

***Biomonitoreo con Abejas:
Estaciones Gemelas con Análisis
Simultáneos***

Autor: Gustavo E. Gorza

Docente tutor: Liliana M. Gallez



**Departamento de Agronomía
Universidad Nacional del Sur**



Marzo - 2007

Índice

1. Resumen.....	pag. 3-4
2. Introducción.....	pag. 5-6-7
3. Objetivo.....	pag. 8
4. Materiales y Métodos.....	pag. 9
4.1. Área experimental.....	pag. 9
4.2. Métodos de muestreo.....	pag. 9
4.3. Tipo de colmena.....	pag. 9
4.4. Selección de colonias.....	pag. 10
4.5. Registro de peso.....	pag. 10
4.6. Contador de abejas.....	pag. 10
4.7. Protocolo de observación.....	pag. 10
4.8. Metodologías de análisis.....	pag. 11
4.9. Sensores de temp. y humedad.....	pag. 11
4.10. Análisis estadístico.....	pag. 12
5. Resultados y discusión.....	pag. 13
5.1. Detección de contaminantes químicos.....	pag. 13
5.1.1 Análisis de PAH's en abejas.....	pag. 13
5.1.2 Análisis de BTEX, CVM, y 1,1 EDC en miel.....	pag. 13
5.1.3 Análisis de BTEX, CVM, y 1,1 EDC en cera.....	pag. 13
5.1.4 Análisis de BTEX, CVM, y 1,1 EDC en abejas...pag.	14
5.1.5 Determinación de metales pesados.....	pag. 14
5.2. Contador electrónico de abejas.....	pag. 20
5.3. Protocolo de observación de colmenas.....	pag. 20-21
5.4. Análisis estadístico.....	pag. 25-30
5.5. Mecanismo para toma de muestra de abejas.....	pag. 31
5.6. Selección de colonias.....	pag. 31
5.7. Colmena para monitoreo ambiental.....	pag. 31-32

6. Conclusiones.....	pag. 33
7. Perspectivas.....	pag. 34
8. Bibliografía	pag. 35-37

Índice de tablas

Tabla 1. Cromatografías gaseosas de PAH's en abejas.....	pag. 15
Tabla 2. Cromatografías gaseosas de BTEX, CVM y 1,1 EDC en miel	pag. 16
Tabla 3. Cromatografías gaseosas de BTEX, CVM y 1,1 EDC en cera	pag. 17
Tabla 4. Cromatografías gaseosas de BTEX, CVM y 1,1 EDC en abejas	pag. 18
Tabla 5. Análisis de cadmio, cinc y mercurio en abejas, cera, Polen y miel	pag. 19
Tabla 6. Resultados de observaciones según protocolo en ambos colmenares (Profertil y testigo)	pag. 22-23
Tabla 7. Resultados de la toma de datos de temperatura y humedad en ambos colmenares	pag. 24

Índice del Anexo

Plano de colmena.....	pag. 39
Plano de piquera.....	pag. 40
Protocolo y Planilla.....	pag. 41-44

1. RESUMEN

El Biomonitorio es una técnica de evaluación ambiental que posibilita determinar el impacto de la contaminación sobre la parte viva del medio ambiente, a diferencia de los métodos tradicionales que solo evalúan la parte abiótica de este (aire, agua, suelo).

El objetivo de este trabajo fue desarrollar la técnica de Estaciones Gemelas con Análisis Simultáneos mediante el uso de abejas (*Apis mellifera*) y a tal fin se trabajó en los siguientes aspectos:

Se instalaron dos Estaciones gemelas de Biomonitorio de tres colmenas cada una, en terrenos de Profértil y en barrio Patagonia respectivamente (Bahía Blanca, Argentina) durante los meses de abril, mayo y junio de 2006. En ambas Estaciones se realizaron las observaciones y la toma de muestras en forma paralela.

Se trabajo sobre una colmena de la mitad del tamaño convencional (Tipo nuclero) para reducir el número de abejas de forma de facilitar las observaciones de aspectos biológicos y contribuir a bajar la agresividad. Se prolongó la planchada de vuelo para mejorar la observación de la actividad sobre ella y se modificó el techo para permitir la instalación de sensores de temperatura y humedad en su interior.

Se desarrolló un método de muestreo de abejas que permite colectarlas sin desprender de sus cuerpos las partículas acumuladas, consistente en una aspiradora manual a batería modificada *ad hoc*.

Se seleccionaron colonias de abejas priorizando similitudes en tasa de postura, producción, mansedumbre y edad de las reinas.

Se diseño un protocolo de observación y registro de fácil utilización a campo. En él se toman los principales datos meteorológicos, biológicos y de comportamiento de *Apis mellifera* que permiten establecer diferencias entre colonias mediante un análisis estadístico.

La decisión de los posibles contaminantes a estudiar fue tomada en base a las consultas realizadas en la Secretaria de Medioambiente Municipal y en el Comité Técnico Ejecutivo, encargado del monitoreo y control de contaminación en el polo petroquímico. Se realizaron pruebas preliminares con el objeto de poner a punto las metodologías de toma de muestras y de análisis. Los análisis químicos que se realizaron fueron:

- Metales pesados (mercurio, cadmio y zinc) en laboratorio LANAQUI de la U.N.S.

-El conjunto de los solventes orgánicos benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (BTEX) + Hexano + Cloruro de Vinilo (CVM) + Dicloroetano e hidrocarburos aromáticos polinucleados (PAHs) en laboratorio CONTROL LAB.

Las matrices de análisis sobre las que se trabajó fueron abejas, miel, cera y polen.

Las observaciones sobre el desarrollo biológico y comportamiento de las abejas se efectuaron cada 48/72 horas..

2. INTRODUCCION

El monitoreo ambiental mediante colmenas es uno de los posibles usos de la apicultura, mucho menos conocido que la producción de miel pero no menos importante. El manejo de las colmenas destinadas a monitoreo ambiental tiene sus particularidades ya que el objetivo principal de estas es permitir una mejor observabilidad de su comportamiento y actividad biológica, la toma de datos de los distintos sensores colocados en las mismas y la recolección de muestras de las distintas matrices que nos ofrece *Apis mellifera* tales como cera, miel, polen, propóleos y la propia abeja.

La abeja melífera acompañó al hombre durante su evolución en la tierra y además es sin dudas el insecto mas estudiado del planeta por lo que resulta muy fácil detectar cualquier anomalía tanto en su biología como en su comportamiento. También puede considerarse uno de los mejores bioindicadores de la degradación ambiental debido a la infinidad de bibliografía que describe claramente el desarrollo de una colmena en diferentes épocas, climas o circunstancias durante los últimos ciento cincuenta años (Dadant, 1979- Prost, 1989- Root, 1997- etc.) a diferencia de otros insectos, peces o plantas que suelen utilizarse como indicadores biológicos.

Esta aplicación de la apicultura tiene sus primeros antecedentes en la década del 70 (Tong, 1975), y hasta la actualidad han sido muchos los profesionales que investigaron el tema.

El monitoreo del medio ambiente urbano e industrial requiere de técnicas cada vez mas costosas y complejas, por lo tanto resulta muy interesante el desarrollo de una técnica sencilla y con grandes perspectivas como es el estudio de los productos de la colmena y el comportamiento de las abejas en los lugares a monitorear (Becker, 1999).

La abeja es un autentico detector ecológico: es un organismo casi ubicuo, su cuerpo esta cubierto de pelos que ayudan a capturar las sustancias que entran en contacto con ellos, es sensible a muchos productos tóxicos y visitan todos los sectores ambientales: suelo, vegetación, aire y agua, y almacenan gran diversidad de productos en las colmenas sobre las que realizar las verificaciones (Porrini, 2006).

Otro concepto importante y novedoso que nos permite estudiar el biomonitoreo es el de la "bioampliación", que se refiere a la concentración elevada de un elemento químico en los tejidos de un organismo que se encuentra en la cima de una pirámide alimenticia

(Kent, 1987). Esto último puede relacionarse con la concentración de contaminantes en la abeja. Dichos contaminantes provienen del consumo de polen y miel, que se produce a partir del néctar de las plantas, que a su vez se produce a partir de la savia floemática. A su vez, la savia transporta contaminantes que la flora absorbe de distintas profundidades del suelo. La miel contiene además enzimas secretadas a partir de las glándulas hipofaríngeas y mandibulares de la propia abeja.

El biomonitoreo proporciona una herramienta única, que lo diferencia sensiblemente de los sistemas mecánicos de monitoreo ambiental, y esta diferencia radica en la posibilidad de integrar en el tiempo el flujo de contaminantes al que se ven expuestos los organismos (Sanz, 2002). En el caso de *Apis mellifera* esto se reflejaría en la acumulación de contaminantes no sólo en el insecto, sino también en los productos de la colmena: miel, cera, polen y propóleos. Esto último constituye una innovación, ya que en la actualidad no existe en nuestro medio otra forma de medir acumulación de contaminantes a lo largo de un determinado período; los métodos actuales sólo indican la contaminación puntual en el momento de la medición.

También es importante, en favor de la abeja como indicador biológico de la degradación ambiental, la amplia superficie que recorre en sus vuelos, cercana a 7 km² (700 hectáreas aproximadamente). Si a esto se suma que una colonia para investigación cuenta con 10.000 individuos que realizan varias salidas diarias (dependiendo del clima, floración, época del año, etc.), esto da como resultado millones de microrelevamientos diarios del sector en estudio (Sabatini, 2005).

El lugar elegido para la realización de este trabajo es el parque industrial de la ciudad de Bahía Blanca, donde se encuentra uno de los polos petroquímicos más importantes de nuestro país que genera 15.000 t de emanaciones contaminantes anuales (Informe del Comité Técnico Ejecutivo, 2003). Los pobladores cercanos al mismo sufren gran preocupación y muchos participan activamente en agrupaciones ambientalistas (Tellus, Asoc. Ambientalista del sur, Asoc. Vecinos de la costa, etc.). Dichas asociaciones solicitan medidas de monitoreo y control, como por ejemplo la realización de un censo de salud y estudios de impacto ambiental.

El biomonitoreo ambiental con abejas es una herramienta importante que ofrece a la población un mecanismo de fácil interpretación respecto de la degradación ambiental. En cuanto a las empresas, les permite mostrar su preocupación e interés en la búsqueda de nuevas tecnologías que refuercen o complementen las existentes, como las

Estaciones de Monitoreo de Calidad del Aire de Bahía Blanca (EMCABB) que funcionan desde 1997. Las empresas del polo petroquímico Bahía Blanca han manifestado su interés en este sistema de biomonitoreo, cubriendo la totalidad de los costos involucrados en este trabajo a través de la Asociación Industrial Química de Bahía Blanca (AIQBB) que nuclea a las empresas Profértil, Mega, Solvay Indupa y Daw PBB.

3. OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es desarrollar un sistema de monitoreo ambiental con abejas mediante la instalación de *Estaciones de Biomonitorio Gemelas* (monitor y testigo), adaptado a las condiciones climáticas, poblacionales e industriales del polo petroquímico de Bahía Blanca. Para ello se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- Desarrollo de una colmena adaptada especialmente a este objetivo.
- Selección de colonias de abejas (*Apis mellifera*) que se adaptaran a este trabajo.
- Desarrollo de un mecanismo para la toma de muestras de material vivo.
- Desarrollo de un protocolo de observación.
- Diseño y construcción de un contador electrónico infrarrojo de abejas.
- Interacción con laboratorios locales que estén dispuestos a desarrollar métodos de análisis químicos de las distintas matrices (abejas, cera, miel, polen) involucradas en este estudio.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Área experimental

El área a monitorear es el Polo Petroquímico de Bahía Blanca, localizado al sudoeste de la ciudad de Bahía Blanca, en proximidades de Ing. White (Provincia de Buenos Aires, Rep. Argentina). El área testigo corresponde al barrio Patagonia ubicado al Noreste de la ciudad, a una distancia de 15 kilómetros aproximadamente. La elección del área testigo se hizo teniendo en cuenta que los vientos predominantes son de del Noroeste, por lo que las emanaciones del sector a monitorear no la afectan, y que resulta similar en cuanto a la densidad poblacional, forestación y reparo de los vientos. Por otro lado la corta distancia (15 km. aprox.) entre ambas Estaciones de Biomonitorio asegura similares condiciones climáticas.

4.2. Métodos de muestreo

Se tomaron muestras de miel, cera, polen y abejas en dos etapas distintas del trabajo.

La primera toma se realizó a los 30 días de iniciado el experimento. En ese momento se tomaron muestras de polen y de abejas. El polen se colectó mediante trampas convencionales de piquera adaptadas a las colmenas experimentales. Para colectar abejas pecoreadoras al regreso de sus vuelos, se taparon las piqueras para permitir la acumulación de las mismas y se las capturó con un sistema de aspiración desarrollado especialmente para este trabajo.

La segunda toma de muestras se realizó a los 60 días de iniciado el experimento. En este momento se tomaron muestras de miel y cera separándolas por compresión, mientras que la muestra de abejas se tomó con el sistema mencionado anteriormente.

El tamaño de muestra de todas las matrices fue mayor a 100 g a pedido de los laboratorios, para permitir la detección de contaminantes en muy baja concentración.

4.3. Tipo de colmena

En base a observaciones preliminares y antecedentes de trabajos similares (Sabatini, 2005) se decidió utilizar colmenas de cinco cuadros (tipo nuclero) para mantener un nivel muy bajo de agresividad, ya que las colonias muy pobladas son más agresivas.

El tamaño reducido de la colonia facilita también notablemente las observaciones relacionadas con la biología del insecto.

Se diseñó un techo con un compartimiento especial para contener sensores de temperatura y humedad. Estos implementos se instalaron en una colmena por Estación de Biomonitorio.

4.4. Selección de colonias

Las seis colonias utilizadas en este trabajo se seleccionaron tomando en cuenta la similitud en los patrones de postura, la edad de las reinas (un año), la sanidad, la producción en la temporada 2005-2006 y muy especialmente en la mansedumbre para no causar problemas en la población.

4.5. Registro de peso

Dado que el registro de peso de los cuadros en forma individual es la forma más clara de analizar la diferencia entre la recolección y el consumo de reservas de la colonia, se decidió tomar este dato mediante una balanza de mano tipo “Pilón” cuyo rango operativo va de 1 a 10 kg.

4.6. Recuento de abejas

Debido a que no existe en el mercado nacional ningún sistema de conteo de abejas, se decidió desarrollar un contador electrónico infrarrojo. Para este desarrollo se contó con la colaboración de un estudiante avanzado de Ing. Electrónica, el Sr. Diego Nuñez.

4.7. Protocolo de observación y registro de datos.

La detección de diferencias de comportamiento entre colonias requiere la toma de datos de manera sistemática mediante un registro. Dado que no se cuenta con un protocolo adecuado, se elaboró uno que posteriormente se utilizó para la toma de datos de las observaciones.

Los criterios seleccionados fueron aquellos de fácil observación a campo y cuya descripción pueda ser volcada en una planilla para su posterior análisis. En este caso, las variables que deben registrarse surgieron de la necesidad de determinar diferencias biológicas y de comportamiento entre colonias.

Los comportamientos fueron registrados utilizando el protocolo propio y las visitas para tomar estos registros se realizaron semanalmente.

4.8. Metodologías de análisis

Los análisis de metales pesados fueron realizados en el laboratorio LANAQUI (CERZOS- CONICET-UNS) por la Ing. Química Miryam Crespo y el Dr. Claudio Ferrarelo.

De acuerdo a lo informado por el LANAQUI, las muestras fueron procesadas por triplicado siguiendo los protocolos de Adair y Cobb (Institute of Environmental and Human Health, Universidad de Texas, Chemosphere, 38, 12, pp. 2951-2958, año 1999) y Santos y colaboradores (Analítica Química Acta, 548, pp. 166-173, año 2005). Las determinaciones de contenido total de Cadmio y Cinc fueron realizadas según Norma EPA 0200.7 utilizando un Espectrómetro de Emisión Atómica por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES) Shimadzu 1000 modelo III, acoplado a un nebulizador ultrasónico UAG-1. El análisis del contenido total de mercurio según Norma EPA 245.2 se efectuó mediante la técnica de Generación de Vapor Frío y detección por Espectrometría de Absorción Atómica con corrección por Efecto Zeeman (Hitachi Z 6100).

El conjunto de los solventes orgánicos benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (BTEX) + Hexano + Cloruro de Vinilo (CVM) + Dicloroetano e hidrocarburos aromáticos polinucleados (PAHs) fueron realizados en laboratorio CONTROL LAB¹ por el Lic. en Química Domingo Belleggia. La determinación se realizó por Cromatografía Gaseosa. Los análisis de PAH's en muestra de abejas se realizó en un único sitio de muestreo y una única fecha, con el objetivo de desarrollar la técnica. El método fue calibrado utilizando los diferentes blancos de cada matriz fortificados con diferentes niveles de concentración.

4.9. Sensores de temperatura y humedad.

Se instalaron sensores de temperatura y humedad con indicadores de máximas y mínimas. El rango operativo de los mismos es de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $+60\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura y de 10% a 99% de humedad relativa ambiente.

¹ Laboratorio Habilitado Ministerio de Salud.
Habilitación SSPA. Certificación COFILAB junio 2003

La temperatura se tomó colocando el sensor en el centro de la cámara de cría, mientras que la humedad relativa se tomó a nivel del techo de la colmena, en el interior de la misma. Los sensores fueron colocados en la colmena N° 2 de la Estación de Biomonitorio Profértil y en la colmena N° 4 de la Estación testigo.

4.10. Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los resultados fue realizado por la Dra. Nelida Winzer, profesora de bioestadística en la UNS, mediante un software para anova simple con medidas repetidas que se adapta al diseño experimental aplicado.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. Detección de contaminantes químicos en las matrices abejas, miel, polen y cera.

Los resultados deben considerarse como preliminares, teniendo en cuenta que uno de los objetivos del trabajo es el desarrollo de los métodos de análisis de las matrices abejas, cera, miel y polen; y que el tiempo de exposición de las mismas en el ambiente a monitorear fue breve.

En todos los casos las cromatografías gaseosas arrojaron valores por debajo de los niveles de detección, tanto para las muestras obtenidas en la Estación control como en la testigo.

La descripción de los métodos de análisis se transcriben de los informes del laboratorio CONTROL LAB, a excepción de la utilizada para metales pesados.

5.1.1. Los análisis de PAH's en la muestra de abejas tomada en la Estación monitor (Profertil) en fecha 03/07/06 se expresan en la tabla 1 y se realizaron al solo efecto de desarrollar la técnica.

5.1.2.. “Los análisis de BTEX, CVM y 1,1EDC (1,1 dicloroetano) en muestras de miel se realizaron pesando una determinada masa de muestra que se colocó en un vial de Head Space en el cual se efectuó la desorción térmica de los analitos. La determinación de los mismos se realizó por Cromatografía Gaseosa. El método fue calibrado utilizando un blanco de miel fortificado en diferentes niveles de concentración. Los resultados obtenidos en los análisis de las muestras tomadas con fecha 02/07/06 se expresan en la tabla 2 y son coincidentes”.

5.1.3. “Análisis de BTEX, CVM y 1,1 EDC (1,1 dicloroetano) en cera.

Se peso una determinada masa de cera y se la coloco en un vial de Head Space en el cual se efectuó la desorción de los analitos. Se realizó la determinación de los mismos por Cromatografía Gaseosa. El método fue calibrado utilizando un blanco de cera fortificado en diferentes niveles de concentración. Los resultados obtenidos en las Estaciones monitor (Profertil) y testigo con fecha 02/07/06 se expresan en la tabla 3 y son coincidentes.

5.1.4. “Análisis de BTEX, CVM y 1,1 EDC (1,1 dicloroetano) en abejas.

Se peso una determinada masa de abejas y se la coloco en un vial de Head Space en el cual se efectuó la desorcion de los analitos. Se realizó la determinación de los mismos por Cromatografía Gaseosa. El método fue calibrado utilizando un blanco de abejas fortificado en diferentes niveles de concentración.

Los valores obtenidos en las Estaciones de Biomonitorio monitor (Profértil) y testigo en fechas 21/04/06, 08/05/06, 01/07/06 y 02/07/06 se expresan en la tabla 4. En todos los casos los resultados son coincidentes”.

5.1.5. Determinación de metales pesados. Los metales sobre los que se decidió trabajar fueron cadmio, cinc, y mercurio. Se transcribe el informe del laboratorio LANAQUI:

“Las muestras fueron procesadas por triplicado siguiendo los protocolos de Adair y Cobb, y Santos y colaboradores. Las determinaciones de cadmio y cinc fueron realizadas según Norma EPA 0200.7 utilizando un Espectrómetro de Emisión Atómica por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES) acoplado a un nebulizador ultrasónico UAG-1.

El contenido total de mercurio según Norma EPA 245.2 se efectuó mediante la técnica de Generación de Vapor Frío y detección por Espectrometría de Absorción Atómica con corrección por efecto Zeeman.

En las determinaciones de cadmio y cinc se obtuvieron valores levemente superiores en la Estación testigo respecto la Estación Profértil para las matrices abejas y cera. En caso de mantenerse esta tendencia en sucesivas replicas de estos análisis se justificarían distintas líneas de investigación, una de las cuales puede relacionarse con el metabolismo del insecto”. Los valores obtenidos se presentan en la tabla 5.

Tabla 1. Resultados de análisis por Cromatografía Gaseosa de PAH's en muestra de abejas tomada en fecha 03/07/06 en la Estación de Biomonitorio Profértil.

Contaminante	Resultado (µg/g de abejas)
Naftaleno	<0,2
Acenaftileno	<0,2
Acenafteno	<0,2
Fluoreno	<0,2
Fenantreno	<0,2
Antraceno	<0,2
Fluoranteno	<0,2
Pireno	<0,2
Criseno	<0,2
Benzo (a) Antraceno	<0,2
Benzo (b) Fluoranteno	<0,2
Benzo (k) Fluoranteno	<0,2
Benzo (a) Pireno	<0,2
Indeno (1,2,3-cd)Pireno+	<0,2
Dibenzo (a,h) Antraceno	
Benzo (ghi) Perileno	<0,2

Tabla 2. Resultados de análisis por Cromatografía Gaseosa de BTEX, CVM y 1,1 EDC (1,1 dicloroetano) en muestras de miel tomadas en fecha 02/07/06.

Contaminante	Estación PROFÉRTIL (ng/g de miel)	Estación Testigo (ng/g de miel)
Benceno	<3	<3
Tolueno	<10	<10
Etilbenceno	<10	<10
p-Xileno	<30	<30
m-Xileno	<30	<30
o-Xileno	<30	<30
Xilenos totales	<30	<30
Cloruro de Vinilo	<10	<10
1,1 dicloroetano	<10	<10

Tabla 3. Resultados de análisis por Cromatografía Gaseosa de BTEX, CVM y 1,1 EDC (1,1 dicloroetano) en muestras de cera tomadas en fecha 02/07/06.

Contaminante	Estación Profertil Resultado (ng/g de miel)	Estación Testigo Resultado (ng/g de miel)
Benceno	<3	<3
Tolueno	<10	<10
Etilbenceno	<10	<10
p-Xileno	<30	<30
m-Xileno	<30	<30
o-Xileno	<30	<30
Xilenos totales	<30	<30
Cloruro de Vinilo	<10	<10
1,1 dicloroetano	<10	<10

Tabla 4. Resultados del análisis por Cromatografía Gaseosa de BTEX, CVM y 1,1 EDC (1,1 dicloroetano) en muestras de abejas tomadas a lo largo del trabajo. Las fechas de la toma de muestras fueron el 21 de abril, el 8 mayo, el 1 de junio y el 2 de julio de 2006.

Contaminante	Estación Profertil Resultado (ng/g de miel)	Estación Testigo Resultado (ng/g de miel)
Benceno	<3	<3
Tolueno	<10	<10
Etilbenceno	<10	<10
p-Xileno	<30	<30
m-Xileno	<30	<30
o-Xileno	<30	<30
Xilenos totales	<30	<30
Cloruro de Vinilo	<10	<10
1,1 dicloroetano	<10	<10

Tabla 5. Resultados de análisis de contenido de cadmio, cinc y mercurio en abejas, cera, polen y miel expresados en mg/kg de materia seca (ppm).

Muestra	Fecha	Cd	Zn	Hg
Abejas (testigo)	01/07/06	0.19 ± 0.001	51.4 ± 3.1	< 0.08
Abejas (Profertil)	31/05/06	0.12 ± 0.001	16.1 ± 0.5	< 0.08
Abejas (Profertil)	02/07/06	0.37 ± 0.02	15.4 ± 0.6	< 0.08
Cera (testigo)	01/07/06	0.11 ± 0.01	4.8 ± 0.2	< 0.08
Cera (Profertil)	02/07/06	< 0.10	2.5 ± 0.1	< 0.08
Polen (testigo)	28/04/06	0.28 ± 0.01	6.1 ± 0.2	< 0.08
Polen (Profertil)	28/04/06	0.32 ± 0.02	3.4 ± 0.1	< 0.08
Miel (testigo)	01/07/06	< 0.10	< 1.0	< 0.08
Miel (Profertil)	02/07/06	< 0.10	< 1.0	< 0.08

5.2. Contador electrónico de abejas.

En una primera etapa se trabajó en el diseño de un sistema mecánico usando uno similar al de los escapes Porter, unido a un circuito electrónico sencillo de conteo. Esta opción fue rápidamente descartada al observar que por su reducido tamaño las abejas no podían accionar el mecanismo correctamente, produciendo un gran congestionamiento de la piquera en horas de máxima actividad.

Se probaron diversos sistemas mecánicos con resultados negativos.

Posteriormente se decidió trabajar con un sistema de sensores infrarrojos que detectara el paso de los insectos sin obstaculizar su normal desplazamiento. Para facilitar el desarrollo del circuito electrónico se diseñó una piquera de características especiales (Figura 1, Anexo). La misma cuenta con ocho pasillos de 7 mm de ancho por 6 mm de alto y 100 mm de largo, divididos en dos grupos de cuatro. Los pasillos de ingreso y egreso a la colmena se alternan. Los de ingreso tienen el extremo exterior al ras de la piquera y el interior elevado 30 mm para obligar a la abeja a “saltar” al interior de la colmena. Este sistema impediría la salida por el mismo pasillo por el que entró, ya que junto a éste se encuentra otro de iguales características pero con el extremo interno al ras del piso y el externo elevado. Las abejas tampoco entraban por éstos, ya que su extremo exterior se encuentra por encima de la planchada de vuelo donde la abeja aterriza. De este modo se simplificó el diseño y se redujo el costo del mismo. Este diseño funcionó en ensayos breves, pero no en tiempos prolongados.

Posteriormente se procedió al diseño de un circuito electrónico accionado por un haz infrarrojo cuyo display de cuatro dígitos puede ser programado para que sume cada uno, dos, cuatro, etc. insectos que lo crucen. Por último se instalaron los sensores I.R. en la piquera, de modo que sume por separado los pasillos de entrada y salida para poder evaluar diferencias.

Debido a las complicaciones sufridas en el diseño y a que el modelo experimental requiere algunos ajustes, los datos obtenidos no se incluyeron en este trabajo.

5.3. Protocolo de observación de colmenas para monitoreo ambiental.

Se diseñó un protocolo de observación que se adaptara a las necesidades del biomonitoreo (Anexo).

El mismo se redactó en base a las primeras observaciones que se realizaron teniendo en cuenta los patrones de cría de las colonias, los que fueron evaluados en dm^2 , la actividad de vuelo en las piqueras, cantidad de abejas que ingresan con polen por minuto, aproximación de la cantidad de abejas en el interior de la colmena, peso en kg de cada cuadro, temperatura y humedad máxima y mínima registradas, test de agresividad a campo, etc.

Como complemento de este protocolo se diseñó una planilla para el registro de datos que se presenta en .Anexo.

Los resultados de las observaciones de superficie de cría, peso y población de las colmenas N° 1, 2 y 3 de la Estación de Biomonitorio Profértil, y N° 4, 5 y 6 de la Estación testigo se presentan en la tabla 6.

Los datos de temperatura y humedad de las colmenas N° 2 de la Estación Profertil y N° 4 de la Estación de Biomonitorio testigo, que contaban con los respectivos sensores, se presentan en la tabla 7.

Tabla 6. Resultados de las observaciones tomadas según protocolo en las colmenas N° 1, 2 y 3 de la Estación de Biomonitorio Profertil, y N° 4, 5 y 6 la Estación testigo.

Fecha	Colmena n°	Sup. de cría en dm2	Peso en Kg.	Poblacion
02-may	1	9		10000
02-may	2	8		10000
02-may	3	9		10000
02-may	4	8		10000
02-may	5	8		10000
02-may	6	9		10000
08-may	1	9	7.190	10000
08-may	2	6,5	8.000	10000
08-may	3	11	10.250	10000
08-may	4	8,5	5.400	9000
08-may	5	12	8.150	10000
08-may	6	4	9.850	10000
16-may	1	11,5	7.200	9000
16-may	2	5,5	8.300	8000
16-may	3	12,5	10.250	9500
16-may	4	10	6.500	9000
16-may	5	13	7.600	9000
16-may	6	5	9.700	9000
19-may	1	10	6.300	10000
19-may	2	7	7.750	8000
19-may	3	12,5	9.850	10000
19-may	4	9	6.700	8000
19-may	5	13	7.050	8500
19-may	6	4,5	9.600	8500
26-may	1	10,5	6.400	10.500
26-may	2	6	7.600	8500
26-may	3	15	9.250	10500
26-may	4	12,5	7.150	9000
26-may	5	10	5.000	6500
26-may	6	4	9.100	9000
31-may	1	10	6.500	9000
31-may	2	6	7.650	9000
31-may	3	18	8.850	9500
31-may	4	11,5	7.400	9000
31-may	5	6	2.125	6000
31-may	6	4	9.400	8000

Fecha	Colmena nº	Sup. de cría en dm2	Peso en Kg.	Población
04-jun	1	10	5.000	8000
04-jun	2	4,5	7.400	8000
04-jun	3	12	8.900	8000
04-jun	4	15	6.900	9000
04-jun	5	6	2.750	5500
04-jun	6	3	9.100	8000
10-jun	1	8	3.100	6000
10-jun	2	3,5	7.150	8000
10-jun	3	11	7.950	9000
10-jun	4	13	8.000	8500
10-jun	5	6	4.050	8500
10-jun	6	4	8.650	8000
15-jun	1	6	3.600	5000
15-jun	2	5	6.950	7500
15-jun	3	11	7.600	10000
15-jun	4	19	8.800	9000
15-jun	5	8	4.300	7500
15-jun	6	4	8.750	6000
23-jun	1	4	4.000	6000
23-jun	2	3	6.700	8000
23-jun	3	7	6.000	10000
23-jun	4	15	9.900	10000
23-jun	5	7	3.900	7000
23-jun	6	3	7.900	7000
02-jul	1	2	4.550	6000
02-jul	2	2	6.550	9000
02-jul	3	4	5.500	10000
02-jul	4	14	11.950	11000
02-jul	5	7	2.650	7000
02-jul	6	2	7.350	7500

Tabla 7. Temperatura y humedad de las colmenas N° 2 de la Estación de Biomonitordeo Profertil y N° 4 de la Estación testigo.

Fecha	Colmena n°	Temp. Max.	Temp. Min.	Humed.Max.	Humed. Min.
16-may	2	34,8°C	26,1°C	85%	39%
08-may	4	35,1°C	22°C	99%	38%
19-may	2	34,8°C	18,8°C	99%	32%
19-may	4	32,2°C	20cC	99%	56%
26-may	2	33,9°C	23,9°C	94%	56%
26-may	4	35,1°C	20,3°C	99%	50%
31-may	2	34,1°C	19,7°C	99%	38%
31-may	4	34,7°C	31,4°C	99%	58%
04-jun	2	33,8°C	18.7°C	99%	44%
04-jun	4	34,9°C	33,3°C	97%	43%
10-jun	2	28,8°C	17,6°C	99%	45%
10-jun	4	33,4°C	30°C	99%	88%
15-jun	2	34,2°C	31,2°C	99%	38%
15-jun	4	35,1°C	21,5°C	99%	53%
23-jun	2	32,5°C	7,1°C	99%	46%
23-jun	4	35,1°C	33,3°C	99%	57%
02-jul	2	26°C	6°C	99%	48%
02-jul	4	35,4°C	22,4°C	99%	36%

Los datos de temperatura tomados los días 23 de junio y 2 de julio en la colmena N° 2 no son válidos ya que el sensor no se encontraba en el centro de la colmena, sino que había caído a nivel del piso.

5.4. Análisis estadístico.

Dada la complejidad que presenta la realización de un análisis estadístico para ANOVA simple con medidas repetidas, que es el que mejor se adapta a este modelo experimental, se recurrió a la Dra. Nelida Winzer del departamento de matemática de la U.N.S.

A continuación se transcribe el trabajo realizado por la Dra. Winzer teniendo en cuenta las variables *Superficie de cría, peso y población*.

Objetivo: verificar si existen diferencias entre los dos lugares, tanto en los valores medios como en la forma en que se podrían producir estos cambios a lo largo del tiempo.

Análisis Estadístico: Los datos para cada variable se analizaron como un diseño de ANOVA simple completamente aleatorizado con un factor dentro en Medidas Repetidas.

Factor Principal: Lugares

Factor Dentro ó en Medidas repetidas: Días.

Unidades Experimentales: colmenas.

Como las observaciones sobre una misma colmena en los distintos días no son independientes hay que modelar la matriz de covarianzas. Si la matriz de covarianzas cumple la condición de esfericidad el análisis es similar al de una parcela dividida tomando como factor Principal los Lugares y como factor Secundario los Días. Si esta condición no se cumple hay que usar otras estructuras para la matriz de covarianzas, y estimar los términos del modelo mediante métodos de máxima verosimilitud. Se probaron las siguientes estructuras para la matriz de covarianzas: Simetría compuesta y AR(1) (Autoregresivo de orden 1). Se seleccionó la estructura que dio el mayor valor del criterio de información de Akaike.

La matriz con estructura de simetría compuesta plantea que todas las varianzas son iguales y las covarianzas también.

Requiere la estimación de 2 parámetros: σ^2 y σ_a^2

La varianza de la observación de una colmena i en el instante j es: $\sigma^2 + \sigma_a^2$.

La covarianza entre dos observaciones de una misma colmena en dos instantes distintos es: σ_a^2 , y este valor es el mismo para todas las colmenas y para dos instantes cualesquiera. En el caso que se analiza aquí esta hipótesis no parece tener sustento ya que, es de esperar, que dos observaciones próximas en el tiempo estén más correlacionadas entre sí que dos observaciones más alejadas en el tiempo.

La matriz con estructura de AR(1) plantea que todas las varianzas son iguales y las covarianzas dependen de la distancia entre los tiempos k y j de la siguiente forma: $\sigma^2 \rho^{|k-j|}$. Requiere la estimación de 2 parámetros.

A efectos de la modelización se tomaron los siguientes niveles del factor Días: 0, 6, 14, 17, 24, 29, 33, 39, 44, 52 y 61. Estos niveles corresponden a los días transcurridos desde que se inició el experimento. Como en el nivel 0 los datos para todas las colmenas son muy parecidos, lo que produce varianzas mucho más pequeñas (incluso ceros) que en el resto de las fechas, este nivel no se usó en los análisis.

Para probar los efectos de Sitios, Días e interacción se usaron los tests de Wald. Se utilizaron los programas BMDP2V y BMDP5V.

Resultados:

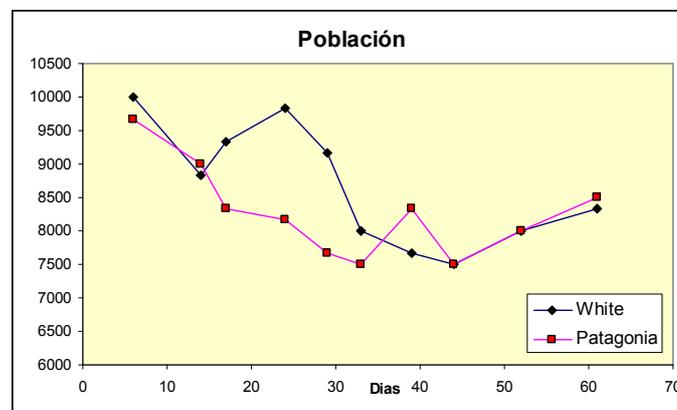
Para las tres variables analizadas el test rechazó la hipótesis de esfericidad de la matriz de covarianzas. Por lo tanto, se probaron las dos estructuras mencionadas más arriba y, en todos los casos, la que mostró el mayor valor de AIC fue la de AR(1).

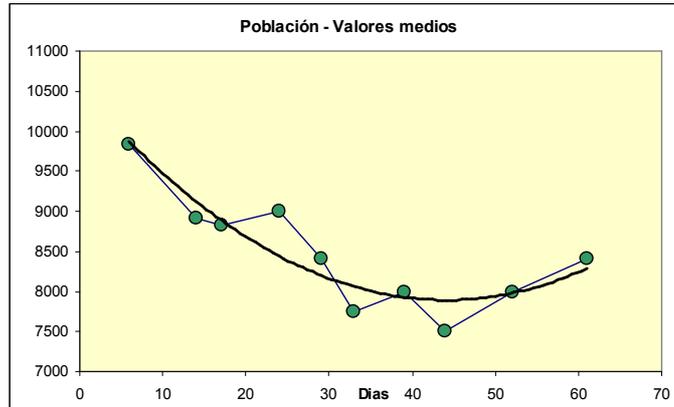
Variable: POBLACIÓN.

Matriz de covarianzas	AIC
Simetría Compuesta	-88.7
AR(1)	-70.26

Fuente de Variación	gl	Chi-cuadrado	p
Lugares	1	0.34	0.56
Días	9	27.08	0.0014
Lug x Dias	9	12.01	0.21

Conclusión: No se detectaron evidencias de interacción ni efecto de lugares. Sí se detectaron diferencias altamente significativas entre los días.

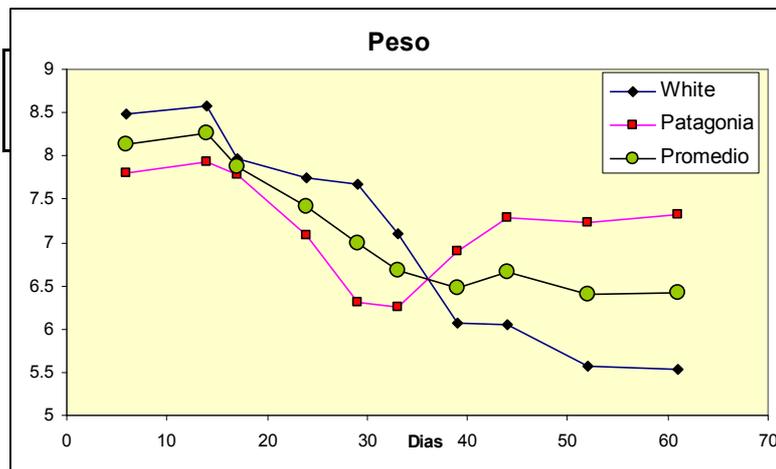




Matriz de covarianzas	AIC
Simetría Compuesta	-107.98
AR(1)	-74

Variable: PESO

Conclusión: No se encontraron evidencias de interacción ni efecto de lugares ni de días

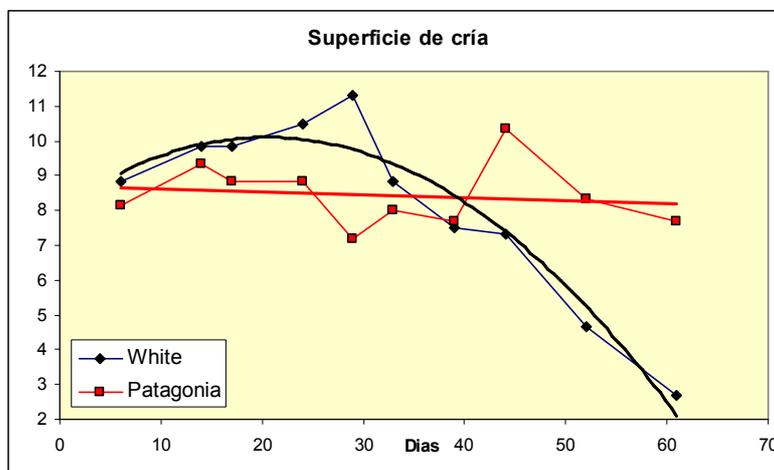


Variable: SUPERFICIE DE CRIA.

Matriz de covarianzas	AIC
Simetría Compuesta	-136.6
AR(1)	-116.08

Fuente de Variación	gl	Chi-cuadrado	p
Lugares	1	0.0156	0.9
Dias	9	30.6986	0.0003
Lug x Dias	9	19.4355	0.0217

Conclusión: Se detectan evidencias significativas de interacción, lo que significa que los sitios no se comportaron de la misma manera a lo largo de los días.



En el gráfico se muestra la evolución de las medias de esta variable. Se ajustaron líneas de tendencia: lineal para el lugar Patagonia y cuadrática para White. Estas funciones no deben tomarse como modelos del comportamiento sino sólo como “tendencias”.

Observaciones finales:

- 1) Debido al bajo número de colmenas asignadas a cada tratamiento los resultados no significativos no son concluyentes. Los efectos no detectados pueden producirse porque no existen estos efectos ó porque no existe suficiente evidencia debido al bajo número de unidades experimentales utilizadas. Si se hicieran nuevos ensayos sería recomendable utilizar mayor número de colmenas.
- 2) Las pruebas de Wald son pruebas asintóticas, es decir, que para que sus resultados sean más confiables se requeriría mayor número de unidades experimentales (u.e). El análisis realizado en este informe se debe tomar como una muestra de una posible metodología a utilizar para analizar los datos.
- 3) Con mayor número de u.e. sería posible probar otros modelos para las matrices de covarianzas que podrían ser más precisas.

Bibliografía

Hand, D.; Crowder, M.: Practical Longitudinal Analysis. Chapman & Hall (Londres), 1996, 232 pp.

Crowder, M.; Hand, D.: Analysis of repeated measures. Chapman & Hall (Londres), 1990, 257 pp.

5.5. Mecanismo para la toma de muestra de abejas.

Para la toma de muestras de abejas se utilizó un equipo adaptado especialmente a los fines de este estudio. El diseño responde a la necesidad de tomar muestras de abejas importantes (100 gramos aprox.), las que deben permanecer vivas y sin someterse a maltrato para no desprender de su cuerpo las partículas retenidas en sus pelos. Se trata de una aspiradora portátil a la que se adosó en su parte inferior un recipiente intercambiable de 250 c.c. de capacidad al que son enviadas las abejas mediante una corriente de aire suave y que puede retirarse fácilmente para enviarse directamente al laboratorio sin necesidad de trasvases o manipulaciones que podrían atentar contra la calidad de la muestra.

5.6. Selección de colonias de abejas.

Las características seleccionadas en las colonias para el monitoreo ambiental fueron: similitud en los patrones de cría, mansedumbre, edad de las reinas y agresividad. En este último ítem se tuvieron en cuenta tanto los antecedentes de trabajos anteriores (Bromenshenk, 2005) como los conocimientos respecto a la relación entre el tamaño de la colonia con la agresividad.

También se realizó un test de agresividad a campo en cada visita a las Estaciones de Biomonitorio cuyo resultado en ningún caso superó el nivel 0(cero). El mismo consiste en balancear una pelota de tela negra afelpada de 5 cm. de diámetro pendiente de un hilo en el frente de la piquera durante un minuto. Los resultados de este test se expresan en una escala abierta que cuenta el número de abejas que atacan la pelota.

La selección se realizó entre 40 colmenas adaptadas a la zona a monitorear.

5.7. Desarrollo de una colmena adaptada para monitoreo ambiental.

Teniendo en cuenta la relación directa entre tamaño y agresividad de las colonias de abejas se decidió trabajar con colmenas de la mitad del tamaño del convencional, o sea con 5 cuadros standard. Este tamaño de colmena reducido favorece en forma notable la observación del comportamiento y aspectos biológicos de la misma, fundamentales para evaluar diferencias entre colonias.

Se optó por una piquera convencional pero con planchada de vuelo extendida de 8 cm., para facilitar tanto la colocación de trampas de polen como del contador de abejas y a la vez favorecer la observación de la actividad.

Tanto en el frente como en la parte posterior de la colmena se realizaron orificios para favorecer la ventilación de la misma.

El techo cuenta con un compartimiento especialmente diseñado para contener el indicador de temperatura y humedad, el contador, o cualquier otro dispositivo necesario. Este compartimiento cuenta con una tapa que permite tomar datos sin necesidad de abrir la colmena, por lo que es posible trabajar con cualquier clima sin perjudicar a la colonia. Los planos y detalles de la colmena diseñada se encuentran en el anexo.

6. CONCLUSIONES

Apis mellifera se adaptó perfectamente a un ambiente altamente industrializado, sin que se observaran modificaciones significativas de su conducta ni alteraciones en su biología.

Consultas realizadas al personal que trabaja en las inmediaciones de las Estaciones de Biomonitorio no notó la presencia de abejas. Posiblemente se deba al tamaño reducido de las colmenas destinadas a este fin y a la genética seleccionada.

Se logró el desarrollo, construcción y adaptación de los diferentes elementos técnicos necesarios para la realización del monitoreo ambiental con abejas mediante *Estaciones de Biomonitorio Gemelas con Análisis Simultáneos*, tales como: una colmena especialmente adaptada en su forma y tamaño, un muestreador de material vivo, un contador I.R. de abejas y un protocolo de observación para monitoreo ambiental.

Un ajuste necesario a la metodología de trabajo es el aumento del número de unidades experimentales.

En base al análisis estadístico realizado se determinó que el número de colmenas por Estación de Biomonitorio no debe ser inferior a cuatro, y el número de Estaciones no inferior a tres para que garanticen la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Los análisis de las matrices estudiadas pudieron realizarse en laboratorios locales que desarrollaron las metodologías necesarias.

El manejo de las colmenas utilizadas para el presente trabajo permitió visualizar la importancia de contar con un colmenar de respaldo de un tamaño acorde con el monitoreo a realizar, para reemplazar colmenas en caso que estas sufran algún tipo de problema que afecte el desarrollo del mismo, tales como enfermedades, pérdida de reina, etc.

7. PERSPECTIVAS

Las probabilidades de ampliar y mejorar un biomonitoreo ambiental usando abejas *Apis mellifera* y sus productos como indicadores de la degradación ambiental son extremadamente amplias, como por ejemplo:

- Ampliar las matrices de análisis tomando muestras de propóleos, larvas, pupas, jalea real, reinas (habitante mas longevo de la colonia), zánganos, etc.
- Instalar un sistema inalámbrico de advertencia conectados a sensores de temperatura o movimiento que registren con fecha y hora alteraciones graves de la población tales como una mortandad masiva, o inactividad inusual.
- Realizar estudios microscópicos de las partículas retenidas en la superficie del cuerpo de la abeja mediante un peinado con vaselina de las mismas.
- Crear “rutas de vuelo” mediante cebos de interés para la abeja (miel, jarabe) para obligarlas a recorrer una zona determinada a monitorear.
- Instalar Estaciones de Biomonitoreo en forma concéntrica a una fuente contaminante para determinar el efecto de esta en función a la distancia.
- Introducir abejas en un ambiente de atmósfera controlada con distintos grados de concentración de contaminantes para obtener parámetros de contaminación medioambientales.

Por ultimo, se puede afirmar que la participación de un Técnico Apícola experimentado en la observación del comportamiento y la biología de *Apis mellifera* es excluyente para el éxito del biomonitoreo ambiental con abejas. La mayoría de los trabajos de este tipo se basan en los resultados de los análisis de laboratorio, sin tener en cuenta que un observador experimentado puede detectar pequeñas alteraciones en la colonia que no se reflejan en los análisis químicos de las distintas matrices. Esto puede relacionarse con la incorrecta elección de los compuestos analizados, la recombinación de elementos en el ambiente, sinergismos o los efectos de metabolitos de los distintos contaminantes que son transformados por la biología del propio insecto.

8. Bibliografía y páginas web

Bees as Environmental Indicators. 1999. New Zealand Beekeeping.

<http://www.beekeeping.co.nz/biblio5.htm>

Becker A. 1999. “Las abejas centinelas del entorno ambiental”. L’Abeille de France. Junio 1999.

<http://www.beekeeping.com/abeille-de-france/articles/centinelas.htm>

Blanco, C. 2002. “La bioindicación se consolida como técnica de evaluación ambiental”. Valladolid, 6 de Enero de 2002. El Norte de Castilla .

<http://nortecastilla.es>

Bromenshenk JJ. et al. 1985. “Pollution monitoring of puget sound with honey bees”. Science 227, 632-634.

Bromenshenk, J. 2005. “Utilizan las abejas para rastrear polución en el medio ambiente”. El Apicultor 16 de Julio de 2005, pag. 4.

Comisión Nacional de Energía Atómica. 2006. Tecnología Nuclear en Apicultura. 8 de Febrero de 2006. “Biomonitoreo Ambiental”.

http://cebáis.cnea.gov.ar/idEN/CONOC/LA_ENERGA_NUC

Comisión Nacional de Energía Atómica. Grupo Técnicas Analíticas Nucleares. 2006. “Desarrollo y aplicación del análisis por activación neutrónica a estudios de medio ambiente”. 3 de Marzo de 2006

<http://www.cnea.gov.ar/xxi/ambiental/activacion-neutronica/cont.asp>

Cronista Digital. 12 de Octubre de 2003. “Evalúan acudir a un tribunal internacional por la planta de celulosa”.

http://www.cronistadigital.com.ar/articulo.asp?art_date20031012

- Dadant, C. 1979. "La colmena y la abeja melífera".
- D'Amico, R. M. 2003. "Polo Petroquímico de DOCK SUD". Instituto Federal de Políticas Publicas.
- Fernandez Muiño MA. 1991. "Simplified method for the determination of organochlorine pesticides in honey bees. Analyst 116, 269-271.
- Fernández Muiño, M.A. 1995. "Organochlorine pesticide residues in Galician Honeys". Apidologie N° 26,33-38.
- Jean prost, P. 1989. "Conocimiento y manejo de la colmena, manejo de la colmena".
- Kent, J. 1987. USAF "Monitoreo biológico de verificación y cumplimiento". Airpower Journal.. www.airpower.maxwell.af.mil/apjinternational/apj-s/skent.html
- Manual de monitoreo ambiental comunitario. 2002.
<http://www.accionecologica.org/descargas/ereas/petroleos/documentos>
- Migulla, P. Et all. 1989. "Heavy metal contents and adenylate energy charge in insects from industrialized region as indices of environmental stress". Uniwersytet Slaski. Kat Fisj. Czlow. I zwierz. UL. Bankowa 9. 49-007 Kotowice.
- Porrini, C. 2006. "La abeja como bioindicador del medio ambiente". Vida Apícola, 23 de Febrero de 2006.
<http://www.vidaapicola.com/tecnica/biología/bioindicador.html>
- Roggi, C. Et all. 1990. "Contaminazione chimica rilevata in alcuni campioni di miele". L'IgieneModerna 93, 721-737.
- Root, A.I. 1997. "ABC y XYZ de la apicultura"

Sanz M.A. 2002. “La bioindicación se consolida como técnica de evaluación ambiental”.

http://www.gva.es/ceam/press/NorteCastilla/NorteCastilla_2002_01_06.htm

Santos Vilar, J. M. 2006. “La Polinización”. 8 de Marzo de 2006.

<http://www.apisocios.com.ar/notas/lapolinizacion.htm>

Sabatini A. G. 2005. “L’abeille bio-indicateur”. Abeilles & Cie. N° 108. Abril de 2005.

Smith, R. K. And Wilcox, M. M. 1990. “Chemical residues in Bees, Honey and Beeswax”. American Bee Journal. Marzo de 1990.

Stefano, C. Barbattini, R. Agabiti, m. 1994. “ L’ape: insetto test dell’inquinamento ambientale da cadmio e piombo”.Lape Nostra Amica 34-37. Julio- Agosto de 1994.

Tong S.S.C. et al. 1975. Elemental analysis of honey as an indicator of pollution. Arch. Environ. Health 30, 329-332.

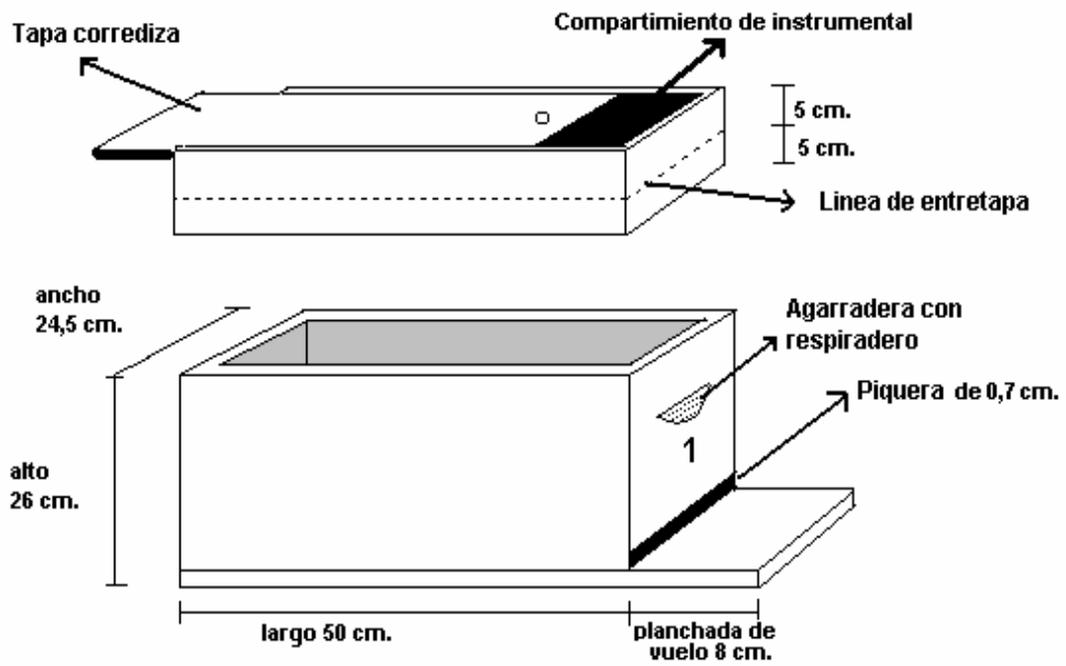
Torres Rodríguez, M. T. 2003. “Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales”. Revista Cubana de higiene y epidemiología. http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol41_2-3

ANEXO

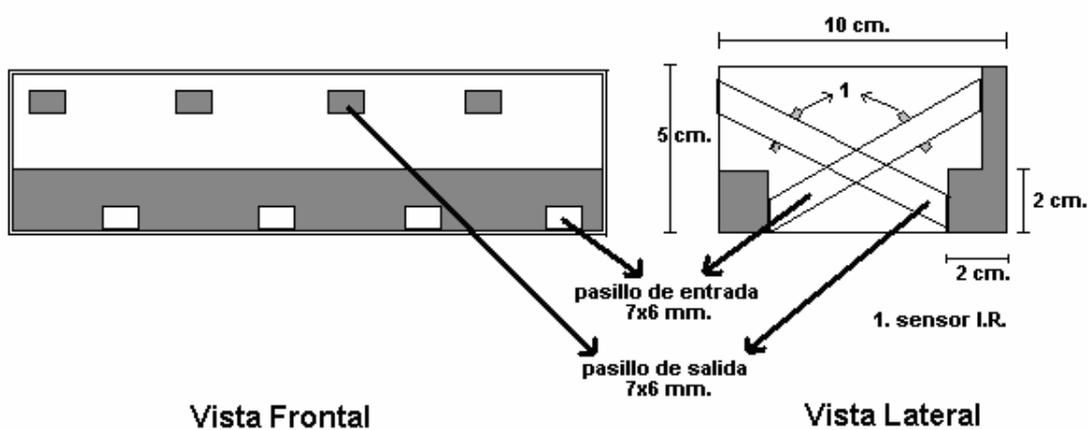
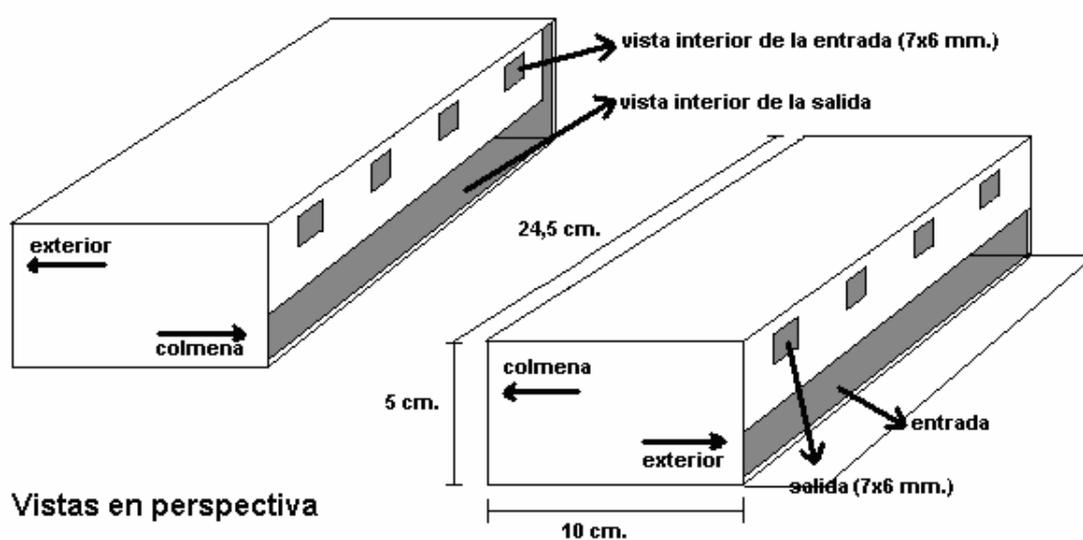
- 1.** Plano de la colmena para monitoreo ambiental
- 2.** Plano de la piquera del contador I.R. de abejas.
- 3.** Protocolo de observación y planilla de registro de datos.

1. PLANO DE LA COLMENA

La colmena se construye con madera de álamo estacionado de 2 cm. de espesor.



2. PLANO DE LA PIQUERA DEL CONTADOR I.R. DE ABEJAS



3. PROTOCOLO DE OBSERVACION DE COLMENAS PARA EL MÉTODO DE ESTACIONES DE BIOMONITOREO GEMELAS CON ANÁLISIS SIMULTANEOS

El presente protocolo pretende ser una herramienta destinada a unificar criterios y permitir documentar las observaciones de colmenas utilizadas para realizar monitoreo ambiental por el método de “Estaciones de Biomonitorio Gemelas con Análisis Simultáneos”, de modo que éstas sean interpretadas de igual modo por cualquier profesional relacionado con la apicultura, como si el mismo estuviera frente a la colmena.

Debido a que las colmenas utilizadas en este tipo de trabajo deben permitir una gran observabilidad tanto de los aspectos biológicos como de comportamiento, las mismas serán de la mitad del tamaño de las convencionales, o sea que contendrán solo cinco cuadros de tamaño standard. Esto no solo facilita la observación al limitar el número de abejas por colmena, sino que también contribuye a reducir la agresividad de las mismas, lo que es de fundamental importancia dado que los estudios medioambientales generalmente se realizan en zonas mas o menos pobladas.

Teniendo en cuenta la instalación de diferentes sensores para la toma de datos tales como temperatura, humedad, etc. en el interior de las colonias, los techos deben contar con un compartimiento estanco que permita mediante una tapa de fácil abertura tomar los datos de los mismos sin necesidad de abrir la colmena, lo que facilita la obtención de información durante todo el año o en días de clima adverso.

La instalación de las Estaciones de Biomonitorio tanto monitor como testigo (blanco) deberá realizarse respetando idéntica orientación, disposición de las colonias y una cuidadosa selección del material vivo respetando similitud en edad y genética de las reinas, mansedumbre, tasa de postura y producción.

1. Las colmenas estarán numeradas al igual que cada uno de sus cuadros, los que llevarán el número sobre el cabezal en la parte delantera superior y en ambos laterales. La numeración de estos últimos constará del número de cuadro seguido del número de colmena al que pertenece, separando ambos números por un guión. Por ejemplo el cuadro 2 de la colmena 12 se numerará 2-12, de forma que al guardar imágenes fotográficas de los mismos siempre quede identificado su origen.
2. Al llegar a la Estación de Biomonitorio se toma nota de la fecha, hora, viento (intensidad y dirección) y cielo (despejado, cubierto, semicubierto) y de ser posible, la temperatura y registro pluviométrico. Estos datos pueden complementarse con la página del Servicio Meteorológico Nacional del día anexándola a la planilla.
3. Anotar en la planilla el número o nombre de la Estación de Biomonitorio.
4. Se comienza a revisar externamente las colmenas en orden numérico.
5. Se realiza una observación general, prestando especial atención a la actividad en las piqueras y a las diferencias entre colmenas, asentándolo en el sector de la planilla correspondiente a cada colmena como: vuelo normal; poco vuelo; ausencia de vuelo; presencia de guardianas; etc.
6. Se cuentan las pecoreadoras con cargas de polen que ingresan en un minuto y se registra en planilla el promedio de tres repeticiones.
7. Se realiza test de agresividad, comenzando con la colmena número 1 y siguiendo con el resto. Se balancea una pelota de tela negra afelpada de 5 cm de diámetro pendiente de un hilo durante un minuto, y se cuenta la cantidad de abejas que se posan en ella con intención de ataque. Se anota en la planilla

de registro, utilizando una escala abierta que indica el número de abejas contabilizadas.

8. Se procede a abrir la tapa del compartimiento de sensores del techo de la colmena y se toma el registro de los mismos.
9. Se comienza a abrir las colmenas en orden numérico.
10. Se toma el cuadro N° 1, se lo pesa y se anota en la planilla de registro
11. Se observan ambas caras determinando cantidad de cría (operculada, abierta, huevo) aproximando las cantidades en decímetros cuadrados, en este punto se aconseja adquirir práctica con un cuadro vacío en el que se marcaran cuadrados de un decímetro cuadrado o bien midiendo las diagonales de la elipse de cría. Se anota en la planilla de registro la superficie de cría y la presencia o no de miel y polen. Detallar cría ó presencia de zánganos, avistaje de reina, y todo detalle de interés.
12. Se continua con los cuadros siguientes de igual modo
13. Se cierra la colmena
14. Se anota la población aproximada teniendo en cuenta que un cuadro totalmente cubierto de abejas tiene aproximadamente 2000 individuos.

A continuación se detalla una planilla de observación para el supuesto de agrupar las colmenas de a dos unidades por Estación de Biomonitorio. Se agregarán los cuadros correspondientes adaptándolos a la cantidad de colonias utilizadas en cada trabajo.

PLANILLA DE REGISTRO DE DATOS

ESTACIÓN:					
Fecha	Hora	Intensidad del viento	Dirección de viento	Temperatura	Nubosidad

Colmena N° 1						
Entrada de abejas con polen por minuto		Test de Agresividad		Estimación de vuelo		
Temp. Int.	Humed. Int.		Temp. Max.	Temp. Min.	Humed. Max.	Humed. Min.
	Peso en Kg.	Superficie de cría en dm ²	Miel	Polen	Otros datos	
Cuadro 1						
Cuadro 2						
Cuadro 3						
Cuadro 4						
Cuadro 5						
Obs. General:					Población aproximada	

Colmena N° 2						
Entrada de abejas con polen por minuto		Test de Agresividad		Estimación de vuelo		
Temp. Int.	Humed. Int.		Temp. Max.	Temp. Min.	Humed. Max.	Humed. Min.
	Peso en Kg.	Superficie de cría en dm ²	Miel	Polen	Otros datos	
Cuadro 1						
Cuadro 2						
Cuadro 3						
Cuadro 4						
Cuadro 5						
Obs. General:					Población aproximada	