

RELATIONSHIP BETWEEN DEFENSIVE AND HYGIENIC BEHAVIOR IN A HONEYBEE (*APIS MELLÍFERA* L) POPULATION.

Cecilia Andere; M.A.Palacio*; P.Delgado*; E.Figini; E.M.Rodriguez; M.Colombani*; E.Bedascarrasbure**.

Universidad Nacional Del Centro. PROAPI. Pinto 399. Tandil (7000). Argentina.

Tel-Fax:+54-2293-422357. E-Mail: candere@vet.unicen.edu.ar

*Universidad Nacional De Mar Del Plata. (PROAPI) Argentina.

** INTA- Famaillá. Tucumán. Argentina.

ABSTRACT

Honeybee hygienic behavior is a useful selection criteria in a genetic program in Argentina as a tolerance mechanism for brood diseases. In the other hand, defensive behavior is considered as a selection trait in many areas of this country where africanized bees are present. The objective of this work was to study the relationship between hygienic and defensive behaviour in a honeybee population. Seventy-five colonies headed by natural mated queens were evaluated. For defensive behavior evaluation, each colony was stimulated with a piece of paper of 2 x 5 cm with 0.30 ml of Isopentilacetate artificial pheromone placed in hive bottom. Then a dark leather ball of 5 cm of diameter was balanced 20 cm in front of the colony during one minute. Different balls were used for each colony and they were put in individual bags when the test had finished, in order to avoid stinging after test timing. Time at first sting (T1A) and Sting number (SN) were registered for each colony. For hygienic behavior evaluation, total brood capped cells in an area of 10cm X 5 cm were counted and killed using a pin and the number of capped and uncapped cells with remaining dead brood were registered after twenty four hours to calculate hygienic behavior rate (HB). Two evaluations were done, once a month. No significant correlation was detected between both measurements for all variables ($p>0.05$). Average values for hygienic behavior was 0.81 ± 0.02 , and 72.07 ± 5.471 and 5.45 ± 0.636 for NS and T1S respectively. No significant correlation was detected between HB and SN nor between HB and T1S ($p>0.05$). The correlation between T1S y SN were negative and significant ($r=-0.4753$). ($p<0.0001$) The results obtained showed that both behaviors were similar in both measurements and no detected association between them.

INTRODUCCION

En el año 1995, se inició en Argentina el Proyecto Integrado de Desarrollo Apícola, y con él, el Programa de Mejoramiento Genético de Abejas(MEGA). Este último propone seleccionar materiales adaptados a diferentes ambientes. Dos de las características priorizadas como criterio de selección son el comportamiento higiénico y el comportamiento de defensa de la abeja melífera.

El comportamiento higiénico consiste en la habilidad de las obreras de desopercular las celdas y remover la cría muerta de su interior (Rothembuhler, 1964a) y ha sido relacionado con la resistencia a las enfermedades de la cría ya que permite a las abejas eliminar la masa infectante de la colonia (Rothembuhler, 1964a; Rothembuhler *et al*, 1968; Goncalves y Kerr, 1970; Spivak, 1997; Spivak y Gilliam, 1998). La selección por este comportamiento permite obtener abejas tolerantes a las enfermedades, y de esta manera disminuir la propagación e incidencia de las mismas en las colonias evitando el uso de químicos.

Por otra parte en algunas zonas de nuestro país existen poblaciones que exhiben un alto comportamiento defensivo lo que provoca dificultad en su manejo, probablemente como consecuencia de la africanización (Sheppard, 1991). Este comportamiento ha sido considerado como criterio de selección en estas áreas.

Ha sido sugerido que la resistencia a enfermedades y la defensividad son aspectos del vigor básico de las abejas y podrían estar correlacionados (Collins and Rinderer, 1991). Rothenbuhler (1964b) observó que la línea Brown utilizada por él para los estudios iniciales de comportamiento higiénico presentaba una mayor defensividad, a diferencia de la línea Van Scoy (susceptible) que era menos defensiva; sin embargo luego de realizar retrocruzaientos entre ambas líneas concluyó que ambos comportamientos tenían diferentes bases genéticas.

Aún hoy algunos autores consideran que estas variables podrían estar correlacionadas, dificultando los trabajos de selección para esta característica.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la relación que existe entre el comportamiento de defensa y el comportamiento higiénico en una población de *Apis mellifera*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en la Unidad Integrada Facultad de Ciencias Agrarias - INTA Balcarce. Se utilizaron colonias de abejas *Apis mellifera* L. ubicadas en colmenas tipo Langstrot, encabezadas por reinas de genética PROAPI. Se registraron las siguientes variables: Comportamiento Higiénico, Comportamiento Defensivo en dos meses diferentes (febrero y marzo).

Para la estimación del Comportamiento Higiénico se utilizó la metodología de Palacio *et al.* (2000). Para esto todas las celdas presentes en un área de 10 cm x 5 cm fueron registradas (x) y posteriormente pinchadas usando un alfiler para matar las crías (pupas). El cuadro se colocaba nuevamente en la colonia y luego de 24 horas se registraba el número de celdas desoperculadas con cría muerta en su interior (z) y el número de celdas que permanecían operculadas (y). Usando estos datos se obtuvo el valor de comportamiento higiénico para ambos meses (CH1 y CH2).

$$C.H = \frac{x - y - z}{x} \cdot 100$$

C.H= Comportamiento Higiénico

x = Total celdas operculadas Día 0

y = Celdas operculadas luego de 24 horas

z = Celdas desoperculadas con restos de cría

luego de 24 horas

Para evaluar el comportamiento de defensa a campo se utilizó el método de Stort (1974), modificado por Delgado *et al.* (2000). Se utilizó un rectángulo de papel secante de 2x5 cm. rociado con una feromona artificial, isopentil acetato (IPA), el cual se colocaba en la piquera de la colonia. Inmediatamente se balanceaba a 20 cm. delante de la colonia una bolsa de cuero de con una pelota en su interior durante 60 segundos.

Para cada colonia se utilizó una pelota diferente, la misma era colocada en una bolsa de papel al finalizar el tiempo de evaluación para evitar posibles aguijoneos de otras abejas, el tratamiento se completó sin utilizar humo. Posteriormente en el laboratorio se realizó el conteo de los aguijones en las pelotas.

Las variables que se midieron para ambos meses fueron: Tiempo al primer agujón (T1A1 y T1A2) y Número de agujones (NA1 y NA2).

Para el análisis de las variables se utilizó el procedimiento PROC UNIVARIATE del SAS (SAS, 1989). Se compararon las distintas variables estudiadas en los dos momentos de muestreo mediante el test t para datos apareados. Para estudiar la relación entre las variables se estimó el Coeficiente de Correlación de Spearman (Conover, 1971)

RESULTADOS

En la tabla N° 1 se presentan los resultados obtenidos en ambos meses de evaluación (febrero y marzo).

Tabla N°1: Promedios, desvío estándar, mediana, mínimo y máximo para las variables número de agujones (NA1 y NA2), Tiempo al primer agujón (T1A1 y T1A2) y Comportamiento higiénico (CH1 y CH2) en ambos meses de evaluación.

<i>Variable</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desvío Estandar</i>	<i>Mediana</i>	<i>Minimo</i>	<i>Maximo</i>
NA1	84	76.7500	5.93203513	71.0000	0	190.0
NA2	75	69.9867	6.03854111	65.0000	0	203.0
T1A1	82	5.2195	0.7877853	3.0000	0	52.0000
T1A2	76	5.8158	0.9829661	3.0000	0	50.0000
CHT1	83	0.7967	0.0231931	0.8630	0.00700	1.0000
CHT2	74	0.7902	0.0225055	0.8180	0.0960	1.0290

No se detectaron diferencias significativas entre las dos mediciones para todas las variables ($p > 0.05$). Se calcularon los promedios que se presentan en la Tabla N° 2.

Tabla N° 2: Promedios, desvío estándar, mediana, mínimo y máximo para las variables número de agujones (PNA), Tiempo al primer agujón (PT1A) y Comportamiento higiénico (PCH). Se promediaron los datos correspondientes a ambos meses.

<i>Variable</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desvío Estandar</i>	<i>Mediana</i>	<i>Minimo</i>	<i>Maximo</i>
PNA	74	72.0608	47.0618	61.5000	1.0000	184.0
PT1A	76	5.4539	5.5427	3.5000	1.0000	27.5000
PCH	73	0.8056	0.1397	0.8290	0.3685	1.0000

Los resultados de la correlación de Spearman se muestran en la Tabla N° 3. No se detectaron correlaciones significativas entre PCH y PNA ni entre PCH y PT1A ($p > 0.05$). La correlación entre PT1A y PNA fue negativa y significativa ($r = -0.4753$; $p < 0.001$).

Tabla N° 3: Coeficientes de correlación de Spearman y p-valor entre las variables promedio Tiempo al primer agujón (PT1A), Número de agujones (PNA) y Comportamiento Higiénico (PCH).

	<i>PT1A</i>	<i>PCH</i>
PNA	-0.47532	-0.04078
P valor	0.0001	0.7319
N	71	73
PT1A		-0.00805
p-valor		0.9472
N		70

En las figuras N° 1y N°2 se presenta la dispersión de los datos correspondientes a comportamiento higiénico y número de agujones y comportamiento higiénico y tiempo al primer agujón respectivamente.

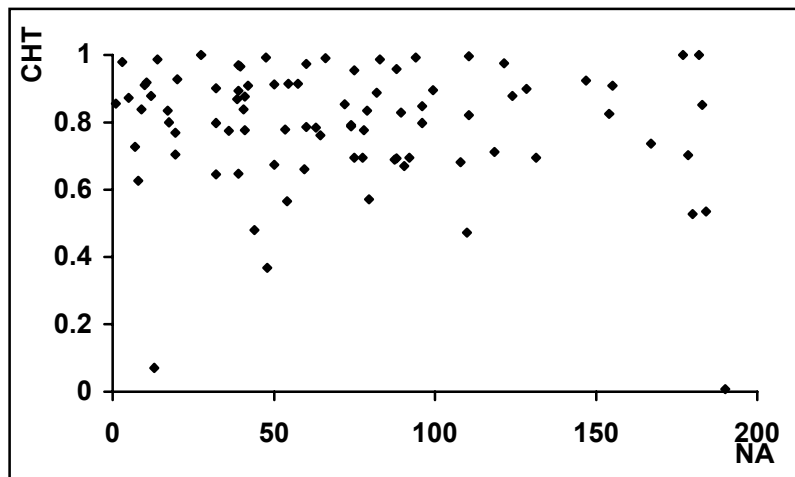


Figura 1: Promedio de ambos meses para las variables Número de agujones (NA) y Comportamiento higienico (CHT).

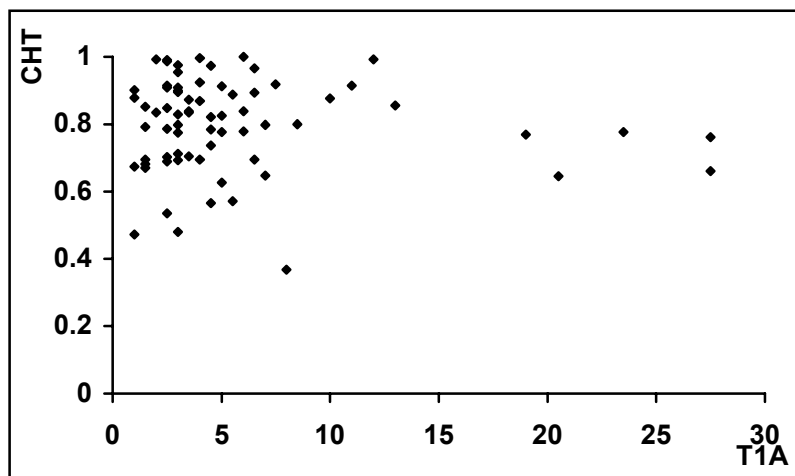


Figura 2: Promedio de ambos meses para las variables Tiempo al primer agujón (PT1A) y Comportamiento higienico (PCHT).

DISCUSION:

Los resultados obtenidos nos indican que el comportamiento de las colmenas en lo referente al comportamiento de defensa (NA Y T1A) y capacidad de limpieza (CH) fue semejante en las dos mediciones. La población evaluada está afectada al Programa de mejoramiento genético (MeGA) lo que explica los valores altos de comportamiento higiénico registrados. El promedio para esta variable para ambas épocas fue de 0.8056. Es importante considerar que en el Programa son seleccionadas las colonias que superan el valor de 0.80 en las evaluaciones de comportamiento higiénico (Palacio *et al.*, 2000).

La ausencia de diferencias en el comportamiento defensivo e higiénico en las mediciones de ambos meses indican cierta estabilidad para estas variables. Sin embargo sería necesario realizar nuevas mediciones en diferentes épocas para conocer el efecto que las variables climáticas podrían ejercer sobre estos comportamientos.

Las variables indicadoras del comportamiento de defensa no están asociadas con el comportamiento higiénico. Así lo indican los coeficientes de correlación de Spearman no significativos entre las variables tiempo al primer aguijón y número de aguijones con el comportamiento higiénico. En las figuras N° 1 y N° 2 se observa que los datos presentan una gran dispersión siendo que colonias con alto comportamiento higiénico (superior al 0.80) variaron en el número de aguijones de 0 a 180 y en el tiempo al primer aguijón de 0 a 30 segundos).

Collins *et al* (1994) sugirieron que el número de aguijones es una buena variable para usar en la evaluación del comportamiento de defensa. En este estudio ambas variables fueron efectivas para la evaluación de este comportamiento. Los valores de correlación obtenidos entre ambas variables (NA Y T1A) indican que las colmenas que responden más rápidamente al estímulo son las que reaccionan con mayor intensidad (número de aguijones) y cualquiera de ellas puede ser utilizada para la evaluación de este comportamiento. Estos datos coinciden con otros autores (Guzmán Novoa and Page 1993,1994; Andere *et al*, 2000;) quienes detectaron una relación semejante entre ambas variables.

La ausencia de asociación entre las variables indicadoras del comportamiento de defensa y comportamiento higiénico en este estudio nos indica que es posible seleccionar por ambas características en el marco de nuestro Programa de Mejoramiento Genético.

REFERENCIAS

- Andere, C. I, Palacio, A.; ,; Rodríguez, E.; Domínguez M. T; Figini, E.; and Bedascarrasbure, E. (2000). "Evaluation of honey bee defensive behavior in Argentina - a field method" *American Bee Journal*. Diciembre 2000. Volumen 140. No 12.
- Collins, A.; Daly, H.; Rinderer, T.; Harbo, J.; Hoelmer, K. (1994). Correlations between morphology and colony defence in *Apis mellifera* L. *Journal of apicultural research*. Vol 33 (1): 3-10.
- Collins, A.; Rinderer T. (1991). Genetics of defensive behavior I. *In* The "African" honey bee. Part four: Defensive behavior. Eds. Spivak M.; Fletcher D. J.; Breed M. Oxford. UK; Westview Press. pp. 309-328
- Conover, W. J. (1971) *Practical Nonparametric Statistics*. John Wiley & Son Inc. New York.
- Gonçalves, L.S; Kerr, W.E. (1970). Noções sobre genética do melhoramento em abelhas. *Anais do 1º Congresso Brasileiro de Apicultura*. Florianópolis, S.C. p.8-36.
- Guzmán-Novoa, E. and Page, R. E. (1993). Backcrossing Africanized honey bee queens to European drones reduces colony defensive behavior. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 86: 352-355.
- Guzmán-Novoa, E. and Page, R. E. (1994). Genetic dominance and worker interactions affect honeybee colony defense. *Behav. Ecol.* 5: 91-97.
- Palacio, M.A; Figini, E; Rodriguez, E; Ruffinengo, S; Bedascarrasbure, E; Del hoyo, M. (2000). Changes in a population of *Apis mellifera* selected for its hygienic behaviour. *Apidologie* 31:471-478.
- Rothenbuhler, W.C. (1964^a). Behaviour genetics of nest cleaning in honeybees. I. Responses of four inbred lines to disease killed brood. *Anim. Behav.* 12: 578-583.

- Rothenbuhler, W.C. 1964. Behaviour genetics of nest cleaning in honeybees. IV. Responses of F1 and backcross generations to disease killed brood. four inbred lines to disease killed brood. *Am. Zoologist* 4: 111-123.
- Rothenbuhler, W.C; Kulinčević, J.M & Kerr, W.E. 1968. Bee Genetics. *Ann. Rev. Genet* 2: 413-438.
- Sheppard, W. S., Rinderer, T. E., Mazzoli, J. A., Stelzer, A.J. and Shimanuki, H. (1991). Gene flow between African-and European-derived honey bee populations in Argentina. *Nature*. 349: 782-784.
- Spivak, M. 1997. Honey bee hygienic behavior as a defense against *Varroa jacobsoni* mites. *Resistant Pest Management*. 9 (2): 22-24
- Spivak, M; Gilliam, M. 1998. Hygienic behaviour of honeybees and its application for control of brood diseases and varroa. Part 1: Hygienic behaviour and resistance to American Foulbrood. *Bee World* 79(3):124-134.
- Stort, A. C. (1974). Genetic study of aggressiveness of two subspecies of *Apis mellifera* in Brazil. I Some tests to measure aggressiveness. *J. Apic. Res.* 13: 33-38.