



Instituto
Nacional de
Investigación
Agropecuaria

URUGUAY

ALGO SOBRE DESPOBLACION DE COLMENAS

MARZO 2005

**Serie Actividades
de Difusión N°398**

TABLA DE CONTENIDO

	Página
<i>Síntomas y factores asociados a la despoblación de colmenas</i>	1
Eduardo Corbella, Gustavo Ramallo, INIA La Estanzuela	
<i>Virus de la parálisis crónica y virus de la parálisis aguda: Detección en Uruguay</i>	6
Karina Antúnez, Bruno D'Alessandro, Pablo Zunino, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable"	

SÍNTOMAS Y FACTORES ASOCIADOS A LA DESPOBLACIÓN DE COLMENAS

Eduardo Corbella, Gustavo Ramallo
Apicultura INIA La Estanzuela

En nuestro país se acepta como normal una pérdida invernal de alrededor de 10% de las colmenas de producción. Esta mortandad es debida, fundamentalmente, a la falta de alimento, la muerte de las reinas sin posibilidades naturales de ser repuestas (quedan zanganeras), al frío, en caso de colonias con poca población de abejas y/o cuando volteadas permanecen expuestas a la intemperie por algún tiempo.

Si bien parece cierto que en décadas anteriores ocurrió mortandad de colonias en cantidades preocupantes, el fenómeno habría ocurrido en casos aislados. Lamentablemente no disponemos de informaciones fidedignas, ni de estudios sobre las posibles causas ni de evaluaciones que nos sirvan de referencia.

Recién en el otoño-invierno de 2002 se constatan pérdidas importantes de colonias por despoblación, que en algunos casos superaba largamente el 50% de algunos apiarios, concentrándose, en esta instancia y por lo declarado por apicultores, en el Litoral Suroeste, sobretudo en los departamentos de Colonia y Soriano. A partir de ese año, la despoblación invernal de colmenas se manifestó en otros departamentos con incidencia variable.

Si bien es imposible conocer una cifra aproximada, es probable que en los últimos dos inviernos se hayan perdido varias decenas de miles de colmenas de producción en Uruguay.

En el otoño de 2004 comenzamos un estudio de campo y laboratorio que permitiera identificar algunos componentes que podrían estar relacionados con la despoblación de colmenas.

Nos interesaba y continúa interesando encontrar algún factor que explicara la expansión territorial del fenómeno, en la medida que recibíamos noticias de apicultores que estaban perdiendo colonias en lugares lejanos de la región donde se lo observó por primera vez. Nuestra hipótesis incluía un agente contaminante que con fácil movilidad se extendía desde el Suroeste; sin descartar otros. Plenamente conscientes de que la aparente ampliación del problema puede estar asociada con la compra y/o traslado de colonias, núcleos y/o reinas desde y hacia diferentes regiones de nuestro país. No solo esto, debemos agregar que actualmente manejamos informaciones indirectas de que la despoblación de colmenas está ocurriendo en, por lo menos, un país limítrofe.

Para entonces la despoblación de colmenas se había transformado, según Sumpter & Martin (2004) en una pandemia. Nos adelantamos a aclarar que no siempre se dan todos juntos y de manera claramente manifiesta.

Estos son algunos síntomas más comunes que hemos observado en colmenares de diversas regiones de nuestro país, sea en colonias colapsadas o en franco proceso de despoblación.

- En términos generales, las colonias que son afectadas primero y con un curso más rápido del problema están entre las que tuvieron mayores rendimientos de miel la temporada anterior y, por ende, con buena población de abejas.

- Se observan abejas muertas o moribundas en la piquera y debajo de ésta. Si la temperatura ambiente permite cierta actividad de vuelo, podemos notar que algunas abejas son expulsadas por las guardianas y son rechazadas activamente si insisten en retornar al interior de las colmenas. Estas abejas tienden a juntarse en pequeños grupos en las paredes de los cajones, prefiriendo lugares donde incida el calor del sol. Parecen contraídas, temblorosas y con las alas entre abiertas. Algunas tienen las alas desflecadas o carecen de ellas; prestando atención, vamos a encontrar abejas oscuras, más o menos brillantes, por carecer de pelos en el cuerpo.

- Las reinas son, aparentemente, menos afectadas. Las hemos encontrado con frecuencia acompañadas por una mínima cantidad de abejas y en algunos casos totalmente solas, tanto en el interior de la cámara de cría como del lado de afuera de la colmena.

- Por ocurrir esta despoblación en época en la cual se visita con la menor frecuencia, al ir a los apiarios podemos encontrar las colmenas vacías y, si no fueron pilladas antes, las reservas de alimento prácticamente intocadas.

- Las reinas tienden a abandonar el centro del nido y poner pequeños círculos de huevos hacia la periferia del mismo. La cría no parece afectada directamente por el problema, sí indirectamente porque a medida que se pierde población de abejas adultas, se pierde la capacidad de mantener una temperatura adecuada del nido y también por la falta de abejas nodrizas. Esta situación hace que las larvas mueran de hambre y frío, al mismo tiempo se crean condiciones apropiadas para que se desarrollen patologías secundarias.

- Hay pocos datos que sustenten que las abejas “abandonen” las colmenas. Por lo pronto, siendo tan grande la pérdida de colonias, habría posibilidades de encontrar, por llamarlo mal o de alguna manera, “enjambres invernales” volando, posados o instalados, algo que ocurre muy raramente y no con la frecuencia que sería de esperar en el caso que la respuesta al problema fuera irse de las colmenas.

- El proceso de despoblación total puede ser llamativamente rápido, en algunas colmenas no demora más de un mes.

Con más o menos detalles, estos síntomas estaban presentes el invierno 2004 en apiarios de los departamentos de Colonia; San José, Canelones, Rivera, Lavalleja y Maldonado.

Compartimos con otros investigadores las dificultades para definir el problema y subsiguientemente elaborar una estrategia para abordarlo. La información que manejamos indica que estamos frente a un fenómeno complejo en el que probablemente se interrelacionan varios factores. Seguramente debe haber factores predisponentes, causales y coadyuvantes. No podemos descartar ninguno a priori ni tratar el tema de manera reduccionista.

Una visión hipotética debe tener en cuenta el efecto potencial de un alto número de variables: los vicios o déficit en el manejo productivo y sanitario, la potencial contaminación crónica de las abejas con productos químicos, las enfermedades que afectan a la cría y a las abejas adultas, la variación poblacional de la inmunidad natural y de qué manera ésta es afectada por el manejo sanitario que aplican los apicultores, entre tantos factores.

Hace ya una década que se adjudica a los insecticidas sistémicos a base de imidacloprid y fipronil como agente principal en la pérdida de colonias de abejas melíferas. Actualmente se vuelve a este tema por la alta mortandad invernal de abejas que se registró en algunos países europeos, entre ellos España (Asorey, 2004).

Hasta ahora no se llegó a contar con pruebas sólidas que relacionen directamente o exoneren de cualquier duda la probable relación entre estos insecticidas y la despoblación de las colmenas (Aubert et al. 2004).

En nuestro caso, no encontramos indicios claros de contaminación con productos químicos en las abejas y/o materiales apícolas de las colmenas despobladas. Es más, hemos encontrado apiarios muy afectados por el problema en lugares alejados de cualquier fuente aparente de contaminación.

Otro de los factores potencialmente asociado con la despoblación de colmenas es el ácaro ectoparásito *Varroa destructor* nov. sp. (Anderson & Trueman, 2000), por considerarse un vector potencial de virus (Bailey & Ball, 1991; Ball et al. 2004; Sumpter & Martín, 2004).

En década de 1970 fueron identificados los primeros casos de Varroosis en Europa, considerándose un grave problema para la apicultura; según Carreck et al. (2002) pronto quedó claro que el daño a las colonias no estaba relacionado con los niveles de infección por este ácaro. Posiblemente infecciones secundarias con otros agentes explicarían la variación observada del efecto de este parásito.

Siempre que fue posible hicimos muestras entre 500 y más de 800 abejas, sea de colmenas individuales o de un número representativo de la totalidad de los colmenares. Al mismo tiempo juntamos muestras de abejas con síntomas. En algunos casos embolsamos la totalidad de la población de colmenas colapsadas o a término.

De estas muestras, una sub muestra era enviada al Laboratorio de Microbiología del Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable" para analizar. En las abejas restantes se cuantificó el porcentaje de Varroas foréticas.

Hasta el presente tenemos datos de Varroosis de 19 muestras provenientes de los departamentos antes citados; los mismo son:

Amplitud de variación	valor medio	desvío estándar
0,5 – 24%	7,4%	5,4%

Una parte de las colonias despobladas habían sido tratadas con diferentes acaricidas al comienzo del otoño, otras no. Teniendo en cuenta que no poseemos controles directos sobre las dosis aplicadas, de los productos empleados y la gran variación de métodos usados, no podemos tomar el manejo sanitario como tema para discutir en este trabajo.

Es de resaltar, en primer lugar, que por la época del año (otoño-invierno) y por las condiciones que encontramos a la mayoría de las colonias analizadas, solo fue posible cuantificar las varroas foréticas. Debemos tener en cuenta la amplia variación encontrada en los niveles de Varroosis, con el agravante que la misma tendería a aumentar en la medida que disminuye la población de abejas en las colmenas. Tampoco descartamos que un porcentaje desconocido de la población del parásito pueda morir en el campo junto con las abejas.

Posiblemente la cantidad de muestras analizadas sea relativamente pequeña para inferir una relación causal entre la Varroosis y la despoblación de colmenas, algo que para nuestros datos no resulta notorio. Todo indica que las varroas juegan un papel indirecto y no aislado de otros agentes, como hasta ahora se le adjudica. Esta parasitosis tendría un efecto mayor cuando coadyuva al desencadenamiento de otras enfermedades, fundamentalmente las causadas por virus. Esto relativiza y pone en juego los intentos de determinar un nivel de infestación de *V. destructor* aisladamente de otros patógenos para recomendar algún tipo de control sanitario sobre este ácaro.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Anderson, DL.; Trueman, JWH. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24: 165-189
- Asorey, X. 2004. Opinión. Preocupante y sospechosa desaparición de abejas en Galicia. *Vida Apícola* n° 128: 45-46
- Aubert, M.; Chauzat, MP.; Martel, AC.; Ribiere, M.; Faucon, JP. 2004. Imidacloprid (Gaucho NT): guilty or non guilty of honey-bee death in France?. In *Proceedings of the European Conference of Apidology "EurBee"* (1., 2004, Udine, Italy). Ed by I.Bernardinelli; N.Milani. Udine, Arti Grafiche Friulane. P.120

Ball, BV.; Todd, J.; Reed, AV. 2004. The impact of *Varroa destructor* on virus prevalence. In Proceedings of the European Conference of Apidology "EurBee" (1., 2004, Udine, Italy). Ed by I.Bernardinelli; N.Milani. Udine, Arti Grafiche Friulane. P.86.

Carreck, NL.; Ball, BV.; Wilson, JK. 2002. Virus succession in honeybee colonies infested with *Varroa destructor*. *Apiacta* 37: 44-48

Sumpter, DJT.; Martin, SJ. 2004. The dynamics of virus epidemics in *Varroa*-infested honey bee colonies. *Journal of Animal Ecology* 73: 51-63

VIRUS DE LA PARÁLISIS CRÓNICA Y VIRUS DE LA PARÁLISIS AGUDA: DETECCIÓN EN URUGUAY

Karina Antúnez, Bruno D´Alessandro, Pablo Zunino
Laboratorio de Microbiología
Instituto de Investigaciones Biológicas “Clemente Estable”

Introducción

Se han descrito y caracterizado más de dieciocho virus que afectan a las abejas, entre ellos el virus de la Parálisis Crónica (CBPV) y el Virus de la Parálisis Aguda (ABPV) (Ball & Bailey, 1991).

El CBPV fue uno de los primeros virus aislados de las abejas (Bailey, 1968). Éste es uno de los pocos virus que causan infecciones sintomáticas, generalmente se observan abejas temblorosas, que no vuelan y se arrastran en la entrada de la colmena. Se puede multiplicar hasta altos niveles en las abejas y causa pérdidas significativas a los apicultores. Las condiciones de deficiencia nutricional, mal tiempo durante el verano e inviernos severos favorecen los brotes de este virus (Allen & Ball, 1996).

Por el contrario, el ABPV es un agente infeccioso común en las abejas, que causa infecciones asintomáticas (Allen & Ball, 1996; Bailey et al., 1963). Se ha postulado que este virus fue el factor desencadenante en las mortandades de abejas ocurridas en colmenas afectadas con el ácaro *Varroa jacobsoni* en Estados Unidos y en diversos países de Europa (Bekesi et al., 1999, Faucon et al., 1992; Nordstrom et al., 1999).

La presencia de ambos virus ha sido reportada en muchos países alrededor del mundo, aunque hasta el momento no existían registros acerca de su presencia en Latinoamérica (Allen & Ball, 1996).

Dado que los síntomas producidos por el CBPV pueden ser asociados a otras enfermedades de las abejas o a intoxicaciones con pesticidas, y que los dos virus pueden persistir en las poblaciones como infecciones inaparentes o latentes, para confirmar su presencia se requiere un diagnóstico de laboratorio (Ball, 1996; Shimanuki, 1997).

Uno de los métodos más certeros de diagnóstico de estos virus es RT-PCR. Es una técnica rápida, confiable, específica y sensible, que permite detectar la presencia de virus ARN a partir de diversos tipos de muestras. Se basa en la detección de un fragmento del genoma del organismo en cuestión, mediante el uso de “cebadores” (*primers*), pequeños fragmentos de ADN que reconocen una secuencia específica, propia de cada organismo.

El objetivo del presente trabajo fue analizar la presencia de los virus de la Parálisis Crónica y de la Parálisis Aguda mediante RT-PCR en abejas provenientes de diferentes zonas geográficas de Uruguay en que se observaban síntomas de campo asociados a despoblación de colmenas.

Metodología

Muestras de abejas. Treinta y seis muestras de abejas de Soriano, Canelones, San José, Maldonado, Lavalleja y Rivera fueron utilizadas en este estudio. Estas muestras fueron colectadas entre diciembre de 2003 y diciembre de 2004 y enviadas refrigeradas al Laboratorio de Microbiología del Instituto de Ciencias Biológicas “Clemente Estable” para ser analizadas.

Obtención de ARN viral. Se seleccionaron al azar 10 abejas de cada muestra y se homogeneizaron en 10 ml de agua destilada estéril. Se realizaron dos centrifugaciones sucesivas y el sobrenadante fue utilizado para la extracción de ARN viral, empleando el kit específico para estos fines QIAamp Viral RNA Minikit (QIAGEN), de acuerdo a las condiciones del fabricante. Estos productos se emplearon para RT-PCR.

RT-PCR. Para detectar el virus de la Parálisis Crónica se utilizaron los cebadores CBPV1 y CBPV2 desarrollados por Ribiere et al. (2002), y para el virus de la Parálisis Aguda, se utilizaron los cebadores ABPV 1 y ABPV 2 desarrollados por Benjeddou et al. (2001). La RT-PCR fue realizada con el kit One Step PCR Kit (QIAGEN), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Posteriormente se secuenció un producto de RT-PCR correspondiente a cada virus en el Centro Técnico de Análisis Genético de Facultad de Ciencias (Universidad de la República) para verificar la “identidad” de cada porción de ADN complementario y hacer inequívoca la identificación.

Resultados y Discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos, diez muestras estaban infectadas con CBPV, seis muestras estaban infectadas con ABPV, doce muestras estaban coinfectadas con ambos virus (lo que indica que más de un virus puede infectar una misma colonia) y en ocho muestras no se detectó ninguno de los dos.

Las secuencias de ADN obtenidas fueron similares a las descritas para estos virus, confirmando la identificación.

La detección de ambos virus en departamentos de diferentes regiones geográficas y el hecho de que la mayoría de las muestras este infectada con uno o los dos virus, indican que ambos virus están ampliamente distribuidos en Uruguay.

En las muestras de apiarios que presentaban síntomas de despoblamiento, se detectó, en su mayoría, la presencia de CBPV, ABPV o ambos virus. En algunos casos, las abejas presentaban alas deformadas, encontrándose también los dos virus. Por último, las muestras de colonias aparentemente sanas, estaban en su mayoría, infectadas por virus, confirmando su presencia en un estado latente o sub-letal.

En conclusión, en este trabajo se presenta el primer hallazgo del virus de la Parálisis Crónica y virus de la Parálisis Aguda en Uruguay, constituyendo el primer reporte en América Latina. El alto porcentaje de infección, la detección de ambos virus en departamentos de diferentes zonas geográficas, la presencia de más de

un virus en una misma colonia y la presencia en colonias que no presentaban síntomas, indica que estos virus se encuentran ampliamente distribuidos en Uruguay.

REFERENCIAS

- Allen, M F.; Ball, B V. 1996. The incidence and world distribution of honey bee viruses. *Bee World* 77: 141- 162
- Bailey, L. 1968. The purification and properties of chronic bee paralysis virus. *J. Gen. Virol.* 2, 251-260
- Bailey, L.; Gibbs, A J.; Woods, R. D. 1963. Two viruses from adult honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus). *Virology* 21: 390-395
- Ball, B V.; Bailey, L., 1991. Virus of honey bees. Adams J.R., Bonami J.R. Eds., Atlas of invertebrate viruses, CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 525-551
- Ball, BV. 1996. Honey bee viruses: a cause of concern? *Bee World.* 77: 117-119
- Bekesi, L.; Ball, BV.; Dobos-Kovacs, M.; Bakonyi, T.; Rusvai, M. 1999. Occurrence of acute paralysis virus of the honey bee (*Apis mellifera*) in a Hungarian apiary infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Acta Vet Hung.* 47: 319-324
- Benjeddou, M.; Leat, N.; Allsopp, M.; Davison, S. 2001. Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase PCR. *Appl Environ Microbiol.* 67: 2384-2387
- Faucon, J P.; Vitu, C.; Russo, P.; Vignomi, M. 1992. Diagnosis of acute bee paralysis: application to the epidemiology of honey bee viral diseases in France in 1990. *Apidologie* 23: 139-146
- Nordstrom, S.; Fries, A.; Aarhus, H.; Hansen, H.; Korpela, S. 1999. Virus infections in Nordic honey bee colonies with no, low or severe *Varroa jacobsoni* infestation. *Apidologie* 30: 457- 466
- Ribiere, M. ; Tribolout, C. ; Mathieu, L.; Aurieres, C. ; Faucon, J P. ; Pepin, M. 2002. Molecular diagnosis of chronic bee paralysis virus infection. *Apidologie* 33: 339- 351
- Shimanuki, H., 1997. Synonymy in bee disease, in: Morse RA, Flottum K (Ed.) *Honey bee Pests, Predators and Diseases*, Al Root Company, Medina, pp. 534-537.