



TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

MODALIDAD: TESINA

TÍTULO: “Evolución del estado sanitario en colmenas de *Apis mellifera* L. bajo distintas condiciones de manejo y su relación con el aporte nutricional del polen”.

Plan de Trabajo Aprobado por Resol. 11808 CD

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS – UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE

ESTUDIANTE: MAZEPA, CRISTIAN ISMAEL

ASESORA: Lic. (Dra.) SALGADO LAURENTI, CRISTINA RENEE.

2022

La ilustración de tapa muestra imágenes de la mesa de trabajo para el montaje de preparados de granos de polen, microfotografías de granos de polen de guaraniná (*Sideroxylon obtusifolium*) y políade de timbó (*Enterolobium contortisiliquum*) tomadas con cámara fotográfica incorporada a un microscopio óptico, cargas corbiculares clasificadas por color en una caja de Petri, abeja recolectora acopiando polen en una flor de *Argemone* sp., detalle de una abeja reina rodeada de abejas nodrizas y fotos de granos de polen de floripón (*Brugmansia* sp.) y primavera (*Senecio grisebachii*) tomadas con el microscopio electrónico de barrido.

El desarrollo del Plan de Trabajo Final de Graduación se realizó en el marco de una Beca otorgada por el Concejo Interuniversitario Nacional (CIN) cuyos datos se detallan a continuación:

01/08/20 – 01/08/21. Beca de Estímulo a las Vocaciones Científicas, otorgada por Resolución P. Nº 1518/20 del Consejo Interuniversitario Nacional para desarrollar tareas de investigación sobre el tema “Dinámica de *Varroa destructor* y *Nosema* sp. en colonias de *Apis mellifera* L. con diferente manejo productivo y su relación con el aporte proteico y origen botánico del polen”

Los resultados preliminares obtenidos a partir de éste Trabajo Final de Graduación, con modalidad de Tesina, fueron presentados en los siguientes Congresos:

1. 2021. “Estudio preliminar de infestación de *Varroa destructor* en *Apis mellifera* y efecto del tratamiento sanitario con ácido oxálico en apiario de San Cosme, Corrientes” en la **“XXVI Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad Nacional del Nordeste” (Evento OnLine)**. Autores: Mazepa Cristian, Matías Maggi y Salgado Laurenti Cristina. EXPOSITOR. Modalidad PANEL.
2. 2021. “Dinámica de la infestación de *Varroa destructor* en colonias de *Apis mellifera* con y sin tratamiento con ácido oxálico en un apiario de San Cosme – Corrientes”. **Congreso Argentino de Apicultura 2021 (Evento OnLine) organizado por la Sociedad Argentina de Apicultores (SADA)**. Autores: Mazepa Cristian, Maggi Matías y Salgado Laurenti Cristina. EXPOSITOR. Modalidad PANEL.
3. 2021. “Avances en el conocimiento del polen acopiado por abejas en el Chaco Húmedo: origen floral y su relación con el color”. **XXXVIII Jornadas Argentinas de Botánica 2021 (Evento OnLine). Organizado por la Sociedad Argentina de Botánica (SAB)**. Autores: Avalos Guillermo Luis, Mazepa Cristian Ismael, Salgado Laurenti Cristina. EXPOSITOR. Modalidad PANEL.
4. 2021. “Dinámica de *Varroa destructor* en colonias de *Apis mellifera* L. bajo tratamiento sanitario y determinación del origen botánico del polen acopiado”. **XVII Reunión De Comunicaciones Científicas, Técnicas y de Extensión. Facultad De Ciencias Agrarias – UNNE** Autores: Mazepa Cristian I., Salgado Laurenti Cristina R., Maggi Matias D.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme dado la dicha de poder estudiar lo que me apasiona, por acompañarme en el camino y darme las fuerzas y sabiduría necesaria para pasar cada una de las situaciones que se presentaron en estos años de carrera.

A la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE que me permitió la formación profesional, crecer en conocimiento y como persona. También la oportunidad de conocer personas que formaron parte de mi etapa universitaria.

A la Secretaria General de Ciencia y Técnica de la UNNE por el apoyo financiero a través del otorgamiento de la Beca EVC-CIN.

A mi Directora de Beca y Asesora de TFG, Cristina Salgado Laurenti, por su ayuda incondicional en la etapa final de mi carrera, por su apoyo y confianza en estos años de trabajo conjunto. A mi Codirector de Beca Matias D. Maggi, por el acompañamiento permanente y asistencia en el desarrollo de las actividades de la Beca.

A las autoridades de la Escuela de la Familia Agrícola – EFA “Tupá Rembiapo” Dpto. San Cosme (Corrientes) por facilitar las instalaciones para llevar a cabo los muestreos y el ensayo. Y especialmente al Profesor Fabián Gonzales por la predisposición y acompañamiento permanente.

A los laboratorios que colaboraron con el análisis de muestras en diferentes momentos. Al laboratorio de Edafología, a la Ing. Contreras Estela, por el análisis proteico de cargas polínicas. Al laboratorio de Farmacogarrapaticidas anexo a la cátedra de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE por facilitar el uso de balanza de precisión.

A mi familia, por la confianza depositada en mí, por la oportunidad que me brindaron de poder venir a formarme en esta casa de estudio, por apoyarme anímicamente y económicamente todos estos años.

A mis amigos de siempre, que a pesar de la distancia siguieron acompañando. A los compañeros de cursado que tuve la dicha de conocer, que fueron parte de mi formación, me apoyaron y animaron en todo momento haciendo más ameno el transcurso de la carrera.

¡Muchas gracias!!

Cristian

INDICE

	Pagina
INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES	1
<i>Varroosis: breve descripción de la enfermedad</i>	
<i>Nosemosis: breve descripción de la enfermedad</i>	
OBJETIVO GENERAL y ESPECÍFICOS	5
HIPÓTESIS DEL TRABAJO	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Bloque 1-Trabajo de Campo	6
<i>Selección del apiario</i>	
<i>Muestreo de cargas corbiculares</i>	
<i>Muestreo de abejas</i>	
Bloque 2-Estudios de Laboratorio	6
<i>Análisis polínico de cargas corbiculares</i>	
<i>Análisis químico de cargas corbiculares</i>	
<i>Análisis de Prevalencia y Abundancia de Nosema</i>	
Bloque 3- Trabajo De Gabinete	7
<i>Consulta bibliográfica</i>	
<i>Descripciones de la morfología polínica</i>	
<i>Análisis estadísticos</i>	
<i>Análisis, discusión y publicación de los resultados</i>	
RESULTADOS	11
Eje 1. CAMARA DE CRIA	11
<i>Desarrollo del nido durante el periodo analizado</i>	
Eje 2. POLEN	12
<i>Estudio polínico de cargas corbiculares: origen botánico y geográfico</i>	
<i>El color de las cargas corbiculares y su relación con el origen floral</i>	
<i>Diversidad específica y dinámica estacional</i>	
<i>Contenido proteico de las cargas corbiculares</i>	
Eje 3. VARROOSIS	18
<i>Infestación de Varroa en estado forético</i>	
<i>Comportamiento individual de las colmenas CON y SIN tratamiento</i>	

Eje 4. NOSEMOSIS	21
<i>Prevalencia y abundancia de esporas</i>	
Análisis integral de las variables estudiadas	23
Análisis estadístico	24
DISCUSIÓN	25
<i>Diversidad de polen colectado y contenido proteico</i>	
<i>Varroosis: porcentaje de infestación en colmenas con y sin tratamiento</i>	
<i>Nosemosis: prevalencia y abundancia</i>	
<i>Relación de la colecta de polen y el estado sanitario de las colmenas</i>	
CONCLUSIONES	28
BIBLIOGRAFIA	30
ANEXO I. Relevamiento de la cámara de cría	34
ANEXO II. Cálculos de infestación de <i>Varroa</i>	36
ANEXO III. Datos del análisis estadístico	37

ÍNDICE DE LÁMINAS, TABLAS Y FIGURAS

	Pagina
Fig. 1. Esquema general del ciclo biológico de <i>Varroa destructor</i>	3
Fig. 2. Esquema general del ciclo biológico intracelular de <i>Nosema</i> spp.	4
Tabla 1. Escala de valoración de <i>Nosema</i> sp.	7
Fig. 3. Bloque 1- Trabajo de Campo	8
Fig. 4. Bloque 1- Trabajo de Campo y Bloque 2- Estudios de Laboratorio	9
Fig. 5. Bloque 2- Trabajo de Laboratorio	10
Fig. 6. Promedio de los porcentajes de representación de cría, reservas de alimentos (polen y miel) y celdas vacías en la cámara de cría.	11
Fig. 7. Porcentajes de taxa encontrados y nivel de identificación alcanzado.	12
Fig. 8. Familias representadas en las cargas corbiculares.	12
Tabla 2. Listado de taxa reconocidos en cada muestreo.	13
Tabla 3. Resumen del volumen colectado y cantidad de taxa.	15
Tabla 4. Aporte proteico de algunas especies analizadas.	15
Fig. 9. Granos de polen presentes en las cargas corbiculares.	16
Fig. 10. Granos de polen presentes en las cargas corbiculares.	17
Tabla 5. Porcentajes de infestación de <i>Varroa</i> forética.	18
Fig. 11. Valores de infestación de <i>Varroa</i> en colmenas con tratamiento.	18
Fig. 12. Valores de infestación de <i>Varroa</i> en colmenas sin tratamiento.	19
Fig. 13. Resultados de los porcentajes promedio de cada conjunto de colmenas.	20
Tabla 5. Valores determinados de <i>Nosema</i> sp.	21
Fig. 14. Prevalencia e incidencia de la enfermedad expresados en grados de valoración.	22
Fig. 15. Estado de la cámara de cría en relación a las variables: cargas corbiculares (gramos) e infestación con <i>Varroa</i> (porcentajes).	23
Fig. 16. Asociación entre el peso de polen colectado e infestación con <i>Varroa</i> en colmenas con y sin tratamiento.	24

INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES

La apicultura del Nordeste Argentino posee un desarrollo promisorio, debido en parte a las condiciones favorables de la región. Su clima subtropical favorece la disponibilidad de flores durante todo el año (Salgado et al. 2014, Salgado 2016), generando que la trashumancia de las colmenas no sea un factor decisivo para el éxito comercial de la actividad como sucede en zonas de clima templado. Por otra parte, el predominio de la vegetación nativa ofrece amplia oferta de néctar y polen tanto en cantidad como en calidad. La riqueza y posibles formas de producción sustentable en las Ecorregiones: Chaco Húmedo y Chaco Seco han sido mencionadas por Morello et al. (2012).

Los recursos florales polen y néctar, son clave para la salud de las abejas. De su calidad nutricional y cantidad, dependerá la fortaleza de las colonias y, por ende, de su capacidad para enfrentar diferentes estresores (Brodschneider & Crailsheim 2010). La calidad del néctar y del polen se encuentra modelada por las características ambientales donde crecen las especies vegetales que los producen, como son el suelo, las precipitaciones y la temperatura (entre otros factores). Los mismos inciden en la secreción del néctar y en su contenido mineral. El néctar es la materia prima más común en la producción de mieles, está compuesto principalmente por azúcares (sacarosa, fructosa y glucosa son los más comunes), aminoácidos (alanina y arginina), proteínas, aceites esenciales, agua y elementos en traza (lípidos, antioxidantes, alcaloides, vitaminas, pigmentos y polisacáridos) (Bentley & Elias 1983, Dafni 1992). Por su parte, el polen representa la principal fuente de proteínas de las abejas. La identificación del polen de las cargas cúbiculares, permite conocer cuáles son las plantas que aportan proteína para alimentar las larvas. Mediante la clasificación del polen es posible saber cuán diversa (poliflora) es la dieta de las abejas.

Las colonias de abejas dependen en gran medida de la disponibilidad y diversidad de los recursos florales de los cuales obtienen los nutrientes, especialmente el polen. La calidad y diversidad de la dieta de polen puede modificar la salud de las abejas. Los estudios de Di Pasquale et al. (2013) han demostrado que una dieta polifloral afecta positivamente la fisiología de las abejas nodrizas (e.g. el desarrollo de la glándula hipofaríngea y el nivel de vitelogenina), y la tolerancia al parásito *Nosema ceranae* (Crailsheim & Stolberg 1989). Por otro lado, el parasitismo ocasionado por *Varroa* puede afectar drásticamente la nutrición de las abejas comprometiendo su desarrollo y su tiempo de vida media (Aronstein et al. 2012).

Actualmente, las áreas de alimentación de las abejas están afectadas por la intensificación de la agricultura y alteración del paisaje, presionando sobre la disponibilidad, abundancia y diversidad de recursos florales, los que además podrían proporcionar una nutrición inadecuada y poner en peligro a las colonias (Di Pasquale et al. 2013, Frías et al. 2016). El aporte proteico es necesario para el desarrollo larval y supervivencia de los adultos, la escasez de esta nutriente afecta fuertemente la producción de crías. Incluso, el número de larvas criadas puede reducirse para mantener la calidad de la descendencia (Brodschneider & Crailsheim 2010). La inanición, los monocultivos como oferta floral, las modificaciones genéticas y la pulverización con pesticidas entre otros afectan el polen y néctar generando malas condiciones nutricionales en las abejas, afectando la sanidad de las colonias (Brodschneider & Crailsheim 2010, Di Pasquale et al. 2013).

En la región del NE argentino se han realizado estudios de vegetación, se han iniciado investigaciones enfocadas al estudio de la flora apícola desarrollando varios PI (SGCyT-UNNE: PI: 069/05 2005-2009, P002/11 2011-2015, A004/16 2016-2020), formación de RRHH mediante la obtención de becas de la SGCyT y CIN. Para la Ecorregión Chaqueña se pueden citar los siguientes trabajos: Salgado & Pire (1998, 1999, 2000) realizados en mieles de la provincia de **Corrientes** Salgado (2006, 2016), Salgado & Maidana (2014), Salgado (2016), Salgado et al. (2014, 2017) realizados en mieles de la provincia del **Chaco** y los trabajos de Cabrera (2006), Cabrera et al.

(2013, 2017) realizados para la provincia de **Formosa**. Estudios sobre cargas polínicas y su contenido proteico se han realizado para la Ecorregión del Chaco Seco (Changazzo 2018).

Respecto de la biología de *Varroa destructor*, sus virosis y su impacto en las abejas melíferas existen antecedentes en otras zonas productoras del país (Maggi et al. 2009a-b, 2010, 2012a-b) como así también el registro de pérdida de colonias de abejas a nivel mundial (Levy 2011, Richards et al. 2011, Maggi et al. 2009a-b, 2010, 2012a-b, 2013a-b, 2016, Potts et al. 2010).

Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que la región del NEA cuenta con un importante potencial apícola que puede ser mejor aprovechado atendiendo aspectos sanitarios y nutricionales en las actividades de manejo. El presente trabajo es una contribución al conocimiento sobre el estado sanitario de las colmenas respecto de dos enfermedades (Varroosis y Nosemosis) y su relación con el origen floral y el contenido proteico del polen que consumen.

Los datos obtenidos constituyen una excelente oportunidad para generar información sobre las características sanitarias de apiarios sometidos a manejo integrado respecto de otros que no reciben ningún tipo de control de enfermedades y su relación con la flora apícola que explotan.

Varroosis: breve descripción de la enfermedad

La Varroosis, provocada por el ácaro *Varroa destructor* conocido vulgarmente como “varroa”, es considerada como la parasitosis más severa de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.). La aparición del ectoparásito en la Argentina se remonta a la década del '70. Durante esa época se lo detecta por primera vez en 1976 en colmenas de Laguna Blanca en la provincia de Formosa. Sin embargo, se estima que el ácaro ingresó al país unos años antes, fundamentalmente teniendo en cuenta que, en 1971, apicultores de Paraguay habían importado abejas melíferas desde Japón introduciendo el parásito por primera vez en América del Sur (De La Sota & Bacci 2020).

La abeja melífera es perjudicada de diversas maneras, las larvas y pupas en desarrollo representan claramente las etapas más sensibles del huésped. Primero, la pérdida de hemolinfa durante el desarrollo ontogenético dentro de la celda de cría disminuye significativamente el peso de la abeja al nacer. La pérdida de peso depende del número de ácaros madre y de la cantidad de reproducción de ácaros, pero incluso una sola infestación da como resultado una pérdida promedio de peso corporal del 7% para la abeja que nace (De Jong et al. 1982, Schatton-Gademayer & Engels 1988). Esto también ha sido probado para zánganos parasitados, que pierden del 11 al 19% de su peso corporal dependiendo de la infestación (Duay et al. 2003), lo que condujo a una disminución del rendimiento de vuelo (Duay et al. 2002). Las abejas obreras que fueron parasitadas durante su desarrollo comienzan antes con la búsqueda de alimento y tienen una esperanza de vida significativamente reducida (Amdam et al. 2004, De Jong et al. 1982, Schneider & Drescher 1987). Las abejas pecoreadoras parasitadas muestran una capacidad disminuida de aprendizaje no asociado, prolongada ausencia de la colonia y una menor tasa de retorno a la colonia (Kralj & Fuchs 2006, Kralj et al. 2007).

van Dooremalen et al. 2013 estudiaron la relación entre la parasitosis y la baja disponibilidad de alimento proteico (pan de las abejas) determinando la influencia negativa en las reservas proteicas de las abejas y su peso corporal. Por otro lado, observaron que el abundante suministro de polen no puede compensar la pérdida de peso ocasionada por la parasitosis en los primeros estadios de vida de las abejas (larvas).

V. destructor es un vector de varios virus de las abejas melíferas. Hasta ahora, se han aislado alrededor de 18 virus diferentes de las abejas melíferas (Chen & Siede, 2007) y muchos de ellos pueden ser vectorizados por los ácaros *Varroa*.

En la Fig. 1 se resume el ciclo reproductivo de *Varroa destructor* dentro de la celda de cría sellada de la abeja obrera, con la secuencia normal de los sexos de la descendencia del ácaro. Un ácaro hembra entra en la celda de cría poco antes de la operculación; aproximadamente 3 días después, se pone el primer huevo masculino seguido de hasta cuatro huevos femeninos. Dependiendo del período posterior a la clausura, uno o dos ácaros hijos maduros dejarán la celda de cría junto con el ácaro madre y la abeja que nace. Los números de la flecha corresponden a los días posteriores al taponamiento de las celdas (Rosenkranz et al. 2010).

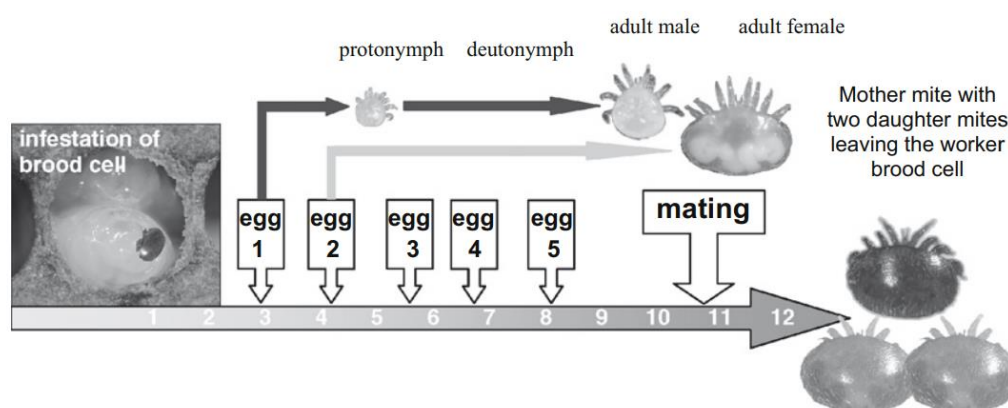


Fig. 1. Esquema general del ciclo biológico de *Varroa destructor* (tomado de Rosenkranz et al. 2010).

Nosemosis: breve descripción de la enfermedad

Las esporas son ingeridas por las abejas desde el alimento o el agua contaminada, llegan al buche melario y de aquí, después de atravesar el proventrículo, se dirigen al intestino medio después de unos diez minutos de haber sido ingeridos, donde favorecidas por los jugos intestinales, germinan.

La infección se inicia en la parte posterior del ventrículo y de allí se disemina a la parte anterior. Una vez dentro de la célula, el parásito aumenta su tamaño, inicia la división celular y pasa por todos los estadios (meronte, merozoíto, esporante, espora) hasta finalizar con una enorme cantidad de nuevas esporas (Fig. 2). Bajo condiciones óptimas, el desarrollo se completa entre 48 y 60 horas.

Debido al daño producido en el tracto digestivo, no se aprovecha convenientemente el alimento ingerido por la abeja. A consecuencia de esto, se produce una lenta debilitación generalizada de la colonia, que se manifiesta en la disminución de la vida media de las abejas, los movimientos y la respuesta de los estímulos de los individuos afectados. En reinas afectadas, además de estos síntomas, se presenta una disminución en su actividad de postura. Es muy importante la temperatura en la evolución del parasitismo de Nosema. Si ésta se mantiene entre 30°C y 35°C, una sola espora es capaz de infectar todo el ventrículo, aunque la dosis infectiva media es de aproximadamente 30 o 90 esporas por abeja. Cuando la infección alcanza su nivel máximo, una sola abeja puede albergar entre 30 a 50 millones de esporas.

Los daños directos se deben a las fuertes lesiones en el intestino, las abejas aparecen con el abdomen abultado, débiles, presentan inicialmente cierta excitabilidad, después letargo, pierden la capacidad de vuelo, se imposibilita el aguijoneo, sufren una notable parálisis y finalmente se mueren. Desde el punto de vista fisiológico, se pierde la incorporación de nutrientes, disminuye la concentración de lípidos y proteínas en hemolinfa y la vida media de las abejas afectadas se reduce de un 20 a 40 %. Esto provoca una marcada disminución en la población de abejas adultas en la colmena.

Los daños indirectos de la parasitosis por *Nosema*, son de suma gravedad. Al estar lesionado el aparato digestivo, las abejas no pueden digerir adecuadamente los alimentos por lo que el consumo de las reservas corporales aumenta entre un 20 y 30 %. Esto lleva a una disminución en la producción de miel. Al no poder digerir los nutrientes necesarios para el correcto funcionamiento del sistema glandular, se pierde la actividad de las glándulas hipofaríngeas que terminan atrofiándose y dejan de ser funcionales por lo que la cría tampoco recibe la alimentación correcta en cantidad y calidad. Las abejas jóvenes mueren rápidamente, no pueden reemplazar a las abejas pecoreadoras y se desencadena un desequilibrio en la población, la colmena se debilita y nunca llega a desarrollarse. La tolerancia a otras enfermedades es menor cuando las colmenas están afectadas por Nosemosis (Vivas Espinosa 2015).

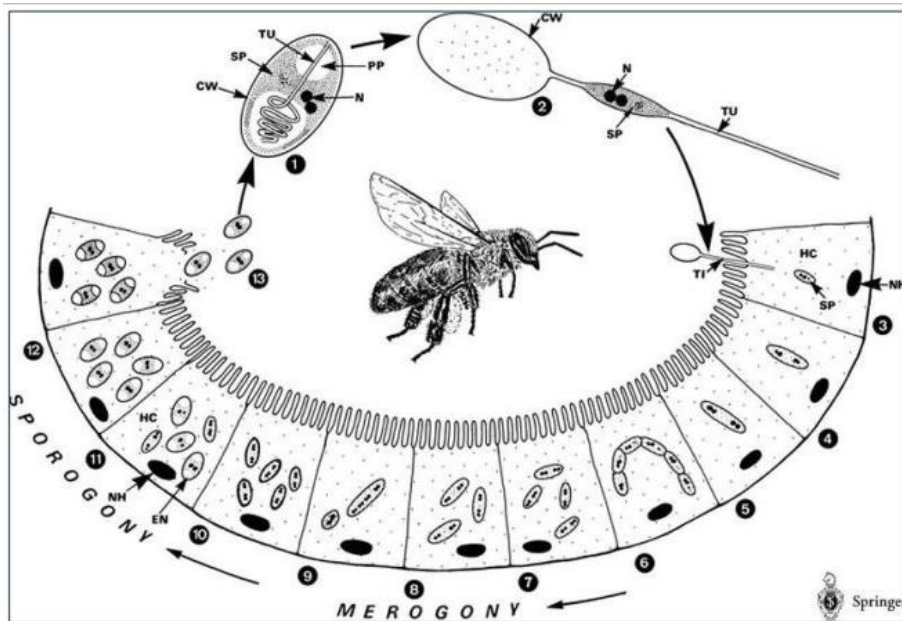


Fig. 2. Esquema general del ciclo biológico intracelular de *Nosema* spp. (tomado de Mehlhorn 2007).

OBJETIVO GENERAL

O.G. Estudiar la dinámica poblacional de *Varroa destructor* y *Nosema spp.* en colonias curadas con ácido oxálico y no curadas de *Apis mellifera* y su relación con la calidad proteica del polen que colectan y consumen en Corrientes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O.E. I. Evaluar la dinámica poblacional de *Varroa destructor* y *Nosema spp.* en apiarios con y sin tratamientos antiparasitarios.

O.E. II. Determinar el contenido proteico de las cargas corbiculares mediante la evaluación del contenido en nitrógeno total.

O.E. III. Caracterizar las cargas corbiculares producidas en apiarios desde el punto de vista botánico y geográfico.

OE. IV. Relacionar la oferta nutricional del polen corbicular con la dinámica de las colonias de abejas y de los parásitos estudiados.

O.E. V. Realizar un estudio de base de fácil transferencia al sector productivo a fin de favorecer la producción y proponer estrategias de control integrado de enfermedades.

HIPÓTESIS DEL TRABAJO [H]

[H]-1: El estado sanitario de las colonias de abejas está relacionada con la calidad proteica del polen disponible.

[H]-2: Existe una relación directa entre los niveles de proteínas de las cargas corbiculares y el desarrollo poblacional de las colmenas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los objetivos específicos propuestos se alcanzaron mediante una serie de tareas que se cumplieron mediante la ejecución de actividades organizadas en cuatro bloques:

Bloque 1-Trabajo De Campo

Selección de apiario: el apiario seleccionado (Fig. 3. A, B y C) para realizar el trabajo está instalado en la localidad Ingenio Primer Correntino, Dpto. San Cosme de la provincia de Corrientes. El apiario que fue utilizado para realizar el muestreo se encuentra geo-referenciados. Se seleccionaron el 50% de las colmenas disponibles en el apiario, tratando de que sean lo más uniformes posibles en cuanto a la población de abejas. Estas fueron testeadas mediante el método del frasco para determinar el porcentaje de infestación con *Varroa* (Marcangeli 2000). A partir de ese dato se seleccionaron cinco (5) colmenas que registraron menor porcentaje de infestación para luego ser tratadas con ácido oxálico y seis (6) colmenas con porcentajes de infestación más altos que no recibieron tratamiento. El producto comercial que se utilizó fue “ALUEN CAP”, formulado para el control de *Varroa destructor* aprobado por SENASA, de carácter orgánico y de una sola aplicación. Formulación: Tiras de celulosa embebidas en 10g de ácido oxálico y 20ml de excipientes (C.S.F). El tratamiento se realizó por única vez aplicando dos tiras en la cámara de cría de cada colmena tratada, durante un periodo de 40 días (Fig. 3. H).

Muestreo de cargas corbiculares: se colocaron trampas caza-polen en la piquera de todas las colmenas seleccionadas para realizar el ensayo, durante momentos claves en el desarrollo de las colonias de abejas. Las muestras fueron colocadas en frascos bien cerrados, rotuladas y conservadas en freezer (Fig. 3. D y E).

Muestreo de abejas: se realizó el estudio de la dinámica poblacional de *Varroa destructor* desde inicio de temporada hasta la cosecha y *Nosema* spp. en tres ocasiones, inicio, mitad y fin de temporada (Fig. 3. F). En cada colmena se registró mensualmente las siguientes variables:

- Población de abejas por colmena: se contabilizó el número de cuadros cubiertos por abejas. Este número dividido por 2 fue multiplicado por 1.100 para obtener el total de abejas adultas presentes en la colonia (Dietemann et al. 2013).
- Área de cría: en este trabajo se adoptó el registro de datos en porcentajes de cada lado del cuadro y luego se realizó un promedio (Lam. 1, G). Se estima que hay 7000 celdas de obreras en cada cuadro, se realizó una división imaginaria del mismo en 10 sub-áreas y se utilizó una escala porcentual (Fig. 4. A) para estimar la superficie del panal cubierta con cría (Murilhas 2002).
- Porcentaje de infestación con *Varroa* en abejas adultas: se tomaron muestras de aproximadamente 300 abejas nodrizas de dos o tres cuadros de cría diferentes y se colocaron en un frasco debidamente rotulado, conteniendo agua y alcohol (1:1) (Marcangeli 2000). Se registró el número de ácaros y el número de abejas y se calculó el porcentaje de parasitación de *Varroa destructor*, aplicando la fórmula: (número de ácaros/número de abejas que componen la muestra) * 100 (Fig. 4. B y C).

Bloque 2-Estudios de Laboratorio

Análisis polínico de cargas corbiculares: las muestras fueron secadas, clasificadas y pesadas por color (Fig. 5. A - I), posteriormente procesadas para determinar su origen floral mediante la técnica de Erdtman (1960).

Análisis químico de cargas corbiculares: una vez acondicionadas las cargas se determinó Nitrógeno total por el método por método semi-micro Kjeldahl por Bremmer & Mulvaney (1982).

Análisis de Prevalencia y Abundancia de Nosema: el recuento de esporas de *Nosema* spp. (Fig. 4. D - I) se realizó siguiendo el protocolo publicado por Sarlo et al. (2020) del Centro de Investigación en Abejas Sociales (CIAS), que se detalla a continuación:

Prevalencia: La prevalencia de la enfermedad se estima como “presencia” o “ausencia” de esporas utilizando 25-30 individuos por colonia/muestreo. A las abejas se les secciona el abdomen para su posterior procesamiento y visualización bajo microscopio óptico.

Abundancia: El concepto de abundancia o densidad relativa se refiere al número promedio de parásitos de una especie particular que se encuentran presentes en una muestra. La cuantificación de la abundancia media se lleva a cabo promediando el número de esporas en una muestra compuesta por 60 abejas pecoreadoras. Triturados en mortero los abdómenes hasta alcanzar una pasta homogénea en la cual no puedan distinguirse estructuras de tejido particulares. Se agrega 1ml de agua (destilada o agua corriente) por cada abeja que haya procesado. Si se alcanzó a coleccionar 60 abejas para el análisis, el contenedor se preparará con 60ml. El número de recuentos de esporas de *Nosema* sp./abeja fue determinado mediante microscopio óptico y hemocitómetro (Cámara de Neubauer), siguiendo la metodología reportada por Cantwell (1970). Si se presentan más de una espora por cuadrado pequeño (cada uno de la cuadrícula de 16), se cuentan cinco cuadrados grandes (cuatro esquinas y el centro). El cálculo es el siguiente: $\text{Esporas/ml} = 5 \times 10.000 \times \text{el número de esporas en la cuenta}$. Posteriormente, se clasificaron las colmenas de acuerdo a los grados de infección siguiendo la escala de valoración propuesta por Cornejo y Rossi (1975).

Tabla 1. Escala de valoración de *Nosema* sp. (Cornejo y Rossi 1975).

Valoración en grados equivalentes en miles de esporas por mm ³		Nivel
5	Más de 1.000.000 por mm ³	Muy grave
4	De 800.000 a 1.000.000 esporas/mm ³	Grave
3	De 600.000 a 800.000 esporas/mm ³	Medio
2	De 100.000 a 600.000 esporas/mm ³	Leve
1	De 10.000 a 100.000 esporas/mm ³	Muy leve

Bloque 3- Trabajo de Gabinete

Consulta bibliográfica: fue permanente la utilización de bibliografía clásica y específica relacionada a los temas que incluye el proyecto.

Descripciones de la morfología polínica: se describió la morfología polínica de los granos presentes en las cargas corbiculares, previamente separadas por color. De esta manera se contó con una completa colección de preparados palinológicos que sirven como referencia para los análisis de polen en reservas y mieles de la región. Para la descripción de los granos de polen se utilizó el último glosario de Palinología, actualizado por Punt et al. (2007).

Análisis estadísticos: los datos obtenidos fueron sometidos a diferentes métodos estadísticos. Se emplearon análisis estadísticos descriptivos, se aplicaron técnicas gráficas para mostrar el comportamiento de las variables estudiadas y se confeccionaron tablas y cuadros comparativos de los datos obtenidos. Se realizó análisis de regresión, prueba de hipótesis Test de Student, análisis de varianza con prueba de Pearson. Los programas utilizados fueron aplicaciones estadísticas de Excel y InfoStat (Di Renzo et al. 2020).

Análisis, discusión y publicación de los resultados: los resultados obtenidos fueron organizados sistemáticamente con la finalidad de publicarlos en revistas científicas especializadas. Los resultados obtenidos se presentaron en Congresos Científicos en el orden Regional, Nacional e Internacional. Posteriormente, se publicarán en revistas especializadas y publicaciones de divulgación científica, a fin de difundir la información al sector productivo.



Fig. 4. Bloque 1- Trabajo de Campo: A y B, vista general del apiario seleccionado. C, preparación previa al ingreso al apiario. D, muestreo de cargas corbiculares con trampa caza-polen colocadas en la piquera de la colmena. E, muestra de polen recolectado durante 24h por la trampa caza-polen. F, toma de muestras de abejas nodrizas para determinación de *Varroa* forética. G, toma de datos del estado de la cámara de cría. H, aplicación de tiras de ácido oxálico para el tratamiento sanitario contra *Varroa*.



Fig. 5. Bloque 1- Trabajo de Campo: A, estimación del área destinada a cría y reservas (polen y miel) de la cámara de cría. **Bloque 2- Estudios de Laboratorio:** B, muestras de abeja rotuladas por colmena para determinación de *Varroa*. C, conteo de abejas y *Varroa* para determinar porcentaje de infestación. D, muestras de abejas retornantes para determinar prevalencia y abundancia de *Nosema* sp. E, materiales necesarios para preparar las muestras de abdomen de abejas para determinar infección con *Nosema* sp. F, disección del abdomen de la abeja. G, abdómenes separados y macerados en tubos individuales para determinar prevalencia. H, abdómenes macerados en mortero para determinar abundancia relativa. I, esporas de *Nosema* sp. encontradas en las muestras vistas con M.O.



Fig. 6. Bloque 2- Trabajo de Laboratorio: A, muestra de polen corbicular obtenido a campo. B, clasificación de la muestra por colores. C, almacenamiento de submuestras de polen en tubos Eppendorf. D, pesaje de las submuestras. E-G, etapas del pocesamiento de las muestras de polen mediante el método de acetólisis: E, baño térmico; F, concentración de polen mediante centrifugación a 1500 rpm y G, sedimento polínico. H, montaje en preparados permanentes. I, observación y registro fotográfico con microscopio óptico.

RESULTADOS

Eje 1. CAMARA DE CRIA

Desarrollo del nido durante el periodo analizado

Los resultados obtenidos a partir del registro del desarrollo de la cámara de cría en cada colmena en estudio y para cada uno de los seis (6) muestreos realizados se detallan en el ANEXO I. En la Fig. 6 se resumen los valores promedios teniendo en cuenta dos (2) grupos de colmenas en estudio. El Grupo 1 (G1) formado por 5 colmenas seleccionadas para aplicar tratamiento sanitario contra varroosis y el Grupo 2 (G2) está constituido por 6 colmenas no tratadas.

Analizando el conjunto de colmenas tratadas (Grupo 1) y no tratadas (Grupo 2) se puede observar que en líneas generales el área destinada a cría (larvas de abejas) se mantuvo constante (rondando el 50% en casi todos los casos). En los diferentes muestreos el área destinada a polen y miel fue cambiando, posiblemente debido al ingreso estacional de polen y néctar, y disminuyendo progresivamente el área vacía de los panales.

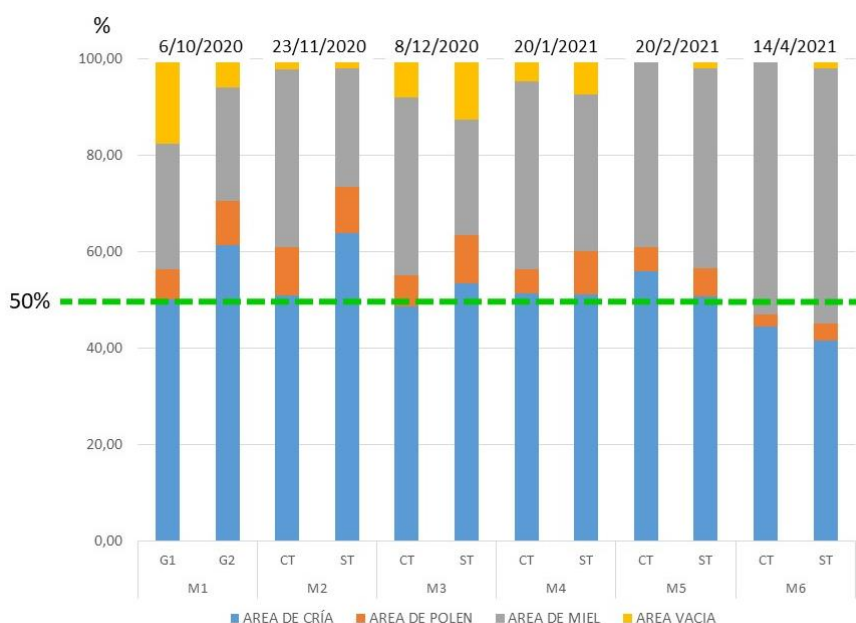


Fig. 6. Promedio de los porcentajes de representación de cría, reservas de alimentos (polen y miel) y celdas vacías en la cámara de cría. Referencias: G1: Grupo 1, G2: Grupo 2, Muestreos: M1 – M6. Colmenas con tratamiento: CT y colmenas sin tratamiento: ST.

Eje 2. POLEN

Estudio polínico de cargas corbiculares: origen botánico y geográfico

El estudio microscópico de las cargas de polen permitió registrar 79 taxa en total, de las cuales 63 fueron identificadas en distintos niveles taxonómicos: 27 taxa a nivel específico, 9 a nivel de genérico, 15 a nivel de tipo polínico y 12 a nivel de familia. En tanto que, 16 corresponden a taxa indeterminados aún (Fig. 7). Fueron reconocidas 31 familias de Angiospermas, el 84% corresponde a Eudicotiledóneas y 16% a Monocotiledóneas (Tabla 2). Predominaron en un 81% las especies nativas sobre un 9% de especies exóticas (adventicias o cultivadas).

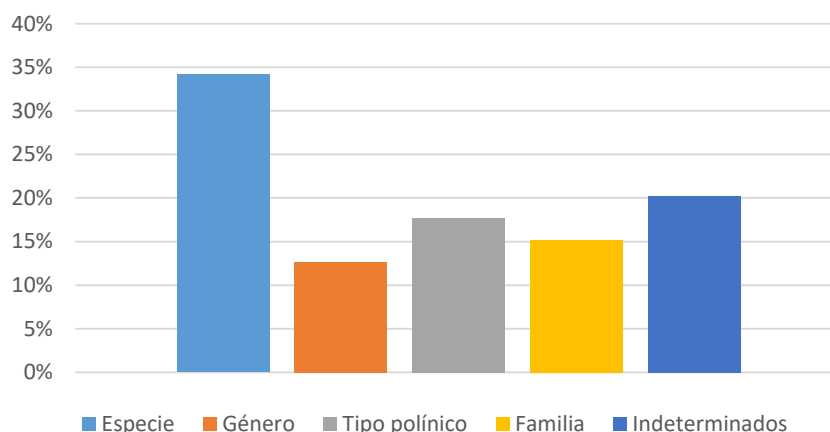


Fig. 7. Porcentajes de taxa encontrados y nivel de identificación alcanzado.

Las familias mejor representadas respecto del número de taxa identificados fueron las Fabaceae (8 taxa), Arecaceae y Onagraceae presentaron 6 taxa cada una, 5 taxa de Asteraceae; Anacardiaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae, Lythraceae, Mirtaceae y Solanaceae por 3 taxa cada una. Otras familias (23) estuvieron representadas solamente por 1 taxa (Fig. 8). Los taxa identificados y agrupados por familias se listan en la Tabla 2 indicando su presencia en los diferentes muestreos y frecuencia de aparición.

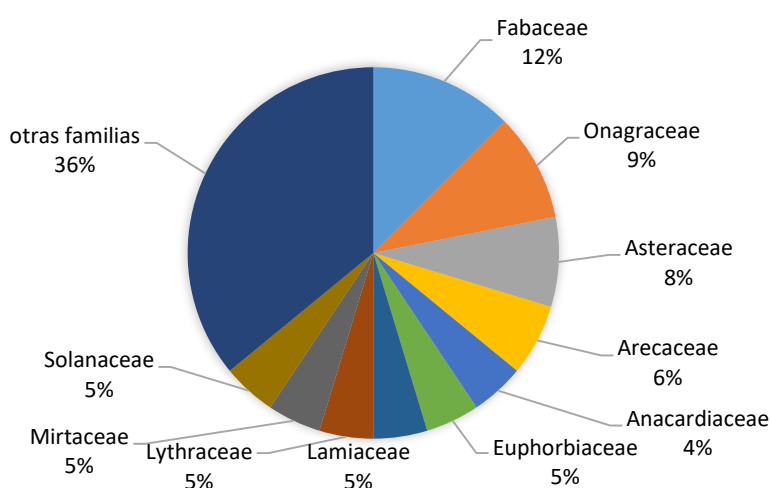


Fig. 8. Familias representadas en las cargas corbiculares.

Tabla 2. Listado de taxa reconocidos en cada muestreo. Referencias: número de familias: N. Muestreos: M1 – M2 – M4 – M5 – M6. Frecuencia de aparición: F. El asterisco (*) indica que la especie es exótica. Las especies resaltadas fueron las seleccionadas para análisis proteico.

N	Familia	Taxa	M1	M2	M4	M5	M6	F
1	Anacardiaceae	<i>Astronium balansae</i>	0,544					20%
		<i>Schinopsis balansae</i>	2,27		37,20	1,04		60%
		<i>Schinus molle</i>		0,018			0,042	40%
2	Apiaceae	<i>Eryngium</i> sp.		0,004	0,754			40%
3	Arecaceae	Palmera 1			1,042			20%
		Palmera 2				0,254		20%
		<i>Syagrus romanzoffiana</i>	1,408		0,234			40%
		Indeterminada			1,157	0,590		40%
4	Asteraceae	Indeterminada		0,028				20%
		<i>Senecio grisebachii</i>	12,09					20%
		<i>Tessaria integrifolia</i>				0,05		20%
		Tipo-Baccharis				2,340	2,75	40%
		<i>Vernonia</i> sp.	0,009		0,024	0,14	0,031	80%
5	Brassicaceae	Tipo-Brassica				0,04		20%
6	Cactaceae	Tipo-Cereus				0		20%
7	Calyceraceae	<i>Acicarpha tribuloides</i>	0,061					20%
8	Cecropiaceae	<i>Cecropia pachystachya</i>		0,019	0,092	0,109	0,015	80%
9	Commelinaceae	<i>Commelina erecta</i>		0,338	1,549	0,36	0,133	80%
10	Cyperaceae	Cyperaceae			0,434	3,21		40%
11	Ericaceae	Tipo-Rhododendron *			0,307		0,065	40%
12	Euphorbiaceae	<i>Sapium haematospermum</i>	0,655	0,755				40%
		Tipo-Croton			2,191	1,26	0,032	60%
		<i>Euphorbia</i> sp.	1,572					20%
13	Fabaceae	<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	16,69	0,026	0,129			60%
		<i>Erythrina crista-galli</i>	0,352	0,151	0,174			60%
		<i>Gleditsia amorphoides</i>	1,099					20%
		<i>Medicago</i> sp.					2,132	20%
		<i>Peltophorum dubium</i>		0,020	0,036			40%
		<i>Prosopis</i> sp.	0,299					20%
		Tipo-Adesmia	0,102					20%
		Tipo-Melilotus *				0,01		20%
		Tipo-Senna		0,019				20%
14	Geraniaceae	<i>Geranium</i> sp.					1,399	20%
15	Lamiaceae	Indeterminada			0,137			20%
		Tipo-Hyptis				0,73		20%
		Tipo-Salvia				0,09		20%
16	Lauraceae	<i>Persea americana</i> *				0,18		20%
17	Lythraceae	<i>Boungainvillea</i> sp.	0,002				0,019	40%
		<i>Heimia obtusifolia</i>	0,2	2,174				40%
		<i>Lagerstroemia indica</i> *				0,48		20%
18	Malvaceae	Tipo-Malva				0,09		20%
19	Menyanthaceae	<i>Nymphoides indica</i>		0,043				20%
20	Mirtaceae	<i>Eucalyptus</i> sp. *			0,015	0,07		40%
		<i>Eugenia uniflora</i>		0,019				20%
		Tipo-Myrcianthes			0,068	0,01	0,651	60%
21	Onagraceae	Indeterminada 1				2,035		20%
		Indeterminada 2			0,233	4,732	1,016	60%

		Indeterminada 3				7,65		20%
		Tipo-Ludwigia			1,362			20%
		Tipo-Oenothera	0,057			0,01		40%
22	Orobanchaceae	<i>Agallinis communis</i>			0,023		0,750	40%
23	Oxalidaceae	<i>Oxalis</i> sp.		0,012				20%
24	Poaceae	Poaceae			0,416	4,29	0,543	60%
25	Polygonaceae	<i>Polygonum hydropiperoides</i>			0,005	0,17	0,357	60%
26	Portulacaceae	Tipo-Portulaca			0,754		0,846	40%
27	Proteaceae	<i>Grevillea robusta</i> *					0,87	20%
28	Ranunculaceae	<i>Clematis montevidensis</i>	4,016	0,018				40%
29	Rubiaceae	<i>Borreria verticillata</i>				0,110		20%
30	Rutaceae	<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>			14,98		0,580	40%
31	Salicaceae	<i>Salix humboldtiana</i>					0,04	20%
32	Sapotaceae	<i>Sideroxylon obtusifolium</i>	0,127					20%
33	Solanaceae	<i>Brugmansia</i> sp.	0,073					20%
		Tipo-Solanum					0,177	20%

Algunas especies mencionadas en la Tabla 2 se ilustran con microfotografías de MO y MEB en las Fig. 9 y 10. Respecto al origen geográfico, se observó que el polen colectado por las abejas muestra componentes de la vegetación característicos de la Ecorregión Chaqueña, específicamente Chaco Húmedo, caracterizado por *Schinopsis balansae*, *Tessaria integrifolia*. También se observa la presencia de algunos componentes de la Ecorregión Paranaense como ser: *Cecropia pachystachya* y *Salix humboldtiana*.

Cabe destacar la presencia de especies cultivadas tales como: *Eucalyptus* sp., *Grevillea robusta*, *Persea americana*, debido a que el apiario en estudio se encuentra ubicado en una zona suburbana.

El color de las cargas corbiculares y su relación con el origen floral

Se reconocieron 8 grupos de colores: rojo, anaranjado, amarillo, blanco, verde, marrón, gris y negro, en cada conjunto se distinguieron cargas con distinta intensidad del color, tonalidades y consistencia. En líneas generales el color podría constituir una buena referencia para determinar el origen floral, debido a que es constante en algunas especies (por ejemplo, el polen de *Erythrina crista galli* “ceibo” es de color verde y *Commelia erecta* “flor de Sta. Lucia” es de color naranja, son cargas pequeñas y compactas). Sin embargo, se observó que el color no siempre es constante ya polen procedente de distintos orígenes florales presenta el mismo color (por ejemplo, *Schinopsis balansae* “quebracho colorado”, *Senecio grisebachii* “primavera”, *Agallinis communis* y *Lagerstroemia indica* “crespón” fueron identificadas en cargas de color anaranjadas). También puede suceder que el polen perteneciente a la misma especie presente variaciones en la tonalidad del color (por ejemplo, *Cecropia pachystachya* “ambai” se encontró en cargas de colores muy variables que van desde colores claros como amarillo y blanco hasta marrón, incluso negro).

Diversidad específica y dinámica estacional

Respeto a la dinámica de colecta de polen, en cada muestreo se observaron diferentes situaciones respecto del volumen de polen y la diversidad de taxa acopiados (Tabla 3). En este sentido, los mayores volúmenes recolectados fueron durante el mes de octubre (primavera), mientras que en noviembre (primavera) se registró un menor ingreso de polen coincidiendo con

el inicio del bache de floración. En el mes de diciembre no hubo colecta de polen marcando el momento de escasas de floración coincidiendo con los registros de mayor temperatura del año. Durante enero (verano) se presenta el segundo momento de oferta de floración y continua en febrero, aunque con menor volumen total, manteniendo la diversidad de especies acopiadas. Finalmente, en el mes de abril (otoño) el volumen total cae mostrando la disminución de la oferta, sin embargo, se aprecia mayor diversidad de especies en las cargas acopiadas. Esto puede indicar que las abejas están colectando todo lo que encuentran disponible en el ambiente.

Tabla 3. Resumen del volumen colectado y cantidad de taxa.

Muestreos	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Fecha	6/10/2020	23/11/2020	8/12/2020	20/1/2021	20/2/2021	14/4/2021
Peso total (g)	41,909	9,016	0	69,601	37,106	14,683
N° Taxa identificados	20	19	-	29	27	31
Estación	PRIMAVERA			VERANO		OTOÑO

Contenido proteico de las cargas corbiculares

Las especies con mayor volumen y frecuencia registrados fueron analizadas químicamente para estimar el aporte proteico de cada una de ellas en los respectivos muestreos (Tabla X).

Tabla 4. Aporte proteico de algunas especies analizadas. Referencias: proteína bruta: PB.

Taxa	Familia	Abundancia (gr)	Frecuencia	Nit. Total (%)	PB
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	Fabaceae	16,85 g	60%	3,177	19,86
<i>Heimia salicifolia</i>	Lythraceae	2,17 g	20%	2,942	18,39
<i>Ludwigia</i> sp.	Onagraceae	7,65 g	20%	3,446	21,54
<i>Medicago</i> sp.	Fabaceae	2,13 g	20%	2,854	17,84
<i>Schinopsis balansae</i>	Anacardiaceae	40,52 g	60%	3,022	18,89
<i>Schinus molle</i>	Anacardiaceae	4,60 g	20%	2,713	16,96
<i>Senecio grisebachii</i>	Asteraceae	12,09 g	20%	1,760	11,00
<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>	Rutaceae	15,56 g	40%	3,071	19,19

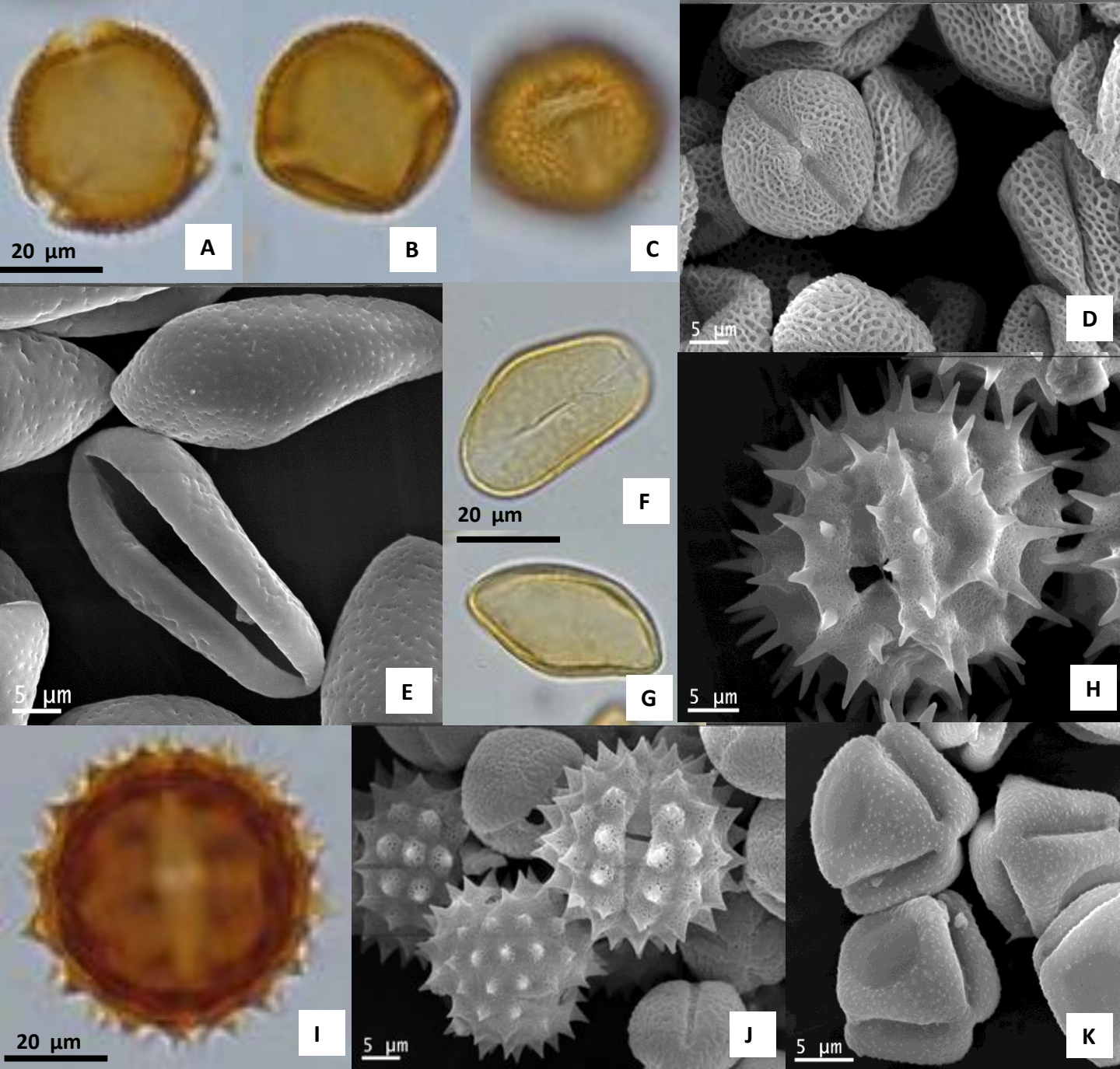


Fig. 9. Granos de polen presentes en las cargas corbiculares. Anacardiaceae: *Schinus molle*: MO: A, vista polar en corte óptico. B, vista ecuatorial en corte óptico. C, vista ecuatorial en foco superior. MEB: varios granos de polen en distintas vistas. **Arecaceae: *Syagrus romanzoffiarum*** MEB: E, varios granos de polen en distintas vistas. MO: F, vista polar en foco superior. G, vista ecuatorial en corte óptico. **Asteraceae: *Vernonia chamaedrys*** MEB: H, visa ecuatorial. *Senecio grisebachii* MO: I, vista ecuatorial en corte óptico. MEB: J, vista ecuatorial y polar. **Calyceraceae: *Acicarpha tribuloides*** MEB: K, varios granos de polen en distintas vistas.

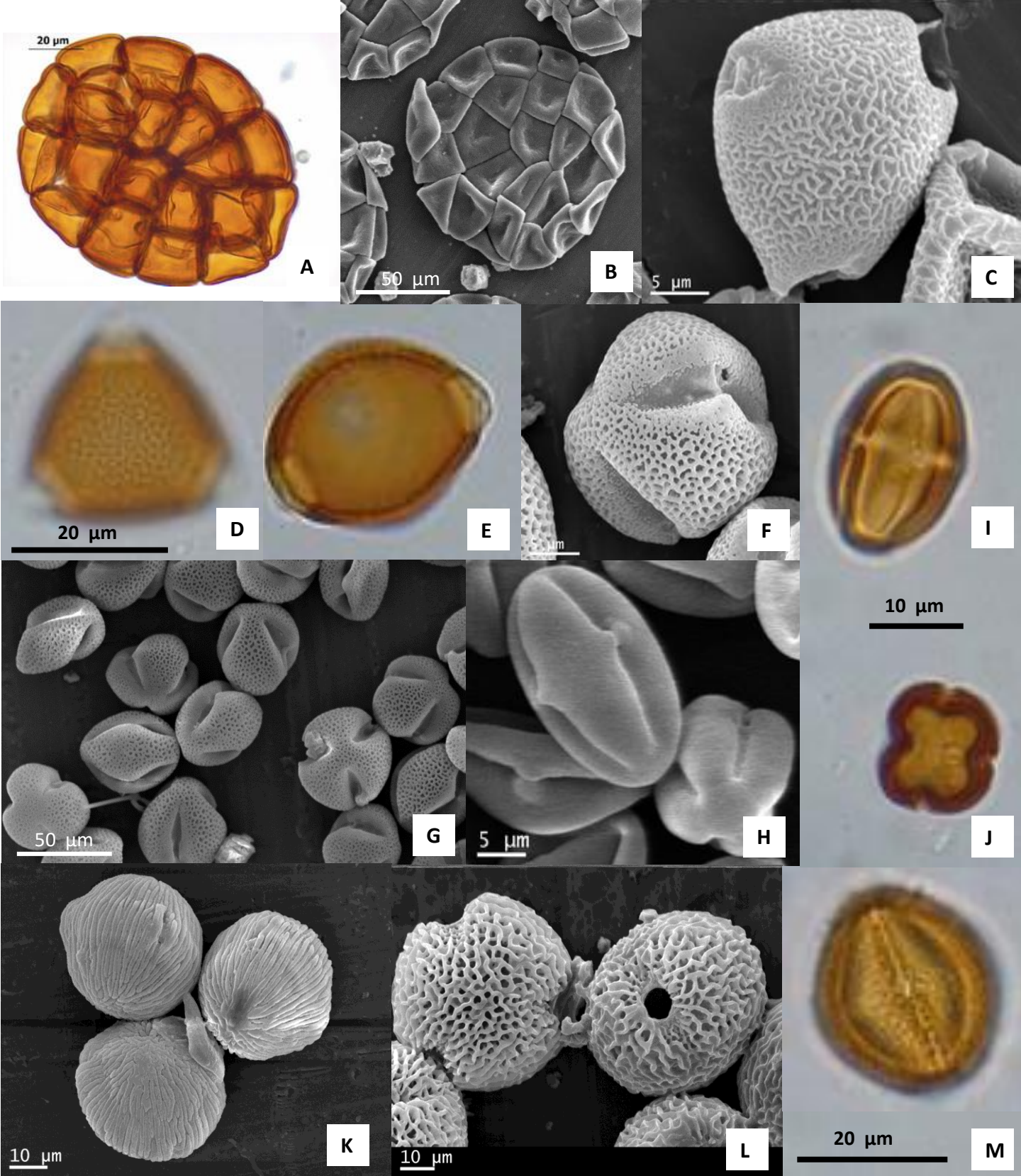


Fig. 10. Granos de polen presentes en las cargas corbiculares. Fabaceae: *Enterolobium contortisilicum* MO y MEB: A y B, vista general de la políade. *Erythrina crista-galli* MEB: C, vista subpolar. MO: D, vista polar en foco superior. E, vista ecuatorial en corte óptico. *Gleditsia amorphoides* MEB: F, vista subecuatorial. G, varios granos de polen en distintas vistas. **Sapotaceae:** *Sideroxylon obtusifolium* MEB: H, vista ecuatorial y polar. MO: I, vista ecuatorial en foco superior. J, vista polar en corte óptico. **Solanaceae:** *Brugmansia* sp. MEB: K, visa general de varios granos. **Nyctaginaceae:** *Boungainbilla* sp. MEB: L, vista polar y ecuatorial. **Ranunculaceae:** *Clematis montevidensis* MO: M, vista ecuatorial en foco superior.

Eje 3. VARROOSIS

Infestación de Varroa en estado forético

Los resultados obtenidos para cada colmena y durante todos los muestreos se resumen en la Tabla 5. Los datos completos y cálculos realizados se encuentran en el ANEXO II.

Tabla 5. Porcentajes de infestación de *Varroa* forética.

COLMENAS	MUESTREO 1 (06/10/2020)	MUESTREO 2 (23/11/2020)	MUESTREO 3 (08/12/2020)	MUESTREO 4 (20/01/2021)	MUESTREO 5 (20/02/2021)	MUESTREO 6 (14/04/2021)
1	1,69	2,99	6,71	6,04	5,86	3,04
2	0,99	0,30	0,00	0,53	2,65	1,18
3	1,47	1,75	1,19	2,29	1,29	1,75
4	1,28	0,00	0,00	0,00	0,25	1,22
5	0,62	0,26	0,26	0,00	0,38	1,99
6	1,83	1,54	2,94	3,81	3,09	4,14
7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,66
8	2,82	3,73	2,14	2,89	4,82	0,79
9	4,47	2,43	0,95	3,52	1,37	0,82
10	0,00	0,00	0,00	2,74	0,94	1,52
11	1,64	0,74	0,97	1,40	0,75	1,52

Comportamiento individual de las colmenas CON y SIN tratamiento

En el Grupo 1, formado por las colmenas con tratamiento se observó que el porcentaje de infestación disminuyó en el muestreo inmediato post tratamiento (M2) en todas las colmenas. A partir del M4 se observó un incremento de la infestación en las C2 y C10, en tanto que en las C4 y C5 el incremento recién se vio en el M5. Por su parte, la colmena C7 mantuvo su nivel de infestación en 0% desde el primer muestreo hasta el último, en el cual tuvo un leve ascenso poblacional de *Varroa* llegando a un 0,66% (Fig. 11).

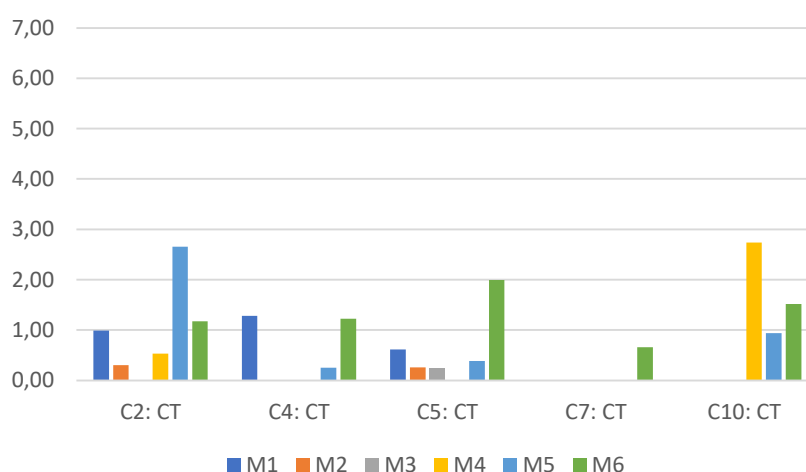


Fig. 11. Valores de infestación de *Varroa* en colmenas con tratamiento. Referencias: Porcentaje de infestación: 0 – 7. Colmenas: C2, C4, C5, C7 y C10. Con tratamiento: CT. Muestreos: M1 – M6.

Respecto al Grupo 2, constituido por las colmenas sin tratamiento se observaron diferentes comportamientos. En la Fig. 12 se puede ver que la colmena C1 muestra un crecimiento abrupto hasta llegar a un máximo de 6,7% de infestación en el M3 y luego decrece hasta llegar a un 3% en el M6. En cuanto a la colmena C6, se observa una tendencia creciente de la infestación llegando a 4,1% como máximo en el M6. Con respecto a las colmenas C8 y C9, el comportamiento es variable entre muestreos y notable en cuanto al marcado descenso del porcentaje de infestación siendo menor al 1%. Finalmente, las colmenas C3 y C11, muestran porcentajes bajos y más o menos estables entre los diferentes muestreos.

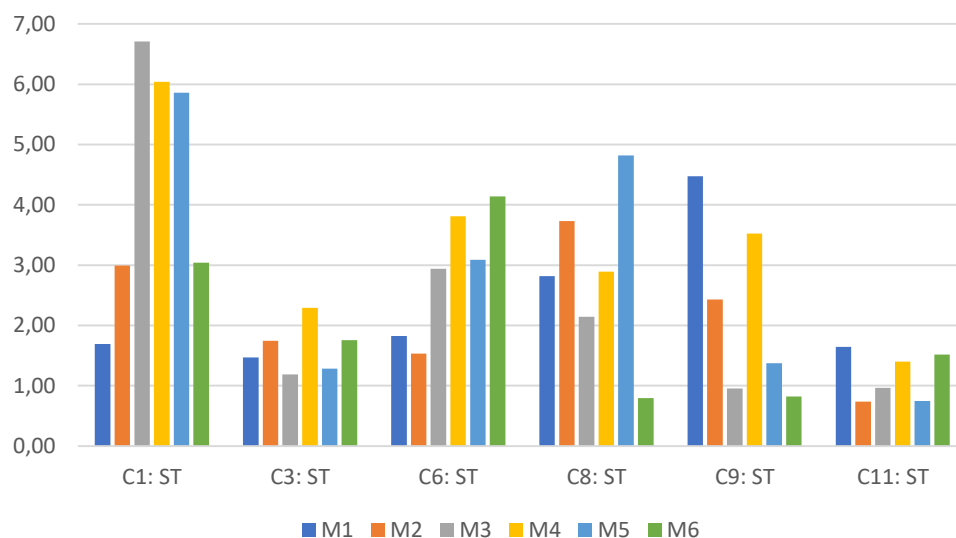


Fig. 12. Valores de infestación de *Varroa* en colmenas sin tratamiento. Referencias: Porcentaje de infestación: 0 – 7. Colmenas: C1, C3, C6, C8, C9 y C11. Sin tratamiento: ST. Muestreos: M1 – M6.

Analizando el comportamiento del conjunto de colmenas con tratamiento y sin tratamiento se observa lo siguiente: las colmenas tratadas muestran un descenso en el nivel de infestación que se mantiene hasta el M3 y luego inicia un lento ascenso hasta llegar a 1,3% en el M6 (Fig. 13).

Por su parte, los valores promedio registrados de las colmenas sin tratamiento muestran inicialmente una meseta hasta el M2 de 2,2% de infestación. A partir del M3 se observa un marcado ascenso llegando a un 3,3% en el M4 y posteriormente inicia su descenso en el M5 llegando a porcentajes promedio (2%) en el M6, menores incluso al estado inicial.

Cabe destacar que, a pesar de tener siempre un nivel de infestación mayor, las colmenas no tratadas nunca superaron el 3,5% de infestación promedio, lo que podría indicar que el ecotipo de abeja de la región posee un buen comportamiento higiénico frente a *Varroa*.

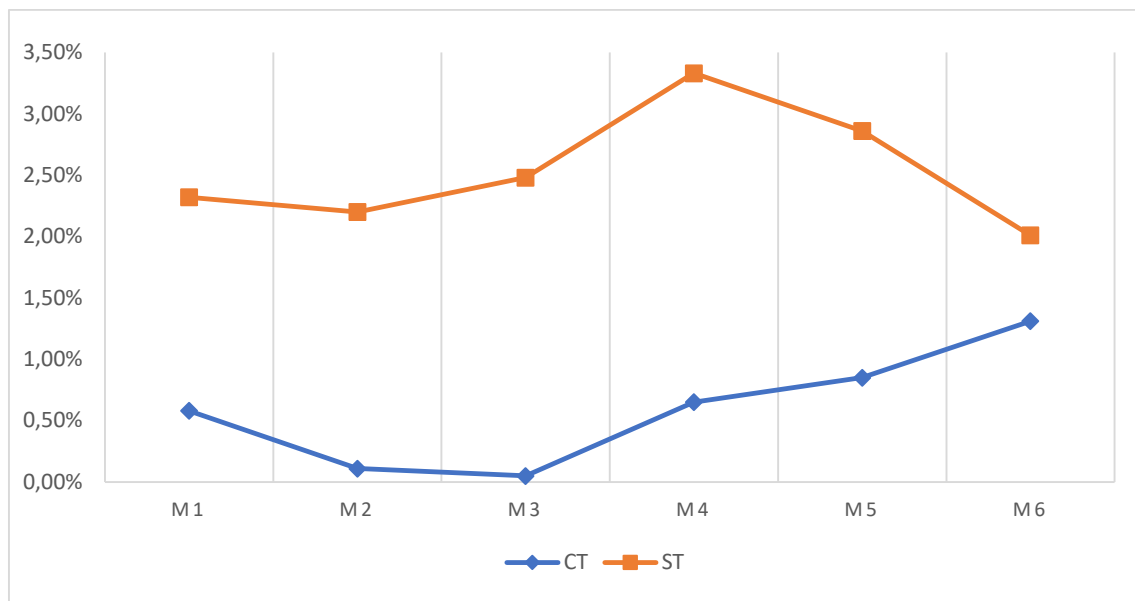


Fig. 13. Resultados de los porcentajes promedio de cada conjunto de colmenas. Con Tratamiento: CT. Sin Tratamiento: ST.

Eje 4. NOSEMOSIS

Prevalencia y abundancia de esporas

El estudio de *Nosema* sp. se realizó en tres ocasiones: al inicio, a la mitad y al final del ensayo, coincidiendo esto con los muestreos 1, 4 y 6, respectivamente. Se analizaron las once (11) colmenas en estudio.

La prevalencia indica la presencia o ausencia de la enfermedad. En este sentido, el 18% del total de las muestras analizadas resultaron positivo para presencia de *Nosema* sp., mientras que el 82% resultaron negativas.

En la Tabla 5 se exponen los resultados de **prevalencia** expresados en porcentajes y **abundancia** en número promedio de esporas por abeja en cada una de las colmenas estudiadas y los grados de valoración equivalentes a la incidencia de la enfermedad.

Tabla 5. Valores determinados de *Nosema* sp. Referencias: Colmenas: C1 – C11. Prevalencia: P. Grados de valoración propuestos por Cornejo y Rossi (1975): V.

Colmenas	M1 - 06/10/20			M4 - 20/01/21			M6 - 14/04/21		
	P (%)	Abundancia	V	P (%)	Abundancia	V	P (%)	Abundancia	V
C1	14,29%	1600000	5	0,00%	25000	1	9,52%	1300000	5
C2	14,29%	900000	4	0,00%	75000	1	0,00%	300000	2
C3	0,00%	0	0	0,00%	0	0	0,00%	100000	1
C4	14,29%	250000	2	0,00%	0	0	4,76%	150000	2
C5	4,76%	100000	1	4,76%	0	0	9,52%	100000	1
C6	19,05%	900000	4	0,00%	25000	1	9,52%	450000	2
C7	0,00%	150000	2	4,76%	100000	1	0,00%	0	0
C8	0,00%	100000	1	0,00%	25000	1	0,00%	0	0
C9	4,76%	50000	1	0,00%	0	0	0,00%	0	0
C10	0,00%	0	0	0,00%	0	0	0,00%	0	0
C11	0,00%	0	0	0,00%	0	0	0,00%	0	0

En cuanto a prevalencia, los datos obtenidos muestran que en la C1 decae la prevalencia de 14,29% en el M1 a 0% en el M4, pero nuevamente asciende en el M6 a 9,52%. Ese mismo comportamiento se observa en la C4 y C6. La C7 se caracteriza por una dinámica inversa, mostrando resultados de 0% a inicio y fin del ensayo, manifestando un leve ascenso en el M4 (4,76%). Mientras tanto, las C2 y C9 iniciaron el ensayo con resultados positivos, registrando un 14,29% y 4,76% de prevalencia, respectivamente. Sin embargo, en los muestreos posteriores (M4 y M6) arrojaron resultados nulos para prevalencia. Por último, las C3, C10 y C11 mantuvieron el nivel de infección en 0% en todos los muestreos.

La abundancia o densidad relativa se refiere al número promedio de parásitos de una especie particular que se encuentran presentes en una muestra. En la Fig. 14 los grados de valoración muestran que durante el Muestreo 1, el 73% de las colmenas presentó distintos niveles de infección con *Nosema* sp.: Muy leve en 3 colmenas (C5, C8 y C9), Leve (C4 y C7), Grave (C2 y C6) y Muy grave (C1), en tanto que el 27% no registraron presencia de esporas.

En el Muestreo 2 se observó una disminución de la infección en todas las colmenas del apiario, llegando a registrar nivel Leve (1) de infección en el 45% de las colmenas y el 55% no registraron presencia de esporas.

Durante el Muestreo 3 los valores ascendieron nuevamente llegando a un 55% de colmenas infectadas y un 45% de colmenas sin infección. Sin embargo, los niveles se mantuvieron en Muy leve (C3, C5) Leve (C2,C4,C6), excepto en la C1 donde el nivel volvió a ser Muy grave.

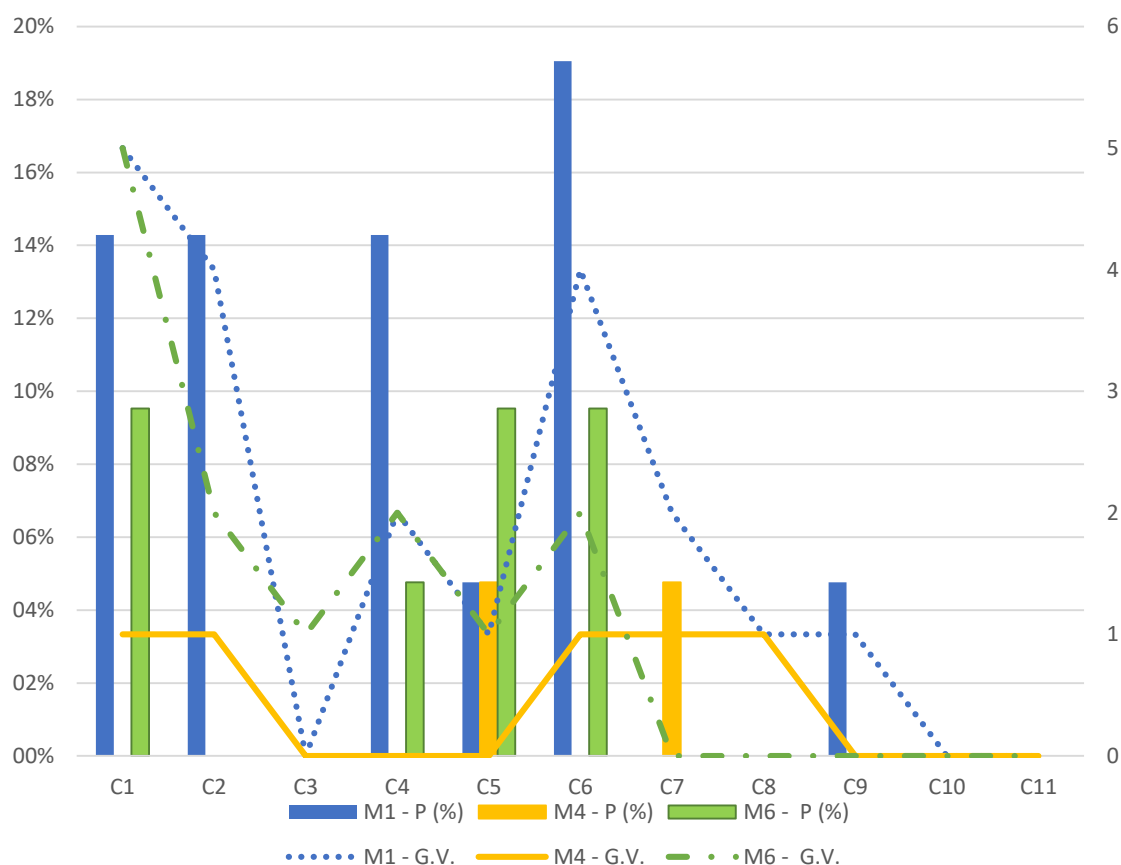


Fig. 14. Prevalencia e incidencia de la enfermedad expresados en grados de valoración. Referencias: Prevalencia: P (%). Eje secundario= Grados de valoración: G.V. (1-5). Muestreos: M1 – M6. Colmenas: C1 – C11.

El grado de infección fue notoriamente mayor en los muestreos correspondiente a los meses de primavera (M1= octubre) y otoño (M6= abril). Sin embargo, en verano (M4= enero) el grado de infección registrado fue el más bajo.

Análisis integral de las variables estudiadas

La Fig. 15 muestra el desarrollo de la cámara de cría, se puede observar que se mantiene más o menos constante con valores cercanos al 50% del área de panales ocupados con larvas a lo largo de todo el ensayo. Se evidencia que las colmenas del Grupo 1, después de recibir el tratamiento, aumentan la proporción de área de panales cubiertas con reservas, miel y polen (M2) y reducen significativamente el área de celdas vacías, respecto de la situación inicial (M1) del ensayo (*). Durante los M3 y M4 se registró un aumento de las áreas vacías, levemente mayor en las colmenas del Grupo 2 (ST) y mayor porcentaje de áreas de panal cubiertas con reservas respecto de las colmenas de Grupo 1 (CT). En el M5 ambos grupos de colmenas se mantienen similares, con un leve incremento del área de cría en las colmenas tratadas. Durante el último muestreo M6 se produjo una disminución del área de cría, reservas de polen e incremento de reservas de miel, coincidiendo con la estación otoñal. Esto es congruente con la reducción poblacional del tamaño de la colonia que se prepara para ingresar a la época invernal.

Los promedios de los porcentajes de infestación con *Varroa* fueron inferiores al 1,5% en el Grupo 1 (colmenas tratadas) y en el Grupo 2 (colmenas sin tratamiento) se mantuvieron por debajo del 3,5%.

Respecto al polen acopiado en cargas corbiculares fue similar en cantidad (gramos) para ambos grupos y en todos los muestreos.

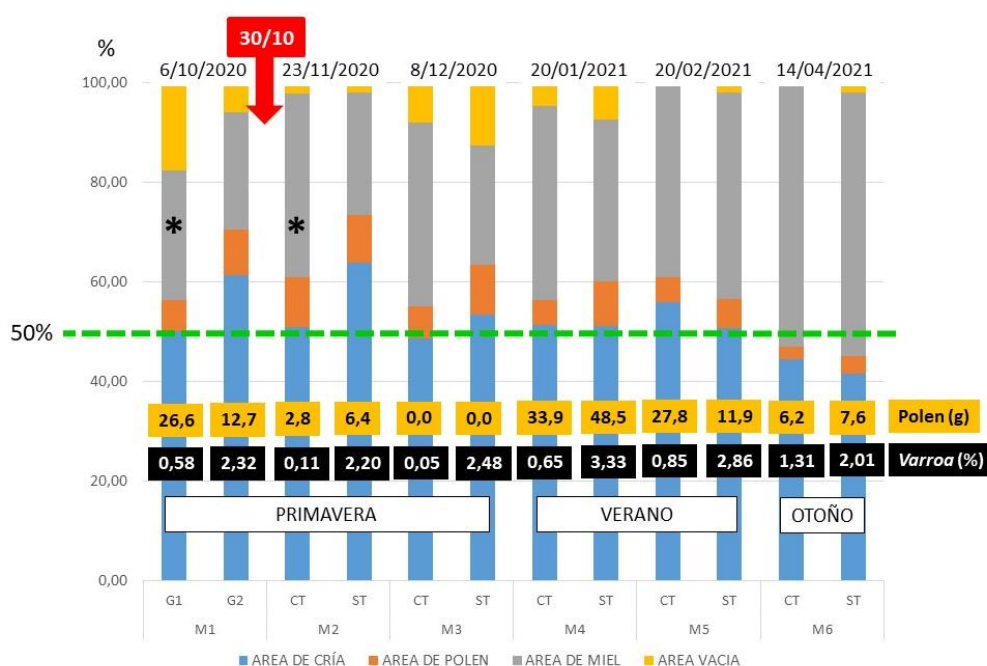


Fig. 15. Estado de la cámara de cría en relación a las variables: cargas corbiculares (gramos) e infestación con *Varroa* (porcentajes). Referencias: Colmenas del grupo 1: G1. Colmenas del grupo 2: G2. Muestreos: M1 al M6. Fecha de aplicación del tratamiento (etiqueta roja).

Análisis estadístico

En la Fig. 16 se grafica la relación existente entre el valor promedio de gramos de polen recolectado y el nivel de infestación que manifestaron cada grupo de colmenas (CON y SIN tratamiento) en cada uno de los seis muestreos. En cuanto al nivel de infestación con *Varroa* el grupo de colmenas con tratamiento muestra valores menores a 1,69%, en cambio el grupo de colmenas sin tratamiento presentó valores mayores al porcentaje mencionado.

Respecto al volumen de polen recolectado en ambos casos se observan semejanzas entre los dos grupos de colmenas (CT y ST) y diferencias más notorias en los muestreos M1 y M5, el resto de los muestreos tuvieron comportamiento semejante.

El *análisis de la varianza* indica que no se observa una diferencia significativa ($p=0,5405$ T-Student) entre los dos grupos de colmenas (con y sin tratamiento) respecto de la cantidad promedio de polen recolectado.

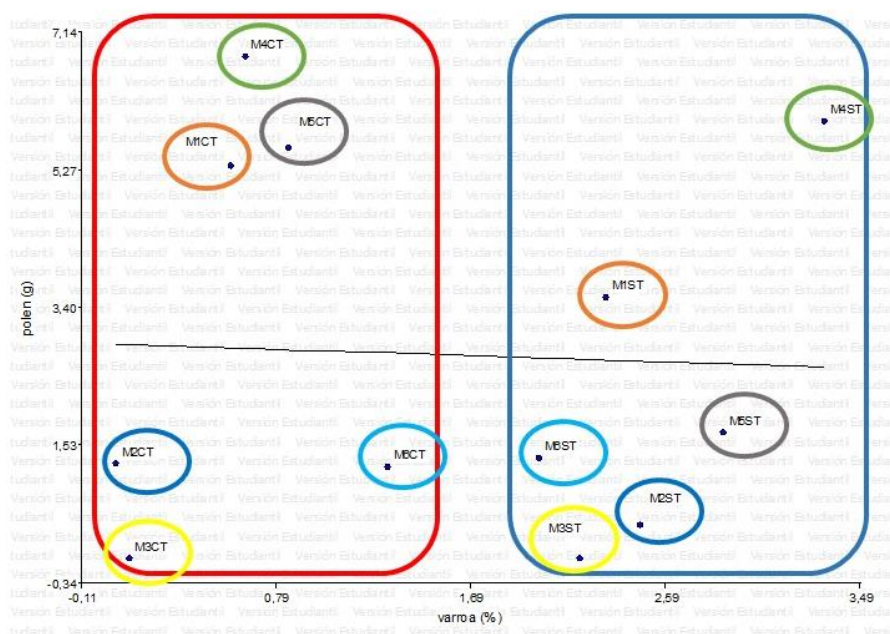


Fig. 16. Asociación entre el peso de polen recolectado e infestación con *Varroa* en colmenas con y sin tratamiento. Referencias: muestreos con tratamientos: M1CT – M6CT y sin tratamiento: M1ST – M6ST.

DISCUSIÓN

Diversidad de polen colectado y contenido proteico

Los resultados del presente trabajo indicaron una interesante diversidad de especies botánicas visitadas por las abejas para acopiar polen, alcanzando a reconocer 79 taxa y 31 familias. Changazzo & Salgado (2019) reconocieron unos 30 taxa y 18 familias en la región semihúmeda de la Ecorregión Chaqueña. Coincidiendo en el predominando las especies nativas (más del 80%) sobre las exóticas (menos del 20%). Las familias mejor representadas fueron las Fabaceae, Arecaceae y Onagraceae, respecto de las Fabaceae y Asteraceae registradas en la provincia del Chaco. La mayor diversidad de polen se registró en el inicio del VERANO y OTOÑO en la provincia de Corrientes, en tanto que para la provincia del Chaco se registraron en PRIMAVERA. Esta condición puede estar relacionada con las características climáticas (temperaturas y precipitaciones) de ambas zonas de estudio.

Respecto de los valores proteicos de las especies acopiadas con mayor frecuencia y volumen en el presente estudio registraron valores relativamente bajos (desde 11 a 21,54% PB), respecto de los reportados por Changazzo & Salgado (2019) para la misma Ecorregión para especies nativas comunes a ambos sitios de muestreo (desde 15,03 a 35,47% PB). Cabe destacar, que para las mismas analizadas en ambos trabajos se registraron diferencias significativas respecto al porcentaje de proteína bruta contenida en las cargas de polen, específicamente *Senecio* y *Schinopsis*. Esta condición podría deberse a las características edáficas de cada sitio.

Según Herbert & Shimanuki (1978) las abejas requieren entre 23 y 30% de proteína en el polen para un óptimo desarrollo. En este sentido, las especies analizadas en el estudio no estarían cumpliendo con el umbral básico de las necesidades nutricionales de las abejas. La deficiencia en la calidad y cantidad del polen acopiado por las abejas es una de las variables que se consideran estresores de las colmenas. Además, su combinación con enfermedades puede ocasionar el colapso de las colonias en zonas templadas (De la Sota y Bacci 2005), esto puede asociarse al ecotipo de abeja.

van Dooremalen (2013) sostiene que *Varroa destructor* en combinación con uno o más factores estresantes, como baja disponibilidad de alimentos, se considera que es una de las principales causas de la pérdida de colonias de abejas melíferas. Este autor sostiene que la abundancia de polen durante la etapa adulta no compensa la pérdida de peso, por reducción de masa y contenido de proteína, causado por el parasitismo en etapa larval de las abejas.

El comportamiento higiénico también podría estar relacionado con las reservas de polen Janmaat & Winston (1999) observaron que la tasa de remoción de larvas infectadas se incrementó con presencia de mayores reservas de polen, como así también registraron la reproducción de los ácaros no aumentó. En este sentido, la buena disposición de polen junto a otras variables contribuiría al control de la enfermedad.

Varroosis: porcentaje de infestación en colmenas con y sin tratamiento

En este trabajo los niveles de *Varroa* observados fueron muy cambiantes entre colmenas y durante todo el periodo muestreado, independientemente del tratamiento sanitario. Los valores registrados van desde 0% en varias colmenas en diferentes muestreos (por ejemplo, en M1-C10 y C7, M2-C4, C7 y C10) alcanzando un máximo nivel de infestación (6,71%) en C1 (ST) en diciembre. De la Sota & Bacci (2005) mencionan que, al ingreso de la invernada, la colmena

que entra con valores superiores al 5%, es muy probable que muera o se fugue en pleno invierno dejando un puñado de abejas y las reservas. En este estudio, todas las colmenas con y sin tratamiento ingresaron al otoño con niveles de infestación menores al 5%, el mínimo valor registrado fue 0,79% en la colmena C8 (CT) y el máximo 4,14% en la colmena C6 (ST).

Analizando los grupos de colmenas, se observó que las tratadas con ácido oxálico mantuvieron niveles de infestación inferiores a 3% y más o menos constante (0% a 2,65%) durante la totalidad de los muestreos. Por otro lado, las colmenas sin tratar mostraron marcadas fluctuaciones en los niveles de infestación (0,95% a 6,71%) durante la totalidad de los muestreos.

La capacidad de las abejas africanizadas para mantener regulada la población del acaro mediante mecanismos de defensa natural, tales como el *grooming* y la remoción de larvas infestadas fue descrita por Graciano-Villa et al. (2018). Además, presentan mayor resistencia a *V. destructor* que las abejas de razas europeas (Invernizzi et al. 2015). Teniendo en cuenta este aspecto, se pudo notar que el promedio máximo de las colmenas **SIN** tratamiento fue bajo (3,33%). Estos datos ponen de manifiesto, que las abejas criollas estudias poseen buena capacidad de regular la población de *Varroa destructor*, pudiendo adjudicarse esta cualidad al ecotipo predominante en la región, presuntamente africanizado.

Nosemosis: prevalencia y abundancia

En este estudio se pudo observar que la Nosemosis presentó una caída significativa en el mes de enero (M4) respecto a los meses de octubre y abril (M1 y M6, respectivamente). Mostrando coincidencia con lo mencionado por Molina et al. (1990), quienes señalan que la tendencia estacional de la infección exhibe niveles bajos durante el verano, una pequeña presencia en otoño y una subida lenta de la infección durante el invierno, aumentando en primavera, debido a una mayor esporulación.

Se observó en primavera un 55% de prevalencia, en tanto que en verano cayó a 18%, y en otoño se incrementó nuevamente llegando a un 36%. Valores similares fueron registrados por Espósito et al. (2007) en la provincia de Río Negro. Hinojosa & González (2004) indicaron que los incrementos de prevalencia en primavera son debidos a la alta contaminación fecal existente dentro de la colonia a fines de invierno.

Lo sucedido en el muestreo de verano, un descenso sustancial de prevalencia puede deberse al incremento poblacional que sufre la colmena debido al fuerte ingreso de néctar y polen sucedido en primavera. Higes (2006) denominó a este momento como la "falsa recuperación", ya que en primavera cuando la colonia crece rápidamente, la reina aumenta su postura, y como resultado del aumento de la población de abejas da como resultado una disminución de la prevalencia.

En cuanto a la abundancia relativa de la espora, a pesar de haberse encontrado niveles de elevados (grado de infección 5) en algunas colmenas en primavera y otoño no representaron el colapso de las colmenas. Incluso, no se apreció a simple vista la sintomatología típica de la enfermedad descrita por De la Sota & Bacci (2005) como deyecciones aguachentas manchado de techo y plancha de vuelo, abultamiento del abdomen, incapacidad de vuelo entre otros.

Esta es una enfermedad de distribución cosmopolita, aunque se la considera de importancia en regiones templadas ya que está asociada a factores climáticos como la

temperatura, humedad y precipitaciones (De la Sota & Bacci 2005). En este estudio, la prevalencia de la espora de *Nosema* sp. registrada fue baja (18%), la abundancia fue significativamente escasa mostrando grados de infección muy leves (1) o leves (2) en la mayoría de las colmenas y muy grave solamente en una colmena (C1) en dos estaciones del año (M1 y M6) y grave (4) en dos colmenas (C2 y C6) solamente en primavera. Esta situación podría explicarse debido al hecho de que el estudio se sitúa en una región subtropical que presenta condiciones climáticas (altas temperaturas en verano e inviernos poco rigurosos) menos favorables para el desarrollo de Nosemosis.

Para Martín-Hernández et al. (2018) varios factores tienen influencia directa en el diagnóstico de la enfermedad, por ejemplo: condición ambiental, prácticas apícolas, genética de abejas y la interacción con pesticidas y otros patógenos.

Relación de la colecta de polen y el estado sanitario de las colmenas

Huang (2012) sostiene que el polen con poca dotación de nutrientes puede conducir a una reducción de la resistencia de las abejas obreras a *Nosema* y aumento de la sensibilidad a los pesticidas y virus. A nivel de colonia, el polen con buen contenido de nutrientes aumenta la resistencia de las abejas melíferas a *Nosema ceranae* y al ácaro ectoparásito *Varroa destructor*.

En este sentido, Schmidh (1984) afirma que el consumo de diferentes tipos de polen constituye una dieta más equilibrada, ya que cada tipo polínico posee una composición nutricional particular beneficiando el desarrollo de las abejas. Sin embargo, Barroso Arévalo et al. (2019) sugieren que la diversidad de polen no influye sustancialmente en la salud de las colonias de abejas, aunque los niveles de *Varroa* se relacionan con la diversidad de polen.

En este trabajo, se reconoció una buena diversidad de aporte de polen de distintas especies, predominantemente nativas de la Ecorregión Chaqueña (79 taxa). En las colmenas sin tratamiento, se observó una alta correlación entre la cantidad de polen acopiado, teniendo en cuenta el promedio por cada colmena, expresado en gramos respecto del porcentaje de infestación con *Varroa* (Pearson=0,71). En tanto que la diversidad de taxa total registrada arrojó una baja correlación con el ácaro (0,38). Esta situación podría deberse a que las abejas buscan compensar la deficiencia nutricional causada por la parasitosis con mayor volumen de polen indistintamente de su diversidad.

En cuanto a las colmenas con tratamiento, se observó que el volumen de polen colectado está débilmente relacionado con la infestación del ácaro (Pearson= 0,29), en tanto que la diversidad de taxa presenta valores altos de correlación (= 0,76). En este caso, al disminuir la carga de acaro como estresor, las abejas visitan una mayor variedad de especies para alimentarse.

Sobre la base de estos resultados, se puede decir que distintos factores pueden afectar el estado sanitario de las abejas de la región en estudio. La diversidad, la abundancia y el contenido proteico del polen disponible es objeto de estudios más detallados. Esto permitirá realizar conclusiones más acertadas acerca de la dieta que determine la mejor nutrición incidiendo en la longevidad de las abejas y la productividad de la colonia.

CONCLUSIONES

A partir de los estudios y determinaciones desarrolladas, se pueden realizar los siguientes comentarios finales, en cuanto a:

Polen y contenido proteico

- Respecto a las hipótesis planteadas, no se observó una relación directa entre la calidad proteica del polen y el estado sanitario de las colonias. Tampoco existe una relación directa entre los niveles de proteínas de las cargas corbiculares y el desarrollo poblacional de las colmenas.

- La zona estudiada presenta una amplia oferta de especies botánicas utilizadas por las abejas como recurso alimenticio respecto de otras zonas dentro de la misma Ecorregión.

- El polen de las especies analizadas mostró niveles de proteína bruta relativamente bajos respecto de los requerimientos teóricos de las abejas.

- A pesar de haberse registrado un bache de floración evidenciado por la falta de ingreso de polen, el área de cría de la colonia no registró mayores variaciones.

Infestación con *Varroa destructor*

- El nivel de infestación de *Varroa* en colmenas no tratadas nunca llegó a un nivel tal que significara el colapso de la colmena o abandono del nido. Lo que podría significar buena capacidad de limpieza por parte del ecotipo de abeja que se encuentra en la zona.

- La formulación y dosificación del producto a base de ácido oxálico utilizado para control del ácaro resultó efectivo, notándose una merma importante en el porcentaje de infestación en colmenas tratadas.

- Cabe destacar que, a pesar de tener siempre un nivel de infestación mayor, las colmenas no tratadas nunca superaron el 3,5% de infestación promedio, lo que podría indicar que el ecotipo de abeja de la región posee un buen comportamiento higiénico frente a *Varroa*.

Prevalencia y abundancia *Nosema* sp.

- El registro de las esporas estuvo bien marcado en primavera y otoño, siendo el nivel de infección menor en verano.

- No se observa sintomatología asociada a la *Nosemosis* que indique riesgos y desarrollo de la enfermedad en la zona.

Uno de los objetivos propuestos al iniciar el presente trabajo fue realizar un estudio de base de fácil transferencia al sector productivo, parte de los resultados preliminares fueron presentados en diferentes congresos entre ellos el “Congreso Argentino de Apicultura” en el año 2021.

Además, existe la posibilidad de publicar el desarrollo de las actividades realizadas y los resultados, a fin de poder llegar a mas productores e incentivar de esta manera el manejo integrado de los apiarios.

Esta contribución al conocimiento sienta las bases para posteriores estudios que permitirán concientizar a los apicultores respecto de la importancia de conocer la floración, entender la importancia de una buena nutrición de las colonias. Atender situaciones puntuales respecto al aspecto sanitario, especialmente mantener los niveles de *Varroa destructor* mediante el uso de acaricidas orgánicos (ácido oxálico) que resultó ser un efectivo medio de control para el desarrollo de dicho ácaro. Por otra parte, informar la presencia de la espora de *Nosema* sp., para prevenir el aumento de la carga de esporas y el desarrollo de la enfermedad, mediante conductas higiénicas tales como la desinfección de los materiales y la limpieza de los apiarios.

Futuros estudios podrán determinar la necesidad de acciones de manejo para suministrar suplementos proteicos en periodos de carencia. Al mismo tiempo, otros estudios permitirán determinar cuál es el umbral crítico de infestación por *Varroa* que tolera el ecotipo de la región, antes de aplicar un tratamiento de control.

Finalmente, se puede concluir que el estado de las colmenas de *Apis mellifera* L. analizadas en el presente estudio presentaron buena aptitud sanitaria y mejores respecto de otras regiones productivas del país. Esta condición puede estar influenciada por varios factores presentes en la zona: **condiciones climáticas** (temperatura y precipitaciones), **ambientales** (disponibilidad y diversidad de polen), **genética del ecotipo** (comportamiento higiénico y *grooming*) y **manejo** del apiario.

BIBLIOGRAFÍA

- AMDAM, G.V., HARTFELDER, K., NORBERG, K., HAGEN, A., OMHOLT, S.W., 2004. Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): a factor in colony loss during overwintering? *Journal of Economic Entomology* 97, 741–747
- ARONSTEIN, K. A., SALDIVAR, E., VEGA, R., WESTMILLER, S., & DOUGLAS, A. E. 2012. How *Varroa* parasitism affects the immunological and nutritional status of the honey bee, *Apis mellifera*. *Insects*, 3(3), 601-615.
- BARBIERI, W. 1987. Efecto de diferentes tratamientos en el control de *Nosema apis* Z. Tesis Med. Veterinaria. Concepción. Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Departamento de medicina veterinaria. 42 p
- BARROSO-ARÉVALO S., VICENTE-RUBIANO M., RUIZ J., BENTABOL A. & SÁNCHEZ-V. 2019. Does pollen diversity influence honey bee colony health?. *Spanish journal of Agriculture Research* 17 (3), e0504, 12 page (2019)
- BENTLEY B. & T. ELIAS. 1983. *The biology of nectaries*. Columbia Press University.
- BREMMER A.E. & C.S. MULVANEY. 1982. Total nitrogen. In: Page *et al.* (eds.). *Methods of soil analysis*, Part 2, Amercian Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI. 595-624.
- BRODSCHNEIDER R. & K. Crailsheim. 2010. Nutrition and health in honeybees. *Apidologie* 41: 278-294. DOI: 10.1051/apido/2010012.
- CABRERA M.M. 2006. Caracterización polínica de las mieles de la Provincia de Formosa, Argentina. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 8(2): 135-142.
- CABRERA M., ANDRADA A. & L. GALLEZ. 2013. Floración de especies con potencial Apícola en el Bosque nativo formoseño, Distrito Chaqueño Oriental (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 48(3-4): 477-491.
- CABRERA M., PEREZ L., ANDRADA A. & G. BALBARREY. 2017. Colour, antioxidant capacity, phenolic and flavonoid content of honey from the Humid Chaco Region, Argentina. *Phyton* 86.
- CANTWELL G.E. 1970. Standard methods for counting *Nosema* spores. *American Bee Journal* 110: 222-223.
- CHANGAZZO J. 2018. Preferencias alimentarias de *Apis mellifera* L. en el Chaco Semihúmedo Central. Trabajo Final de Graduación. Facultad de Ciencias Agrarias. UNNE. Directora Cristina R. Salgado Laurenti. Citar AGROTECNIA
- CHEN, Y.-P., SIEDE, R., 2007. Honey bee viruses. *Adv. Virus Res.* 70, 33–80. Mencionado en *Biology and control of Varroa destructor* Peter Rosenkranz 2009
- CORNEJO, G y ROSSI, C. 1975. *Enfermedades de las abejas, su profilaxis y prevención*. 2ª ed. Hemisferio Sur. Argentina. 238 p
- CRAILSHEIM K. & E. STOLBERG. 1989. Influence of diet, age and colony condition upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honeybee (*Apis mellifera*). *Journal Insect Physiology* 35 (8): 595 – 602.
- DAFNI A. 1992. *Pollination Ecology*. Oxford University Press. 250pp.
- DE JONG, P.H., GONCALVES, L.S., 1982. Weight loss and other damage to 557 developing worker honey bees (*Apis mellifera*) due to infestation with *Varroa 558 jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* 21, 165–167.
- DE LA SOTA M. & M. BACCI. 2020. *Enfermedades de las abejas: Manual de Procedimientos*. Disponible en [tps://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/manual_enfermedades_abejas_senasa_abril2020.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/manual_enfermedades_abejas_senasa_abril2020.pdf). SENASA. pp: 46.

- DI PASQUALE G., SALIGNON M., LE CONTE Y., BELZUNCES L.P., DECOURTYE A., KRETZSCHMAR A., SÉVERINE SUCHAIL, JEAN-LUC BRUNET C. & ALAUX. 2013. Influence of Pollen Nutrition on Honey Bee Health: Do Pollen Quality and Diversity Matter? *PLoS ONE* 8(8): e72016. doi:10.1371/journal.pone.0072016. Australia.
- DIETEMANN V., NAZZI F., MARTIN S.J., ANDERSON D.L., LOCKE B., DELAPLANE K.S. & P. ROSENKRANZ. 2013. Standard methods for *Varroa* research. *Journal of apicultural research* 52(1): 1-54.
- DI RIENZO J.A., CASANOVES F., BALZARINI M.G., GONZALEZ L., TABLADA M., ROBLEDO C.W. INFOSTAT VERSIÓN 2020. CENTRO DE TRANSFERENCIA INFOSTAT, FCA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA, ARGENTINA. URL HTTP://WWW.INFOSTAT.COM.AR
- DUAY, P., De jong, d., Engels, w., 2002. Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bee (*apis mellifera*) slightly infested by varroa destructor mites during pupal development. *Genet. Mol. Res.* 1, 227–232.
- DUAY, P., DE JONG, D., ENGELS, W., 2003. Weight loss in drone pupae (*apis mellifera*) multily infested by varroa destructor mites. *Apidologie* 34, 61–65. Erdtman g. 1960. The acetolysis method. *Svensk. Bot. Tidskr.* 54: 561-564.
- ERDTMAN, G. 1960. The acetolysis method. *Svensk. Bot. Tidskr.* 54: 561 – 564.
- ESPÓSITO, R.I., VILLEGAS NIGRA, H.M. Y GAGEY, E. 2007. Producción apícola en la provincia de Río Negro. Campaña sanitaria apícola. Temporada 2006-2007. Segundo informe parcial.
- FRIAS B.E.D., BARBOSA C.D. & A.P. LOURENÇO.2016. Pollen nutrition in honeybees (*Apis mellifera*): impact on adult health. *Apidologie* 47:15-25.
- GRACIANO VILLA, Laura A. 2018. Niveles de infestación de Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae) en abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* hib). Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de: Magister en Ciencias: Entomología. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.
- HERBERT EW, J.R.; SHIMANUKI, H. 1978. Chemical composition and nutritive value of the bee collected and beestored pollen. *Apidologie* 9:33-40.
- HIGES M., MARTÍN-HERNÁNDEZ, R., BOTÍAS C., GARRIDO BAILÓN E., GONZÁLEZ-PORTO A.V., BARRIOS L., DEL NOZAL M.J., BERNAL J.L., JIMÉNEZ J. J., GARCÍA PALENCIA P. & MEANA A. 2008. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environmental Microbiology* 10(10), 2659–2669.
- HINRICHSEN, H. 1983. Distribución y grado de infección de *Nosema apis* Zander en apiarios de la X Región. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 96p.
- HINOJOSA, A. Y GONZÁLEZ, D. 2004. Prevalencia de parásitos en *Apis mellifera* L. en colmenares del secano costero e interior de la VI Región, Chile. *Parasitol. Latinoam.* 59: 137-141.
- HUANG Z. 2012. Pollen nutrition affects honey bee stress resistance. *Terrestrial Arthropod Reviews* 5 (2012) 175–189.
- INVERNIZZI, C., ZEFFERINO I., SANTOS E., SÁNCHEZ L. & Y. MENDOZA. 2015. Multilevel assessment of grooming behavior against *Varroa destructor* in Italian and Africanized honey bees, *Journal of Apicultural Research*, 54:4, 321- 327, DOI: 10.1080/00218839.2016.1159055.
- JANMAAT, A.F. & M.L. WINSTO. 2000. Removal of *Varroa jacobsoni* infested brood in honey bee colonies with differing pollen stores. *Apidologie* 31, pp. 377–385
- KRALJ, J., BROCKMANN, A., FUCHS, S., TAUTZ, J., 2007. The parasitic mite *Varroa destructor* affects non-associative learning in honey bee foragers, *Apis mellifera* L.. *J. Compar. Physiol. A: Neuroethol. Sens. Neu. Behav. Physiol.* 193 (3), 363–370.
- KRALJ, J., FUCHS, S., 2006. Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie* 37 (5), 577–587.
- LEVY S. 2011. The pollinator crisis: What's best for bees. *Nature* 479(7372): 164.

MAGGI M., ANTÚNEZ K., INVERNIZZI C., ALDEA P., VARGAS M., NEGRI P., BRASESCO C., DE JONG D., MESSAGE D., TEIXEIRA, PRINCIPAL J., BARRIOS C., RUFFINENGO S., RODRÍGUEZ R. & M. EGUARAS. 2016. Honeybee health in South America. *Apidologie*. DOI: 10.1007/s13592-016-0445-7.

MAGGI M., DAMIANI N., RUFFINENGO S., PRINCIPAL J., DE JONG D. & M. EGUARAS. 2010. Brood cell size of *Apis mellifera* modifies the reproductive behavior of *Varroa destructor*. *Experimental and Applied Acarology* 50(3):269-79. ISSN: 0168-8162. DOI: 10.1007/s10493-009-9314-7.

MAGGI M., MEDICI S., QUINTANA S., RUFFINENGO S., MARCÁNGELI J., GIMENEZ MARTINEZ P., FUSELLI S. & M. EGUARAS. 2012a. Genetic structure of *Varroa destructor* populations infesting *Apis mellifera* colonies in Argentina. *Experimental and Applied Acarology* 56(4): 309-318. DOI 10.1007/s10493-012-9526-0.

MAGGI M., NEGRI P., PLISCHUK S., SZAWARSKI N., DE PIANO F., DE FEUDIS L., EGUARAS M. & C. AUDISIO. 2013a. Effects of the organic acids produced by a lactic acid bacterium in *Apis mellifera* colony development, *Nosema ceranae* control and fumagillin efficiency. *Veterinary Microbiology* 167(3-4): 474-483. DOI 10.1016/j.vetmic.2013.07.030.

MAGGI M., PERALTA L., RUFFINENGO S. & M. EGUARAS. 2012b. Body size variability of *Varroa destructor* and its role in acaricide tolerance. *Parasitology Research* 110(6): 2333-2340. DOI 10.1007/s00436-011-2768-7.

MAGGI M., RUFFINENGO S., DAMIANI N., SARDELLA N. & M. EGUARAS 2009a. A First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos in Argentina. *Experimental and Applied Acarology* 47(4): 317-320.

MAGGI M., RUFFINENGO S., NEGRI P., BRASESCO C., MEDICI S., QUINTANA S., SZAWARSKI N., GIMENEZ MARTINEZ P., DE PIANO F., REVAINERA P., MITTON G. & M. EGUARAS. 2013b. The status of bee health and colony losses in Argentina. En: Honeybees: Foraging Behavior, Reproductive Biology and Diseases. Ed. Cameron Molley. Nova Publishing Group.

MAGGI M., SARDELLA N., RUFFINENGO S. & M. EGUARAS. 2009b. Morphotypes of *Varroa destructor* mites in different geographic locations from Argentina. *Parasitology Research* 105(6): 1629. DOI: 10.1007/s00436-009-1605-8

MARCANGELI J.A. 2000. Aplicación de una nueva técnica para determinar los niveles de infección de *Varroa jacobsoni* en colmenas de *Apis mellifera*. *Natura Neotropicalis* 31(1-2): 81-85.

MARTÍN-HERNANDEZ R., C. BARTOLOME, N. CHEJANOVSKY, Y. LE CONTE, A. DALMON, C. DUSSAUBAT, P. GARCÍA-PALENCIA, A. MEANA, M. ALICE PINTO, V. SOROKER & HIGES M. 2018. *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years postdetection perspective. *Environmental Microbiology* (2018) 20(4), 1302–1329

MEHLHORN, H. 2007. Encyclopedia of Parasitology. Volumen 2, 3 ed. Springer, Düsseldorf. 1573p.).

MOLINA, A., GUZMAN, E., MESSAGE, D., DE JOUNG, D., ARMSTRONG, D., MANTILLA, C., ZOZAYA, A., JAYCOX, E., ALVARADO, F., HANDAL, y S., MENESES, L. 1990. Enfermedades y plagas de la abeja Melífera Occidental. Programa Regional para el manejo y control de la abeja africana. División de salud animal. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agrícola. San Salvador. pp. 64-117.

MORELLO, J., MATTEUCCI, S. D., RODRIGUEZ, A. F., & SILVA, M. E. 2012. Ecorregiones y complejos Ecosistémicos de Argentina. Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires.

MURILHAS A.M. 2002. *Varroa destructor* infestation impact on *Apis mellifera carnica* capped worker brood production, bee population and honey storage in a Mediterranean climate. *Apidologie* 33(3): 271-281.

POTTS S.G., BIESMEIJER J.C., KREMEN C., NEUMANN P., SCHWEIGER O. & W.F. KUNIN. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in ecology & evolution* 25(6): 345-353.

PUNT W., HOEN P.P., BLACKMORE S., NILSSON S. & A. LE THOMAS. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology* 143: 1-81.

- RICHARDS M.H., RUTGERS-KELLY A., GIBBS J., VICKRUCK J.L., REHAN S.M. & C.S. SHEFFIELD. 2011. Bee diversity in naturalizing patches of Carolinian grasslands in southern Ontario, Canada. *The Canadian Entomologist* 143(03): 279-299.
- ROSENKRANZ, P., AUMEIER, P., & ZIEGELMANN, B. 2010. Biology and control of Varroa destructor. *Journal of invertebrate pathology*, 103, S96-S119.
- SALGADO, C.R. 2006. Flora melífera de la provincia de Chaco. Editado por PROSAP y Ministerio de Producción del Chaco, pp: 60.
- SALGADO, C.R. 2016. Caracterización botánica y geográfica de las mieles producidas por Apis mellifera L. en la provincia del Chaco, a partir de su composición polínica y parámetros físico-químicos. PhD Thesis, Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad del Nordeste (UNNE-IBONE), Corrientes, Argentina. 185pp.
- SALGADO C.R. & J.F. MAIDANA. 2014. Physicochemical characterisation of honey produced in the Chaco Province (Argentina). *Rev. FCA UNCUYO* 46(2): 191-201. ISSN impreso 0370-4661. ISSN (en línea) 1853-8665.
- SALGADO C.R. & S.M. PIRE. 1998. Análisis polínico de mieles del Noroeste de la provincia de Corrientes (Argentina). *Darwiniana* 36(1-4): 87-93.
- SALGADO C.R. & S.M. PIRE. 1999. Contribución al conocimiento del contenido polínico de mieles de Corrientes (Argentina). *Ameghiniana*, A.P.A. publicación especial 6: 95-99.
- SALGADO C.R. & S.M. PIRE. 2000. Mieles monoflorales en la provincia fitogeográfica Chaqueña, Argentina. *Supl. Gayana Botanica* 57: 102
- SALGADO C.R., TELLERÍA M.C & J.M. CORONEL. 2017. Botanical and geographical origin of honey from the dry and humid Chaco ecoregions (Argentina). *Grana* 56 (6): 450-461. DOI: [10.1080/00173134.2016.1276619](https://doi.org/10.1080/00173134.2016.1276619)
- SARLO G, PORRINI M. & M. GARRIDO. 2020. Protocolo de monitoreo y cuantificación esporular de Nosema spp. Centro de Investigación en Abejas Sociales (CIAS). CONICET. CIC. Universidad nacional de Mar del Plata. 1 – 7.
- SCHATTON-GADELMAYER, K., ENGELS, W., 1988. Blood proteins and body weight of newly-emerged worker honeybees with different levels of parasitization of brood mites. *Entomol. Gener.* 14, 93–101.
- SCHNEIDER, P., DRESCHER, W., 1987. Einfluss der Parasitierung durch die Milbe Varroa jacobsoni aus das Schlupfgewicht, die Gewichtsentwicklung, die Entwicklung der Hypopharynxdrüsen und die Lebensdauer von Apis mellifera. *Apidologie* 18, 101–106
- SCHMIDT, J.O. 1984. Feeding preferences of Apis mellifera L. (Hymenoptera: Apidae): individual versus mixed pollen species. *Journal of the Kansas Entomological Society* 57 (2): 323-327
- VAN DOOREMALEN, C., E. STAM, L. GERRITSEN, B. CORNELISSEN, J. VAN DER STEEN, F. VAN LANGEVELDE, T. BLACQUIÈRE. 2013. Interactive effect of reduced pollen availability and Varroa destructor infestation limits growth and protein content of young honey bees. *Journal of Insect Physiology* 59, 487 – 493.
- VIVAS ESPINOSA, J.L. 2015. Prevalencia de nosema (*Nosema* spp.) en colmenares de la región norte y centro norte del Ecuador. Tesis de Grado previa a la obtención del Título de Ingeniero Agrónomo. Carrera de Ingeniería Agronómica. Quito: UCE. 64 p.

ANEXO I. Relevamiento de la cámara de cría.

MUESTREO 1 - 06/10/2020						
		POBLACION	AREA DE CRÍA	AREA DE POLEN	AREA DE MIEL	AREA VACIA
COLMENAS		C.C.	%	%	%	%
1	ST	7	49,4	9,7	41,4	0,0
2	CT	8	45,8	9,5	11,7	33,0
3	ST	9	57,8	4,6	24,1	13,6
4	CT	9	23,3	4,7	32,1	39,9
5	CT	9	61,9	7,6	18,3	12,2
6	ST	6	67,4	5,5	12,4	14,7
7	CT	9	63,8	3,6	31,6	1,1
8	ST	9	61,3	15,4	19,1	4,3
9	ST	9	78,2	7,4	15,0	0,0
10	CT	9	55,4	6,8	36,4	1,4
11	ST	9	54,1	12,2	29,8	3,9

MUESTREO 2 - 23/11/2020						
		POBLACION	AREA DE CRÍA	AREA DE POLEN	AREA DE MIEL	AREA VACIA
COLMENAS		C.C.	%	%	%	%
1	ST	9	57,8	2,1	39,4	0,7
2	CT	8	32,4	18,6	44,4	4,6
3	ST	9	65,9	2,5	29,2	2,3
4	CT	6	49,7	11,9	37,8	0,6
5	CT	9	52,6	6,7	39,1	1,7
6	ST	6	59,3	30,2	8,6	1,9
7	CT	9	58,3	4,9	33,2	3,6
8	ST	9	60,5	8,7	31,4	0,0
9	ST	9	79,5	4,8	13,9	1,8
10	CT	9	62,2	7,4	30,3	0,1
11	ST	9	60,3	9,2	25,5	5,0

MUESTREO 3 - 08/12/2020						
		POBLACION	AREA DE CRÍA	AREA DE POLEN	AREA DE MIEL	AREA VACIA
COLMENAS		C.C.	%	%	%	%
1	ST	9	57,8	2,7	38,9	0,6
2	CT	8	44,7	9,3	44,4	1,6
3	ST	9	60,1	8,0	28,1	3,9
4	CT	5	3,5	7,9	55,3	33,3
5	CT	9	68,7	6,3	24,2	0,8
6	ST	9	11,9	22,8	6,2	59,1
7	CT	9	64,3	2,8	28,9	3,9
8	ST	9	54,4	9,1	36,4	0,0
9	ST	9	77,5	9,3	7,5	5,7
10	CT	9	61,8	6,2	31,4	0,6
11	ST	9	59,6	7,7	27,1	5,7

MUESTREO 4 - 20/01/2021						
		POBLACION	AREA DE CRÍA	AREA DE POLEN	AREA DE MIEL	AREA VACIA
COLMENAS		C.C.	%	%	%	%
1	ST	9	51,6	2,9	45,1	0,4
2	CT	9	41,6	5,7	46,1	6,7
3	ST	9	55,8	5,2	23,3	15,6
4	CT	8	70,6	5,3	24,1	0,0
5	CT	9	78,0	7,1	6,3	8,7
6	ST	6	47,8	24,9	8,6	18,7
7	CT	9	29,7	2,6	63,6	4,2
8	ST	9	50,0	6,1	43,9	0,0
9	ST	9	38,9	12,7	43,2	5,3
10	CT	9	37,1	4,8	54,7	3,4
11	ST	9	62,6	2,8	31,1	3,6

MUESTREO 5 - 20/02/2021						
		POBLACION	AREA DE CRÍA	AREA DE POLEN	AREA DE MIEL	AREA VACIA
COLMENAS		C.C.	%	%	%	%
1	ST	9	43,2	1,6	53,7	1,6
2	CT	8	52,7	5,8	41,5	0,0
3	ST	9	59,7	3,1	36,8	0,4
4	CT	5	42,1	2,1	56,1	0,0
5	CT	9	76,9	6,5	15,8	0,8
6	ST	9	61,4	11,6	24,2	2,8
7	CT	9	50,6	3,3	45,2	0,8
8	ST	9	42,2	3,6	54,4	-0,3
9	ST	9	49,2	8,2	36,2	6,4
10	CT	9	57,7	6,8	34,7	0,8
11	ST	9	48,7	6,6	43,9	0,7

MUESTREO 6 - 14/04/2021						
		POBLACION	AREA DE CRÍA	AREA DE POLEN	AREA DE MIEL	AREA VACIA
COLMENAS		C.C.	%	%	%	%
1	ST	9	40,3	3,0	54,8	1,9
2	CT	9	39,7	1,2	59,1	0,0
3	ST	9	0,6	6,0	89,0	4,4
4	CT	8	35,4	1,7	62,5	0,4
5	CT	9	66,9	3,4	27,2	2,5
6	ST	6	63,9	2,8	31,4	1,8
7	CT	9	40,9	2,3	56,8	0,0
8	ST	9	44,9	2,0	53,1	0,0
9	ST	9	43,5	4,3	48,4	3,8
10	CT	9	39,7	3,7	56,7	0,0
11	ST	9	56,9	3,2	39,7	0,2

ANEXO II. Cálculos de infestación de *Varroa*.

	MUESTREO 1 (06/10/2020)			MUESTREO 2 (23/11/2020)			MUESTREO 3 (08/12/2020)		
COLMENAS	ABEJAS	VARROAS	% DE INFESTACION	ABEJAS	VARROAS	% DE INFESTACION	ABEJAS	VARROAS	% DE INFESTACION
1	413	7	1,69	334	10	2,99	298	20	6,71
2	504	5	0,99	333	1	0,30	325	0	0,00
3	544	8	1,47	401	7	1,75	337	4	1,19
4	469	6	1,28	427	0	0,00	336	0	0,00
5	648	4	0,62	390	1	0,26	392	1	0,26
6	438	8	1,83	456	7	1,54	374	11	2,94
7	341	0	0,00	380	0	0,00	461	0	0,00
8	426	12	2,82	295	11	3,73	373	8	2,14
9	447	20	4,47	370	9	2,43	420	4	0,95
10	489	0	0,00	392	0	0,00	390	0	0,00
11	365	6	1,64	406	3	0,74	414	4	0,97

	MUESTREO 4 (20/01/2021)			MUESTREO 5 (20/02/2021)			MUESTREO 6 (14/04/2021)		
COLMENAS	ABEJAS	VARROAS	% DE INFESTACION	ABEJAS	VARROAS	% DE INFESTACION	ABEJAS	VARROAS	% DE INFESTACION
1	414	25	6,04	239	14	5,86	296	9	3,04
2	377	2	0,53	339	9	2,65	340	4	1,18
3	480	11	2,29	311	4	1,29	342	6	1,75
4	355	0	0,00	399	1	0,25	245	3	1,22
5	303	0	0,00	523	2	0,38	301	6	1,99
6	341	13	3,81	356	11	3,09	290	12	4,14
7	366	0	0,00	386	0	0,00	305	2	0,66
8	380	11	2,89	332	16	4,82	252	2	0,79
9	227	8	3,52	291	4	1,37	243	2	0,82
10	292	8	2,74	320	3	0,94	264	4	1,52
11	357	5	1,40	401	3	0,75	329	5	1,52

ANEXO III. Datos del análisis estadístico

Nueva tabla : 10/3/2022 - 10:24:15 a. m. - [Versión : 30/4/2020]

Coeficientes de correlación

Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades

	Varroa ST	Polen St
Varroa ST	1,00	0,03
Polen St	0,85	1,00

Nueva tabla : 10/3/2022 - 10:24:42 a. m. - [Versión : 30/4/2020]

Coeficientes de correlación

Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades

	Varroa CT	Polen CT
Varroa CT	1,00	0,52
Polen CT	0,34	1,00

Nueva tabla : 10/3/2022 - 3:47:22 p. m. - [Versión : 30/4/2020]

Coeficientes de correlación

Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades

	N° Taxa	Varroa CT
N° Taxa	1,00	0,08
Varroa CT	0,76	1,00

Nueva tabla : 10/3/2022 - 3:46:05 p. m. - [Versión : 30/4/2020]

Coeficientes de correlación

Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades

	N° Taxa	Varroa ST
N° Taxa	1,00	0,46
Varroa ST	0,38	1,00

Valores utilizados para la Prueba T-Student

	Var Indep	polen. prom en g
CT	1	5.32
CT	1	1.28
CT	1	0
CT	1	6.8
CT	1	5.56
CT	1	1.24
ST	2	3.54
ST	2	0.44
ST	2	0
ST	2	5.93
ST	2	1.7
ST	2	1.35

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	5.32	3.54
Media	2.976	1.884
Varianza	9.01168	5.58093
Observaciones	5	5
Varianza agrupada	7.296305	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	0.63920646	
P(T<=t) una cola	0.27027749	
Valor crítico de t (una cola)	1.85954804	
P(T<=t) dos colas	0.54055497	
Valor crítico de t (dos colas)	2.30600414	

H0	no hay diferencia significativa
H1	hay diferencias significativas entre los dos grupos

Valor $p > 0,05$ se rechaza la hipótesis alternativa o se acepta la hipótesis nula demostrando que no hay diferencias significativas entre los valores de ambos grupos.