

SANIDAD DE LAS ABEJAS

Las enfermedades de las abejas no dependen exclusivamente del agente patógeno que las cause, sino de una serie de factores externos e internos que se harán evidentes dentro de la colmena.

En un apiario de producción, la sanidad del colmenar no solo consiste en aplicar productos sanitarios, el tratamiento deberá ser entendido como una herramienta a utilizar cuando sea necesario. En un apiario de evaluación la aplicación de tratamientos sanitarios solo se realizará cuando se considere necesario.

De esta manera, los monitoreos de las diferentes enfermedades se convierten en indispensables a la hora de tomar una decisión sobre el manejo sanitario (por ejemplo, necesidad de aplicación de un producto) o para detectar diferencias entre colmenas cuando la tolerancia a enfermedades es considerada como criterio de selección.

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Tanto para varroosis como para nosemosis, se muestrea el **10% de las colmenas** del apiario o un **mínimo de 6 colmenas**, cuando el 10 % de dicho apiario es un **número menor a 6**. Las colmenas, cuando se realiza el primer monitoreo, deben ser elegidas al azar, evitando muestrear las que están ubicadas en los extremos de las filas. Los muestreos subsiguientes se realizarán sobre las colmenas seleccionadas, por



lo que éstas deberán ser identificadas para poder realizar el seguimiento correspondiente. **Cada muestra corresponde a una colmena en particular. No deben mezclarse abejas de distintas colonias, en una misma muestra.**

VARROOSIS

La evolución de las poblaciones de ácaros puede ser estimada mediante distintas técnicas de monitoreo. Estas técnicas representan una herramienta de importancia para determinar el grado de avance de la parasitosis, determinar la necesidad de un tratamiento, establecer el tipo de tratamiento a realizar y verificar la eficacia del mismo, una vez realizado.

Infestación en abejas adultas (*Varroa forética*)

Para el muestreo se requiere un recipiente con **200ml de agua** y unas **gotas de detergente y/o alcohol**. El uso de detergente facilita el desprendimiento de las Varroas del cuerpo de la abeja y el alcohol cumple la función de conservar en mejores condiciones las muestras hasta su lectura.

Las muestras se toman de dentro de las colmenas, de 3 cuadros de cría cubierto por abejas jóvenes (debe observarse al tomar las muestras que no se encuentre la reina).

Procedimiento para la toma de muestras:

Se seleccionan los cuadros de cría a ser muestreados y se observa cuidadosamente si la reina se encuentra presente en alguno de ellos. Si es detectada se la separa y coloca en uno de los cuadros que quedaron en los extremos internos de la colmena.

Con una mano, se sostiene uno de los cuadros con abejas en forma vertical y con la otra, se desliza el frasco con agua y detergente o alcohol, con la boca hacia arriba, de arriba hacia abajo, rozando levemente el dorso de las abejas. Este movimiento provocará la caída de abejas al interior del frasco. Esta actividad se lleva a cabo sobre las dos caras de cada uno de los 3 cuadros hasta alcanzar una muestra de entre 200 y 250 abejas.



Procedimiento para el análisis de muestras:

Los frascos son transportados al laboratorio y se agitan fuertemente para lograr el desprendimiento de las Varroas que se encuentran en foresia.

Se vierte el contenido sobre un tamiz que retenga a las abejas y deje pasar a los ácaros. Debajo se coloca un recipiente para contener la solución filtrada con los ácaros desprendidos. Las abejas se enjuagan varias veces para asegurar la recolección total de los ácaros.



Separados los ácaros de las abejas, se contabilizan ambos y la cantidad de ácaros dividida por el número de abejas y multiplicado por cien, permite obtener el porcentaje de infestación.

Para obtener, entonces, el porcentaje de **Varroa forética (%VF)** se utiliza la siguiente fórmula:

$$\% VF = (\text{Nº de ácaros desprendidos} / \text{Nº de abejas de la muestra}) \times 100$$

Infestación en cría

La hembra adulta del parásito abandona la abeja adulta e invade las celdas a punto de ser operculadas (tanto de zángano como de obrera).

Para determinar el porcentaje de infestación en cría, es necesario desopercular en forma diagonal, **120 celdas** en total de ambas caras de al menos **2 cuadros** de cría retirados del centro del nido (**30 celdas por cara**). Se desopercula la celda con una pinza de disección y al extraer la cría se observa la presencia de Varroas adheridas. Los ácaros pueden encontrarse sobre la cría y en el interior de las celdas (fondo y paredes).

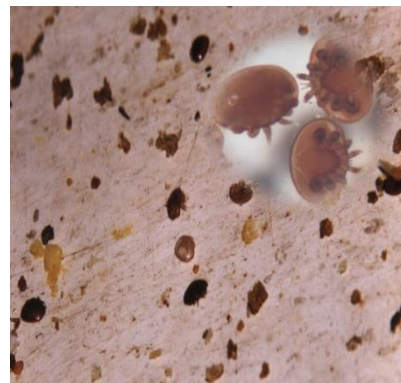


Este patrón de desoperculado (en diagonal) nos permite realizar un muestreo representativo del área de cría disminuyendo el efecto de la distribución agregada del ácaro. Se contabiliza el número de celdas parasitadas por Varroa y se expresa en porcentaje, mediante la siguiente fórmula:

$$\% VC = (n^{\circ} \text{ celdas parasitadas} / n^{\circ} \text{ celdas desoperculadas}) * 100$$

Cuantificación de ácaros adultos caídos naturalmente (Caída natural)

El número de ácaros recolectados en el piso de las colmenas es una medida indirecta de la población total de ácaros. Para una adecuada evaluación de esta variable, se utilizan pisos técnicos que constan de una malla metálica que evita que las abejas puedan atravesarla, pero permite el paso de los ácaros que caen sobre una bandeja extraíble. De esta manera, se facilita la recolección de los ácaros y su posterior conteo, evitando al mismo tiempo que éstos sean removidos por las abejas.



Los pisos se monitorean transcurridos 24 a 48 hs., contando el número de ácaros marrón rojizos (estados maduros) presentes y diferenciando vivos de muertos. En caso de no contar con los pisos, puede utilizarse una lámina de papel con vaselina sobre el piso de la colmena. Se debe tener en cuenta que las abejas roen el papel por lo que el tiempo desde la colocación a la lectura no debe ser prolongado (48 horas luego de colocarlo).

Al sacarla los ácaros permanecen pegados al papel y se pueden contabilizar.

En la muestra pueden encontrarse trozos de cera, polen y suciedad que hacen dificultosa la lectura.

En este caso, es necesario aplicar una fórmula para calcular la tasa de infestación de la colonia, en la que la caída natural diaria o semanal debe ser multiplicada por factores de corrección que se correspondan con la zona en la que encuentran las colmenas.

NOSEMOSIS

En este caso, las muestras van a estar conformadas por abejas pecoreadoras. Por ello, la toma de la muestra se debe realizar en horario de máxima actividad de pecoreo. Para el muestreo, se requiere un recipiente de boca ancha, que contiene **200ml de alcohol puro**.

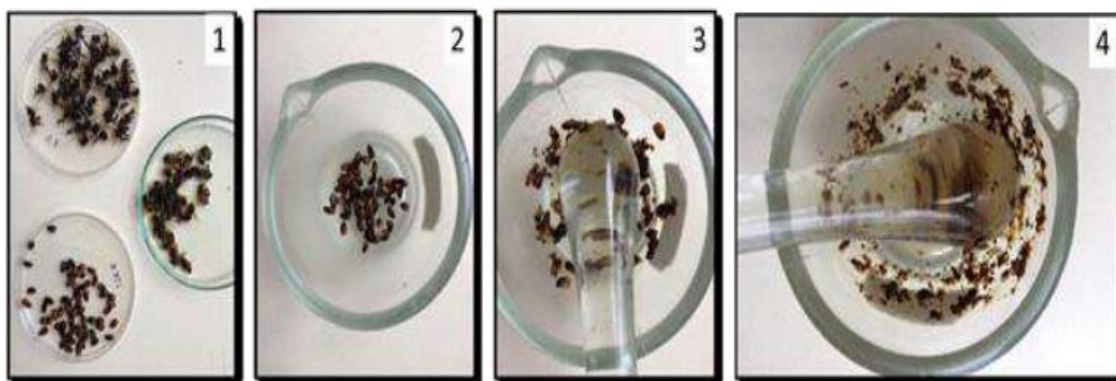
Procedimiento:

- Obstruir la piquera y cualquier otro acceso a la colmena con gomaespuma.
- Aguardar la acumulación de abejas retornantes en la entrada.
- Colecte un mínimo de 60 abejas por colmena. Utilice un cepillo de apicultura e introduzca las abejas dentro de un frasco de boca ancha previamente rotulado y que contenga el conservante.
- La muestra debe estar totalmente cubierta por el líquido. La muestra será procesada dentro de los 7 días de recolectada.

Procesado de la muestra

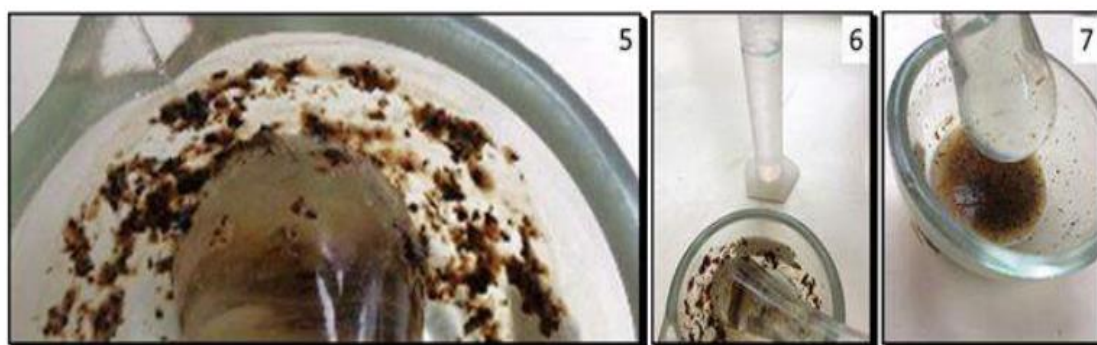
Macerado

1. Lavar la muestra para eliminar restos del conservante. Escurrir la muestra con colador para eliminar el conservante (alcohol).
2. Separar los abdómenes de 60 abejas. Procurar no comprimir el abdomen para evitar la pérdida de material intestinal y alterar el resultado del conteo.
- 3 y 4. Triturar los abdómenes con mortero.



5 y 6. Agregar a la muestra un total de 60 ml de agua destilada.

7. Dejar decantar los restos de tejidos groseros unos segundos.



Conteo

Se utiliza la cámara de Neubauer o hemocitómetro. Consta de dos hemicámaras divididas en 25 cuadrantes grandes formados por líneas dobles (Diagrama C), éstos se encuentran divididos por líneas simples en 16 cuadrículas más pequeñas (Diagrama C).

Preparación para el conteo

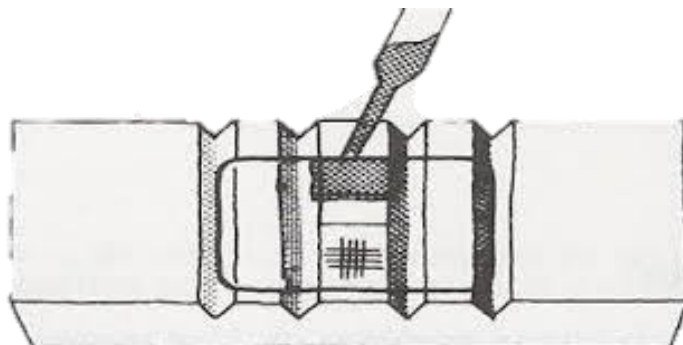
1. Mojar las bandas laterales de la cámara y colocar el cubreobjeto limpio y seco (Diagrama A).



2. Tomar una alícuota (aprox. 10 μ l) con pipeta pasteur, gotero o ansa. (Diagrama D)

3. Tomar una alícuota de la parte superior de la muestra y colocar en cámara de Neubauer.

4. Depositar en la muesca de una de las hemicámaras una alícuota suficiente como para cargarla. (Diagrama D). Corroborar el



llenado de la misma, evitando que desborde. En caso de sobrecarga, desborde o formación de burbujas, descartar y repetir la operación.

5. Repetir el procedimiento llenando la otra hemicámara.

6. Dejar reposar aproximadamente de 1 a 3 minutos, ya que los esporos deben sedimentar. El tiempo de espera para la lectura puede variar según la temperatura ambiente, se debe evitar que se retraiga la muestra. Si esto sucede, descartar y repetir todo.

7. Proceder al conteo de los esporos.

Conteo

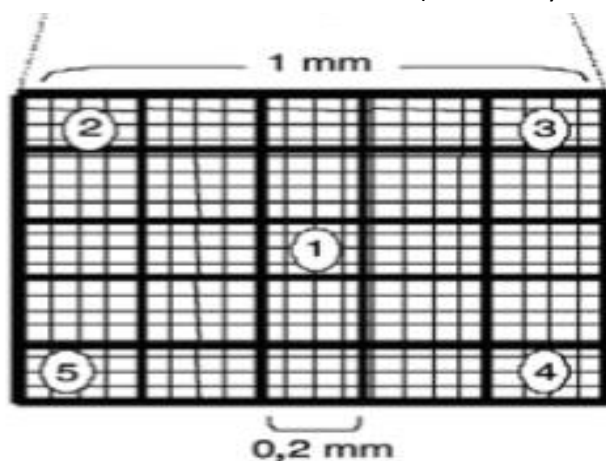
1. Colocar la cámara bajo el microscopio.

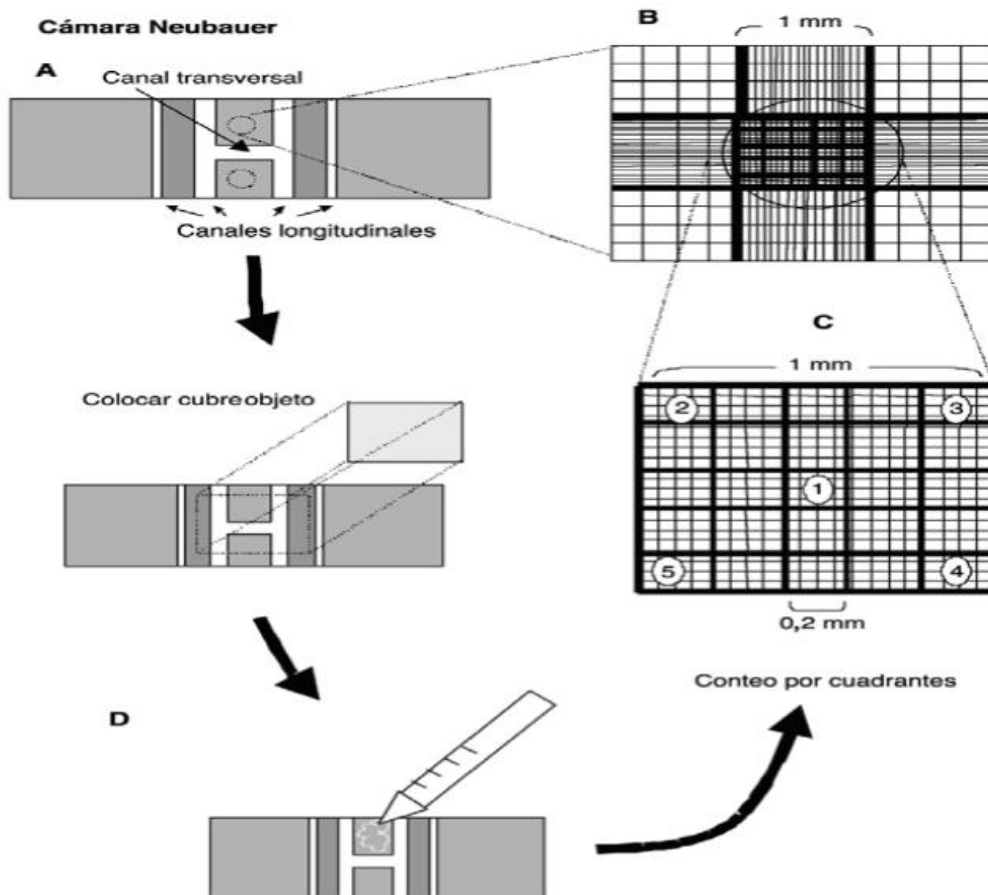
2. En primer lugar: visualizar a menor aumento la distribución homogénea de los esporos en todos los cuadros (caso contrario, descartar y llenar nuevamente la cámara).

3. Luego: Pasar a mayor aumento (40x ó 45x)

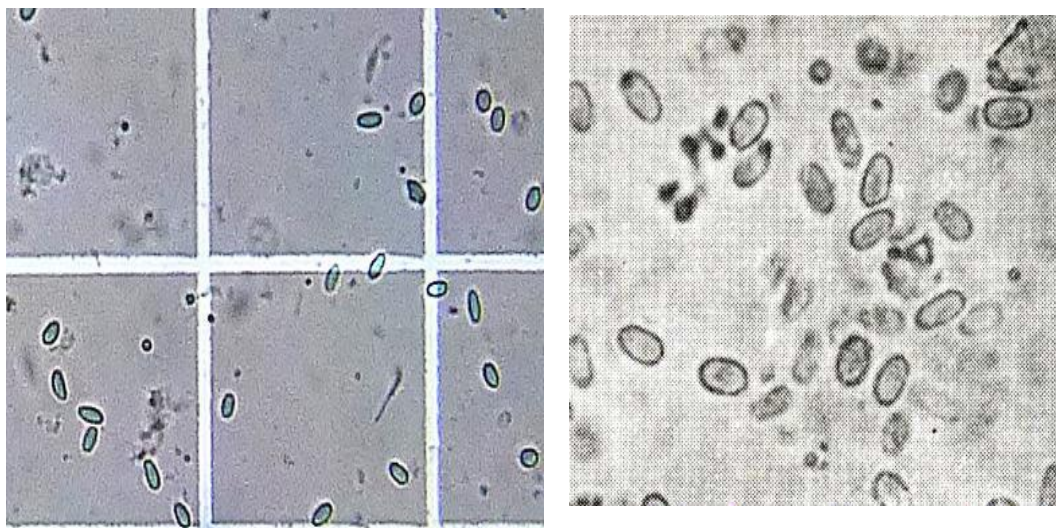
4. Realizar el conteo.

5. El recuento se realiza sobre cinco cuadros de los 25 de la cuadrícula (extremos y central) de ambos retículos. Se cuentan el total de esporos de los cinco observados y posteriormente se la multiplica por 5 (para llegar a los 25), se realiza un promedio de ambos retículos y este se multiplica por 10.000 para llegar al número de esporos por abeja.





Los esporos de *Nosema apis* son ovalados, con pared refringente que al mover el micro de microscopio no se deforman.



Importante:

- El conteo se debe realizar antes que se produzca la deshidratación de la muestra (se retrae el líquido de la cámara). Si se produjo la retracción, descartar y repetir la carga.
- A fin de evitar la subestimación o sobreestimación, no se deben incluir en el conteo los esporos que estén sobre las dobles líneas superior y derecha y sí se contarán los que se hallen sobre las líneas inferior e izquierda.
- Cuando en el segundo cuadrante se visualizan **MENOS de 16 esporas**, se realiza el conteo de los 25 cuadrantes.

Y se calcula: **Esporos contados x 10.000 = esporos/ml**

- El factor 10.000 surge del volumen de homogenato en el cual se hace el conteo de los esporos. El volumen es de 0.1µl por lo que para llevarlo a ml hay que multiplicarlo por 10.000
- Cuando en el segundo cuadrante la cantidad de esporos es elevada, o sea, **MAYOR a 16 esporos**, solo se realizará el conteo de los cuadrantes de los extremos y el central (numerados del 1 al 5)

Y se calcula: **Esporos contados x 5 x 10.000 = esporos/ml**

- Cuando se presentan más de 100 esporos por cuadro grande, y la elevada cantidad de esporos dificulta el conteo, se puede diluir la suspensión y contar la muestra diluida.
Para ello se hace una dilución 1:10 (1 ml del triturado + 9 ml. de agua).
Luego de la lectura, el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución (en este caso, 10) y así se llega a un resultado aproximado contando una cantidad significativamente menor de esporos.

Resultados

-El conteo se realiza en ambas cámaras y luego se calcula la media:

$$\text{Abundancia (esporos/ml)} = (\text{N}^\circ \text{ espora hemicámara 1} + \text{N}^\circ \text{ esporos hemicámara 2})/2$$

-Limpiar la cámara con agua destilada o agua corriente, luego sumergir en alcohol y secar con papel absorbente seco.

Interpretación de resultados

El resultado se expresa en número promedio de esporos por abeja.

Intensidad de la infección	No. de esporas (millones)/abeja
Nula	Menos de 0.01
Leve	0.01 - 0.5
Moderada	0.5 - 1.0
Grave	1.0 o más

CRÍA YESIFICADA (CY)

En el campo, esta micosis es de muy fácil diagnóstico. Las colmenas afectadas presentan momias en distintos lugares de la colmena (piso y cuadros), como así también en las proximidades de la piquera. En laboratorio se realiza un análisis microscópico del hongo para determinar la especie involucrada en la aparición de la enfermedad.



LOQUE AMERICANA (LA)

Loque americana es una enfermedad bacteriana producida por un bacilo denominado *Paenibacillus larvae* White, este microorganismo posee forma de bastón de unas 2,5 a 5 micras de largo por 0,4 - 0,8 micras, móvil con flagelos. Una característica fundamental de *P. larvae* es

la formación de endosporas, las cuales son extremadamente resistentes al calor (30 minutos a 100 y 15' a 120), desinfectantes químicos, cloro, radiación UV (20 minutos), iodados y agua caliente con cualquier aditivo.

Las esporas de *P. larvae* pueden permanecer infectivas por más de 40 años, aunque ven disminuida su viabilidad luego de este periodo. Presentan la particularidad física fundamental de poseer movimiento browniano, por lo tanto, cuando se observan al microscopio óptico se muevan constantemente permitiendo así una mejor identificación

Una escama posee aproximadamente 2,5 billones de esporas.

- Larvas de menos de 24 horas solo necesitan 6 esporas para infectarse, mientras que una larva de 3 días necesita ingerir millones de esporas para ser infectada; pasado este período difícilmente se infecten.
- Las larvas de REINAS son más susceptibles a la enfermedad que las larvas de OBRERAS y estas que las larvas de ZANGANOS.

Diagnóstico

Cuando la enfermedad se presenta los opérculos de los panales de cría se tornan húmedos y más oscuros, para luego hundirse. Es en ese momento que las abejas comienzan a retirar los restos larvales. Luego de muertas, las crías adquieren un color castaño y despiden un olor desagradable. Las larvas muertas por L.A. adquieren una consistencia semifluida, que se asemeja a la goma de mascar, es por esto que cuando se introduce un palillo dentro del opérculo este arrastra un residuo castaño en forma de hebra viscosa, que se estira hasta 4 cm.



Actualmente, se están presentado casos, que si bien presentan una sintomatología clínica dudosa (Loque atípica), mediante técnicas de laboratorio se confirma la presencia de *P. larvae*.

En un cuadro de cría afectado, se observarán los siguientes síntomas:

- Cría en mosaico (dispersión de cría operculada entre celdillas vacías).
- Los opérculos suelen encontrarse hundidos y de coloración oscura, grasosos y con pequeñas perforaciones.
- Presencia de restos de larvas en descomposición (color marrón), de aspecto "gomoso", que al introducir un palillo y retirarlo se estira como "chicle".
- Escamas fuertemente adheridas longitudinalmente a la pared de las celdas, (producto de las larvas muertas), de color marrón muy oscuro, casi negro. Difíciles de retirar.
- La percepción de olor agrio al abrir las colmenas. Esto no siempre va a ser detectable especialmente cuando el grado de afectación es bajo.
- La confirmación del diagnóstico a campo se realiza llevando el cuadro en el que se observan escamas (frizado) a un laboratorio donde se realiza un cultivo o frotis.

Diagnóstico

Loque
Americana

Cría
Salteada



Opérculos
Anormales



"Chicle"



"Escamas"



PEQUEÑO ESCARABAJO DE LA COLMENA (PEC)

Levante y revise el techo o tapa de la colmena. Retire la media alza y colóquela sobre el techo de la colmena. Se revisará más tarde.



Revise cuidadosamente la cámara de cría comenzando por los cuadros ubicados en los extremos. Se recomienda observar un cuadro con cría o polen para ver si hay larvas o adultos del PEC



Inspeccione la media alza que se había dejado sobre el techo (sacúdala firmemente sobre el techo). Estar atentos a cambios en los panales.



Trampas de aceite para uso dentro de la colmena



Bibliografía

- Bedascarrasbure, E.; Bailez, O.; Palacio, M.A.; Ruffinengo, S.; Cuenca Estrada, G. 1984- 2000. Guía de Apicultura. Facultad de Ciencias Agrarias. UNMdP. 293 pp.
- Dade, H.A. 1985. Anatomy and dissection of the honeybee. International Bee Research Association. London. 158 pp.
- Dietemann, V.; Nazzi, F.; Martin, S.; Anderson, D.; Locke, B.; Delaplane, K.; Wauquiez, Q.; Tannahill, C.; Frey, E.; Ziegelmann, B.; Rosenkranz, P.; Ellis, J. 2013. Standard methods for Varroa research. Journal of Apicultural Research 52 (1). DOI 10.3896/IBRA.1.52.1.09.
- Goblirsch, M. 2017. *Nosema ceranae* disease of the honey bee (*Apis mellifera*). Apidologie 49: 131-150.
- Hansen, H.; Brodsgaard, C. 1999. American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. Bee World 80 (1): 5-23.
- Ruffinengo, S.; Maggi, M.; Medici, S.; Eguaras, M. 2018. Lucha contra Varroa: acciones para su control. Ed. Martín, Mar del Plata. 124 pp.

Autores :
Dr. Sergio Ruffinengo
Dra. María Alejandra Palacio
Ing Agrº. Cristina García
Lic Alim. María Soledad Varela
Tec. Analía Noelia Martinez

