80% del material obtenido son proteínas (FAO, 2021).

Existe un consenso de que la mejor forma de obtener apitoxina es mediante estimulación eléctrica (Li et al., 2013; Morse & Benton, 1964), y también han surgido avances respecto a protocolos y pautas generales para su extracción (Dirk C. de Graaf et al., 2020).

### **Controversia sobre efecto de la extracción de veneno y producción de miel**

Respecto a la extracción de apitoxina y sus efectos sobre las colonias o sobre la producción de miel Reda & Kareem (2013) plantean que durante el ensayo de extracción de apitoxina el área de cría operculada disminuyó entre un 11,3 % y un 18,1 %, respecto a las colonias control.

Zhou et al., (2003) registraron una disminución en la producción de miel de entre un 45,6 % y un 49,9 % en las colonias que estaban en producción de apitoxina.

Sin embargo, otros autores no encontraron disminución en la cría ni en la producción de miel (Araneda Duran, Leichtle Cifuentes, y Morales Ulloa, 2011; Omar, 2017).

En nuestro país no se han evaluado las consecuencias de la extracción de veneno en abejas *Apis Mellifera*- Por lo tanto, considerando que la apitoxina es un producto demandado y bien valorado, es necesario generar conocimiento respecto a cómo impacta su explotación en la colmena, de forma de desarrollar pautas para que este rubro pueda sumarse a la diversificación de los productos apícolas.

## **2. HIPÓTESIS**

La cosecha de apitoxina en colmenas de abejas *Apis mellifera* genera un impacto en el desarrollo y la producción de las colonias.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo general:**

- Estudiar el impacto de la extracción de apitoxina en el desarrollo y producción de las colonias de abejas *Apis mellífera*.

#### **3.2. Objetivos específicos:**

- Evaluar el área de cría operculada y población de abejas adultas en las colonias a las que se les aplica diferentes métodos de extracción de apitoxina.

- Evaluar la producción de miel en colonias a las que se les aplica diferentes métodos de extracción de apitoxina.

### **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **4.1. Producción de material vivo**

Al final de la primavera se desarrollaron 35 núcleos de abejas, a partir de las colmenas existentes en el Campo Experimental N° 2 de Libertad.

A cada núcleo se le introdujo una reina fecundada, todas hijas de una misma madre. Las mismas se adquirieron en la Cabaña Apícola del señor Jesús Posse. Luego de 3 semanas, las colonias fueron evaluadas y transferidas a las cámaras de cría. Se seleccionaron y numeraron las 24 que tenían mejor desarrollo, utilizando como criterio la población de abejas adultas y el área de cría operculada.

#### **4.2. Preparación de los grupos**

Las 24 colonias se dividieron al azar en 3 grupos de 8 colmenas cada uno (Figura 7). La cosecha se llevó a cabo en 4 fechas diferentes, con una frecuencia de extracción de 30 días (Tabla 1).

**TABLA 1: Fechas de cosecha de apitoxina**

| <b>Fechas</b> | <b>Mediciones</b>    |
|---------------|----------------------|
| Fecha nro. 1  | 6 de febrero de 2021 |
| Fecha nro. 2  | 5 de marzo de 2021   |
| Fecha nro. 3  | 5 de abril de 2021   |
| Fecha nro. 4  | 10 de mayo de 2021   |

Grupos:

- I. Bandeja interna 30 días.
- II. Bandeja externa 30 días.
- III. Grupo control (sin cosecha de apitoxina).



**A** **B**  
 Figura 7. Métodos de cosecha: A) Bandeja interna, B) Bandeja externa.

### 4.3. Protocolo de cosecha de apitoxina

Para cosechar veneno se utiliza una bandeja con parrilla de metal, por la cual circula electricidad. La misma posee dos polos, uno positivo y otro negativo. Cuando las abejas se posan sobre la misma contactan ambos polos cerrando el circuito, recibiendo una descarga eléctrica que activa el reflejo de aguijonear; al no perder el aguijón, no mueren. Por debajo de la rejilla están colocados los vidrios extraíbles, el veneno se deposita en forma de gotas sobre los vidrios. Luego el agua que contiene el veneno se evapora, quedando el contenido seco que es finalmente raspado del vidrio (Figura 8).



**A** **B**  
 Figura 8. A) Bandejas utilizadas, B) Vidrios con veneno seco.

Se utilizaron dos equipos de cosecha de veneno marca EXAP II conectados a 8 bandejas cada uno (Figura 9), fabricados por el productor apícola Martín Nesta, residente del departamento de Montevideo, Uruguay. El tiempo en el que el equipo estuvo activo fue de 30 minutos por colonia. Cada uno de estos equipos estaban alimentados por una batería y permitía regular el voltaje con un máximo de 50 voltios. Esto se reguló de acuerdo a la cantidad de abejas que estaban sobre la bandeja. Las bandejas se colocaron en la puerta de la colmena o piquera (Bandeja externa) de forma horizontal y dentro de la colmena (Bandeja interna) de forma vertical. Los vidrios se identificaron por grupos.

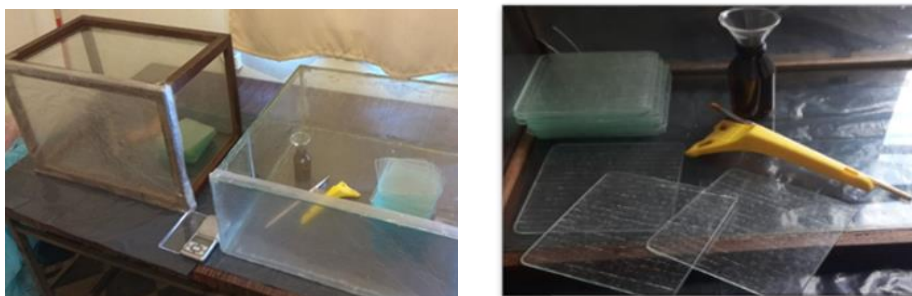


Figura 9. Equipos utilizados para la cosecha de veneno, marca EXAP II.

#### 4.4. Extracción de apitoxina

Se realizó mediante el raspado con una espátula para veneno. Esto se llevó a cabo en una habitación sin corrientes de aire, con los vidrios dentro de una cabina improvisada, por dónde solo pasaban las manos del operador y con medidas de seguridad adecuadas: gafas, guantes y máscara de doble filtro (Figura 10).

Los vidrios estaban identificados por grupo, de forma que cuando se completaba el raspado de un grupo, se pesaba y se guardaba el total en recipientes de plástico color ámbar, con la identificación correspondiente (peso, grupo y fecha de extracción).





**A**

**B**

Figura 10. A) Materiales para la extracción de veneno (balanza digital, recipientes de plástico color ámbar, embudo de vidrio, pincel y espátula).

B) Vidrios con veneno seco.

#### **4.5. Medición de área de cría operculada**

La cámara de cría de todas las colmenas fue fotografiada durante el desarrollo del trabajo. Se utilizó una cámara de fotos NIKON D5300 con un lente NIKOR de 50 mm y un bastidor para la toma de fotografías. Al mantener la distancia focal de la cámara fija se logró tomar fotos uniformes (Figura 11), todas con la misma distancia y el mismo ángulo (Juri, 2018). Esta medición se realizó 4 veces, con 30 días de distancia entre mediciones.



Figura 11. Obtención de fotografías del área de cría operculada.

Las fotografías de los marcos de las colmenas fueron procesadas para su análisis con el programa semi-automático Comb Count. Este es un programa de Python que detecta automáticamente y de forma precisa las celdas sin opercular, para acelerar el proceso de medición de cría operculada y miel operculada (Colin, Bruce, Meikle y Barron, 2018).

#### **4.6. Evaluación de la producción de miel**

Para mantener las colonias de un tamaño manejable, se llevaron a cabo dos cosechas de miel: la primera (Día 80) y la segunda al final del ensayo (Día 155). Los panales con miel fueron identificados mediante numeración en la madera y pesados antes y después de la extracción. De esta forma se obtuvo la cantidad de miel total producida por cada grupo (apitoxina cosecha interna, apitoxina cosecha externa y grupo control).

#### **4.7. Estimación de la población de abejas adultas**

La cantidad de abejas adultas se estimó a partir del número de calles de abejas por colmena, multiplicando las calles por el factor 2200 (Delaplane, Steen y Novoa, 2013).

#### **4.8. Procesamiento Estadístico**

Se calculó la media de cada grupo para producción de miel (kg de miel por colmena) y de cosecha de apitoxina (g). Para las variables área de cría operculada (dm<sup>2</sup>) y población de abejas adultas se realizaron estudios estadísticos descriptivos,



exploratorios y explicativos en un total de 80 registros. Se aplicó un ANOVA de dos vías con un nivel de significancia ( $\alpha$ ) de 0,05. Como análisis *post hoc* se aplicó el Test de Tukey ( $\alpha= 0,05$ ). Se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre ambas variables ( $\alpha= 0,05$ ). Para llevar a cabo los análisis se utilizó el software libre Past, versión 4.11 (Hammer, Øyvind, Harper, David A.T. y Paul D. Ryan, 2001).

### **Supuestos del modelo estadístico para las variables área de cría operculada ( $dm^2$ ) y población de abejas adultas**

Se utilizó el siguiente modelo de efectos fijos (Milton y Tsokos, 1987):

$$x_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$$

i: 1,2, 3 tratamientos (apitoxina si interna/ apitoxina si externa/ apitoxina no).  
j: 1, 2, 3, 4 fechas (6 de febrero, 5 de marzo, 5 de abril, 10 de mayo).  
k: 1, 2,..., 80 datos.

$$e_{ijk} = \text{NIID} (0, \sigma_e^2)$$

Siendo:

- x**: la variable en estudio
- $\mu$** : el intercepto (efecto medio global)
- $\alpha$** : el efecto del i-ésimo nivel del factor relativo a la extracción o no de apitoxina
- $\beta$** : el efecto del j-ésimo nivel del factor correspondiente a la fecha de extracción de apitoxina
- $\alpha\beta$** : el efecto de la interacción entre el i-ésimo nivel del primer factor y el j-ésimo nivel del segundo factor
- e**: el error aleatorio.

## **5. RESULTADOS**

### **Producción de miel**

Con el método de trampa interna se obtuvo una media entre ambas extracciones de 13 kg de miel por colmena y con el método de trampa externa 10 kg por colmena. En el grupo control se cosechó en promedio 19 kg de miel por colmena.

Debido a que se obtuvo la producción de miel total por grupo en cada una de las dos cosechas realizadas, no fue posible realizar análisis estadísticos que relacionaran dicha producción con la extracción o no de apitoxina.

### **Producción de veneno**

En cuanto a la producción de veneno, se representa en el gráfico de barras (Figura 12), la cantidad promedio de apitoxina obtenida por grupo (método externo e interno), según las fechas de cosecha. Comparando ambos métodos la cantidad promedio de cosecha fue la misma (0,39 g por colmena).

En cuanto a las fechas se encontró que en el método externo el mes de marzo se obtuvo un mayor promedio de cosecha (0,10 g por colmena), en comparación con el método interno (0,045 g por colmena). En el mes de abril ocurrió la situación inversa,

obteniéndose una mayor cosecha de veneno para el método de trampa interna (0,15 g por colmena). Al no poseer datos individuales de cada una de las 24 colmenas, no fue posible ahondar en mayores análisis estadísticos.

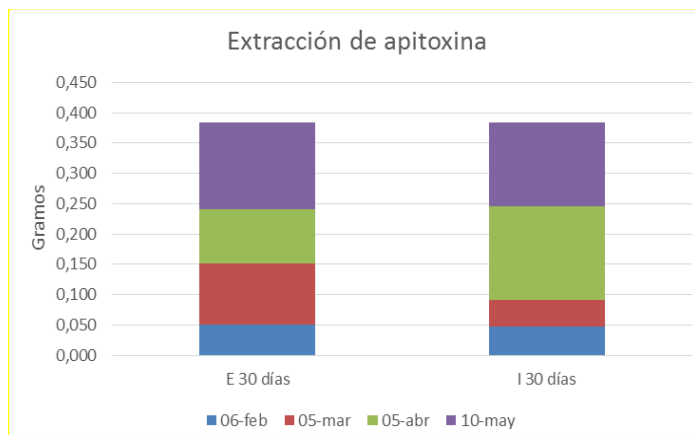


Figura. 12 Cosecha de apitoxina, promedios por colmenas según método (E: Externo, I: Interno) y fechas.

## Área de cría operculada (dm<sup>2</sup>) y población de abejas adultas

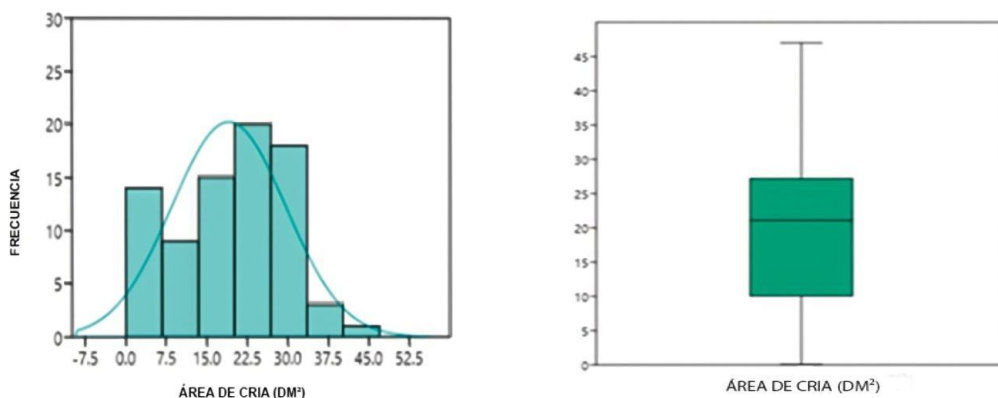
### Estudios descriptivos y exploratorios

En la Figura 13 se observan las representaciones gráficas mediante histogramas de frecuencia simples y diagramas de caja y bigotes para el área de cría operculada (A y B) y para la población de abejas adultas (B y D).

La media de área de cría operculada fue de 19,1 dm<sup>2</sup>, con un coeficiente de variación de 55,4, una varianza de 111,9 dm<sup>2</sup> y un desvío estándar de 10,6 dm<sup>2</sup>. El cuartil 1 (Q1) fue de 10 dm<sup>2</sup>, siendo el cuartil 2 (Q2) de 21 dm<sup>2</sup> y el cuartil 3 (Q3) de 27 dm<sup>2</sup>.

La media obtenida para la población de abejas adultas fue de 29532, el coeficiente de variación fue de 29,5, la varianza de 8711,5, y el desvío estándar de 7,6.

D) La representación de los datos población de abejas adultas con diagrama de caja, resultando los siguientes cuartiles, El cuartil 1 (Q1) fue de 26400, el cuartil 2 (Q2) fue de 30929 y el cuartil 3 (Q3) fue de 35084.



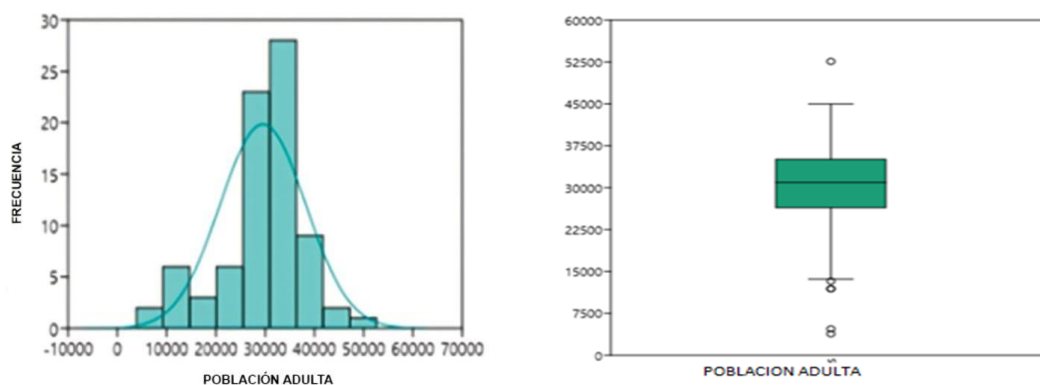


Figura 13. Representación gráfica mediante histograma y diagrama de caja, de las variables área de cría operculada (dm<sup>2</sup>) y población de abejas adultas.

Para testear la normalidad se aplicó el estadístico de prueba Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lilliefors en ambas variables, dando no significativa ( $p > 0,05$ ), por lo que se asume la normalidad de la variable.

### Análisis explicativos

No hubo diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), entre las medias obtenidas, según el tipo de tratamiento (extracción o no de apitoxina), tanto para la variable área de cría operculada (dm<sup>2</sup>), como para la variable población de abejas adultas (Tabla 2).

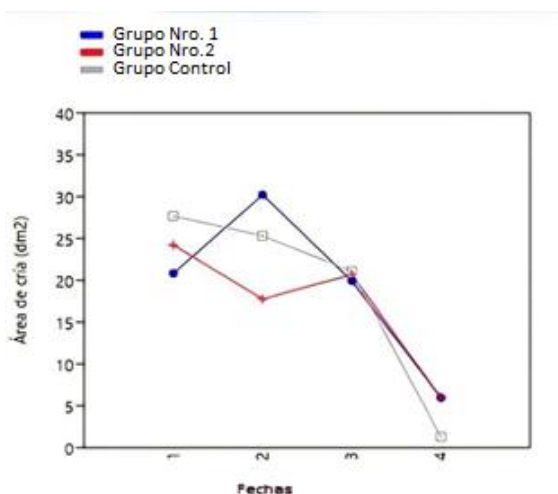
**TABLA 2: Medias de área de cría operculada (dm<sup>2</sup>) y población de abejas adultas, según grupos de tratamientos.**

| Grupos                       | Medias de área de cría operculada (dm <sup>2</sup> ) | Medias de población de abejas adultas |
|------------------------------|--|---------------------------------------|
| 1 (Bandeja interna, 30 días) | 18,2   | 29.573                                |
| 2 (Bandeja externa, 30 días) | 17,7   | 27.304                                |
| 3 (Grupo control)            | 20,5   | 31.485                                |

En cuanto al efecto de las fechas, las tres primeras no presentaron medias significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) en ambas variables. En cambio, la media de la cuarta fecha sí fue significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) tanto para el área de cría operculada como para la población de abejas adultas, según aparece en la Tabla 3. La interacción entre los tratamientos y las fechas arrojó un resultado no significativo ( $p > 0,05$ ).

Luego de realizar la prueba de Tukey para las 4 fechas en asociación con el área de cría (dm<sup>2</sup>), entre la fecha nro. 1,2 y 3, no se evidenciaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). En cambio, la fecha nro. 4 resultó significativamente inferior en comparación con las anteriores ( $p < 0,05$ ), según se muestra en la Figura 14.

Al graficar la media de los grupos de tratamiento para las distintas fechas, tanto para área de cría operculada (dm<sup>2</sup>) como para la población de abejas adultas se obtuvo un comportamiento similar, según se muestra en las dos gráficas (Figuras 14 y 15).



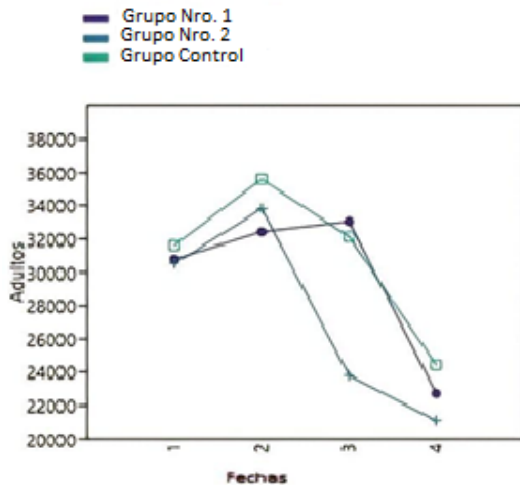
**Figura 14. Medias de área de cría (dm<sup>2</sup>) considerando grupos y fechas de cosecha de apitoxina.**

Realizando la prueba de Tukey para las 4 fechas en asociación con la población de abejas adultas comprobamos que la fecha 4, es significativamente diferente ( $p < 0,05$ ), a las fechas 1, 2 y 3 (Figura 15).

**TABLA 3: Medias de área de cría operculada (dm<sup>2</sup>) y población de abejas adultas, según fecha de cosecha de apitoxina.**

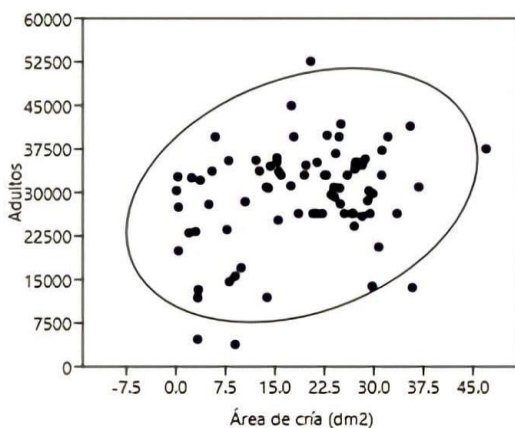
| Fechas                   | Área de cría operculada (dm <sup>2</sup> ) | Población de abejas adultas |
|--------------------------|--|-----------------------------|
| 1 (6 de Febrero de 2021) | 23,8 a <sup>(*)</sup>                      | 30.983 a <sup>(*)</sup>     |
| 2 (5 de Marzo de 2021)   | 22,6 a                                     | 34.051 a                    |
| 3 (5 de Abril de 2021)   | 18,8 a                                     | 29.917 a                    |
| 4 (10 de Mayo de 2021)   | 2,6 b                                      | 22.655 b                    |

(<sup>\*</sup>): Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ( $p < 0,05$ ).



**Figura 15. Medias de población de abejas adultas considerando grupos y fechas de cosecha de apitoxina.**

Luego se estudió la covariación fenotípica entre área de cría operculada ( $\text{dm}^2$ ) y población de abejas adultas, mediante el cálculo del coeficiente de correlación lineal de Pearson. Se obtuvo una correlación levemente positiva ( $r = 0,29$ ) y significativa ( $p < 0,05$ ). La gráfica de dispersión conjunta se representa en la Figura 16.



**Figura 16. Correlación fenotípica lineal entre población de abejas adultas y área de cría operculada ( $\text{dm}^2$ ). ( $r = 0,29$ )**

## 6. DISCUSIÓN

Se realizó una exhaustiva búsqueda bibliográfica buscando artículos que relacionen la cosecha de apitoxina con otros factores estudiados encontrando que hay muy escasa información sobre la afectación de las colonias por la cosecha de veneno. A continuación, se citan los principales trabajos que se encontraron respecto a la temática

La bibliografía consultada acerca de la temática establece que, si se realizan cosechas de veneno cada 3 días, las abejas se mantienen perturbadas, agresivas y reducen su producción de miel hasta un 14 % (Krell, 1996). Otros autores aseguran que si las cosechas de veneno se realizan cada 10 días en verano y con una duración de 3 horas

cada una, resultan en una disminución de entre un 10 y un 15 % en la producción de miel, recomendando bajar las frecuencias de cosecha para evitar esta pérdida de producción (Bogdanov, 2000).

En este ensayo la cosecha de apitoxina se realizó durante los meses de febrero, marzo, abril y mayo (abarcando las estaciones de verano y otoño) con una frecuencia de 30 días. Si bien esta frecuencia fue más distanciada que la de los ensayos mencionados anteriormente, en cuanto a la producción de miel, hubo una disminución de casi un 50 % en comparación al grupo control. No podemos asegurar que esta disminución se deba exclusivamente a la cosecha de apitoxina, ya que no tenemos los datos individualizados para realizar la estadística que respalde estas observaciones. También es importante destacar que durante el periodo de estudio hubo colmenas que enjambraron, este comportamiento se observó en todos los grupos por igual, incluidos el grupo control. Este factor puede explicar en parte la disminución en la producción de miel.

En un ensayo realizado en Egipto se evaluó el porcentaje de disminución del área de cría operculada luego de la cosecha de apitoxina en las diferentes estaciones del año, determinando que la mayor disminución de la misma (16,9 %) se registra durante los meses de verano. En la temporada de primavera se disminuye un 15,8%, mientras que en la temporada de otoño este ensayo registra una caída del 13,8 %, siendo esta la estación más favorable (Sanad, Reda, Mohanny y Karem, 2013). Otro estudio concluye que la cosecha de veneno en las abejas melíferas no tiene ningún efecto en el área de la cría operculada. En este caso, los autores utilizan el marco Hoffman (medida subjetiva) midiendo las crías en pulgadas cuadradas a un intervalo de 12 días, por un periodo de dos años (Omar, 2017). Comparando estos resultados con los obtenidos en el presente ensayo, se puede decir que este estudio presentó resultados acordes a Omar (2017) aun cuando se haya evaluado la variable con un método diferente. Es de destacar que el método utilizado para determinar el área de cría (programa Comb Count) permitió detectar de forma automática y precisa las celdas sin opercular. Esto permite sugerir que la disminución del área de cría operculada en el otoño se debió a un proceso fisiológico de las colonias de abejas y no a un efecto de la extracción de veneno de las mismas.

En cuanto la cantidad de abejas adultas, no se encontró trabajos o artículos que relacionen directamente la cosecha de apitoxina con esta variable, para nuestro estudio fue importante conocerla, ya que existe la posibilidad de que cierta cantidad de abejas mueran durante la cosecha o posterior a ella y como consecuencia disminuya la población. Según los resultados obtenidos no se evidenciaron diferencias significativas en la población adulta, por lo que podemos concluir en una primera instancia que no existió gran mortandad de abejas durante o posterior a la cosecha de veneno.

## **7. CONCLUSIONES**

Según los resultados obtenidos en nuestro ensayo podemos concluir que la cosecha de apitoxina con una frecuencia de 30 días, utilizando tanto el método interno como externo, no afectó la postura de la reina, por lo que no se vieron afectadas las variables área de cría operculada ni población de abejas adultas, en relación al grupo control.

La cuarta fecha de extracción de apitoxina (temporada de otoño) coincidió con un proceso fisiológico en donde la reina se prepara para la invernada, disminuyendo la postura de huevos. Esta disminución de la postura repercutió en el área de cría y en la población de abejas adultas.

## **IMPACTOS Y PERSPECTIVAS**

La producción de apitoxina está presente en Uruguay desde hace décadas y en ese período más de una centena de apicultores intentaron integrarla a su producción, en la mayoría de los casos sin éxito. La bibliografía internacional presenta escasa información respecto a la producción de veneno en aspectos como el protocolo de extracción y el impacto en el desarrollo de la colonia y en la producción de miel.

El escenario para los potenciales productores previo al inicio de nuestra tesis era el de no contar con la información crítica para definir si resultaba viable o no incorporar un rubro que logra buenos precios en los mercados, debido a su demanda para el desarrollo de productos terapéuticos y de cosméticos. Un grupo de productores interesados en explorar la producción de apitoxina le solicitó a la Facultad de Veterinaria-Udelar su apoyo para poder generar una base de conocimiento.

Los apicultores que se dedican actualmente a la producción de apitoxina utilizan diferentes equipos, trampas y protocolos. Consideran que un objetivo productivo es el llegar a 0,10 g de veneno por colmena en cada extracción, pero en general reconocen que la producción está entre 0,04 y 0,08 g por colmena.

Durante el desarrollo de esta tesis, surgió la idea de un nuevo tipo de trampa que permitiera aumentar la producción de veneno por colmena y monitorear el comportamiento de las abejas. Esto difiere de las trampas internas utilizadas en nuestro ensayo, que no permiten ver lo que sucede en el interior de la colmena y las trampas externas que únicamente pueden ser utilizadas cuando hay gran flujo de pecoreo de abejas. Como respuesta, el equipo de Apicultura de la Facultad de Veterinaria-Udelar, innovó en la creación de un diseño de trampa de techo, que en las pruebas realizadas ha resuelto gran parte de los inconvenientes de las trampas interna y externa.

Actualmente, los nuevos productores, así como los tradicionales, han comenzado a optar por este tipo de trampa. Sin embargo, este proceso recién comienza por lo que se sugiere continuar con las investigaciones. Planteamos la necesidad de definir protocolos (tiempo de mantenimiento de las trampas en cada colmena, frecuencia de extracción, horario adecuado para realizar la cosecha).

Otros puntos a considerar son el evaluar la calidad y la composición de la apitoxina colectada, estudiar la posibilidad de extender la temporada de extracción de veneno mediante suplementación proteica de las colmenas, así como analizar aspectos relacionados al raspado y almacenamiento de la apitoxina, para que conserve sus propiedades hasta la comercialización.

Consideramos que el desarrollo de nuestra tesis tiene un impacto significativo para la producción futura de la apitoxina en el Uruguay.





## 8. BIBLIOGRAFIA

- Aliyazicioglu, R. (2019). Therapeutic Effects of Bee Venom. *Chemical Science International Journal*, 26, 1-5. doi: 10.9734/CSJI/2019/v26i130078
- An H., Kim J., Kim W., Gwon M., Gu H., Jeon M., ... Park, K. (2018). Therapeutic effects of bee venom and its major component, melittin, on atopic dermatitis in vivo and in vitro. *British Journal of Pharmacology*, 175, 4310 - 4324. doi: 10.1111/bph.14487.
- Antúnez, K., Invernizzi, C., Mendoza, Y., van Engelsdorp, D., y Zunino P. (2017). Honeybee colony losses in Uruguay during 2013–2014. *Apidologie*, 48, 364 - 370. doi: 10.1007 / s13592-016-0482-2
- Araneda, X., Leichtle, Y., y Morales, D. (2011). Evaluación de dos frecuencias de colecta de apitoxina extraída de colmenas de *Apis mellifera* L. durante la época estival en la Región de La Araucanía. *IDESIA*, 29 (2), 145-150. doi: [10.4067/S0718-34292011000200019](https://doi.org/10.4067/S0718-34292011000200019)
- Batista de Almeida, F., Holanda da Cunha, M., da Nobrega Melo Queiroga, E., Agra da Silva, R., y Borges Maracajá, P. (2017). A utilização da apitoxina na apiterapia e seus efeitos no tratamento de patologias. *Acta Apícola Brasileira*, 5(1), 16-20
- Beckh, G., y Bogdanov, S. (2014). Bee products. En Wolfgang Ritter (Ed.) *Bee health and veterinarians* (pp.67-73). Paris: OIE.
- Bogdanov, S. (2000). *Apicultura apiterapia veneno- jalea real*. Recuperado de <https://www.apicultura.com.ar/#documentos>
- Bridges, A., y Owen, M. (1984). The Morphology of the Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Venom Gland and Reservoir. *Journal of Morphology*, 181, 69-86.
- Campos García, M., Leyva Morales, C., Ferráez Puc, M., y Sánchez Bolívar, Y. (2018). The international market for honey and the competitiveness of México. *Revista de economía*, 35(90), 88-123.
- Carrau, A., y Bianchi, S. (2021). *Sector apícola: situación y perspectivas*. Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/publicaciones/anuario-opypa-2021/analisis-sectorial-cadenas-productivas/sector-apicola>
- Chaplin-Kramer, R., Sharp, R. P., Weil, C., Bennett, E. M., Pascual, U., Arkema, K. K., ... Daily, G. C. (2019). Global modeling of nature contributions to people. *Science*, 366, 255-258.
- Chen C., Fang Y., Fontana P., Lloyd D.J., Martinez L., Mukomana D., ... Schouten C.N. (2021). Beekeeping models. En FAO, IZSLT, Apimondia y CAAS, *Good beekeeping practices for sustainable apiculture* (pp. 19-27). Roma: FAO.

- Chen, J., Guan, S., y Sun, W. (2016). Melittin, the Major Pain-Producing Substance of Bee Venom. *Neuroscience Bulletin*, 32, 265–272. doi: [10.1007/s12264-016-0024-y](https://doi.org/10.1007/s12264-016-0024-y)
- Colin, T., Bruce, J., Meikle, W. G., y Barron, A. B. (2018). The development of honey bee colonies assessed using a new semi-automated brood counting method: CombCount. *PLoS One*, 13(10), e0205816.
- Cordara, J. (2005). *La Historia de la Apicultura en el Uruguay*. Recuperado de <https://docplayer.es/158662391-La-historiade-la-apicultura-en-el-uruguay-juan-jose-cordara.html>
- Crane, E. (1990). *Bees and Beekeeping. Science. Practice and World Resources*. New York: Comstock Pub. Associates.
- Crane, E. (1999). The World History of Beekeeping and Honey Hunting. P. 682. New York: Rutledge.
- cycle. En: Omkar (Ed.) *Industrial Entomology*. Singapore, Springer, pp 5- 34.
- Dantas, C., Nunes, T., Nunes, T., Gomes, M., y Gramacho, K. (2013). Apitoxina: coleta, composição química, propriedades biológicas e atividades terapêuticas. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, 4, 127-150. doi: 10.6008/ESS2179-6858.2013.002.0009
- Delaplane, K., Van Der Steen, J., y Guzman-Novoa, E. (2013). Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 52, 1-12.
- Dong, S., Woong, J., Hee, Y., Sueb, H., Kil, Ch., y Tae, J. (2007). Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. *Pharmacology & Therapeutics*, 115, 246–270 doi: [10.1016/j.pharmthera.2007.04.004](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.04.004)
- Dotimas, E., y Hider, R. (1987). Honeybee Venom. *Bee World*, 68(2), 51-70. doi: [10.1007/s12016-017-8597-4](https://doi.org/10.1007/s12016-017-8597-4)
- Elieh Ali Komi, D., Shafaghat, F., y Zwiener, R. (2018). Immunology of Bee Venom. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 54, 386-396. doi: [10.1007/s12016-017-8597-4](https://doi.org/10.1007/s12016-017-8597-4)
- Ellis, J. D., Atkinson, E. B., y Graham, J. R. (2014). Honey bee biology. En Wolfgang Ritter (Ed.), *Bee health and veterinarians* (pp. 19-23). Paris: OIE.
- FAO (2021). *Good beekeeping practices for sustainable apiculture*. (1ª ed.). Roma: FAO.
- Ferrari, M. (2016). *Análisis tecnológicos y prospectivos sectoriales. El complejo productivo apícola*. Buenos Aires: Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación Productiva. Presidencia de la Nación. Recuperado de [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/9.apicola.\\_maria\\_soledad\\_ferrari.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/9.apicola._maria_soledad_ferrari.pdf)
- Flanjak, I., Kovačić, M., Primorac, L., Soldić, A., Puškadija, Z., y Rajs, B. B. (2021). Comparison between the quantity and quality of honey bee venom collected in the front and inside of the hive. *Journal of Apicultural Research*, 1-6. doi: 10.1080/00218839.2021.1994262
- Graaf, D. C. de, Brochetto Braga, M. R., de Abreu, R. M. M., Blank, S., Bridts, C. H., De Clerck, L. S., ... Van Vaerenbergh, M. (2020). Standard methods for *Apis mellifera* venom research. *Journal of Apicultural Research*, 60, 1-31.
- Haghi, G., Hatami, A., y Mehran, M. (2013). Qualitative and quantitative evaluation of melittin in honeybee venom and drug products containing honeybee venom, *Journal of Apicultural Science*, 57, 37-44. doi: <https://doi.org/10.2478/jas-2013-0015>

- Hammer, Ø., Harper, D. A.T. y Ryan, P. D. (2001). Past: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4, 1-9.
- Ionete, R., Dinca, O., Tamaian, R., y Geana, E. (2013). Exploring *Apis mellifera* venom compounds using highly efficient methods. *Progress of Cryogenics and Isotopes Separation*, 16, 89-100.
- Jean-Prost, P., y Le Conte, I. (2010). *Apicultura conocimiento de la abeja. Manejo de la Colmena* (4ª ed.). Barcelona: Mundi-Prensa.
- Juri, P., Nogueira, E., Pedrana, G., y Invernizzi, C. (2018). Evaluación de colonias de abejas melíferas mediante análisis de imágenes. En *XIII Congreso Latinoamericano de Apicultura FILAPI* (p. 318). Montevideo.
- Krell, R. (1996). *Value-added products from beekeeping*. Roma: FAO.
- Lee, G., y Bae, H. (2016). Bee Venom Phospholipase A2: Yesterday's Enemy Becomes Today's Friend. *Toxins*, 8, 48. [doi:10.3390/toxins8020048](https://doi.org/10.3390/toxins8020048)
- Leite, G. L. D., y Rocha, S. L. (2005). Apitoxina. *Unimontes Científica*, 7(1), 115-125.
- Li, R., Zhang, L., Fang, Y., Han, B., Lu, X., Zhou, T., ... Li, J. (2013). Proteome and phosphoproteome analysis of honeybee (*Apis mellifera*) venom collected from electrical stimulation and manual extraction of the venom gland. *BMC Genomics*, 14, 766. [doi: 10.1186/1471-2164-14-766](https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-766)
- Milton, J.S., y Tsokos, J.O. (1987). *Estadística para Biología y Ciencias de la Salud*. Interamericana, McGraw- Hill. Madrid. 527 p.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2010). *Anuario Estadístico Agropecuario 2010*. Recuperado de <http://www.mgap.gub.uy/Dieaanterior/Anuario2010/DIEA-Anuario-2010w.pdf>
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2020). *Caracterización y Diagnóstico de la Cadena Apícola del Uruguay*. Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/publicaciones/Caracterizaci%C3%B3n%20y%20diagn%C3%B3stico%20de%20las%20cadena%20de%20carne%20ap%C3%ADcola%20en%20Uruguay.pdf>
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2021). *Descripción: Informe de Datos del RNPC (Declaraciones juradas)*. Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/2022-03/Informe%20de%20Datos%20del%20RNPC%202021%20%282%29.pdf>
- Moga, M. A., Dimienescu, O. G., Arvătescu, C. A., Ifteni, P., y Pleș, L. (2018). Anticancer Activity of Toxins from Bee and Snake Venom, An Overview on Ovarian Cancer. *Molecules*, 23(3), 692.
- Morse, R., y Benton, A. (1964). Notes on Venom Collection from Honeybees. *Bee World*, 45(4), 141-143 [doi: 10.1080/0005772X.1964.11097072](https://doi.org/10.1080/0005772X.1964.11097072)
- Omar, R. (2017). Effect of bee venom collection on the measurement of brood rearing activity of honey bee colony *Apis mellifera* L. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 6, 409-414.
- Park, J., Yim, B., Lee, J., Lee, S., y Kim, T. (2015) Risk Associated with Bee Venom Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE*, 10(5), e0126971. [doi: 10.1371/journal.pone.0126971](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126971).
- Reda, S., y Karem, M. (2013). The Efficacy of a New Modified Apparatus for Collecting Bee Venom in Relation to Some Biological Aspects of Honeybee Colonies. *Journal of American Science*, 9(10), 177-182.

- Roubik, D., y Vergara, C. (2021). Geographic distribution of bees: a history and an update. En FAO, IZSLT, Apimondia y CAAS, *Good beekeeping practices for sustainable apiculture* (pp. 11,12). Roma: FAO.
- Saavedra, K. I., Rojas, C., y Delgado, G. E. (2013). Características polínicas y composición química del polen apícola colectado en Cayaltí (Lambayeque – Perú). *Chile Nutrición*, 40(1), 71-78.
- Salmon, M. (2014). *El propóleo, otro recurso terapéutico en la práctica clínica*. Recuperado de <https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/5580/NoriegaSalmonV.pdf>
- Sanad, R. E., y Mohanny, K. M. (2013). The Efficacy of a New Modified Apparatus for collecting Bee Venom in Relation to some Biological Aspects of Honey bee colonies. *Journal of American Science*, 9(10), 177-182.
- Serrinha, V., Correia, S. D., y Marques, G. (2019). Productivity and Economic Analysis of a New Intensive Collector in the Portuguese Market with implication of Open innovation Perspective. *Journal of Open Innovation: Technology, Market, and Complexity*, 5(71), 1-8.
- Silva, J., Monge-Fuentes, V., Gomes, F., Lopes, K., Anjos, L.D., Campos, G., ...Mortari, M. (2015). Pharmacological Alternatives for the Treatment of Neurodegenerative Disorders: Wasp and Bee Venoms and Their Components as New Neuroactive Tools. *Toxins*, 7, 3179-3209. doi: [10.3390/toxins7083179](https://doi.org/10.3390/toxins7083179)
- Uruguay XXI. (2014). *Trazabilidad obligatoria y una larga trayectoria exportadora, son ventajas competitivas que le dan prestigio al sector apícola uruguayo*. Recuperado de <https://www.uruguayxxi.gub.uy/uploads/informacion/137067bb250599b83a26bdbfc05b28956d910114.pdf>
- Vit, P. (2005). Productos de la colmena secretados por las abejas: Cera de abejas, jalea real y veneno de abejas. Revista *Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 36(1). Recuperado de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-04772005000100006](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772005000100006)
- Wehling, W. F., y Stewart, C. D. (2014). Import and export of bees and bee products. En Wolfgang Ritter (Ed.), *Bee health and veterinarians* (pp. 75, 76). Paris: OIE.
- Wilde, J. (2014). History and domestication. En Wolfgang Ritter (Ed.), *Bee health and veterinarians* (pp. 29-31). Paris: OIE.
- Yadav S, Kumar Y, Lal Jat B (2017) Honeybee: diversity, castes and life
- Zhang S., Liu Y., Ye Y., Wang X.-R., Lin L.-T., Xiao L.-Y., ... Liu C.-Z. (2018). Bee venom therapy: Potential mechanisms and therapeutic applications. *Toxicon*, 148, 64-73. doi: [10.1016/j.toxicon.2018.04.012](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.04.012)
- Zhou, B., Zang, S., Su, C., y Zhou, G. (2003). Effects on honeybee population, production of royal jelly and honey bet al.lecting venom using electric shocking. *Scientia Agricultura Sinica*, 36(2), 218-222.