

# Ibero ABEJA

Revista Apícola Internacional

Suscribete para obtener las  
ultimas ediciones.

Se el primero en enterarse de las  
nuevas ediciones de la revista  
internacional IberoABEJA.



**SCANEAME**

Haz clic para ir a la revista [www.revistaiberoabeja.com](http://www.revistaiberoabeja.com)

# Ibero ABEJA

Revista Apícola Internacional

Año 2 / Nº2 / Enero 2024



## COLMENAS CONECTADAS

CÓMO ES LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL REVOLUCIONANDO LA APICULTURA



CONBRAPI 2023

PARTICIPA DO MAIOR CONGRESSO DE APICULTURA E MELIPONICULTURA DO BRASIL.

MAIS DE 40 ANOS DE TRADIÇÃO



BRASÍLIA

DIAS 24, 25 E 26 DE NOVIEMBRE DE 2023

[www.iberoabeja.com](http://www.iberoabeja.com)



ESPAÑOL

...en el Mundo



Efraín Valdivia  
Director  
Blog: [efrainvaldivia.blog](http://efrainvaldivia.blog)  
+51 994442657

## Presentación

*Queridos lectores y apicultores apasionados,*

*Me complace presentarles la 1era edición de IberoABEJA 2024, revista apícola internacional, donde exploramos las innovaciones que están transformando el mundo de las abejas y la apicultura. En esta edición especial, titulada "Colmenas Conectadas, Como es la Inteligencia Artificial revolucionando la Apicultura", nos sumergimos en la fascinante convergencia entre la apicultura y la tecnología de vanguardia.*

*Bajo mi dirección como editor, Efraín Valdivia, hemos reunido una selección de artículos que destacan cómo la Inteligencia Artificial (IA) está remodelando el panorama apícola. Nos enfrentamos a desafíos crecientes en todo el mundo, y la IA emerge como un aliado crucial en la búsqueda de soluciones innovadoras.*

*En esta edición, exploraremos cómo la IA está revolucionando la monitorización de colmenas, mejorando la salud de las abejas, optimizando la producción de miel y proporcionando herramientas analíticas avanzadas para una gestión más eficiente de las operaciones apícolas. Desde la detección temprana de enfermedades hasta la optimización de rutas de polinización, la IA desempeña un papel crucial en cada aspecto de la apicultura moderna.*

*Nuestros destacados expertos y colaboradores comparten sus perspectivas, investigaciones y experiencias en la aplicación práctica de la IA en la apicultura. Descubrirán casos de estudio inspiradores, entrevistas con pioneros en la industria y análisis profundos sobre cómo la tecnología está allanando el camino para un desarrollo sin precedentes en el mundo apícola.*

*En IberoABEJA, estamos comprometidos con ofrecer información valiosa y perspicaz que inspire a nuestros lectores a adoptar nuevas tecnologías y enfoques en la gestión de colmenas. Esta 1era edición especial es una ventana a un futuro emocionante donde la tecnología y la tradición se entrelazan para impulsar la apicultura hacia nuevos horizontes de sostenibilidad y eficiencia.*

*Espero que disfruten de la lectura de esta edición dedicada a "Colmenas Conectadas" y que encuentren inspiración para abrazar las oportunidades que la Inteligencia Artificial ofrece a la apicultura moderna.*

***¡Bienvenidos a un viaje apasionante donde la tecnología y las abejas se encuentran!***

Revista IberoAbeja

Año 2 N° 2, Enero 2024

DIRECTOR/EDITOR: EFRAÍN AGUSTÍN VALDIVIA CAMARGO - PERÚ

DIRECTOR EJECUTIVO: JHONY ROJAS ROJAS - AUSTRALIA

DIRECCIÓN ADMINISTRATIVA: Jr. Narciso de la Colina N° 592 - Surquillo, Lima - Perú

FOTOGRAFÍAS: Efraín Valdivia / DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN: Marco Antonio Ochoa

COLABORADORES: Adriano Adames, Andrés Valdivia, José Valdivia, Alfredo Köhel. Hecho el

Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2021-12877

Impreso en xxxx de 2024 por: GRAFICA FENIX SRL Av. Prolong. Arica 1827 Chacra Ríos Norte

IberoABEJA - Enero 2024

Tiraje 1,000 ejemplares



## Mantén tus marcos limpios y libres de enfermedades.

¡Tenemos la solución perfecta para ti!

Presentamos la Fundidora de Marcos Negros Eléctrica, la herramienta de limpieza de marcos y recuperación de cera de abeja más innovadora del mercado.

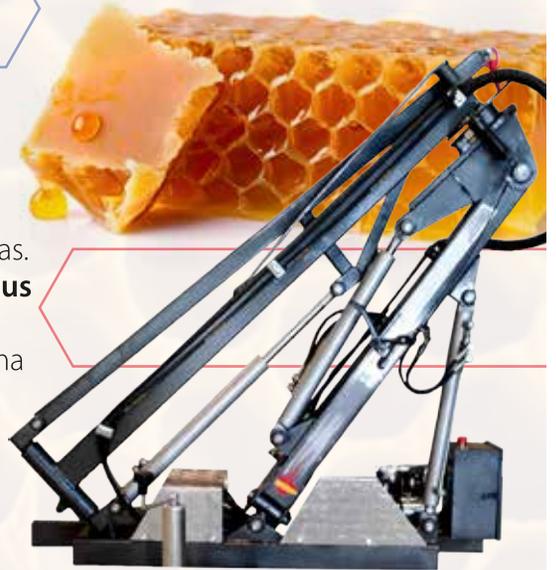


## Trabaje con la cabeza, no con su espalda.

Grúa Hidráulica articulada para izaje de colmenas.  
**¿Te imaginas poder transportar fácilmente tus colmenas sin esfuerzo?**

Esta increíble herramienta cuenta con un sistema hidráulico que te permitirá levantar y mover las colmenas con total comodidad. Olvídate de los pesados levantamientos y las lesiones en la espalda, su diseño compacto y resistente te garantiza durabilidad y facilidad de manejo.

Cargas de hasta 150 Kg. a máxima extensión de brazo de 4,8 mts.



## Estampar tu propia cera tiene sus beneficios.

**Control de calidad:** Puedes asegurarte de que tu cera está libre de impurezas y que cumple con estándares de calidad.

**Fáciles de usar:** Las estampadoras continuas pueden ser operadas por una sola persona.

Al estampar tu propia cera, puedes ayudar a proteger a tus colmenas de la contaminación cruzada y mantener la salud de tus abejas.



 **Brei**   
MAQUINARIA APÍCOLA



[www.brei.cl](http://www.brei.cl)



Ventas



*Alfredo Köhel*

*Investigador de Innovación y Tecnología  
Universidad Ritsumeikan APU, Japón*

# APICULTURA DE PRECISIÓN

## ESTRATEGIAS PARA MEJORAR EL BIENESTAR DE LAS ABEJAS Y LA EFICIENCIA EN LA PRODUCCIÓN DE MIEL

La apicultura, una ancestral práctica que involucra la crianza y el cuidado de abejas con el propósito de producir miel y sus derivados, se encuentra actualmente ante una serie de desafíos sin precedentes en la era contemporánea. La disminución de las poblaciones de abejas, la aparición de enfermedades que afectan a las colmenas, el uso de indiscriminado de pesticidas, y los cambios climáticos, han representado amenazas significativas para la producción de miel en todo el mundo. Sin embargo, en medio de estos retos, ha surgido la tecnología como un aliado de notable relevancia. La inteligencia artificial (IA), concepto que hace referencia a la capacidad de las máquinas para aprender y tomar decisiones basadas en datos, ha iniciado un proceso de transformación en la apicultura que podría revolucionar la manera en que se cuidan las abejas, se polinizan cultivos, y se produce la miel.

La IA, cuya implementación se ha extendido en diversas industrias, que abarcan desde la agricultura y medicina hasta la manufactura y el transporte, está demostrando

ser una herramienta versátil con la capacidad de abordar cuestiones de gran complejidad. Por ejemplo, en el ámbito médico, la IA se emplea para el diagnóstico de enfermedades, permitiendo la detección temprana mediante el análisis de imágenes médicas. En la manufactura, la IA optimiza los procesos de producción y el mantenimiento de maquinaria, lo que conlleva a la reducción de costos y al aumento de la eficiencia. En el sector del transporte, los vehículos autónomos impulsados por la IA están transformando nuestra forma de movilizarnos. En la agricultura, la IA se utiliza para supervisar y cosechar los cultivos, gestionar la tierra, y tomar decisiones agrícolas precisas, lo que ha generado una notable mejora en la productividad y la sostenibilidad. En este contexto, la apicultura no es una excepción en cuanto a la aplicación de la IA.

La apicultura contemporánea se encuentra inmersa en una encrucijada caracterizada por desafíos de considerable relevancia. Uno de estos desafíos de alcance mundial reside en la marcada disminución de las poblaciones de

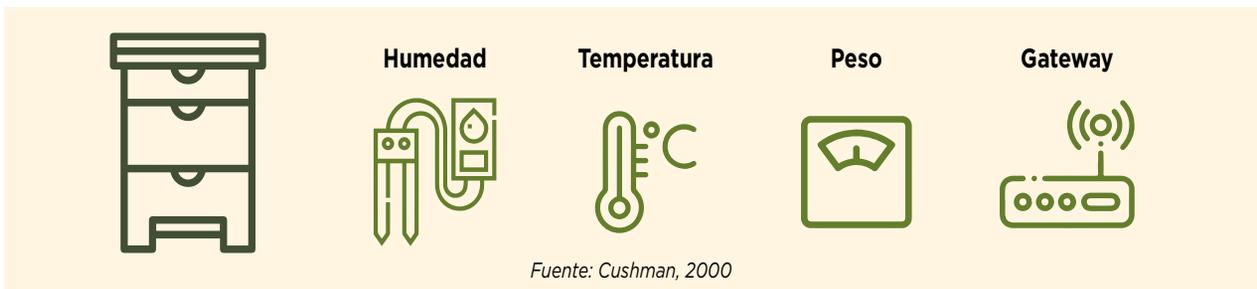
abejas, fenómeno que se atribuye en parte a la exposición a pesticidas y a la pérdida de sus hábitats naturales. Adicionalmente, enfermedades como el síndrome de colapso de colonias y plagas como la Varroa han ocasionado estragos en colmenas completas. Por si esto fuera poco, los apicultores deben enfrentar condiciones climáticas cada vez más impredecibles que impactan directamente en la disponibilidad de néctar y polen.

La inteligencia artificial (IA), que capacita a las máquinas para aprender y tomar decisiones basadas en datos, se presenta como una solución prometedora para abordar estos desafíos al permitir la recopilación y análisis de datos esenciales que respaldan la toma de decisiones informadas y la mejora en la gestión apícola.

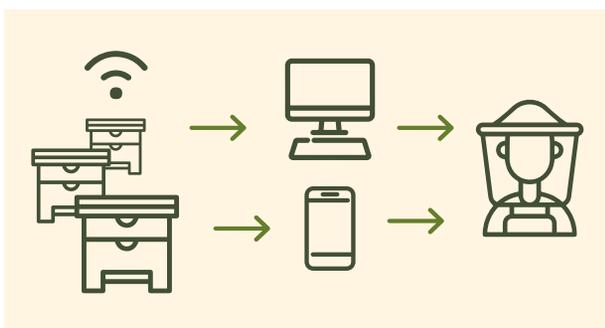
Una de las aplicaciones más notables de la inteligencia artificial en el ámbito apícola reside en la capacidad de llevar a cabo la monitorización en tiempo real de las colmenas. Sensores inteligentes, cámaras y otros dispositivos tecnológicos se encargan de recopilar datos relacionados con variables como la temperatura, la humedad y

la actividad de las abejas, así como otros indicadores de relevancia. Estos datos se transmiten a los apicultores, permitiéndoles identificar de manera anticipada posibles problemas de salud en las colmenas y tomar medidas preventivas. Un ejemplo concreto de este beneficio se evidencia en la detección temprana de la presencia de la Varroa, un parásito temido, lo que habilita la aplicación inmediata de tratamientos y la consiguiente salvación de colmenas completas.

La siguiente imagen presenta varios sensores, incluyendo aquellos para la humedad, temperatura y peso, que podrían ser instalados en la colmena. El cuarto dispositivo, identificado como gateway, cumple un papel crucial al facilitar la comunicación y el intercambio de datos. En otras palabras, este dispositivo se encarga de recopilar los datos de temperatura, humedad y peso, para luego transmitirlos a otros sistemas, como computadoras personales o dispositivos móviles, permitiendo un acceso y análisis más amplio de la información recolectada. Para su funcionamiento, el W puede ser alimentado mediante baterías o pequeños paneles solares.



El flujo de transmisión de datos se inicia al equipar las colmenas con estos dispositivos y conectarlas a Internet. Posteriormente, a través del Gateway, se efectúa la transferencia de datos hacia un servidor en la nube, desde donde se pueden recibir en tiempo real en una PC, teléfono celular o tablet. Este proceso permite que el apicultor sea notificado de inmediato en caso de cualquier desviación que pueda impactar en el bienestar de las abejas. La secuencia de este flujo se ilustra en la siguiente imagen:



En el contexto de la tecnología aplicada a la apicultura, empresas como Beewise han logrado implementar la inteligencia artificial en sus operaciones de una manera altamente sofisticada, superando en complejidad a las imágenes mostradas anteriormente. Beewise ha dado lugar a la creación de colmenas inteligentes denominadas

“BeeHome”. Estas BeeHome están equipadas con cámaras y sensores que realizan un seguimiento constante de parámetros como la temperatura, la humedad, el peso y el sonido, entre otros. Además, cuentan con un sistema de posicionamiento global (GPS) interno que permite la localización precisa de cada BeeHome, emitiendo alertas al apicultor en caso de que el dispositivo sea desplazado de su ubicación original.



BeeHome  
Fuente: [www.beewise.ag](http://www.beewise.ag)



BeeHome  
Fuente: [www.beewise.ag](http://www.beewise.ag)

Los parámetros mencionados son sometidos a un análisis por parte de la inteligencia artificial, lo que posibilita la detección de desviaciones con respecto a los valores óptimos requeridos para el bienestar de las abejas. En otras palabras, la IA identifica si la humedad, la temperatura, el peso y otros factores se encuentran por encima o por debajo de los niveles requeridos para el desarrollo adecuado de las abejas. Además, la IA emite alertas en tiempo real al apicultor ante cualquier desviación detec-

tada. Asimismo, los algoritmos de aprendizaje automático tienen la capacidad de procesar grandes volúmenes de información recopilada y realizar pronósticos sobre el comportamiento de las abejas y la producción de miel. Esto permite a los apicultores anticiparse a las necesidades de las colmenas, ajustar de manera más precisa aspectos como la alimentación, la administración de medicamentos y la atención, optimizando así la producción de miel.



Interior de la BeeHome  
Fuente: TechXplore



Brazo robótico de la BeeHome  
Fuente: Venture Beat

La IA desempeña un papel fundamental en el ámbito de la automatización en la apicultura. En el caso de la BeeHome, esta cuenta con un sistema automatizado de control climático que crea un ambiente adecuado para las abejas durante todo el año, regulando tanto la temperatura como la humedad. Cuando las condiciones exteriores son excesivamente cálidas, el sistema procede a enfriar el entorno, mientras que en condiciones de frío extremo, se encarga de calentarlo. Este enfoque permite la operación de las colmenas en zonas con inviernos rigurosos y veranos extremadamente calurosos.

En la industria apícola, se han implementado brazos robóticos para diversas tareas, como la recolección de miel, la aplicación de medicamentos a las abejas y la alimentación de estas. Estos sistemas operan de manera eficiente y autónoma, liberando a los apicultores de tareas repetitivas y permitiéndoles enfocarse en la gestión estratégica de sus colmenas.

La combinación de cámaras instaladas, brazos robóticos e inteligencia artificial en el contexto de la BeeHome permite la detección en tiempo real de plagas como la Varroa y la aplicación de tratamientos efectivos basados en el calor, sin necesidad de utilizar productos químicos. Otras plagas pueden ser identificadas por los daños que causan, y posteriormente se aplica el tratamiento adecuado. Si bien la BeeHome tiene la capacidad de tomar decisiones como alimentar, administrar medicamentos o recolectar miel de forma autónoma, los apicultores también pueden controlarla manualmente, ya sea in situ o de manera remota a través de la web, lo que les otorga flexibilidad en el mantenimiento de sus colonias.

Existen claros beneficios de la inteligencia artificial (IA) en la apicultura, ya que esta tecnología tiene el poten-

cial de mejorar significativamente la salud de las abejas, aumentar la productividad de las colmenas y contribuir a la conservación de esta especie crucial para la polinización de los cultivos. Además, la IA desempeña un papel esencial en la promoción de prácticas agrícolas sostenibles, dado que las abejas juegan un papel fundamental en la agricultura. En términos de perspectivas futuras, la IA en la apicultura presenta un potencial inmenso. La implementación de sistemas de IA más avanzados, la colaboración entre apicultores y científicos de datos, así como la utilización de análisis de datos en tiempo real, prometen una revolución adicional en esta industria.

Sin embargo, el avance de la IA en la apicultura no está exento de desafíos. Algunas de las barreras que esta tecnología ha enfrentado incluyen los elevados costos de inversión asociados. Además, estos dispositivos requieren conectividad a Internet para transmitir datos en tiempo real al apicultor, lo que plantea desafíos particulares en áreas remotas donde la señal de Internet o telefonía móvil puede ser limitada o inexistente. Estos obstáculos se anticipan que sean abordados en el futuro para aprovechar plenamente el potencial de la IA en la apicultura.

La inteligencia artificial promete una transformación fundamental en la industria apícola al abordar de manera efectiva los desafíos críticos que esta enfrenta. Desde la capacidad de llevar a cabo la monitorización en tiempo real hasta la automatización de tareas y la toma de decisiones respaldada por datos, la IA se presenta como un catalizador de una nueva era en la apicultura. Al superar obstáculos como los costos y la conectividad a Internet, la IA ostenta el potencial de garantizar la supervivencia de las abejas, asegurar la polinización de cultivos y mantener un suministro estable de miel en el futuro.



# PARCINOX

FABRICAÇÃO E MANUTENÇÃO DE EQUIPAMENTOS LTDA.

DESDE 2015 DESARROLLANDO Y FABRICANDO EQUIPOS QUE FACILITAN LA APICULTURA.  
PROFESIONALES CON MÁS DE 25 AÑOS DE EXPERIENCIA AVALAN LA CALIDAD DE NUESTROS EQUIPOS.

*Since 2015 developing and manufacturing equipment that facilitates beekeeping.  
Professionals with more than 25 years of experience guarantee the quality of our equipment.*

## PROCESAMIENTO DE MIEL

*Processing off honney*

**Equipamieto de cosecha**  
*harvest equipment*



**Equipo para fraccionamiento**  
*Fractionation equipment*



## PROCESADOR DE PROPÓLEOS

*Processing off propolis*



## PROCESADOR DE CERA ESTAMPADA

*Wax printing processor*



Video

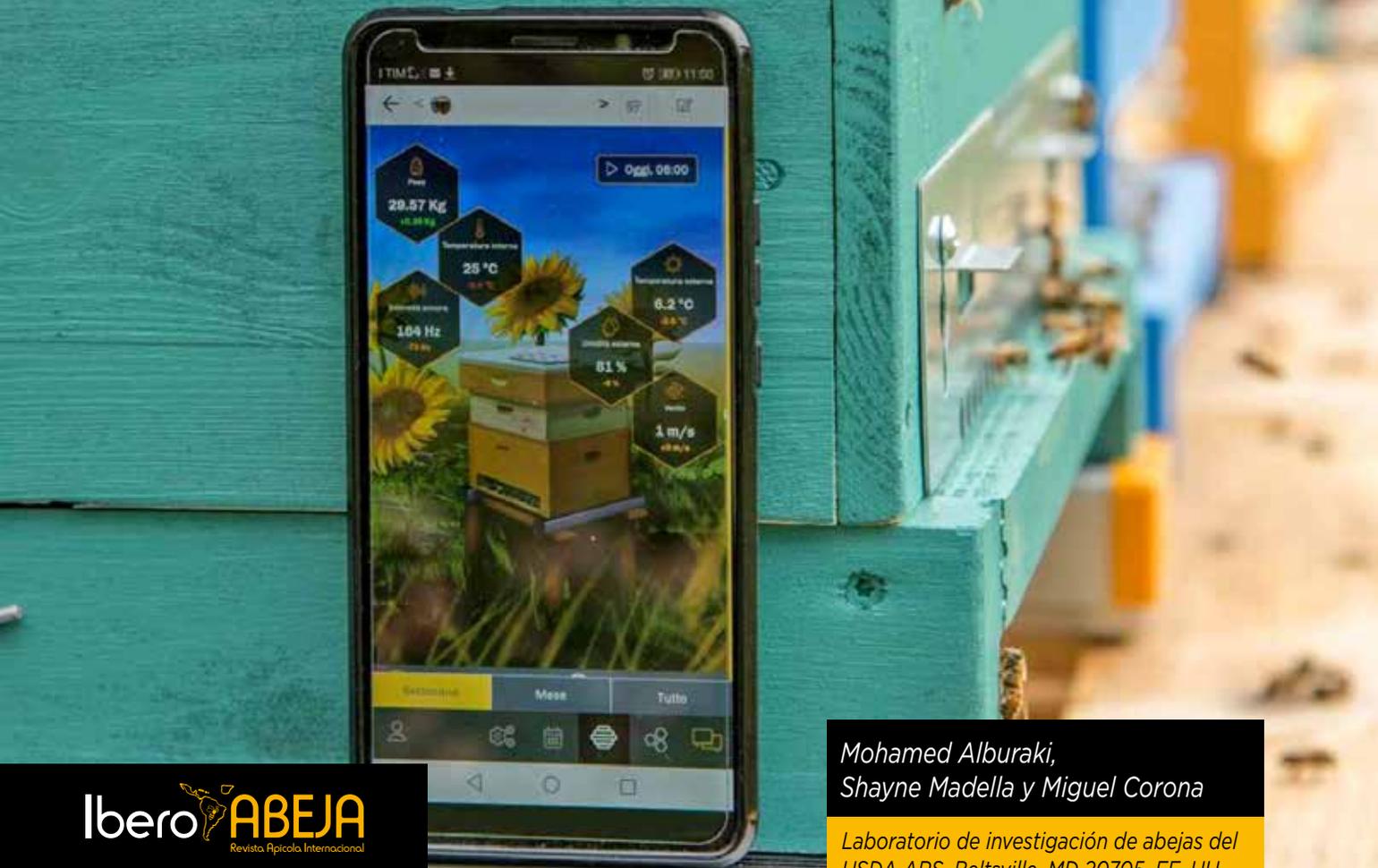


(44) 9.9175-7790

(44) 9.8834-9275



Perimetral Laurindo Borgonhoni, 771  
Parque Industrial Paulo Saes  
Mandaguçu - PR - Brasil



# TECNOLOGÍA RFID SIRVIENDO A LA INVESTIGACIÓN DE LAS ABEJAS MELÍFERAS

UNA DESCRIPCIÓN COMPLETA DE UN SISTEMA DE 32 ANTENAS PARA ESTUDIAR EL COMPORTAMIENTO DE LAS ABEJAS MELÍFERAS Y DE LA REINA.

## Introducción

El reciente y notable avance en tecnología, especialmente en inteligencia artificial y tecnología de la información, ha proporcionado a los entomólogos y científicos herramientas potentes para llevar a cabo un monitoreo cercano y más preciso del comportamiento de los insectos u otros organismos. La capacidad de adquirir datos continuos y precisos relacionados con un organismo dado brinda una mejor comprensión de dicho organismo en su ecosistema. Recientemente, el campo de la investigación sobre las abejas ha aprovechado y utilizado numerosos dispositivos electrónicos sofisticados y sensores, ofreciendo un monitoreo más cercano y sostenible de los rasgos biológicos y el comportamiento de las abejas melíferas. Algunos de estos sensores se utilizaron para

obtener datos continuos y precisos de la temperatura y humedad internas de la colmena a lo largo de la temporada, mientras que otros eran balanzas electrónicas altamente sensibles utilizadas para evaluar la fluctuación diaria del peso de las colonias de abejas. La electrónica no solo se utilizó para rastrear los rasgos biológicos de las abejas melíferas, sino también para monitorear la carga y el comportamiento de los parásitos de las abejas dentro de la colmena. Un sistema de visión por computadora recientemente publicado permite la estimación de la infestación por *Varroa destructor* en las colonias de abejas mediante un proceso de aprendizaje profundo. En relación con el mismo parásito, un estudio reciente describió el uso exitoso de la señalización de electropetrografía (EPG) para caracterizar el comportamiento alimenticio de las ácaros hembra en las pupas de las

abejas melíferas. La tecnología Harmony Radar también se utilizó para rastrear la actividad del avispa asiático de patas amarillas (*Vespa velutina*) y caracterizar el impacto de un patógeno microsporidiano de las abejas melíferas (*Nosema ceranae*) en el vuelo y la orientación de las abejas en el campo. Esta tecnología consiste en rastrear un transpondedor fijado en un insecto, que puede ser detectado y localizado por un sistema de radar estacionario de escaneo horizontal.

En insectos sociales, muchos estudios han utilizado la tecnología de Identificación por Radiofrecuencia (RFID) como una herramienta para mejorar nuestra comprensión de su comportamiento y modo de vida. Esta tecnología resultó ser particularmente eficiente para monitorear de cerca especies de abejas silvestres, más apropiadamente llamadas abejas no-*Apis*, ya que estas especies de abejas altamente diversas son poco conocidas y el acceso cercano a sus nidos es desafiante. Los estudios del comportamiento de las abejas no solo proporcionan comprensiones fundamentales de la sociabilidad de las abejas, sino que también son cruciales para arrojar más luz sobre la respuesta fisiológica de estos insectos sociales a una amplia gama de factores de estrés bióticos y abióticos, y cómo estos factores dan forma a las respuestas comportamentales de las abejas. Por ejemplo, la tecnología RFID se utilizó en colonias de abejorros (*Bombus impatiens*) para estudiar el efecto de un endoparásito (*Conopidae*, *Diptera*) en sus rasgos biológicos, como el crecimiento y la mortalidad, así como la sinergia parásito-ecología en el rendimiento de forrajeo de los abejorros. En abejas melíferas (*Apis mellifera* L.), la tecnología RFID se utilizó para estudiar el efecto de la concentración subletal de neonicotinoides que enfrentan las abejas en el campo en su rendimiento de forrajeo y mortalidad. También se ha utilizado para observar el comportamiento de apareamiento de las reinas y monitorear la frecuencia y duración de los vuelos nupciales. A pesar del aumento reciente de las técnicas de RFID en la investigación de abejas melíferas, aún falta una descripción integral de una unidad RFID adaptada a las características particulares de las abejas melíferas. En la actualidad, no existe una unidad RFID "listo para usar" que esté disponible comercialmente para adaptarse a la investigación de abejas melíferas. Los investigadores que planean rastrear abejas mediante RFID tendrán que construir su propia unidad, ya sea que necesiten monitorear una sola colmena o más. Los principales requisitos y expectativas de una unidad RFID eficiente para ser utilizada en la investigación de abejas melíferas son los siguientes:

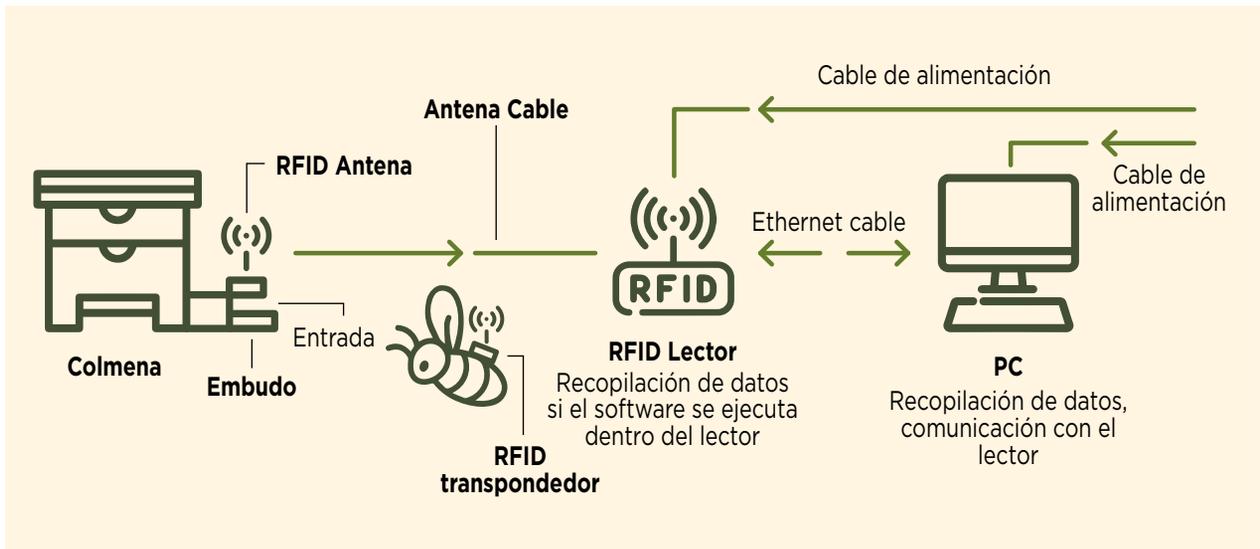
- (1) su capacidad para detectar con precisión a las abejas en la entrada de la colmena y transmitir adecuadamente sus señales,
- (2) la capacidad de monitorear simultáneamente múltiples colmenas para proporcionar un análisis estadístico significativo en múltiples réplicas técnicas y biológicas,
- (3) operación prolongada en áreas rurales donde no hay red eléctrica disponible,
- (4) fácil de desplegar en el campo y
- (5) rentable.

Optimizar las técnicas de RFID para la investigación de abejas lleva tiempo y requiere habilidades innovadoras y multidisciplinarias. Por lo tanto, una fuente integral que detalle todas las particularidades técnicas de RFID y el uso de software es necesaria y sería una fuente valiosa tanto para los investigadores de abejas melíferas como para los apicultores. En este estudio, proporcionamos una descripción completa de cómo construir y operar un sistema RFID de 32 antenas para estudiar el comportamiento de las abejas melíferas en el campo y monitorear el vuelo nupcial de las reinas. La unidad detallada en este estudio cumple con todos los requisitos previamente descritos y puede adaptarse a experimentos de relativamente gran escala, alcanzando hasta 32 colonias monitoreadas simultáneamente. Describimos aquí la recopilación básica de datos y otras particularidades relacionadas con la nomenclatura de las etiquetas y la operación de esta unidad con una red eléctrica en áreas remotas mediante energía solar.

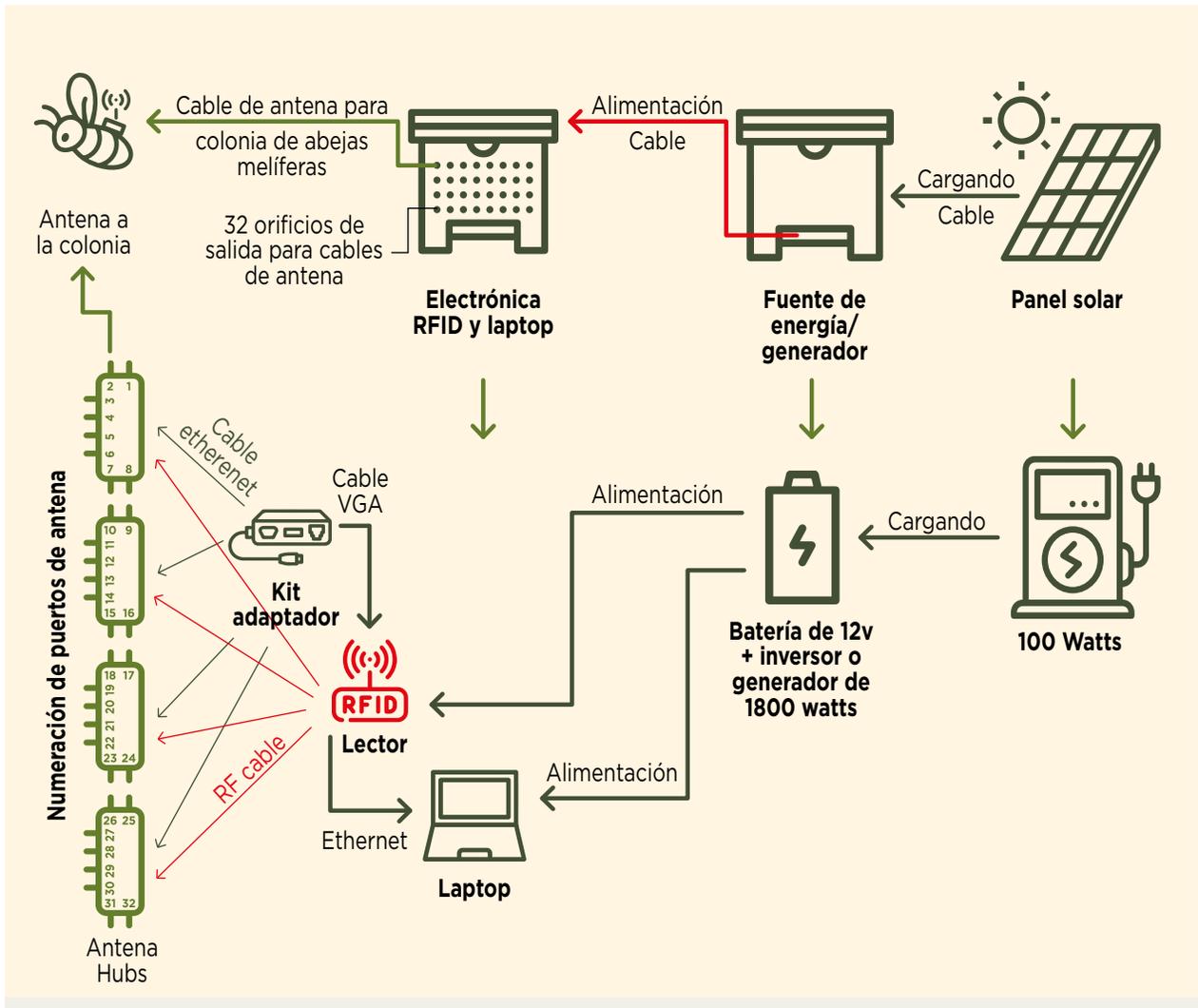
## Materiales y Métodos

En general, el seguimiento de objetos mediante RFID requiere un lector RFID, antenas RFID y una computadora portátil para la recopilación de datos y la comunicación con el lector RFID (Figura 1). La unidad descrita en este estudio está compuesta por (1) el hardware electrónico de RFID, que incluye el lector, concentradores de antenas, kit de adaptadores y cableado, así como una computadora portátil para recopilar continuamente los datos, (2) cables de antena que transmiten las señales de los transpondedores desde la entrada de la colmena hasta los concentradores de antenas y posteriormente al propio lector, (3) un generador que es la fuente de alimentación principal para toda la unidad y se necesita cuando esta opera en áreas remotas sin energía eléctrica disponible cerca del apiario o del sitio experimental, y (4) un panel solar cuya función es cargar el generador mencionado anteriormente (Figura 2). Esta unidad está diseñada para operar en áreas rurales remotas donde no hay fuente eléctrica disponible y donde generalmente se ubican la mayoría de las operaciones apícolas a gran escala y los apiarios. Como solución práctica y económica para los apicultores, hemos adaptado el equipo y los dispositivos de esta unidad en cajas de colmenas de abejas melíferas. Sin embargo, se pueden utilizar otras cajas bien ventiladas con este propósito.





**Figura 1.** Descripción de las principales fases de operación y componentes de una unidad RFID adaptada para la investigación de abejas melíferas. Los elementos principales son una fuente de alimentación, lector RFID, computadora portátil y antena RFID. Se requiere la modificación de la entrada de la colmena de abejas melíferas (embudo) para alojar la antena.



**Figura 2.** Una visión general de los principales componentes y la composición de la unidad RFID de 32 antenas de este estudio, junto con un diagrama que explica la conexión del circuito de cada elemento. Se utilizan cajas de colmena de abejas para albergar y proteger tanto el generador como los elementos electrónicos de RFID y no contienen abejas melíferas.

Existen dos formas de operar esta unidad, ya sea ejecutando un software con licencia (Speedway Connect, Tabla 1) dentro del propio lector RFID y recopilando los datos en una unidad USB conectada al lector, o ejecutando un software gratuito de código abierto (ItemTest, Tabla 1) en una computadora portátil conectada mediante un cable Ethernet al lector (Figura 2). La primera opción es más

confiable y no requiere que la computadora portátil esté constantemente conectada a la unidad y funcionando durante la operación, lo que reduce significativamente el consumo de energía del generador, como se muestra en la Figura 2. A continuación, se presenta una descripción detallada de los componentes de la unidad.

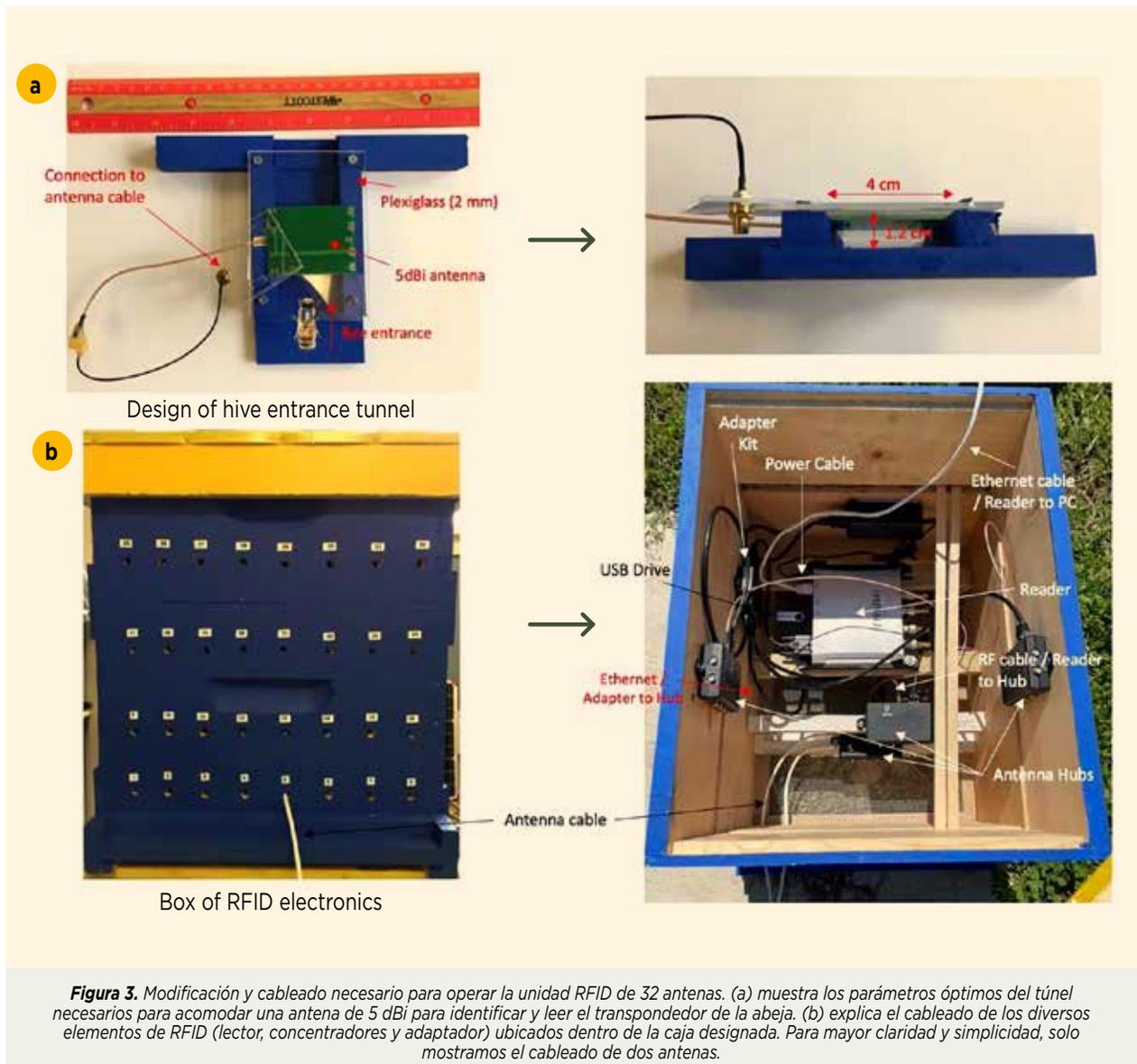
**Tabla 1.** Descripción de todo el hardware y software necesario para construir la unidad RFID de 32 antenas utilizada para realizar el seguimiento de la actividad y el comportamiento de las abejas melíferas en el campo. Se proporcionan nombres de proveedores y vendedores únicamente con el propósito de identificar los productos utilizados en este estudio.

Item Name	Descripción	Qt	Provider/Company	Cost/Unit (US \$)	Total for the Unit
<b>Power Source-Option 1</b>					
Solar Panel 150 W	Charge the generator	1	4Patriots.com	2500	-
Generator 1800 W	Main power provider for use in remote setting	1	4Patriots.com		
<b>Power Source-Option 2</b>					
12 V 100 Ah battery	Rechargeable Sealed Lead Acid	1	Mighty Max Battery	170	170
Solar Panel 100 W	Charging the battery	1	Renogy	100	100
Power Invertor	12 V DC Battery Power to AC (600 W)	1	Kinverch	70	70
Solar Charger Controller	12 V/10 Amp	1	Renogy	20	20
<b>Beekeeping Equipment</b>					
Full deep hive with bottom screen board and super (langstroth)	Protecting and housing all RFID electronics + a Laptop in the field	1	Any bee equipment vendors	80	80
<b>Electronics</b>					
Speedway Reader	R420 UHF RFID Reader (4-Port)	1	Impinj	1500	1500
Small 5dBi antenna	Antenna for precision item location/(5 x6) cm	32	Impinj	25	800
Antenna RF cable	Connect Hubs to bee colony (6 m)	32	echain Technology	10	320
Adapter Kit (4-Port)	Control up to 4 Antenna Hubs	1	echain Technology	150	150
Antenna Hub	Contains 8 ports each	4	echain Technology	800	3200
RFID transponder	Tags to fix on bees (2.5 x 2.5 x 0.4) mm	As needed	Hitachi	1	30
Portable Computer	With at least 4 GB of RAM (processing mempry)	1	Any provider	-	-
<b>Software</b>					
Item Test Software	Freely available, versión: 23.0	1	Impinj.com	Free	-
MultiReader Gen2 RFID	Freely available, versión: 6.6.13	1	Impinj.com	Free	-
Speedway Connect SW	Licensed software, version: 6.2.2.240	1	Impinj.com	350	350
<b>Total</b>					<b>6870</b>

## Hardware Electrónico

El elemento central de esta unidad es el procesador o lector, cuya función es capturar diversas señales provenientes de los cables de antena y procesarlas adecuadamente para luego enviarlas a la computadora. En esta unidad, utilizamos el lector Speedway Revolution fabricado por IMPINJ (Impinj Speedway R420 UHF RFID Reader USA/FCC "4 Port") (Tabla 1). Este lector por sí mismo solo puede acomodar cuatro antenas, ya que tiene solo cuatro puertos disponibles, lo que significa que sin ninguna modificación o extensión, este lector solo puede monitorear cuatro colonias de abejas melíferas a la vez (Figura 3b).

Como solución rentable, si los experimentos previstos solo requieren cuatro o menos antenas, los concentradores de antenas y el kit de adaptadores pueden no ser necesarios. En esta configuración, las cuatro antenas provenientes de las colmenas de abejas pueden enchufarse directamente en los cuatro puertos disponibles del lector (Figuras 2 y 3). El lector funcionará según lo esperado con cuatro antenas, pero estará muy por debajo de su capacidad máxima de 32 antenas. Por lo tanto, para maximizar los beneficios y la cantidad de datos generados por este lector, basamos el diseño de esta unidad en la capacidad máxima del lector de 32 antenas.



Para este propósito, se requieren dos elementos adicionales: un kit de adaptadores y cuatro concentradores de antenas que pueden llevar la capacidad del lector a un total de 32 antenas, como se muestra en la Figura 2. Di-

cho esto, esta unidad no necesita operar siempre con 32 antenas. Puede cubrir todos los requisitos experimentales, desde una sola antena hasta las 32 antenas completas (capacidad máxima de esta unidad). Hay algunos aspect-

tos y especificaciones relacionados con el rendimiento de este lector, que está controlado por el software que se discutirá más adelante en este estudio.

## Cables y Antenas

Todos los cables necesarios para construir y operar esta unidad están disponibles en el mercado y se pueden resumir de la siguiente manera: (1) cables de alimentación utilizados para alimentar el lector y la computadora portátil, (2) un cable VGA para vincular el kit de adaptadores al lector, (3) cables Ethernet que vinculan el adaptador a cada concentrador, (4) cables de radiofrecuencia que vinculan el lector a cada concentrador para la transmisión de señales desde la colmena, y (5) cables de antena que transmiten la señal desde el transpondedor (en la entrada de la colmena) a los concentradores (Figura 2 y Figura 3b). El generador de energía de 1800 W se suministra con todo el cableado necesario para operar, incluido un cable de carga desde el panel solar hasta el generador y un cable para cargar el generador directamente desde un enchufe eléctrico. La segunda parte crucial de esta unidad es la antena, cuya función es capturar la señal del tag de la abeja (transpondedor) en la entrada de la colmena y guiarla hacia el concentrador y posteriormente hacia el lector. Hay diferentes tipos y tamaños de antenas disponibles comercialmente; sin embargo, la antena de precisión de 5 dBi es la más adecuada para nuestro propósito (Tabla 1). Para que la antena detecte y transmita con precisión la entrada/salida de las abejas de la colmena, es necesario dirigir las abejas a través de un túnel de entrada, como se muestra en la Figura 1 y la Figura 3a.

## Transpondedores o Etiquetas

Un transpondedor es típicamente un elemento que envía y recibe la señal óptica de una antena. Los transpondedores suelen caracterizarse por su capacidad de velocidad de datos, tamaño y la distancia máxima de transmisión de señal. El tamaño de la etiqueta es crucial, ya que las abejas pueden ser fácilmente cargadas y deshabilitadas por su peso y tamaño. En nuestro caso de seguimiento de abejas melíferas, cuanto más pequeña sea la etiqueta, mejor. En este estudio, utilizamos los transpondedores de Hitachi (2.5 x 2.5 x 0.4) mm, que se consideran entre las etiquetas más pequeñas y ligeras disponibles en el mercado dentro de un rango de precio razonable. Si se desea o se requiere un transpondedor más pequeño (por ejemplo, para monitorear especies de abejas más pequeñas), los usuarios pueden optar por las etiquetas UHF RFID producidas por muRata con dimensiones de (1.5 x 1.2 x 0.5) mm a un costo más alto.

## Modificación de la Entrada de la Colmena

Para que la antena capture la información de la etiqueta y la lea, las abejas que llevan el transpondedor deben ser dirigidas y orientadas a través de un túnel que asegure la exposición adecuada de la etiqueta a la antena mientras las abejas pasan por la entrada de la colmena. Como regla general, cuanto mayor sea el tamaño de la antena,

más lejos lee y responde al transpondedor. En cuanto al monitoreo de abejas, se prioriza la precisión en la detección de la etiqueta en un pequeño espacio tridimensional y a corta distancia. Las antenas utilizadas en nuestro estudio son antenas pequeñas de precisión de 5 dBi (Tabla 1), que solo pueden identificar objetos en proximidad cercana. Por lo tanto, diseñamos un túnel móvil que se puede colocar fácilmente en la entrada de la colmena y retirar cuando no se necesita monitoreo, reemplazándolo por la puerta tradicional de la entrada de la colmena (Figura 3). La antena se coloca en el medio en la parte superior del túnel y se cubre con una lámina de plexiglás de 1.2 mm que protege contra la lluvia y otras condiciones climáticas. El ancho del túnel es crucial y debe proporcionar suficiente espacio para permitir el paso suave de las abejas y la ventilación de la colmena. Las dimensiones del túnel en nuestro diseño fueron ancho = 4 cm, altura = 1.2 cm, y longitud = 10 cm (Figura 3a).

## Fuente de Alimentación y Panel Solar

El generador es la fuente de energía principal para esta unidad cuando opera en áreas remotas. A lo largo del experimento o del ciclo de lectura, debe mantener constantemente el lector y la computadora (si el software opera en la computadora y no en el lector). La ecuación simple para elegir un generador de energía es que este debe ser capaz de adquirir más o igual carga de la que la unidad requiere mientras opera a plena capacidad. Alimentamos nuestra unidad usando dos opciones diferentes descritas en la Tabla 1: (1) utilizando un generador de energía de 1800 W vinculado a un panel solar de 150 W, o (2) utilizando una batería de 12 V (100 Ah) con un inversor de 600 W. El generador o la batería pueden ser omitidos si la caja de colmena que contiene el hardware electrónico RFID (Figura 2) opera cerca de una red eléctrica y se alimenta directamente a través de un enchufe eléctrico.

## Software y Computadora

El objetivo principal de esta unidad es proporcionar datos confiables relacionados con la actividad de las abejas melíferas de manera oportuna con una capacidad informática mínima desde el extremo del usuario. Por lo tanto, optamos por la forma más sencilla de operar y recopilar datos de esta unidad sin utilizar terminales o scripts y lenguaje de comandos. Se utilizó el software de libre disponibilidad (MultiReader para lectores RFID Speedway Gen2) para identificar y renombrar los transpondedores (Tabla 1). Hay dos opciones para operar la unidad y recopilar los datos: (1) ya sea ejecutando un software con licencia (Speedway Connect SW, versión 6.2.2.240, Tabla 1) directamente en el lector mismo, lo que excluye la necesidad de que la computadora portátil esté conectada a la unidad o (2) ejecutando un software de libre disponibilidad (ItemTest, versión 2.3.0, Tabla 1) en la computadora portátil que debe permanecer constantemente conectada al lector y en modo de ejecución mientras el experimento está en curso. Los tres software fueron probados y demostrados en este estudio utilizando un sistema informático con Windows 10.

## Recopilación de Datos

El paso final es la recopilación de datos que se realizó utilizando tanto el software ItemTest mencionado anteriormente (de libre disponibilidad y en ejecución en la computadora portátil) como el software con licencia (Speedway Connect), que se ejecuta dentro del propio lector y no requiere que la computadora portátil esté conectada a la unidad. En el segundo caso, solo se requiere una computadora portátil para cargar el software Speedway Connect en el lector mediante una página web "http://" a través de un cable Ethernet y activar y desactivar el software dentro del lector al principio y al final del experimento. Una vez que el software está activado y la unidad está operando, la computadora portátil se puede desconectar del lector y los datos se recopilarán a través de una unidad USB conectada directamente al lector (Figuras 1 y 3b).

## Monitoreo del Vuelo Nupcial de la Reina mediante RFID

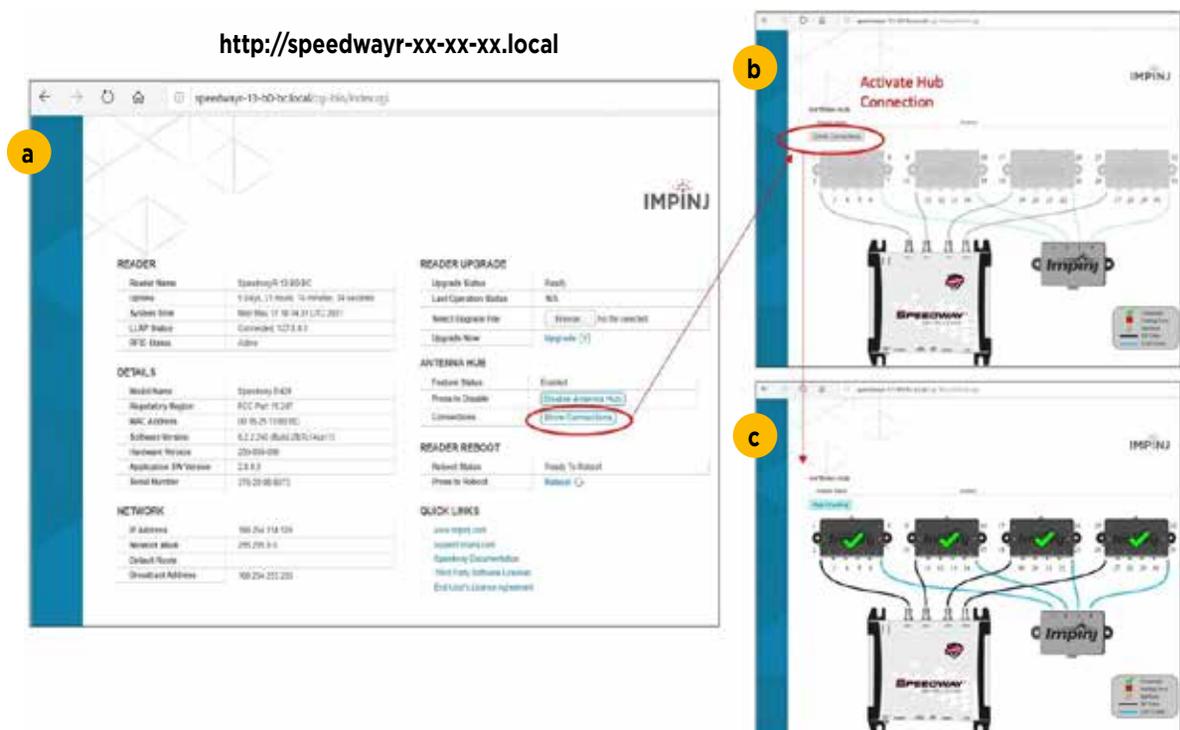
El rendimiento y la precisión de nuestra unidad se probaron en condiciones de campo para rastrear el vuelo nupcial de 10 reinas de abejas melíferas. A mediados de agosto de 2021, se prepararon diez núcleos de abejas melíferas sin reina y se alimentaron para la introducción de reinas. Se colocó un embudo (Figura 1) en la entrada de cada núcleo con un cable que conecta la antena a la unidad. Diez reinas de abejas melíferas (cinco vírgenes y cinco completamente apareadas) fueron etiquetadas cada una con un transpondedor. Los transpondedores se pegaron aplicando suavemente un pequeño punto de

pegamento en el área central del segmento torácico dorsal de las reinas. Para este propósito, se utilizó un cilindro marcador de reinas regular. Las reinas se mantuvieron individualmente en jaulas durante aproximadamente 20 minutos para permitir que el pegamento se seque y garantizar una posición adecuada de las etiquetas, y posteriormente se introdujeron en los núcleos. A diferencia de las reinas vírgenes, no se espera que las reinas apareadas realicen vuelos nupciales bajo circunstancias normales. Este comportamiento permite que las reinas apareadas funcionen como un control negativo para ayudar a evaluar la función y la señalización adecuadas de la unidad. Las reinas se introdujeron el 20 de agosto y este experimento preliminar duró 15 días.

## Resultados

### Activación de la Unidad

Una vez que la unidad está ensamblada y lista para operar, el usuario debe activar la conexión entre el lector y los cuatro concentradores. La comunicación con el lector se logró utilizando un navegador web (Internet Explorer) y escribiendo la dirección del lector, que está compuesta por el nombre y el número de serie del lector impresos en el mismo (<http://speedwayr-XX-XX-XX.local>) (Figura 4a). En nuestro caso, el número de serie del lector era (13-b0-bc). En la página principal del lector, la conectividad se puede visualizar presionando "Mostrar conexiones" (Figura 4a), seguido de "Verificar conexiones" (Figura 4b). La conexión adecuada de todos los concentradores se indica con una marca de verificación verde (Figura 4c).



**Figura 4.** Accediendo a la página web principal del lector para cambios de parámetros y activación de concentradores conectados antes de operar la unidad. (a) muestra la dirección de la página web del lector, ubicación donde se carga el software Speedway Connect, (b) interfaz de conectividad del concentrador y (c) página de confirmación de la conectividad adecuada de todos los concentradores.



### Transpondedor y Antena

El proceso más sensible del sistema RFID es la transmisión adecuada de una señal precisa desde la abeja (reina, zángano, obrera) que lleva el transpondedor hasta la antena fija en la parte superior del túnel en la entrada de la colmena (Figura 3a). Los campos electromagnéticos de la antena pueden verse significativamente afectados por objetos metálicos. Por lo tanto, se recomienda evitar el uso de clavos y tornillos en las proximidades del campo electromagnético de la antena. Nuestros resultados de optimización y prueba mostraron que la antena utilizada en esta unidad (antena pequeña de precisión 5 dBi, Tabla 1) solo podía leer transpondedores en un rango de 0-1.5 cm y fallaba o carecía de precisión y consistencia al detectar etiquetas a >1.5 cm. Además, la antena podía leer adecuadamente las abejas etiquetadas a través del plexiglás en su rango de lectura, ya sea colocada encima o debajo del camino de la abeja hacia la colmena. Se recomienda el uso de plexiglás translúcido en la parte superior del túnel, ya que permite al usuario verificar visualmente la posición adecuada de la antena y observar cualquier anomalía en el comportamiento de las abejas mientras pasan. El túnel descrito en la Figura 3a puede adaptarse tanto a núcleos de cinco marcos como a colmenas Langstroth completas de diez marcos. En el caso de colmenas sobrepobladas que requieran entradas más grandes, se pueden usar dos túneles por colmena. En cuanto al propio transpondedor, el peso promedio de

las etiquetas UHF Hitachi utilizadas para etiquetar reinas en este estudio fue de aproximadamente 5 mg, lo que representa  $\approx 5\%$  del peso promedio de una abeja obrera (0.1 g) y  $<3\%$  del peso de una reina, que puede oscilar entre 170 y 230 mg.

### Renombrado de Transpondedores

Los experimentos sociales y conductuales requieren, la mayoría de las veces, la identificación individual de las abejas. Por lo tanto, la capacidad de renombrar cada etiqueta con un código apropiado es crucial. Por lo general, cuando se venden a los usuarios, los transpondedores vienen con un código universal de docenas de dígitos y letras. En la mayoría del software y lenguaje RFID, el nombre del transpondedor, efectivamente el nombre de la abeja rastreada en un experimento dado, siempre se indica con la abreviatura "EPC", que significa Código de Producto Electrónico (Figura S1). Se recomienda siempre nombrar los transpondedores antes de pegarlos a las abejas. Para este propósito, se abrió el software MultiReader y, después de asegurarse de que el lector estuviera en línea (Figura S1a), se realizó un inventario de los transpondedores simplemente haciendo clic en el botón "Iniciar ejecución de inventario" y escaneando las etiquetas a través de cualquier antena disponible, como se muestra en la Figura S1. Una vez que los transpondedores aparecieron en el cuadro activo y se detuvo el inventario, un clic derecho en el EPC del transpondedor provoca una

nueva ventana, “Acciones de EPC”, que da la opción de “Cambiar EPC”. Aparecerá una nueva ventana “Cambiar etiqueta EPC”, que permite la inserción de un nuevo EPC y su escritura en la etiqueta, Figura S1b. Cuando esté listo para renombrar una etiqueta y se hace clic en el botón “Escribir etiqueta”, la etiqueta debe escanearse a través de la antena para copiar la nueva información en la memoria interna del transpondedor. Se mostrará un mensaje de confirmación si la operación de renombrado es exitosa, como se muestra en la Figura S1b.

## Recopilación y Tratamiento de Datos

### Uso del Software ItemTest

La recopilación de datos se completa utilizando el software ItemTest, que genera un archivo Excel simple (.csv) que se puede guardar en la computadora conectada a la unidad una vez que se detiene el software. Los datos recopilados y disponibles en este archivo se pueden modificar a través del software ItemTest cambiando la configuración del lector (Figura S2). Por defecto, el software proporciona suficiente información relacionada con la actividad de las abejas. Las tres primeras columnas en el archivo Excel contienen los datos críticos que le interesaría ver: la fecha y hora, el EPC (nombre de la abeja) y el número de la antena (número de la colmena) (Figura S2c). Nótese que el archivo Excel en la Figura S2 muestra dos nombres EPC diferentes, el nombre del fabricante/original de una etiqueta (3504AD57900542F147D38463) y una segunda etiqueta renombrada como número de abeja: (1002). Los datos se leen de la siguiente manera: el 18 de noviembre de 2020, la abeja número 1002 ingresó (o salió) de la colmena número 1 a las 17:02 y 16 s (Figura S2c).

### Uso del Software Speedway Connect

Se determinó que esta configuración era más segura en términos de recopilación de datos, pero requeriría comprar una clave de licencia para Speedway Connect (Tabla 1). En este caso, los datos se pueden recopilar directamente del lector como un archivo (.csv) usando una unidad flash USB conectada al lector, y el software se ejecuta en el lector mismo y no en la computadora portátil. Este método de operar la unidad proporciona una mayor eficiencia energética, ya que no es necesario alimentar constantemente una computadora durante el experimento y los datos no se guardan en la computadora, lo que podría fallar durante condiciones climáticas adversas y uso prolongado. Una vez comprado, el software se instaló en el lector utilizando el botón “Navegar” en la página principal del lector (Figura 4a). Después de la instalación, se accedió al software Speedway Connect a través del navegador Internet Explorer en la dirección (<https://speedway-XX-XX-XX.local>) y se activó según se detalla en la Figura S3. Speedway Connect genera un archivo de datos de salida (.archivo csv) similar a ItemTest pero guardado en una unidad USB conectada directamente al lector.

## Fuente de Alimentación

### Capacidad del Generador

La capacidad de carga del panel solar no es absoluta y debe evaluarse en función de la ubicación del panel (bosque, paisaje abierto), las estaciones y las condiciones climáticas (soleado o nublado). Un panel solar puede proporcionar hasta 150 W de carga al generador, y si se necesita más energía de carga debido a una mayor demanda de energía del generador, se pueden agregar paneles adicionales y conectarlos al panel anterior. Según nuestras pruebas, el generador utilizado en nuestro estudio (1800 W) pudo alimentar todo el sistema (incluida la computadora portátil) sin cargarse durante un periodo de  $\approx 48$  h antes de agotarse. Este periodo se amplió a una semana completa cuando el software se ejecutó dentro del lector, evitando la computadora portátil y su consumo de energía. En una escala más pequeña, descubrimos que la potencia requerida para activar cuatro antenas y la computadora que ejecuta el software ItemTest fue de aproximadamente 45-60 W según la lectura en la pantalla del generador. Sin embargo, a plena capacidad de 32 antenas y el software ejecutándose dentro del lector (excluyendo la computadora portátil), la unidad consumió solo 11-13 W y se mantuvo fácilmente mediante recarga desde el panel solar. Se recomienda encarecidamente proporcionar ventanas de ventilación adecuadas en el cuerpo de la caja para el generador para evitar el sobrecalentamiento. A pesar de ser relativamente caro (US \$ 2500/Tabla 1), el generador es una buena solución lista para usar para alimentar la unidad.

### Batería de 12 V con Inversor (600 W)

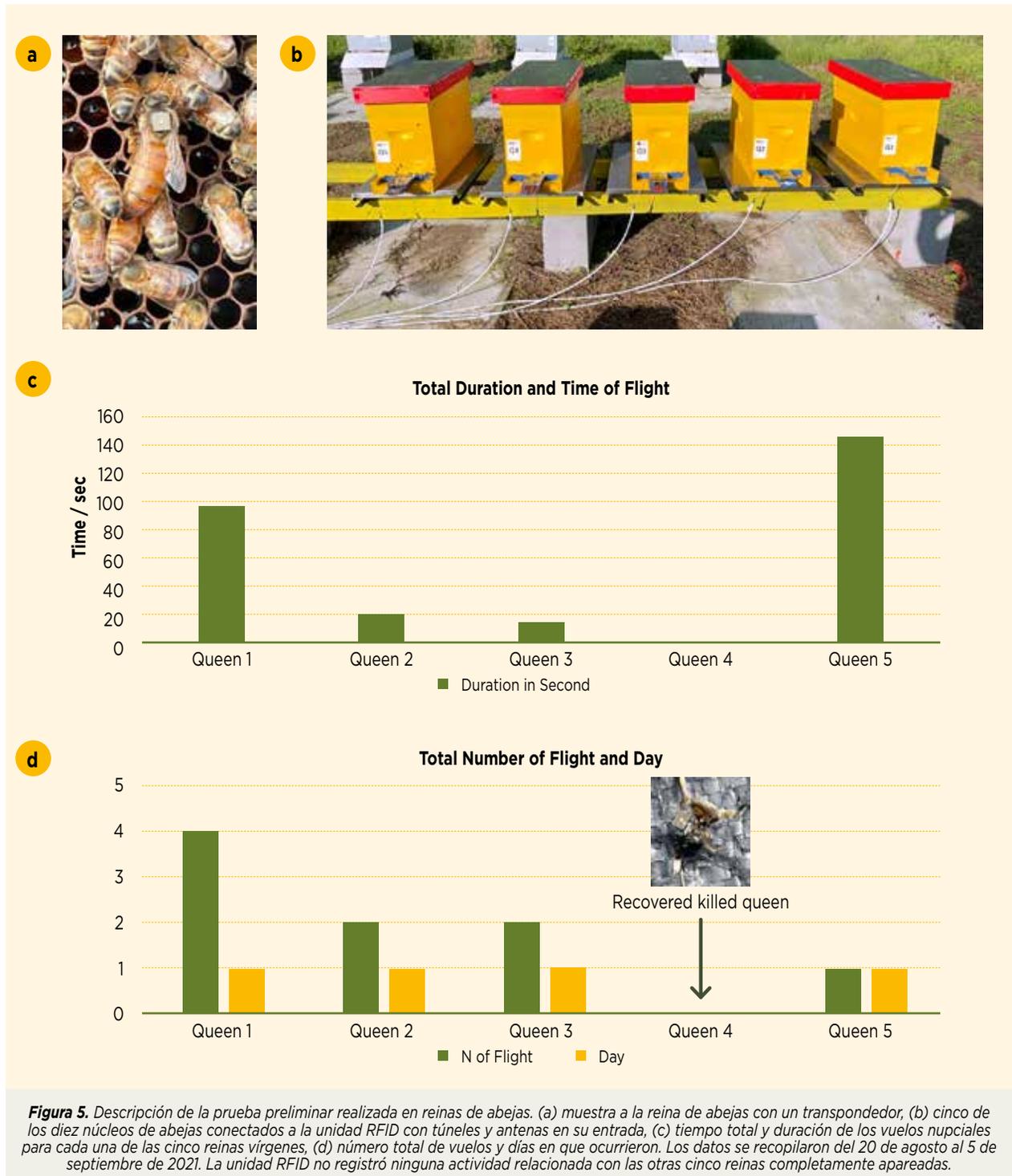
La segunda opción de alimentación propuesta en este estudio (batería recargable de 12 V + inversor de 600 W) es mucho más rentable (US \$ 360/Tabla 1) y se demostró que proporciona energía continua y adecuada para una unidad similar al generador. En nuestra configuración, en la que el software se ejecutaba dentro del Speedway, la potencia requerida para operar la unidad era mínima ( $<13$  W) y estaba totalmente sostenida por la batería recargable de 12 V. Cabe señalar que el consumo real de vatios de la unidad, a pesar de ser bajo, no es el único valor relevante a considerar. Si se incorpora, la capacidad de almacenamiento de la batería es crucial, ya que debe ser capaz de alimentar la unidad durante la noche cuando la energía solar no está disponible. Esta opción alimentó adecuadamente la unidad durante nuestras pruebas iniciales sobre vuelos nupciales de reinas realizadas durante el verano entre agosto y septiembre.

### Datos Preliminares: Vuelo Nupcial de la Reina

La unidad RFID descrita en este estudio se implementó en uno de nuestros apiarios ubicados en Beltsville, MD, EE. UU. y se utilizó del 20 de agosto al 5 de septiembre de 2021. Los datos se recopilaron como archivos de Excel desde la unidad flash según se describe anteriormente

en los materiales y métodos (Recopilación de datos). Nuestra unidad registró ninguna actividad para ninguna de las cinco reinas apareadas (Reinas 6 a 10), con solo reinas vírgenes intentando vuelos nupciales/orientación, como se muestra en la Figura 5. Todas las reinas realizaron su vuelo único o múltiple en un solo día (Figura 5d) con diversas duraciones de vuelo que van desde 8 hasta 145 s. Nuestros datos mostraron una sola salida de la Reina 4 el 26 de agosto a las 8:53:08 a.m. sin reentrada, lo que indica un rechazo de la introducción de la reina virgen. Esta reina fue recuperada de la entrada principal

de la colmena unos días después, como se muestra en la Figura 5. El número de vuelos varió entre colonias de uno a cuatro vuelos. Tres de los cuatro vuelos se realizaron por la tarde (3-5 p.m.), mientras que el cuarto fue por la mañana a las 9:31 a.m., como se muestra en la Figura 5. El 14 de septiembre, se verificó y documentó la oviposición para cada una de las reinas que realizaron vuelos al aire libre. Aparte de la reina rechazada (número 4), todas las demás reinas (Q1-5) pusieron huevos e iniciaron la producción de crías.



## Beestak

### 100% Pure Nature Bee Pollen

Rich in vitamins, minerals, carbohydrates, lipids and proteins.

### 100% Pure Nature Mixed Pollen



### 100% Pure Nature Tea and Rape Pollen



### Propolis Powder and Propolis Block



Whatsapp/Facebook/Wechat: +8618582997231  
Email: cherrybeekeeping@myldhoney.com  
info@myldhoney.com

Bee the shining star to glorify your wonderful honey life!



Alibaba website



Official website



Scan the QR code for more information on our website!

## Beestak

### 100% Pure Nature Royal Jelly

Food for the queen bee, which rich in carbs, protein, amino acids, fatty acids, vitamins, and minerals.

### Pure fresh royal jelly



### Bee Honey and Royal Jelly Tablets



### Beeswax Block and Manuka Honey



100% Pure Natural Beeswax Block

New Zealand Natural Manuka Honey





# ASISTIDO POR LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL

## UN GRUPO DE ABEJAS REALIZA UN SEGUIMIENTO DE LA CONTAMINACIÓN Y FOMENTA LA BIODIVERSIDAD

Cuando Karl Wenner observa su granja en Upper Klamath Lake, en las montañas del sur de Oregón, ve un paisaje en transición. Él y sus socios convirtieron parte de sus campos de cebada en humedales a lo largo de la orilla del lago para filtrar el escurrimiento y proteger la calidad del agua que finalmente fluye de nuevo al río Klamath, que desemboca en el Pacífico en la costa de California. El proyecto es parte de un esfuerzo más amplio para limpiar el río, eliminar represas y reintroducir el salmón.

En Lakeside Farms, esta transformación está siendo guiada por una fuente sorprendente de información: el polen recopilado por decenas de miles de abejas. Una start-up belga llamada BeeOdiversity reclutó a Wenner, quien también es apicultor, para ayudar en un estudio en la cuenca del río Klamath. Cada colonia, con 50,000

abejas, recolecta polen en un área de más de dos millas cuadradas, recopilando hasta 4 mil millones de pequeñas muestras en un año. Los datos resultantes crean una imagen clara y precisa de la vida vegetal y la contaminación presentes en el entorno.

*“No sabía nada sobre lo que iban a hacer”, dice Wenner. “Pensé, bueno, suena interesante, qué diablos, lo probaré. Y luego empezaron a enviarme los datos, y fue como ¡Vaya! Esto es algo poderoso”.*

Los datos de las abejas revelaron plantas nativas raras que Wenner no sabía que estaban allí, así como especies invasoras que debían ser eliminadas para restaurar el equilibrio.

Los agricultores se encuentran entre un creciente número de beneficiarios del sistema único de recopilación de datos de BeeOdiversity. La empresa cuenta ahora con clientes en 20 países. En Europa, servicios públicos de agua y compañías embotelladoras de agua como Nestlé utilizan el sistema para monitorear y proteger las fuentes de agua mineral. Clientes industriales utilizan las abejas para verificar el cumplimiento de regulaciones y monitorear el medio ambiente para preservar suelos y biodiversidad. Con la experiencia y herramientas compartidas por Microsoft y Accenture, la compañía ha desarrollado lo que llama BeeOimpact, un sistema que utiliza el aprendizaje automático para extrapolar datos sobre áreas mucho más grandes. Esto evalúa el impacto de una actividad en la biodiversidad local. BeeOdiversity ya cuenta con los primeros clientes para esta plataforma. En la nube Azure, utiliza el aprendizaje automático en Azure Data Factory para identificar áreas donde los pesticidas pueden estar en altas concentraciones. Esto lleva los beneficios de los datos recopilados por las abejas a áreas mucho más amplias a un costo mucho menor.

La tecnología innovadora y el ingenio de la naturaleza trabajan juntos para crear un conjunto de datos que no se encuentra en ningún otro lugar.

## Salvar a las Abejas

Bach Kim Nguyen, cofundador de BeeOdiversity, escribió su tesis doctoral sobre las razones detrás de los colapsos de colonias de abejas, un problema global. Las causas incluyen el uso de pesticidas, la pérdida de hábitat y el aumento de la vulnerabilidad a plagas y enfermedades. Cuando terminó sus estudios, Nguyen convirtió en su misión de vida salvar a las abejas.

Él dice que siempre ha sentido pasión por estos insectos sociales y describe a una colonia de abejas como un superorganismo. Cada una de las 50,000 abejas en una colonia tiene un papel, y todas trabajan juntas para apoyar la colmena. *“Son un buen modelo para nosotros”*, afirma.



Abejas en un cuadro de colmena en el laboratorio y oficinas de BeeOdiversity cerca de Nivelles, Bélgica. La reina se encuentra en el centro con un punto brillante en su torso. Foto tomada por Chris Welsch para Microsoft.



Karl Wenner junto a una de las nuevas áreas de humedales en Lakeside Farms, ubicada en Upper Klamath Lake en Oregon. Foto tomada por Karl Wenner.

Las abejas son también esenciales para nosotros. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, de las 100 especies de cultivos que proporcionan el 90% de los alimentos en todo el mundo, 71 son polinizadas por abejas.

Nguyen inventó un sistema que desprende una pequeña cantidad de polen de las abejas obreras cuando regresan a la colmena, suficiente para la investigación pero no tanto como para privar a las abejas de nutrientes. Utilizando análisis de laboratorio y modelos de inteligencia artificial para establecer correlaciones entre los resultados, BeeOdiversity puede identificar más de 500 pesticidas y metales pesados, así como las plantas en la zona.

Una vez que se analizan los datos, los científicos de BeeOdiversity hacen recomendaciones a clientes y partes interesadas para reducir el uso de pesticidas y mejorar el entorno general. “De esa manera, trabajamos en factores como la biodiversidad y la contaminación”, dice Nguyen. “Y al final, salvamos a las abejas”.

Desde su fundación en 2012, BeeOdiversity ha ganado numerosos premios, incluida una beca de Ashoka, financiamiento de investigación de la Unión Europea y ha sido incluida en los programas Share AI y Entrepreneurship for Positive Impact de Microsoft. BeeOdiversity también fue seleccionada para el programa AB InBev 100+ Accelerator. Como parte de ese programa, la gigante de bebidas AB InBev y BeeOdiversity están colaborando en un proyecto piloto en el área de producción de lúpulo de AB InBev cerca de George, en la costa sur de Sudáfrica.

Alyssa Jooste, gerente de sostenibilidad para África de AB InBev, señala que es el único lugar en el continente donde se puede cultivar lúpulo para la cerveza. Plantas invasoras, como los pinos, el mimosa y el eucalipto, consumen hasta un 60% más de agua que las especies nativas en un área donde es escasa. Durante más de 10 años, AB InBev ha estado trabajando con el Fondo Mun-

dial para la Naturaleza de Sudáfrica para eliminar estas especies y proteger fuentes de agua preciosas y restaurar especies nativas.

Como parte de su proyecto piloto con AB InBev, BeeOdiversity está utilizando datos recopilados por seis colonias de abejas para evaluar el impacto de la eliminación de especies invasoras, así como la presencia de pesticidas en el entorno. Las abejas recopilan polen en las granjas y reservas naturales cercanas. BeeOdiversity también está utilizando análisis de ADN para evaluar el suelo en la zona.

*“La información de los muestreos de suelo, así como el análisis de polen y biodiversidad, inferirá qué tan exitivas han sido nuestras iniciativas de limpieza en la restauración de la biodiversidad y la salud del suelo”, dice Jooste. “Servirá como una línea de base sobre la cual podemos tomar decisiones en el futuro”.*

Julien Ponchart, un científico de BeeOdiversity, etiqueta tubos de polen que serán analizados. Foto tomada por Chris Welsch para Microsoft.

## La inteligencia artificial amplía el valor de los datos

Michaël van Cutsem, el CEO y otro cofundador de BeeOdiversity, dice que la empresa ha comenzado a utilizar una versión beta de su software BeeOimpact. El sistema utiliza inteligencia artificial para extrapolar datos a áreas mucho más amplias y evaluar el entorno a un costo mucho más bajo.

BeeOdiversity ha recopilado datos en cientos de miles de acres en toda Europa. Con el nuevo software, puede utilizar imágenes satelitales y otras tecnologías de mapeo para ver qué cultivos e industrias están presentes en un área y estimar los pesticidas y plantas que probablemente estén presentes. Las pruebas iniciales del software muestran alrededor del 80% de precisión, según van Cutsem.

*“A través de esta plataforma, les proporcionamos resultados en un segundo”, dice. “Les permite examinar muy rápidamente y a un costo muy bajo múltiples sitios. Luego pueden enfocarse en áreas de alto riesgo, y si lo desean, utilizar el sistema BeeOmonitoring para una mayor precisión”.*

Uno de los primeros clientes de BeeOdiversity fue De Watergroep, la empresa de servicios de agua más grande de Flandes, la parte norte de habla flamenca de Bélgica. Ha estado utilizando colonias de abejas para analizar las áreas alrededor de sus puntos de extracción de agua subterránea durante aproximadamente ocho años.

La organización está probando la plataforma BeeOimpact con inteligencia artificial este año. De Watergroep tiene 86 plantas de extracción de agua subterránea dispersas por todo el país, así como cinco plantas de agua superficial. La empresa presta servicio a más de 3 millones de clientes.

*“La herramienta que están desarrollando con Microsoft es interesante para nosotros”, dice Simon Six, gerente de equipo de Recursos Hídricos. “Podemos priorizar nuestros campos y decir: ‘Está bien, el riesgo probablemente sea muy alto en esa área donde no tenemos colmenas’, y luego podemos trasladar las colmenas allí y planificar un análisis de agua más detallado para identificar los riesgos específicos”.*

Six dice que los datos son solo un aspecto importante del valor que BeeOdiversity proporciona.

*“El enfoque de BeeOdiversity es muy útil, porque hacen monitoreo, analizan los pesticidas y también verifican las propiedades de los productos que encuentran. ¿Es un riesgo para las aguas subterráneas o no? Y el tercer paso es la gestión de partes interesadas”.*



Julien Ponchart, un científico de BeeOdiversity, etiqueta tubos de polen que serán analizados. Foto tomada por Chris Welsch para Microsoft.

En este último paso, un experto en agronomía de BeeOdiversity presentará los datos a agricultores y ciudadanos de pueblos cercanos.

**“Los datos objetivos inician la conversación y, bueno, las abejas no mienten.”**

*“Vemos que la gente está realmente interesada cuando decimos ‘Oye, monitoreamos el medio ambiente con abejas’”, dice, “y ¿qué nos dicen las abejas? Los datos objetivos inician la conversación y, bueno, las abejas no mienten.”*

Nguyen explica que el enfoque de BeeOdiversity es ayudar a los agricultores a adoptar técnicas sostenibles sin gastar más dinero.

*“Una operación agrícola convencional no puede cambiar en un año”, dice. “Así que lo primero que decimos es aplicar el pesticida al final de la tarde. De esa manera, las personas cercanas no están afuera haciendo barbacoas. Los polinizadores no están volando. Y el impacto es menor que antes”.*

*“Luego, la mayoría de las veces, preguntarán, ¿cuál es el siguiente paso?” dice. “La idea para nosotros es darles alternativas. A veces todavía son productos químicos, pero con menos impacto y toxicidad que antes. Después, pasamos a un manejo integrado de plagas, y después, si lo desean, a lo orgánico”.*

*“La idea es no solo trabajar en el medio ambiente sino también en el modelo de negocio y crear valor para ellos”, agrega Nguyen.*

Para Karl Wenner en Klamath Falls, los datos recopilados por las abejas ya están teniendo un impacto. El trabajo de restauración en Lakeside Farms es parte de un proyecto más grande para devolverle los salmones al río Klamath, donde actualmente se está llevando a cabo el proyecto de eliminación de represas más grande del mundo. Los salmones necesitan agua limpia y de flujo libre para prosperar.

Dado que quedaron tan impresionados con los resultados del estudio más grande de dos años que comenzó en 2020, Wenner y sus socios solicitaron otra subvención para que BeeOdiversity analice datos de manera más específica en Lakeside Farms, que consta de aproximadamente 400 acres, para determinar cómo estaban funcionando los humedales que crearon.

La Fundación Weeden, que financió la primera encuesta de BeeOdiversity en la zona, aceptó respaldar una segunda subvención. El proyecto también cuenta con el apoyo de la Fundación Clif Family. Desde principios de año, las abejas han estado recopilando datos que ayudarán a guiar los esfuerzos de Lakeside Farms para ser sostenibles y respetuosos con el medio ambiente.

El humedal restaurado ya ha dado resultados, según Wenner. Hubo una “increíble” disminución del fósforo



Kim Nguyen de BeeOdiversity, a la izquierda, con Alyssa Jooste y Jacques Kemp de AB InBev en los campos de lúpulo cerca de George, Sudáfrica. Foto de AB InBev.

que fluye hacia el lago, y eso se debe a las plantas en el humedal, dice. Lakeside Farms también se convertirá en una operación de cultivo de cebada orgánica en los próximos tres años; Wenner dice que esto puede resultar en un aumento de hasta el 50% en el valor del cultivo. Por lo tanto, los cambios tienen sentido económico además de contribuir a la restauración más amplia de la cuenca del río Klamath.

*“Antes era prácticamente una monocultura de cebada”, dice. “Ahora tenemos todo tipo de cosas creciendo allí, y podremos monitorearlo con las abejas. También quiero abejas allí porque muchas de las plantas más importantes para las aves acuáticas son polinizadas por insectos. También estamos interesados en contaminantes y pesticidas”.*

*“Las abejas nos ayudarán a determinar objetivamente qué hay allí, y luego podemos tomar medidas”, dice. “Hay mucha información útil que podemos recopilar de ellas”.*



Morgane Dron examina un cuadro de una colmena en la oficina y laboratorio de BeeOdiversity cerca de Nivelles, Bélgica. Foto tomada por Chris Welsch para Microsoft.



*Tim Gernat, Tobias Jagla, Beryl M. Jones,  
Martin Middendorf & Gene E. Robinson*

# EL MONITOREO AUTOMATIZADO DE LAS ABEJAS MELÍFERAS CON CÓDIGOS DE BARRAS E INTELIGENCIA ARTIFICIAL

## REVELA DOS REDES SOCIALES DISTINTAS A PARTIR DE UN ÚNICO COMPORTAMIENTO AFILIATIVO

### Introducción

El seguimiento basado en códigos de barras permite distinguir automáticamente a cientos de individuos en videos digitales y registrar su ubicación y dirección durante largos períodos de tiempo con una alta resolución espacio-temporal. Esto, de otra manera, no sería posible y ya ha generado una gran cantidad de datos individualizados que están transformando la forma en que los etólogos estudian el comportamiento de los animales, especialmente para especies que interactúan naturalmente en grandes colectivos, como las hormigas y las abejas melíferas.

Además de saber dónde se encuentran los individuos, a menudo es necesario saber qué están haciendo, para comprender tanto el comportamiento individual como el

grupal y sus fundamentos neuronales y moleculares. Sin embargo, a excepción de la locomoción, los códigos de barras no pueden generar automáticamente información comportamental directa. Al estudiar otros comportamientos, los investigadores tienden a recurrir a proxies que infieren estados comportamentales gruesos a partir de cambios en la ubicación y orientación del código de barras de un individuo, y a interacciones sociales a partir de la posición relativa de los individuos entre sí. Tales proxies tienen una capacidad limitada para distinguir comportamientos específicos y pueden resultar en altas tasas de error.

Las redes neuronales convolucionales (CNN, por sus siglas en inglés) son una tecnología prometedora para desarrollar detectores de comportamientos específicos. Se

pueden entrenar para identificar con precisión imágenes digitales que muestran un objeto particular y aprender de manera independiente qué características del objeto son más diagnósticas. Las CNN se han utilizado para el seguimiento de animales, la estimación de su postura y la detección de comportamientos realizados de forma aislada o en grupos pequeños. Sin embargo, aún no se han utilizado ampliamente para identificar el comportamiento en videos que muestran a cientos de individuos que interactúan estrechamente. Obstáculos para una adopción más generalizada de las CNN incluyen problemas que surgen al detectar objetos pequeños en escenas grandes, detectar objetos densos o parcialmente ocultos y asignar comportamientos detectados a los individuos correctos.

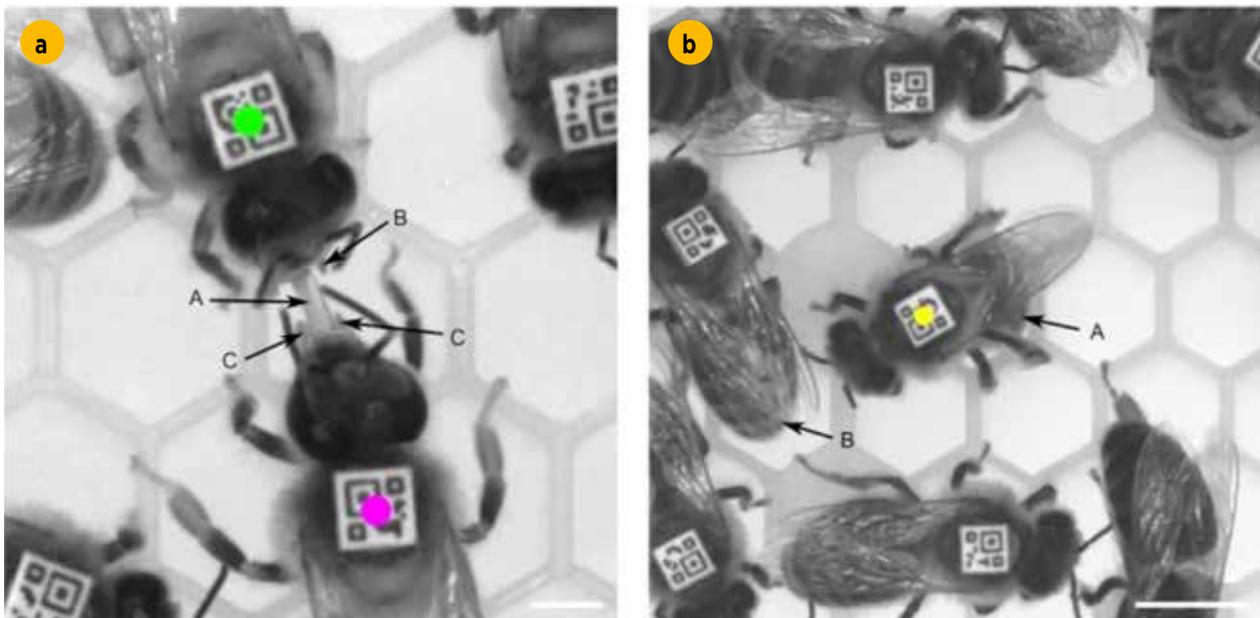
Presentamos un método que combina las CNN con el seguimiento basado en códigos de barras para identificar con precisión comportamientos específicos en grandes colectivos de animales. Nuestra contribución clave radica en combinar información de seguimiento, como la ubicación y orientación de un animal, con conocimiento del dominio sobre el comportamiento de interés para realizar una propuesta de región precisa pero computacionalmente económica que actúa como un mecanismo de atención para la CNN. Además, aprovechamos la información de los códigos de barras para simplificar la tarea de

clasificación de comportamientos al rotar las regiones de imagen propuestas para que coincidan con un marco de referencia predefinido. Utilizando este enfoque, diseñamos un detector de prueba para la transferencia líquida boca a boca (trofalaxis) y luego lo usamos para obtener nuevas perspectivas sobre este comportamiento aún poco comprendido. También diseñamos un detector para la puesta de huevos para mostrar que nuestra metodología se puede aplicar a comportamientos muy diferentes.

## Resultados y Discusión

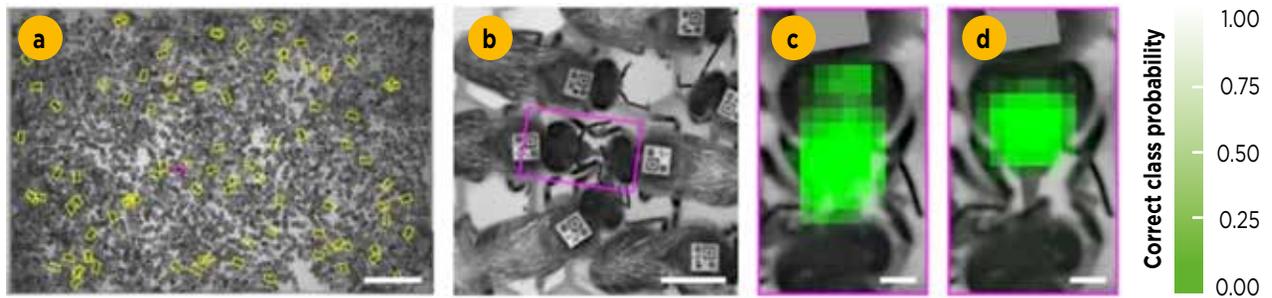
La trofalaxis es un comportamiento social importante durante el cual dos abejas obreras adultas se tocan entre sí con sus antenas mientras transfieren líquido que contiene alimentos y moléculas señalizadoras (Fig. 1a). Este comportamiento es difícil de detectar automáticamente porque las colonias de abejas melíferas contienen cientos a decenas de miles de individuos densamente agrupados (Fig. 2a). Además, debido al pequeño tamaño de la abeja melífera, un detector debe centrarse en partes del cuerpo del tamaño de milímetros, como las partes bucales, para distinguir la trofalaxis de comportamientos visualmente similares, como la antennación.

**Figura 1**



Ejemplos de trofalaxia y puesta de huevos, ilustrando las marcadas diferencias entre estos dos comportamientos. (a) En las abejas melíferas, la trofalaxia es un comportamiento social durante el cual dos individuos intercambian oralmente un líquido que contiene nutrientes, hormonas y moléculas señalizadoras. Una de las dos abejas (verde) actúa como donante mientras que la otra abeja (magenta) actúa como receptora. Estos roles se mantienen durante la duración del comportamiento. Nuestro detector automático de trofalaxia identifica este comportamiento reconociendo que la receptora ha colocado su probóscide (A) entre las mandíbulas abiertas (B) del donante. En esta imagen, solo una de las mandíbulas del donante es claramente visible. La otra está parcialmente oculta por su antena derecha. Para distinguir donante y receptora, nuestro detector puede aprovechar el hecho de que las mandíbulas (C) de la receptora están estrechamente alineadas con su probóscide, mientras que las del donante están completamente abiertas. Además, la cabeza de la receptora parece ser más grande y tener una forma diferente, porque la ha inclinado hacia atrás para poder extender su probóscide. Nótese que el probóscide y una pared celular del panal de miel plástico se ven muy similares; si las mandíbulas son visibles depende de cómo una abeja sostiene su cabeza y antenas. Barra de escala, 2 mm. (b) La puesta de huevos es un comportamiento solitario durante el cual una abeja individual (amarilla) coloca un huevo dentro de una celda del panal. Para posicionar el huevo, la abeja introduce su abdomen en una celda y permanece quieta mientras libera el huevo. Nuestro detector automático identifica este comportamiento al distinguir abejas cuyos abdomens están ocultos (A) de aquellos cuyos abdomens son visibles (B). Nótese que en condiciones más abarrotadas que en esta imagen, será más desafiante hacer esta distinción, porque el espacio detrás de una abeja ponedora de huevos podría estar (parcialmente) ocupado por el abdomen de otra abeja. Barra de escala, 5 mm.

**Figura 2**



Detección automática de la trofalaxia e identificación del receptor. (a) Imagen típica capturada por la plataforma de seguimiento de abejas melíferas, mostrando abejas con códigos de barras dentro de la colmena de observación. Los rectángulos delimitan regiones de la imagen identificadas por nuestro procedimiento de propuesta de región basado en códigos de barras para la trofalaxia. Barra de escala, 5 cm. (b) Acercamiento a la región magenta propuesta en (a), que muestra la cabeza, las patas delanteras y parte del tórax de dos abejas que participan en la trofalaxia. Barra de escala, 5 mm. (c) Imagen de entrada para la CNN creada a partir de la región propuesta en (b), superpuesta con un mapa de la salida de la CNN para detectar la ocurrencia de la trofalaxia, en función de la posición de un cuadrado gris que oculta algunos píxeles (ver “Métodos”). Un falso negativo en la imagen de entrada es más probable si los píxeles correspondientes a las partes bucales y al probóscide están oscurecidos, lo que indica que la CNN puede distinguir características destacadas de la trofalaxia del fondo. Barra de escala, 1 mm. (d) La misma imagen de entrada que en (c), pero superpuesta con un mapa de la probabilidad correcta de clase para la identificación del receptor. Este mapa sugiere que la CNN para identificar al receptor se basa en señales visuales obtenidas de las partes bucales del receptor, que, a diferencia del donante, siempre están visibles y estrechamente alineadas con el probóscide. Barra de escala, 1 mm.

Para identificar la trofalaxia, nuestro detector automático utiliza en primer lugar la ubicación y dirección de cada abeja, obtenidas a partir de su código de barras, para seleccionar pares de abejas que se encuentran en la posición adecuada para llevar a cabo el comportamiento (Figura suplementaria 1). Para cada par, el detector estima una región rectangular de la imagen que muestra solo las partes bucales y la cabeza de las abejas (Figura 2a,b), la cual se examinará para verificar la trofalaxia. Esta propuesta de región excluye el  $97.9 \pm 1.0\%$  (media  $\pm$  desviación estándar,  $n=300$ ) de un fotograma de video para su consideración posterior, aumentando así la eficiencia computacional del detector y reduciendo su tasa de falsos positivos. Luego, las regiones de la imagen se procesan de manera independiente y se evalúan con una CNN que fue entrenada para estimar la probabilidad de que una región muestre trofalaxia (Tabla suplementaria 1 y Figura 2c). Durante el posprocesamiento, estas probabilidades se integran a lo largo de los fotogramas

de video sucesivos para determinar cuándo comienza y termina la trofalaxia.

Las mediciones de rendimiento (Tabla 1) mostraron que nuestro detector de trofalaxia supera al estado del arte. Su coeficiente de correlación de Matthews (MCC) es de 0.89, 0.28 puntos más alto que el del mejor detector automático de trofalaxia de abejas melíferas hasta ahora<sup>8</sup>. La mayor parte de esta mejora se debe a una sensibilidad un 67% más alta y un valor predictivo positivo un 11% más alto, lo que significa que nuestro detector identifica más interacciones de trofalaxia y genera menos falsos positivos. A diferencia de otros detectores de trofalaxia de abejas melíferas, también califica con precisión las interacciones entre abejas adultas trabajadoras y la reina. Además, a 55 megapíxeles/s, procesa videos 16 veces más rápido que el detector de referencia<sup>8</sup> y, por lo tanto, permite experimentos a mayor escala.

**Tabla 1.** Detalles de las estimaciones de rendimiento de detección y tiempo de ejecución.

Detector	F <sub>1</sub> score	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	Speed (MP/s)
Trophallaxis	0.89	0.89	1.00	0.90	1.00	55.38
Egg-laying	0.75	0.63	1.00	0.93	1.00	20.87

Cabe destacar que la estimación del tiempo de ejecución para la detección de trofalaxia incluye tanto la detección de la ocurrencia de la trofalaxia como la identificación del receptor. PPV se refiere al valor predictivo positivo (por sus siglas en inglés), y NPV al valor predictivo negativo.

Al estudiar el comportamiento social, a menudo es importante conocer el papel desempeñado por cada individuo, es decir, quién es el “donante” y quién es el “receptor” de una interacción conductual específica. Para

la trofalaxia de las abejas melíferas, esto implica distinguir al individuo que solo ha abierto sus partes bucales (donante) de aquel que también ha extendido su probóscide (receptor) (Figura 1). Los detectores automáticos

de trofalaxia previamente descritos son incapaces de determinar la dirección de la transferencia de líquidos o requieren líquidos marcados con fluorescencia y un sistema de seguimiento más complejo para hacerlo. Para establecer la dirección de transferencia de líquidos directamente desde videos, entrenamos un segundo CNN (Tabla 1 y Figura 2d) que identifica al receptor de líquidos y lo operamos en paralelo con el CNN que detecta la ocurrencia de la trofalaxia. Cuando se aplica a parejas de trofalaxia identificadas automáticamente, este CNN tiene un coeficiente de correlación de Matthews (MCC) de 0.97, lo que significa que en casi todos los casos determinó correctamente el papel trofaláctico de una abeja.

Para verificar que nuestro detector de trofalaxia genera resultados plausibles, lo utilizamos para monitorear tres colonias de abejas melíferas, cada una compuesta por aproximadamente 1,000 individuos codificados de barras, a 1 cuadro por segundo durante cinco días consecutivos. Luego utilizamos un modelo epidemiológico temporalmente explícito para realizar simulaciones de propagación no dirigida en las redes de trofalaxia de las abejas (Tabla 2). Debido a que estas simulaciones ignoran la dirección de las transferencias de líquidos, se pueden utilizar para estudiar la transmisión de información y enfermedades a través de contactos físicos que

tienen lugar durante la trofalaxia, como la antenación o el contacto físico, pero no cómo fluye el líquido intercambiado a través de la colonia. Consistentes con resultados previos, encontramos que la propagación no dirigida a través de las redes observadas de contactos físicos fue más rápida que a través de contrapartes temporalmente randomizadas (Figura 3a, Figuras Adicionales 2a y 3a) hasta que la mayoría de los individuos estuvieron “infectados”, confirmando que la estructura temporal de estos contactos puede acelerar la transmisión de información o enfermedades.



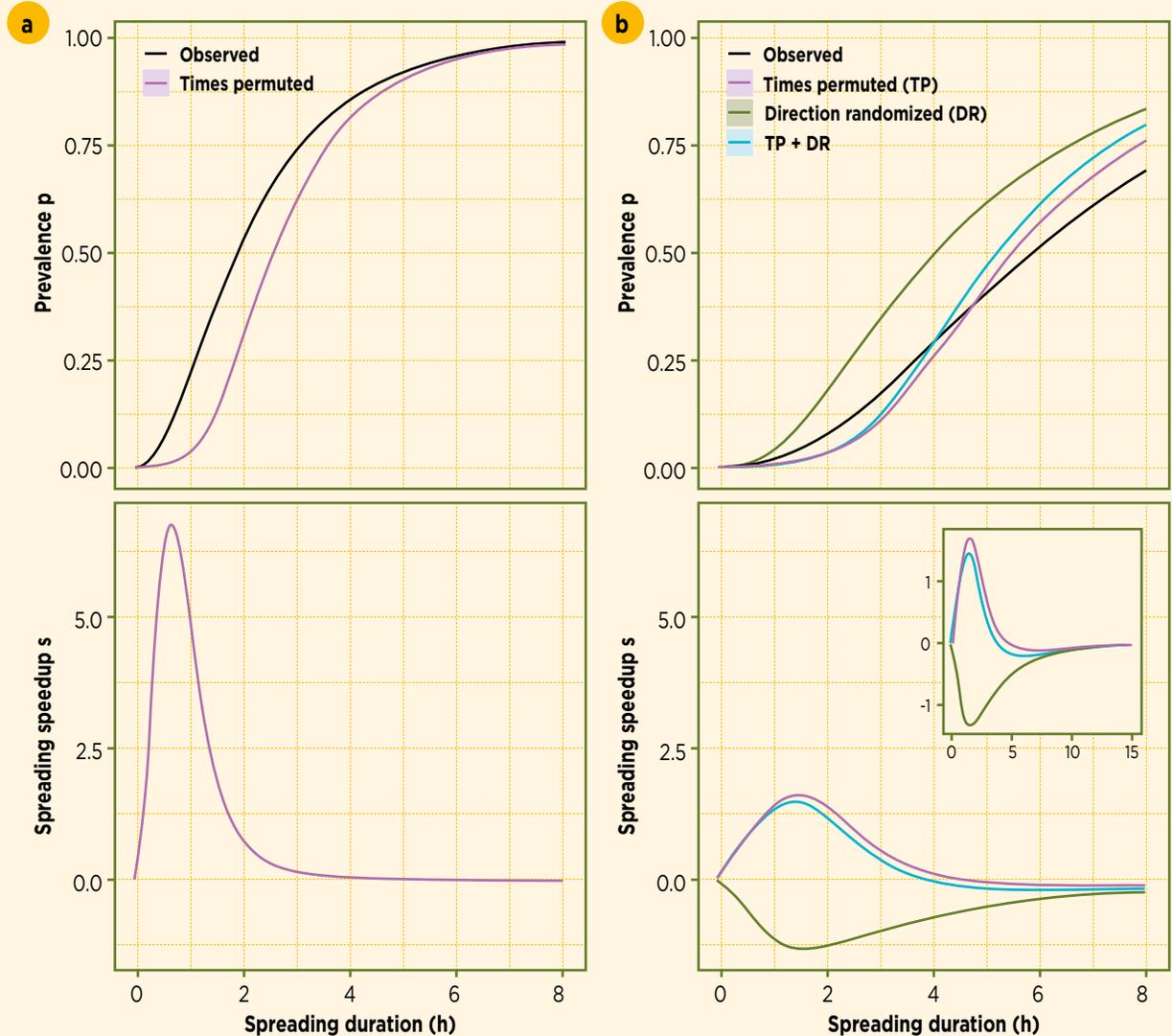
Tabla 2. Propiedades de la red de trofalaxia.

Trial	V	E	I	Undirected			Directed		
				$s_{min}$	$s_{max}$	$Ps=0$	$s_{min}$	$s_{max}$	$Ps=0$
1	1050	115,269	150,859	-0.00	6.81	0.97	-0.19	1.50	0.29
2	902	97,591	132,591	-0.01	4.99	0.95	-0.23	1.00	0.26
2	815	60,540	84,164	-0.04	3.40	0.84	-0.13	1.18	0.36

Para cada prueba, se muestran el número de nodos (V), aristas (E) e interacciones de trofalaxia (I), la velocidad mínima de propagación ( $s_{min}$ ), la velocidad máxima de propagación ( $s_{max}$ ) y la prevalencia media cuando la velocidad de propagación es cero ( $ps=0$ ) para las simu-

laciones de propagación no dirigida y dirigida. En el caso de la propagación dirigida,  $s_{min}$ ,  $s_{max}$  y  $ps=0$  se calcularon con respecto a las redes de referencia temporalmente y direccionalmente aleatorias.

**Figura 3**



Simulación de la propagación a través de las redes de trofalaxia de las abejas melíferas. Los paneles muestran datos de la Prueba 1; consulte las Figs. Suplementarias 2 y 3 para la Prueba 2 y 3, respectivamente, que arrojaron resultados similares. (a) Resultados de la propagación no dirigida, modelando la transmisión a través de contactos físicos durante la trofalaxia. Panel superior: Fracción promedio de abejas “infectadas” (prevalencia) en función de la duración de la propagación. Línea negra, prevalencia en la red de trofalaxia observada; línea magenta, prevalencia media, promediada en 5 redes de referencia temporalmente aleatorias; banda magenta, intervalo de confianza del 95% punto a punto. Panel inferior: Aceleración de la propagación, que corresponde a la diferencia normalizada entre la prevalencia en la red de trofalaxia observada y la prevalencia media en las 5 redes de referencia temporalmente aleatorias, en función de la duración de la propagación. La aceleración de la propagación es positiva si la prevalencia en la red de trofalaxia observada es mayor que en las redes de referencia aleatorias, cero si no hay diferencia y negativa si es menor. Los resultados de la simulación indican que el patrón temporal de la trofalaxia acelera la propagación no dirigida. (b) Resultados de la propagación dirigida, modelando el flujo de líquido. Paneles como en a. Verde, prevalencia y aceleración de la propagación en redes de referencia aleatorias en dirección; turquesa, prevalencia y aceleración de la propagación en redes de referencia aleatorias en dirección y tiempo. Los resultados de la simulación indican que el patrón temporal de la trofalaxia acelera la propagación dirigida durante la fase temprana del proceso de propagación, pero la inhibe más tarde. La naturaleza direccional de la trofalaxia inhibe la propagación dirigida en todo momento. Inserción: Aceleración de la propagación en función de la duración de la propagación hasta que, al igual que en la propagación no dirigida, casi todas las abejas están “infectadas”, mostrando que las tres aceleraciones de la propagación permanecen negativas durante períodos de propagación más largos (curvas de prevalencia correspondientes en la Fig. Suplementaria 4a).

Conocimiento de la dirección de las transferencias de líquido nos permitió, por primera vez, realizar simulaciones de propagación dirigida, que modelan el flujo de líquido a través de la colonia (Tabla 2). Estas simulaciones mostraron que el flujo de líquido fue mucho más lento que la propagación no dirigida a través de contactos físicos (Fig. 3, Figs. Suplementarias 2, 3), probablemente

porque en las simulaciones dirigidas, un receptor no puede “infectar” a un donante. Además, en relación con las contrapartes temporal y direccionalmente aleatorias, la propagación a través de la red de intercambio de líquidos observada solo se aceleró durante la fase temprana del proceso de propagación (Fig. 3b, Figs. Suplementarias 2b, 3b); una vez que  $0,30 \pm 0,05$  (media  $\pm$  desviación

estándar) de individuos estuvieron “infectados”, el flujo de líquido se inhibió. Al aleatorizar solo la direccionalidad o la estructura temporal de la trofalaxia, mostramos que la estructura temporal de la trofalaxia es el impulsor predominante de esta dinámica, mientras que su naturaleza direccional actúa siempre para inhibir el flujo de líquido (Fig. 3b, Figs. Suplementarias 2b, 3b). Este hallazgo arroja luz sobre las fuerzas que dan forma a la dinámica de este importante comportamiento social en las colonias de abejas melíferas.

Para demostrar que nuestro enfoque de detección automática de comportamientos se generaliza a otros comportamientos, también desarrollamos un detector para la puesta de huevos (Fig. 1b), un comportamiento solitario realizado por abejas obreras cuando la colonia ha perdido a su reina y no puede reemplazarla. Debido a que, a diferencia del caso anterior, no incluimos ningún proxy para identificar a las abejas que probablemente pondrán un huevo en el procedimiento de propuesta de región para este detector, se aplica a todas las abejas en una imagen y, por lo tanto, genera más falsos positivos. Abordamos este problema agregando al detector un segundo CNN que fue entrenado para identificar y filtrar los falsos positivos generados por el primer CNN. Este enfoque aumentó el coeficiente de correlación de Matthews (MCC) del detector de 0,64 a 0,76 (consulte la Tabla 1 para valores de rendimiento adicionales). Estos resultados demuestran que nuestro método puede aplicarse para detectar automáticamente comportamientos muy diferentes.

## Conclusiones

Demostremos que los detectores basados en códigos de barras y CNN identifican con precisión comportamientos específicos incluso bajo la desafiante condición de una sociedad densa y poblada. Logramos esto combinando información obtenida del código de barras de un individuo con el conocimiento del dominio sobre el comportamiento de interés, y mostramos que nuestro enfoque puede utilizarse para detectar comportamientos muy diferentes.

Los datos de comportamiento obtenidos con uno de nuestros nuevos detectores revelaron que la trofalaxia da lugar a dos redes sociales distintas, cada una con diferentes dinámicas de transmisión. Una red representa contactos físicos durante la trofalaxia y la otra red representa transferencias de líquidos entre las abejas. La trofalaxia es un comportamiento complejo que implica múltiples sub-comportamientos, como la antenación y la transferencia de líquidos, y cada uno de estos comportamientos podría servir como un canal de transmisión separado. Además, se sabe que la trofalaxia está involucrada en diferentes procesos biológicos, como el aprendizaje social, la regulación de la división del trabajo y la transmisión de enfermedades. Por lo tanto, no es sorprendente que resulte en múltiples redes sociales. Sin embargo, nuestro hallazgo de que las dos redes relacionadas con la trofalaxia exhiben diferentes dinámicas de transmisión fue inesperado y

arroja luz sobre cómo la trofalaxia podría mediar simultáneamente en múltiples procesos biológicos.

Nuestro enfoque para la detección automática de comportamientos puede aplicarse a todos los animales que realizan comportamientos visualmente reconocibles y cuya posición puede rastrearse. Por lo tanto, imaginamos que este método hará posible realizar análisis cuantitativos del comportamiento en una variedad de especies, incluidas aquellas que viven en colectivos grandes, como hormigas, abejas y aves. Esto permitirá estudios de comportamiento automáticos y de alta resolución que aborden una amplia gama de preguntas previamente intratables en biología evolutiva, etología, neurociencia y biología molecular.

## Métodos

### Seguimiento de abejas melíferas

Se establecieron colonias brevemente, y hasta 1,370 abejas adultas de un día (*Apis mellifera*) fueron individualmente equipadas con un código de barras enfriándolas hasta que dejaron de moverse y luego pegando un código de barras bCode en su tórax. Para grabar las interacciones de trofalaxia, también etiquetamos con códigos de barras a una reina naturalmente apareada no relacionada.

Todas las abejas etiquetadas que pasaron las verificaciones de control de calidad de la ubicación y legibilidad del código de barras fueron trasladadas a una colmena de observación de cristal, ubicada en una habitación oscura y controlada climáticamente, conectada al entorno exterior mediante un tubo de plástico para permitir el forrajeo normal. La colmena de observación tenía un panal blanco de plástico de 348 mm × 232 mm, un lado del cual era inaccesible para las abejas. El otro lado estaba provisto de suficiente miel y polen para la duración del experimento y estaba cubierto por una ventana de vidrio intercambiable. La distancia entre esta ventana y el panal de miel era lo suficientemente corta como para garantizar que las abejas formaran una monocapa, lo que no afecta su comportamiento y evitaba que ocultaran sus códigos de barras. Las interacciones de trofalaxia y los eventos de puesta de huevos se monitorearon con los sistemas de seguimiento respectivamente. Se capturó video del panal de miel durante hasta 7 días consecutivos a una frecuencia de 1 cuadro por segundo con una cámara de visión artificial monocromática controlada por computadora de 29 megapíxeles bajo luz infrarroja, invisible para las abejas, y se almacenó en discos duros para su procesamiento posterior. La detección y decodificación de códigos de barras se realizaron en un clúster informático utilizando el software y los procedimientos adecuados.

### Realidad del terreno

Para crear una realidad del terreno para el detector de trofalaxia, anotamos manualmente imágenes de pares de abejas que estaban en la posición adecuada para realizar

este comportamiento. Para cada imagen, registramos si las dos abejas estaban participando en la trofalaxia y, de ser así, cuál era la abeja receptora.

El primer conjunto de imágenes consistió en la biblioteca de imágenes L1. Estas imágenes muestran pares de abejas al azar seleccionados únicamente en función de si estaban al alcance. Para determinar si dos abejas están al alcance, se estimó la coordenada de sus piezas bucales traduciendo el centro del código de barras de cada abeja por una distancia fija en la dirección de su vector de orientación del código de barras, que se asumió paralelo a su eje anteroposterior (Figura Suplementaria 1). Si la distancia entre estas coordenadas era menor que 7 mm, que es la longitud máxima de la probóscide de una abeja melífera<sup>31</sup>, se anotaba la imagen. Una imagen se consideraba que mostraba trofalaxia si la probóscide de una abeja tocaba la cabeza de la otra abeja cerca de sus piezas bucales (Fig. 2b). De lo contrario, se anotaba como que no mostraba trofalaxia.

El examen de las imágenes en la biblioteca L1 reveló que aproximadamente 1 de cada 40 imágenes mostraba trofalaxia. Dado que las CNN aprenden a clasificar imágenes mejor si el número de ejemplos positivos y negativos es más equilibrado, y la anotación manual es laboriosa, se seleccionaron imágenes adicionales al requerir también que las abejas tuvieran que mirarse entre sí, lo que es necesario para la trofalaxia. Se estableció si dos abejas se miraban entre sí. Calculamos el ángulo entre el vector de orientación del código de barras de cada abeja y una línea a través de la ubicación de las piezas bucales de ambas abejas (Figura Suplementaria 1). Si la suma de los dos ángulos resultantes era menor que 104 grados, se anotaba la imagen. Este criterio captura el 95% de los contactos de trofalaxia en L1. Utilizando este filtro como un proxy para identificar la trofalaxia, anotamos 6045 imágenes adicionales de pares de abejas al azar.

Para evaluar el rendimiento del detector de trofalaxia cuando sus predicciones se integran en el tiempo, además utilizamos el proxy de trofalaxia para anotar todos los pares de abejas en 600 triples de imágenes grabadas sucesivamente de la colmena de observación completa. Cada par de abejas fue anotado por tres anotadores para poder reducir errores de anotación. El consenso entre los tres anotadores se alcanzó mediante votación mayoritaria. Un subconjunto de las anotaciones resultantes se publicó anteriormente como la biblioteca de imágenes L2.

La realidad del terreno para el detector de puesta de huevos se creó anotando manualmente 1323 imágenes al azar de toda la colmena. Se llamó “puestas de huevos” a las abejas que habían insertado su abdomen en una celda de panal (Figura Suplementaria 6) o parecían estar en proceso de hacerlo. Todas las demás abejas se anotaron como que no habían puesto huevos. Además, anotamos cada abeja ponedora en hasta dos imágenes que se grabaron antes y después de estas imágenes de la colmena. Las realidades finales de trofalaxia y puesta de huevos consistieron en 142,182 imágenes de pares de abejas y 723,995 imágenes de abejas individuales, respectivamen-

te. Ambas realidades se dividieron en conjuntos de datos de entrenamiento, calibración y prueba como se muestra en la Tabla Suplementaria 4.

## Propuesta de región

Para identificar regiones de la imagen que probablemente muestren abejas participando en la trofalaxia, aprovechamos el proxy de trofalaxia descrito anteriormente (Figura Suplementaria 1). Para cada par de posibles compañeras de trofalaxia identificado por este proxy, extraímos la región que muestra las cabezas de ambas abejas mediante la traducción del centro del código de barras de cada abeja por una distancia fija en la dirección de su vector de orientación del código de barras. El punto medio del segmento de línea definido por estas dos coordenadas se utilizó como punto central de una región de 96 píxelesx160 píxeles cuyos lados más largos eran paralelos al segmento de línea mencionado anteriormente (Figura 2b). El borde superior de este rectángulo se definió como el borde corto más cercano a la cabeza de la abeja con el ID más grande.

Para detectar las ponedoras de huevos, la región de la imagen centrada en el abdomen de una abeja se extrajo traduciendo el centro del código de barras de una abeja por una distancia fija en la dirección opuesta de su vector de orientación del código de barras. La coordenada resultante se utilizó como el punto medio de uno de los bordes de una región de 130 píxelesx130 píxeles cuyo borde superior era paralelo y más cercano al borde inferior del código de barras de la abeja (Figura Suplementaria 6). La región de la imagen que muestra a toda la abeja, así como a su entorno inmediato, se obtuvo primero traduciendo el centro de su código de barras por una distancia fija en la dirección del vector de orientación del código de barras. La coordenada resultante se utilizó como la esquina superior derecha de una región de 256 píxelesx256 píxeles cuya diagonal entre la esquina superior derecha y la esquina inferior izquierda pasaba por el centro del código de barras (Figura Suplementaria 6).

## Preprocesamiento de imágenes

Las imágenes de entrada de las CNN se crearon extrayendo la región de la imagen propuesta y rotándola “verticalmente”, de modo que su borde superior estuviera en el eje x del sistema de coordenadas de la imagen. Las intensidades de píxeles se limitaron a un valor de 200 para eliminar detalles brillantes en el fondo que no esperábamos que proporcionaran información sobre el comportamiento de interés, como la estructura del panal y los reflejos especulares en el contenido de las celdas del panal (Figura 2c). Para la detección de trofalaxia, además, llenamos el cuadro del código de barras de las abejas focales con un color uniforme para evitar que la CNN asociara partes del patrón del código de barras con un comportamiento (Figura 2c). Finalmente, las intensidades de píxeles se centraron en la media y se escalonaron a [-1, 1] para proporcionar un rango de entrada consistente para las CNN.



**CONAPI PERU**  
Organización Gremial de la Apicultura Peruana  
Página Web: [www.conapiperu.com](http://www.conapiperu.com)

**Correos:**  
[info@conapiperu.com](mailto:info@conapiperu.com)  
Presidente: [jhonnyrbee@msn.com](mailto:jhonnyrbee@msn.com)

**Teléfonos:**  
+51 999 024 343  
+51 984 703 397



## Arquitectura y entrenamiento de CNN

Las imágenes de posibles compañeras de trofalaxia y ponedoras de huevos se clasificaron con dos CNN cada una. Aunque los detalles exactos de estas CNN variaron, tenían una arquitectura similar, compuesta por 2 o 3 capas convolucionales, capas de max-pooling y 2 capas completamente conectadas (Tablas Suplementarias 1, 2 y 3). La salida de las capas convolucionales se estandarizó con normalización por lotes antes de pasar a una función de activación lineal rectificadora, y la salida de la función de activación final se transformó mediante una función softmax, de modo que se pueda interpretar como la probabilidad de que la imagen de entrada muestre el comportamiento de interés.

El entrenamiento de CNN consistió en inicializar los pesos de la red con valores extraídos de una distribución normal con una media de 0 y una desviación estándar de 1, truncada a 2 desviaciones estándar. Luego, los pesos de la red se optimizaron durante 10,000 iteraciones, utilizando el algoritmo Adam, configurado según lo recomendado por sus autores ( $\alpha = 0.001$ ,  $\beta_1 = 0.9$ ,  $\beta_2 = 0.999$ ,  $\epsilon = 0.000001$ )<sup>33</sup>, con una función de pérdida de entropía cruzada. Utilizamos lotes de 256 imágenes, que se aumentaron como se muestra en la Tabla Suplementaria 5 y se normalizaron a una media cero y una varianza unitaria. Para evitar el sobreajuste, aplicamos una decaída de peso L2 de 0.005 y una omisión del 0.5 en la primera capa completamente conectada.

Las CNN para detectar la ocurrencia de trofalaxia y si el abdomen de una abeja estaba insertado en una celda de panal se entrenaron en todos los ejemplos positivos y un número equivalente de ejemplos negativos aleatorios del conjunto de datos de entrenamiento de trofalaxia y puesta de huevos, respectivamente. Para entrenar la CNN que identifica al receptor, utilizamos todos los ejemplos positivos del conjunto de datos de entrenamiento de trofalaxia y un número correspondiente de ejemplos negativos aleatorios. La CNN que utiliza una imagen de toda la abeja para identificar falsos positivos se entrenó en los 4044 falsos positivos generados por la CNN que verifica la ausencia visual del abdomen de una abeja y un número correspondiente de ejemplos positivos aleatorios del conjunto de datos de entrenamiento de puesta de huevos.

## Detección de comportamientos

Para detectar trofalaxia o puesta de huevos en imágenes individuales, primero realizamos la propuesta de región correspondiente para obtener regiones de la imagen que potencialmente muestran el comportamiento de interés. Cada una de estas regiones se extrajo, se preprocesó según se describe anteriormente y se puntuó de forma independiente con las dos CNN que se entrenaron para detectar el comportamiento. Este enfoque es computacionalmente menos eficiente que una operación estrictamente serial donde, por ejemplo, la CNN para identificar al receptor procesa la imagen de entrada solo si la pun-



tuación para la ocurrencia de trofalaxia supera un umbral especificado. Sin embargo, se eligió porque permite almacenar ambas puntuaciones de la CNN en un archivo, que luego se puede procesar para obtener predicciones de comportamiento de diferentes rigurosidades sin tener que procesar el video nuevamente.

Las detecciones sucesivas de trofalaxia y puesta de huevos por imagen se *thresholdearon* y se vincularon para obtener predicciones de comportamiento más fáciles de analizar. Las predicciones vinculadas se filtraron para mejorar su calidad. Para la trofalaxia, este procedimiento es idéntico a los pasos de postprocesamiento. En resumen, las detecciones entre las mismas dos abejas se concatenaron si ocurrían en fotogramas de video sucesivos. Las detecciones concatenadas de duración inferior a 3 segundos se descartaron, porque interacciones tan cortas de trofalaxia no siempre resultan en la transferencia de líquido. Las interacciones restantes se fusionaron si estaban separadas por menos de 60 segundos y se descartaron si su duración total superaba los 180 segundos. El umbral anterior se basa en la observación personal de que las parejas de trofalaxia típicamente no vuelven a participar en la trofalaxia durante este período de tiempo, mientras que el último umbral se eligió para ser ligeramente más largo que la interacción de trofalaxia más larga informada.

Para la puesta de huevos, la vinculación y filtrado consistieron en concatenar las detecciones *thresholded* de fotogramas de video sucesivos en eventos de puesta de huevos. Los eventos concatenados de puesta de huevos de duración inferior a 3 segundos se descartaron. Los eventos restantes se fusionaron si involucraban a la misma abeja, ocurrían en un plazo de 10 segundos entre sí y la distancia de la posición promedio de los eventos era menor a 11,2 mm (el ancho de dos celdas de panal). Estas condiciones aseguraron que las predicciones de puesta de huevos solo se fusionaran si parecían pertenecer al mismo evento real.

### Calibración del detector

El detector de trofalaxia y los detectores de puesta de huevos tienen parámetros libres. Para el detector de trofalaxia, estos parámetros son la distancia mínima y máxima entre un par de abejas, la suma máxima del ángulo entre el vector de orientación de las abejas y una línea a través de la ubicación estimada de sus partes bucales, un umbral para la salida de la CNN que determina qué puntuaciones corresponden a la ocurrencia de trofalaxia, y un umbral para la salida de la CNN que identifica al receptor. Para el detector de puesta de huevos, los parámetros libres son los umbrales de CNN que determinan qué puntuaciones de salida identifican a una ponedora de huevos (potencial).

Para fijar los parámetros libres de cada detector de comportamiento, lo aplicamos al conjunto de datos de calibración de su verdad fundamental. Luego, realizamos una búsqueda en cuadrícula en el espacio de parámetros del detector y elegimos la combinación de parámetros que maximizó el producto de la sensibilidad y el valor predictivo positivo del detector.

### Evaluación del detector

Estimamos la fracción de una imagen que el procedimiento de propuesta de región del detector de trofalaxia excluye de la inspección visual automática aplicándolo a la imagen "centro" de todos los conjuntos de triples de imágenes de la colmena de observación, de los cuales se creó el conjunto de datos de prueba del detector. Luego, sumamos el número de píxeles dentro de las regiones de imagen propuestas y dividimos el total por el número de píxeles por imagen y por el número de imágenes de la colmena de observación.

Para probar si las CNN para detectar la ocurrencia de trofalaxia y para identificar al receptor son sensibles a las características sobresalientes del comportamien-

to, realizamos un análisis de sensibilidad a la oclusión. Movimos sistemáticamente un cuadrado gris grande de 41 px x 41 px (oclusor) sobre la imagen de entrada de la CNN, restringiendo el centro del oclisor a píxeles dentro de la imagen. Para cada posición del oclisor, procesamos la imagen de entrada alterada con la CNN respectiva y registramos la salida de la CNN. Las salidas de la CNN se suavizaron espacialmente en cuadrícula en cuadrados de 12 x 20 mediante un promedio de todas las salidas dentro de un bin. Los bins con una puntuación media baja representan posiciones del oclisor que conducen a una clasificación errónea de la imagen de entrada alterada.

La evaluación del rendimiento del detector se realizó aplicando cada detector a su conjunto de datos de prueba respectivo, utilizando los parámetros que obtuvimos durante la calibración del detector. Esto da como resultado una estimación del rendimiento de un detector en imágenes de toda la colmena, ya que la prevalencia de la trofalaxia y la puesta de huevos en los respectivos conjuntos de datos de prueba es la misma que en las imágenes de la colmena. Estas estimaciones de rendimiento son conservadoras porque los conjuntos de datos de prueba consisten en segmentos de 3 segundos de ocurrencias de comportamiento que probablemente duraron más tiempo. Las ocurrencias de comportamiento más largas consisten en múltiples segmentos de este tipo y, por lo tanto, es más probable que se detecten. Además, debido al alto valor predictivo positivo de ambos detectores en imágenes individuales, la probabilidad de una detección espuria disminuye bruscamente a medida que aumenta la duración del comportamiento detectado.

El tiempo de procesamiento de la imagen se midió promediando el tiempo de ejecución del detector en las 900 (545) imágenes de la colmena de las cuales se creó el conjunto de datos de prueba de trofalaxia (puesta de huevos). Estas mediciones se realizaron en un clúster con CPU Intel Core i9-7920X a 2,9 GHz y una matriz de almacenamiento RAID 6 compuesta por 6 discos duros HGST H3IKNAS800012872SWW. Durante las mediciones de tiempo de ejecución, ambos detectores estaban restringidos a un solo hilo de hardware y tenían acceso a 2 GB de RAM.

## Redes de trofalaxia

Construimos una red temporal a partir de las detecciones de trofalaxia de cada colonia. Los nodos en estas redes representan a las abejas individuales. Pares de nodos distintos se conectaron con un borde dirigido si las abejas correspondientes intercambiaron líquido al menos una vez. A cada borde se le asignó una lista de tiempos transcurridos, contados desde el comienzo del experimento, para especificar cuándo se iniciaron las transferencias de líquido. Estos tiempos de inicio de contacto tenían una resolución de 1 s y permitieron que nuestras simulaciones de propagación mantuvieran el orden preciso del tiempo de los eventos de transferencia.

## Simulaciones de propagación

Para simular la transmisión de información, patógenos y líquidos, empleamos una versión temporalmente explícita del modelo determinista susceptible-infectado. Este modelo asume que los individuos se encuentran en uno de dos estados, "susceptible" o "infectado". Las simulaciones comienzan estableciendo que todas las abejas son susceptibles, eligiendo una interacción de trofalaxia de manera uniforme al azar e "infectando" a las dos abejas involucradas en esta interacción, independientemente de cuánto tiempo hayan interactuado. Luego, se simuló la dinámica de propagación durante una ventana de tiempo de 8 horas. Durante este tiempo, un donante infectado infecta a un receptor susceptible con una probabilidad de 1 cuando participan en la trofalaxia (transmisión dirigida). Para modelos de transmisión no dirigida, se ignoró el papel trofaláctico de los individuos, lo que significa que los receptores también podían infectar a los donantes.

En cada simulación, registramos la fracción de individuos infectados  $f(t) = i(t)/S(t)$ , donde  $i(t)$  es el número de abejas infectadas vivas en el tiempo  $t$  después de la primera infección y  $S(t)$  es el tamaño de la colonia en el tiempo  $t$ . Para obtener una estimación más robusta de la fracción de individuos infectados, la promediamos sobre  $R = 1000$  ejecuciones de simulación y calculamos la prevalencia

$$\rho(t) = \frac{\sum_{r=1}^R f_r(t)}{R}.$$

Para determinar si la prevalencia para una secuencia de interacciones observada,  $\hat{\rho}(t)$ , es mayor de lo esperado por casualidad, la comparamos con la prevalencia para  $N = 5$  secuencias de interacciones aleatorias. Para simulaciones de propagación no dirigida, las secuencias de interacciones aleatorias se crearon con el modelo PTN null, que baraja los tiempos de contacto entre las interacciones observadas asegurando que ningún individuo sea asignado a una interacción después de su tiempo de muerte. Para simulaciones de propagación dirigida, las secuencias de interacciones se aleatorizaron invirtiendo la dirección de la trofalaxia con una probabilidad del 0.5 antes de aplicar el modelo PTN null. Para estudiar por separado el efecto de la naturaleza direccional y de la estructura temporal de la trofalaxia en la propagación dirigida, realizamos solo una de estas aleatorizaciones, respectivamente. La dinámica de propagación se caracterizó calculando la aceleración de la propagación,

$$s(t) = (\hat{\rho}(t) - \bar{\rho}(t)) / \min(\hat{\rho}(t), \bar{\rho}(t))$$

donde

$$\rho(t) = \sum_{n=1}^N \frac{\rho_n(t)}{N},$$

es la prevalencia media en las  $N$  secuencias de interacciones aleatorias.



*Christina Blut, Alessandro Crespi, Danielle Mersch, Laurent Keller, Linlin Zhao, Markus Kollmann, Benjamin Schellscheidt, Carsten Fülber y Martin Beye*

# DETECCIÓN AUTOMATIZADA POR ORDENADOR

## DE LOS COMPORTAMIENTOS DE ENCUENTRO EN GRUPOS DE ABEJAS MELÍFERAS

### Introducción

Las abejas melíferas, al igual que otros insectos eusociales, forman sociedades en las que sus miembros integran sus comportamientos para formar una sola unidad funcional (a menudo descrita como “superorganismos”). En las colonias de abejas melíferas, por ejemplo, la cría es criada colectivamente por las abejas obreras en condiciones de temperatura constante en panales de cera bien estructurados y hechos por las obreras. Todavía tenemos poco conocimiento sobre cómo las características colaborativas están reguladas dentro de la colonia por los

compromisos de tareas de los trabajadores individuales, las interacciones entre trabajadores y las señales ambientales.

Una abeja melífera puede participar en muchas tareas de comportamiento, por ejemplo, la limpieza de celdas, la alimentación de la cría, la construcción de panales, el almacenamiento de polen y néctar y la búsqueda de alimento. Se muchas tareas dentro de la colmena generalmente se realizan dentro de las primeras tres semanas de su vida, mientras que las tareas de forrajeo se realizan más tarde. Las tareas individuales son flexibles y se adap-

tan a las necesidades de la colonia. Las diferencias en los umbrales de respuesta interna de los individuos para los estímulos específicos de la tarea (modelo de umbral de respuesta), la búsqueda activa de tareas (modelo de búsqueda de trabajo), la realización repetida de la misma tarea cuando se tiene éxito en ella (modelos de autorrefuerzo) y la información transferida por los interlocutores sociales a través del contacto directo pueden desempeñar un papel importante en la organización de los compromisos de tareas dentro de la colonia.

La obtención continua de información sobre el comportamiento de cada una de las obreras, sus contactos directos (encuentros) con otras abejas obreras y sus interacciones con el entorno local facilitaría una mayor caracterización de los mecanismos subyacentes de la organización de las colonias. Sin embargo, actualmente carecemos de métodos que permitan la recopilación de información de comportamiento simultánea y continua para cada abeja obrera individual en el entorno de una colonia. En los métodos actuales, los comportamientos son detectados manualmente por un observador, ya sea a partir de grabaciones de vídeo de pequeñas colmenas de observación o de observaciones directas. Estos comportamientos detectados manualmente representan solo una fracción de los comportamientos que las muchas abejas obreras pueden mostrar en una colonia, especialmente cuando el comportamiento se realiza con frecuencia, por ejemplo, en el caso de comportamientos de encuentro.

En las abejas melíferas, los comportamientos de encuentro entre obreras se caracterizan por lo siguiente: las dos abejas obreras se enfrentan cara a cara y sus antenas móviles están repetidamente en contacto. Los comportamientos de encuentro resumen diferentes comportamientos de interacción entre trabajadores que muestran un contacto constante con las antenas y pueden agruparse a su vez en los siguientes comportamientos: (i) comportamiento de antena, que es necesario para inicializar y mantener un contacto, en el que las antenas de dos abejas obreras están en contacto constante pero no se muestran otras características de los siguientes comportamientos; (ii) comportamiento de mendicidad, en el que una abeja obrera pide comida a otra compañera de nido; (iii) comportamiento de ofrecimiento, en el que una abeja obrera ofrece comida a otra compañera de nido; y, (iv) comportamiento de la trofalaxia, en el que el néctar del cultivo se intercambia entre dos abejas.

Las abejas obreras pueden realizar un comportamiento de mendicidad para obtener información sobre la calidad y la fuente de néctar que ofrecen las abejas recolectoras entrantes. Las abejas recolectoras entrantes realizan un comportamiento de ofrenda para descargar el néctar recolectado a una abeja obrera receptora en la colmena a través de la trofalaxia. Los recolectores que regresan y presentan néctar de alta calidad muestran un mayor comportamiento de ofrenda, así como un mayor comportamiento de baile. Con más frecuencia encuentran una abeja receptora y regresan con más frecuencia con néctar a la colonia. Los efectos de las diferentes calidades de néctar en la interacción obrero-trabajador establecen

un mecanismo de control para el compromiso de forrajeo, el rendimiento y la afluencia de néctar de alta calidad de los trabajadores. A pesar de su papel en la regulación de la participación y el rendimiento de las obreras en la búsqueda de alimento, tenemos poco conocimiento sobre otros posibles roles que estos comportamientos de encuentro pueden tener en las tareas y la organización de la colonia.

En este estudio, presentamos el Sistema de Anotación del Comportamiento de las Abejas (BBAS, por sus siglas en inglés), que permite la clasificación automatizada de los encuentros entre trabajadores dentro de un grupo de abejas melíferas. Obtuvimos información continua sobre las posiciones y orientaciones de las obreras a lo largo del tiempo mediante el seguimiento simultáneo de 100 abejas marcadas con un código de barras 2D mediante la adaptación de un dispositivo de seguimiento que fue desarrollado para hormigas. A partir de esta información de seguimiento, se calcularon las características sociales y de comportamiento, y se entrenó un clasificador de comportamiento basado en el aprendizaje automático utilizando el programa Janelia Automatic Animal Behavior Annotator (JAABA). Nuestro estudio demuestra que podemos clasificar de forma automática y precisa los comportamientos de encuentro dentro de un grupo de abejas. Este sistema tiene la posibilidad de obtener automáticamente información cuantitativa y continua sobre el comportamiento de cientos de abejas a la vez en pequeñas colonias.

## Resultados

### Clasificación automática de los comportamientos de encuentro en un grupo de abejas obreras

Para clasificar automáticamente los comportamientos de los trabajadores en una pequeña colmena de observación, desarrollamos el BBAS. Obtuvimos información de seguimiento de abejas obreras individuales en un pequeño grupo y calculamos las características de comportamiento (características por fotograma), que se utilizaron para clasificar los comportamientos. Las características por fotograma representaban parámetros calculados a partir de la información de seguimiento que proporcionaba información sobre las propiedades de comportamiento de las abejas en cada fotograma. Tales propiedades incluían, por ejemplo, la velocidad u orientación de una abeja hacia una compañera de nido (ver Kabra et al. para una lista detallada de las características por fotograma). Aplicamos las características por fotograma a clases de comportamiento etiquetadas manualmente para entrenar un sistema basado en el aprendizaje automático y, por lo tanto, generar un clasificador de comportamiento automático.

En primer lugar, adaptamos un dispositivo de seguimiento desarrollado para hormigas con el fin de obtener información sobre la posición y orientación de las abejas marcadas individualmente a una velocidad de cuatro



Vea  
nuestra  
red global

# Buscamos fuertes socios comerciales



forbeekeepers



## CONVIÉRTETE EN DISTRIB

¡Para más detalles - contáctenos!

[globalsales@lyson.com.pl](mailto:globalsales@lyson.com.pl) | [www.lyson.eu](http://www.lyson.eu) | +48 33 870-47-68

LYSON 

LYSON 

**UIDOR, DESCUBRE CÓMO**

LYSON POLAND

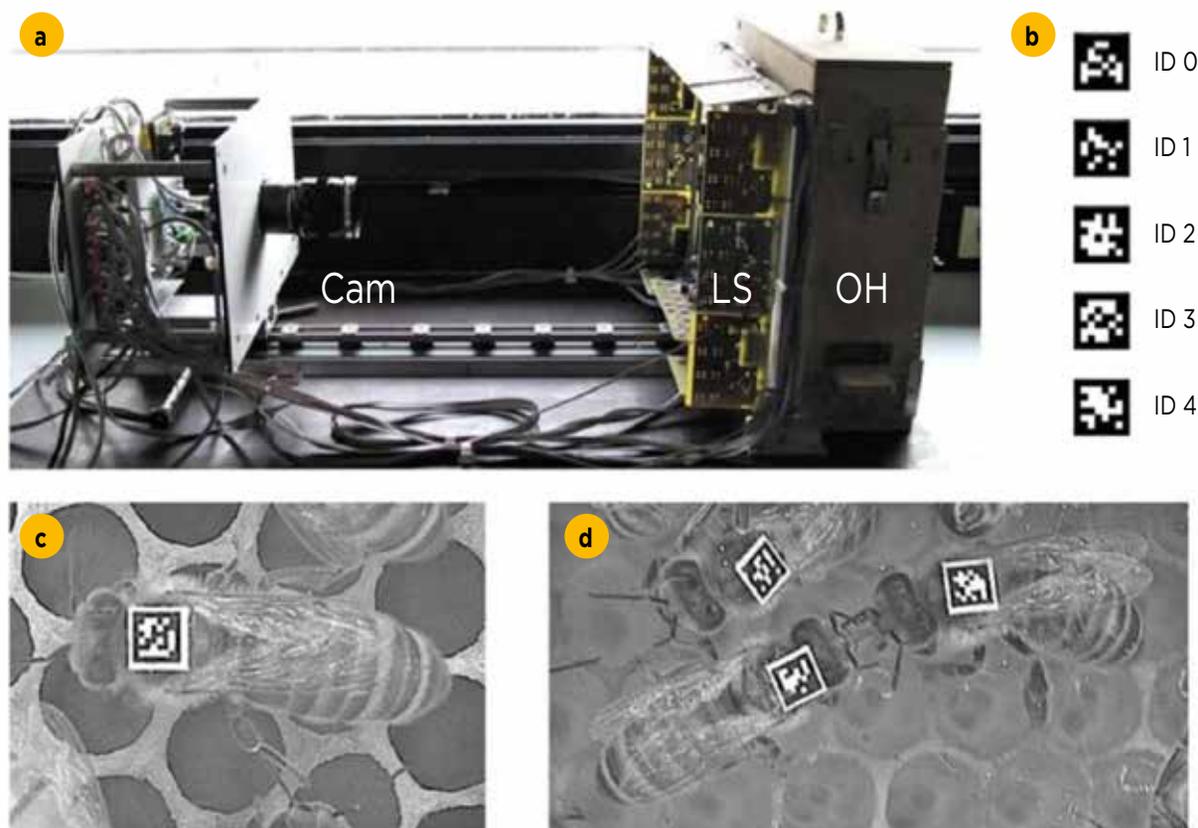
Encuétranos en:



fotogramas por segundo. En nuestro entorno, rastreamos 100 abejas obreras recién emergidas durante dos días. Las abejas se marcaron individualmente con códigos de barras 2D de la biblioteca AprilTags impresos en etiquetas de 2 x 2 mm y se alojaron en una pequeña colmena de observación en un solo panal que proporcionaba alimento (Fig. 1a-c). Elegimos una velocidad de cuatro fotogramas por segundo para asegurarnos de obtener suficiente información sobre la posición y orientación de las abejas para su posterior uso en la clasificación automática del comportamiento. Para comprobar si la tasa elegida captaba suficiente información, determinamos el cambio medio en la posición y orientación de las abejas (véase la información complementaria en línea). En promedio, las

posiciones de las abejas cambiaron en 0,9 mm (DE ± 0,9 mm) de un marco a otro, lo que corresponde a -0,06% del tamaño de una obrera de *Apis mellifera*. El cambio promedio de orientación de las abejas de un marco a otro fue de 6° (SD ± 4°). Estos pequeños cambios en la posición y la orientación sugieren que podemos capturar información suficientemente detallada sobre los movimientos de las abejas con la velocidad elegida. Se eligió el sistema AprilTag porque es un proyecto de código abierto mantenido activamente y proporciona un sistema robusto para minimizar la confusión entre etiquetas. También tiene un mejor rendimiento en imágenes tomadas en condiciones de iluminación no uniformes en comparación con otros sistemas similares.

Figura 1



Configuración del dispositivo de seguimiento. a) El dispositivo de rastreo consistía en una cámara de alta resolución (Cam), un sistema de iluminación infrarroja (LS) y la colmena de observación que sostenía un peine "Deutsch Normal" (OH). Todo el dispositivo se colocó debajo de una caja de cartón en un laboratorio. (b) Ejemplos de códigos de barras 2D de la biblioteca AprilTags. (c) Abeja marcada con una etiqueta con un código de barras 2D. (d) Comportamiento de encuentro entre dos abejas obreras definido por la orientación cabeza a cabeza y el contacto con las antenas de las abejas que interactúan. Este encuentro específico que se muestra es la trofalaxia.

En la Tabla 1 se resumen los resultados de la tasa de detección y la precisión posicional del dispositivo de seguimiento de las etiquetas inmóviles pegadas a un panal y las etiquetas adheridas a las abejas obreras en movimiento y en reposo. En promedio, se detectaron abejas en reposo en el 98,2% de los cuadros, mientras que en el 90,8% de los fotogramas se detectaron abejas en

movimiento. La precisión de orientación de las etiquetas inmóviles pegadas a un peine fue de 1,5° y la precisión posicional fue de 0,04 mm. La alta tasa de detección y la precisión posicional sugieren que podemos obtener una cantidad considerable de información detallada sobre el movimiento de cada obrera en un grupo de abejas.

**Tabla 1.** Tasa de detección y precisión posicional del dispositivo de seguimiento.

		No. of tracked tags	No. of frames analysed (sequence duration) <sup>(3)</sup>	Detection rate <sup>(4)</sup> (%)	x/y position accuracy <sup>(5)</sup> (mm ± SD)	Orientation accuracy <sup>(5)</sup> (degrees ± SD)
Tags glued to a comb	immobile	100	1200 (min)	99.9	0.004 <sup>(6)</sup> ± 0.03	1.5 ± 0.8
Tags glued to a bee	resting <sup>(1)</sup>	10	240 (1 min)	98.2	n.d. <sup>(7)</sup>	n.d. <sup>(7)</sup>
	moving <sup>(2)</sup>	30	240 (1 min)	90.8	n.d. <sup>(7)</sup>	n.d. <sup>(7)</sup>

(1) La abeja se sienta en una posición sin moverse durante  $\geq 5$  segundos.

(2) La abeja camina a través del panal sin interactuar con otras abejas, inspeccionar las celdas o realizar cualquier otra tarea.

(3) Duración del seguimiento.

(4) Porcentaje de tramas en las que se detectaron etiquetas.

(5) Precisión del dispositivo de seguimiento para la posición central x/y detectada y la orientación.

(6) es decir, -0,003% del tamaño de una obrera de *Apis mellifera*.

(7) No determinado (s.f.) porque los comportamientos de las abejas podrían provocar cambios.

En segundo lugar, para generar un clasificador automático de comportamiento, calculamos las características por fotograma a partir de la información de seguimiento utilizando el programa JAABADetect. El cálculo de las características por fotograma para la información de seguimiento de 100 abejas obreras requirió un clúster informático de alto rendimiento. Utilizamos las características sociales por fotograma para entrenar un clasificador para los comportamientos de encuentro con las abejas melíferas. Las entidades sociales por fotograma son un conjunto de características por fotograma que proporcionan información sobre el estado de un individuo en cada fotograma en relación con sus compañeros de nido más cercanos. Por ejemplo, la distancia, la orientación y la velocidad hacia otro trabajador pueden describirse mediante estas características.

En tercer lugar, determinamos si podíamos clasificar automáticamente los comportamientos de encuentro entre los trabajadores utilizando un clasificador automático de comportamientos generado con el programa JAABA. Se esperaba que el clasificador automático de comportamiento clasificara los cuatro comportamientos diferentes (antena, mendicidad, ofrenda y trofalaxia) como una sola clase, que tienen en común las características de comportamiento de orientación cabeza a cabeza y contacto antenal de dos abejas obreras (Fig. 1d). Para entrenar el clasificador automático de comportamientos, etiquetamos manualmente 76 comportamientos de encuentro y 77 comportamientos de no encuentro a partir de 105 minutos de grabación de video y la información de seguimiento correspondiente de las 100 abejas rastreadas. Solo etiquetamos las conductas de encuentro de las que estábamos muy seguros de que la conducta de encuentro se mostraba realmente. Las 76 conductas de encuentro (EB) comprendieron una muestra de 28 conductas de

antena, 8 de mendicidad, 6 de ofrenda y 34 de trofalaxia (ver Videos Suplementarios V1-V4 en línea para ver ejemplos de las cuatro conductas de encuentro). Las conductas sin encuentro (NEB) representaron una muestra de 46 sentados, 20 caminando, 7 acicalándose a sí mismos, 1 acicalándose socialmente y 3 sentados, con conductas de caminar posteriores. Entrenamos el clasificador ingresando los 76 EB y 77 NEB (conjunto de entrenamiento) poco a poco en el programa JAABA en cinco rondas de entrenamiento hasta que no observamos ninguna mejora adicional en las estimaciones de validación cruzada (consulte la información complementaria en línea para obtener detalles sobre la validación cruzada). Las estimaciones de validación cruzada se obtuvieron dividiendo aleatoriamente los EB y los NEB del conjunto de entrenamiento en subconjuntos de prueba y entrenamiento. El subconjunto de entrenamiento se utilizó para entrenar al clasificador, mientras que el subconjunto de prueba se utilizó para estimar posteriormente la tasa de error del clasificador en las clasificaciones. En la Tabla 2 se presentan las estimaciones finales de validación cruzada de 10 rondas de validación cruzada para nuestro "clasificador de encuentros" entrenado. Las estimaciones representan el porcentaje de tramas clasificadas automáticamente como EB\* y NEB\* por el «clasificador de encuentros» (los asteriscos indican comportamientos clasificados automáticamente; véase Información complementaria en línea para obtener más información sobre el cálculo de las estimaciones). De las tramas EB, el 77,3% fueron clasificadas correctamente por nuestro "clasificador de encuentros" (DE  $\pm$  1,3%, Tabla 2), mientras que el 73,7% de las tramas NEB fueron clasificadas correctamente (DE  $\pm$  1,2%, Tabla 2). La tasa de falsos positivos fue del 26,3% (tramas NEB falsamente clasificadas como EB\*), mientras que la tasa de falsos negativos fue del 22,7% (tramas EB falsamente clasificadas como NEB\*; Tabla 2).

**Tabla 2.** Precisión del «clasificador de encuentros» entrenado estimada mediante validación cruzada en las tramas etiquetadas para EB y NEB.

		Automatically detected by the 'encounter classifier	
		Encounter (EB*) <sup>(6)</sup> (±SD) (%) <sup>(2)</sup>	Non-encounter (NEB*) <sup>(6)</sup> (±SD) (%) <sup>(2)</sup>
Manually annotated <sup>(1)</sup>	Encounter (EB)	77.3 (±1.3) <sup>(3)</sup>	22.7 (±1.3) <sup>(5)</sup>
	moving <sup>(2)</sup>	26.3 (±1.3) <sup>(4)</sup>	73.7 (±1.2) <sup>(3)</sup>

(1) Los comportamientos de alta confianza (EB y NEB) etiquetados manualmente utilizados para entrenar al clasificador.  
 (2) Estimaciones medias con desviación estándar (DE) de las 10 rondas de validación cruzada. Los valores estimados se dan como porcentaje de tramas clasificadas correcta o falsamente como EB o NEB utilizando el clasificador.  
 (3) Tramas correctamente clasificadas como EB o NEB (verdaderos positivos).  
 (4) Tramas NEB falsamente clasificadas como EB\* (falsos positivos).  
 (5) Tramas EB falsamente clasificadas como NEB\* (falsos negativos).  
 (6) Los asteriscos indican comportamientos clasificados automáticamente.

A continuación, examinamos si nuestro clasificador era capaz de clasificar correctamente los 76 EB etiquetados manualmente de nuestro conjunto de entrenamiento. Dado que el conjunto de entrenamiento incluía las diferentes clases de comportamiento (antena, mendicidad, ofrenda y trofalaxia), examinamos si el clasificador podía clasificar correctamente estos cuatro comportamientos

diferentes como comportamiento de encuentro. Determinamos la tasa de clasificación y observamos que todos los comportamientos de encuentro etiquetados manualmente del conjunto de entrenamiento fueron detectados correctamente por nuestro clasificador (conjunto de entrenamiento en la Tabla 3; Cuadro complementario S1).

**Tabla 2.** Comparación de comportamientos anotados manualmente (EB y NEB) y comportamientos clasificados automáticamente (EB\* y NEB\*).

		Automatically detected by the 'encounter classifier	
		Encounter (EB*) (%)	Non-encounter (NEB*) (%)
Training set <sup>(1)</sup>	Encounter (EB)	100	0
	Non-encounter (EB)	0	100
	Encounter (EB)	93	7
	Non-encounter (EB)	28 <sup>(3)</sup>	n.d. <sup>(4)</sup>

(1) Los comportamientos de alta confianza (EB y NEB) etiquetados manualmente utilizados para entrenar al clasificador.  
 (2) Estimaciones medias con desviación estándar (DE) de las 10 rondas de validación cruzada. Los valores estimados se dan como porcentaje de tramas clasificadas correcta o falsamente como EB o NEB utilizando el clasificador.  
 (3) Tramas correctamente clasificadas como EB o NEB (verdaderos positivos).  
 (4) Tramas NEB falsamente clasificadas como EB\* (falsos positivos).  
 (5) Tramas EB falsamente clasificadas como NEB\* (falsos negativos).  
 (6) Los asteriscos indican comportamientos clasificados automáticamente.

A continuación, determinamos la precisión de nuestro “clasificador de encuentros” comparando las anotaciones manuales y las clasificaciones automáticas de comportamientos que no estaban incluidos en nuestro conjunto de entrenamiento inicial. Se anotaron manualmente 43 comportamientos de encuentro que comprendían 4 comportamientos de trofalaxia, 8 de mendicidad, 12 de ofrecimiento y 19 de antena (conjunto de pruebas; véase la Tabla Suplementaria S1). Nuestro “clasificador de encuentros” detectó el 93% de los comportamientos de encuentros anotados manualmente en este conjunto de pruebas. La tasa de falsos negativos fue del 7%, mientras que el 28% de las conductas detectadas automáticamente se clasificaron falsamente como EB\* (conjunto de pruebas en la Tabla 3; Cuadro complementario S1). Volvimos a examinar las EB\* falsamente clasificadas y descubrimos que el 15% del 28% de las EB\* falsamente clasificadas mostraban características similares a las de los comportamientos de encuentro, es decir, la orientación cabeza a cabeza y la proximidad de dos abejas. Sin embargo, estos EB\* falsamente clasificados carecían colectivamente de contacto antenal. De las conductas falsamente clasificadas como encuentros, el 13% no estaban relacionadas con las conductas de encuentro, es decir, no mostraban rasgos que caracterizaran las conductas de encuentro. Los resultados sobre las altas tasas de clasificación sugieren que el BBAS se puede utilizar para anotar de forma automática y precisa los comportamientos de encuentro en grupos de abejas melíferas.

### Clasificación del comportamiento de la trofalaxia en función de la duración del comportamiento de encuentro

Demostramos que podíamos clasificar automáticamente los diferentes comportamientos de encuentro, antena, mendicidad, ofrenda y trofalaxia, como una sola clase de

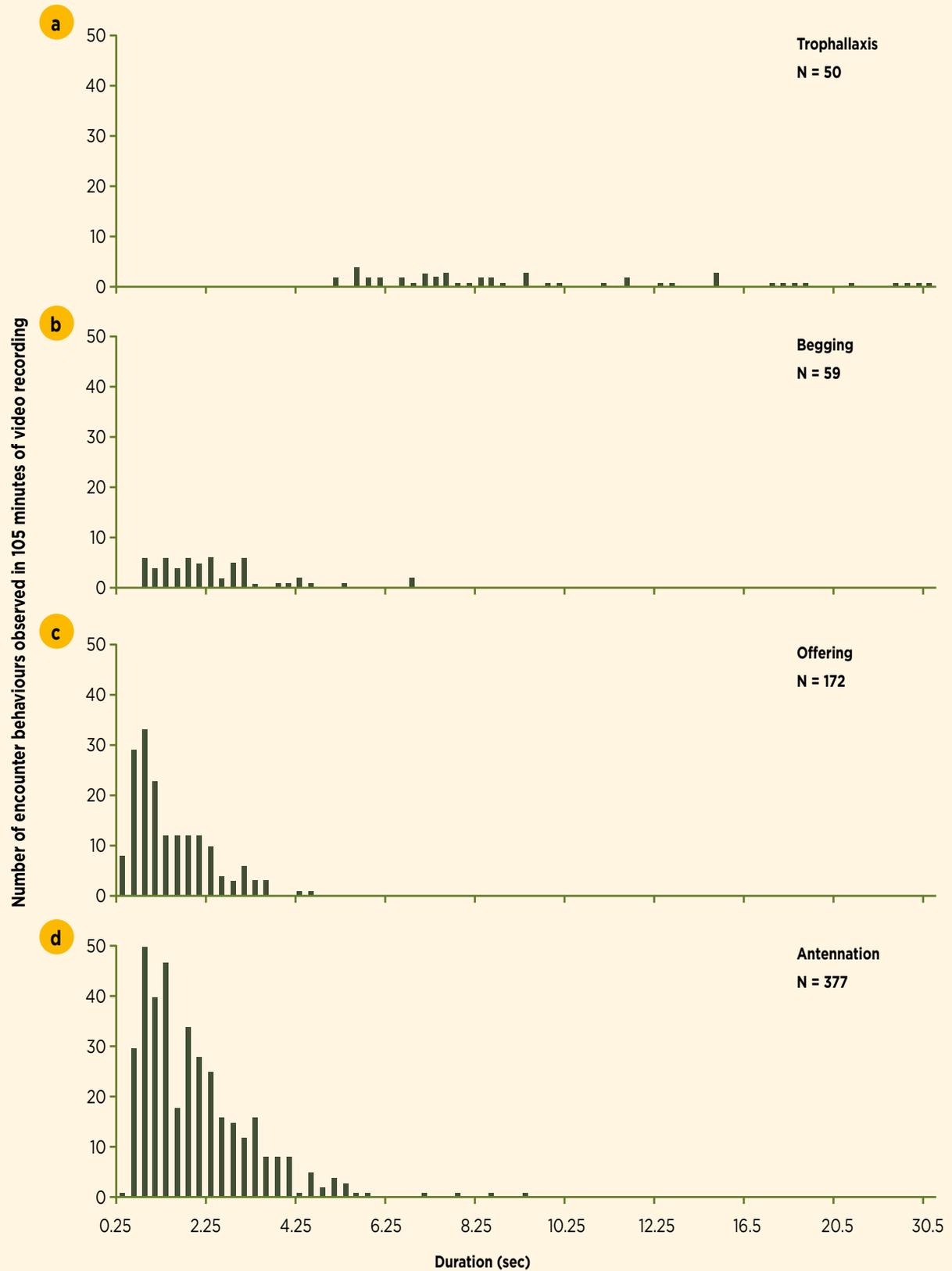
comportamiento con nuestro ‘clasificador de encuentro’. A continuación, consideramos si podíamos utilizar la duración de los diferentes comportamientos de encuentro para distinguirlos entre sí. En 105 minutos de las 22 horas de grabación de video, medimos la frecuencia y duración de los comportamientos de antena, mendicidad, ofrenda y trofalaxia en el grupo de 100 abejas obreras.

Se detectaron manualmente 658 comportamientos de encuentro, de los cuales el 57% eran comportamientos de antena, el 26% eran comportamientos de oferta, el 9% eran comportamientos de mendicidad y el 8% comportamientos de trofalaxia (Tabla 4; Videos Suplementarios V1-V4 en línea). La mediana de duración de los comportamientos de la trofalaxia fue de 8 segundos (percentil 75%: 13 segundos; rango de duración: 5-30,5 segundos; Tabla 4; Higo. 2a). La duración media de los comportamientos de antena, ofrenda y mendicidad fue mucho más corta, oscilando entre 1 y 2 segundos con una superposición considerable en el percentil del 75% (rango de duraciones: antena: 0,25-9,25 segundos, ofrenda: 0,25-4,5 segundos, mendicidad: 0,75-6,75 segundos; Tabla 4; Higo. 2b-d). Hubo una diferencia significativa entre la duración de los cuatro comportamientos de encuentro diferentes (ANOVA de un factor en los rangos:  $N = 658$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $H = 175$ ,  $d.f. = 3$ ,  $P < 0,001$ ). Las pruebas post hoc mostraron que las comparaciones por pares fueron significativamente diferentes, excepto para los comportamientos de mendicidad vs. antena (Método de Dunn,  $\alpha = 0,05$ : trofalaxia vs. ofrenda:  $N = 222$ ,  $Q = 13$ ,  $P < 0,001$ ; trofalaxis vs. antena:  $N = 427$ ,  $Q = 10,7$ ,  $P < 0,001$ ; trofalaxis vs. mendicidad:  $N = 109$ ,  $Q = 6,7$ ,  $P < 0,001$ ; mendicidad vs. ofrenda:  $N = 231$ ,  $Q = 5,3$ ,  $P < 0,001$ ; antena vs. oferta:  $N = 549$ ,  $Q = 5,2$ ,  $P < 0,001$ ; mendicidad vs. antena:  $N = 436$ ,  $Q = 2,3$ ,  $P = 0,138$ ). Este resultado sugiere que la duración de las conductas de encuentro podría utilizarse para distinguir las diferentes conductas de encuentro entre sí.

**Tabla 4.** Frecuencia y duración de los diferentes comportamientos de encuentro detectados manualmente.

Encounter behaviour	No. of encounters	Relative proportion (%)	Min. duration (sec)	Max. duration (sec)	Median (sec)	75% percentile (sec)
Antennation	377	57	0.25	9.25	1.8	2.5
Offering	172	26	0.25	4.5	1	1.9
Begging	59	9	0.75	6.75	2	3
Trophallaxis	50	8	5	30.5	8.4	12.9

**Figura 2**



Número de conductas de encuentro observadas para la diferente duración de las conductas de encuentro de las cuatro clases de conducta. (a) Trofalaxia, (b) Mendicidad, (c) Ofrenda, (d) Atención.

Número de conductas de encuentro observadas para la diferente duración de las conductas de encuentro de las cuatro clases de conducta. (a) Trofalaxia, (b) Mendicidad, (c) Ofrenda, (d) Atención.

A continuación, probamos si los comportamientos de encuentro podían clasificarse con precisión como antena, mendicidad, ofrenda o trofalaxia basándonos únicamente en su duración. Por lo tanto, analizamos los rangos de duración de los 658 encuentros de las cuatro clases de comportamiento para determinar si los umbrales de duración podrían utilizarse como clasificador para los diferentes comportamientos de encuentro. De este modo, intentamos encontrar umbrales por encima de

los cuales los comportamientos podrían clasificarse de forma fiable como una de las cuatro clases de comportamiento. Observamos que los umbrales de duración no podían utilizarse como clasificadores para los comportamientos de mendicidad, ofrenda y antena, ya que sus rangos de duración se superponían demasiado (Tabla 4; Higo. 2). Al considerar solo los comportamientos con una duración de 5 segundos o más, observamos que todos los comportamientos de la trofalaxia podían clasificarse correctamente (100%; Tabla 5). Sin embargo, los comportamientos no relacionados con la trofalaxia (es decir, los comportamientos de mendicidad y antena) se clasificaron falsamente como comportamientos de trofalaxia con una tasa de falsos positivos del 8% (Tabla 5).

**Tabla 5.** Clasificación de los comportamientos de la trofalaxia de los comportamientos de encuentro detectados manualmente y detectados automáticamente utilizando el umbral de duración de  $\geq 5$  segundos.

	Manually classified by duration among the 658 manually detected behaviours <sup>(1)</sup>		Automatically classified by duration among the EBs* from the testing set <sup>(2)</sup>	
	Trophallaxis (%) <sup>(3)</sup>	Non-trophallaxis (%) <sup>(3)</sup>	Trophallaxis (%) <sup>(4)</sup>	Non-trophallaxis (%) <sup>(4)</sup>
Trophallaxis <sup>(5)</sup>	100	0	100	0
Non-trophallaxis <sup>(5)</sup>	8	92	28	72

(1) Clasificamos manualmente los comportamientos de la trofalaxia a partir de los 658 comportamientos de encuentro detectados manualmente utilizando el umbral de duración de  $\geq 5$  segundos.

(2) Aplicamos el "clasificador de encuentros" con un umbral de duración de  $\geq 5$  segundos a los 43 comportamientos de encuentros anotados manualmente que no se utilizaron para el entrenamiento.

(3) Porcentaje de comportamientos trofalaxia y no trofalaxia detectados manualmente que se clasificaron manualmente como trofalaxia utilizando el umbral de duración de  $\geq 5$  segundos.

(4) Porcentaje de comportamientos trofalaxia y no trofalaxia anotados manualmente del conjunto de ensayo que se clasificaron automáticamente como trofalaxia\* y no trofalaxia\* (los asteriscos indican clasificación automática) utilizando el umbral de duración de  $\geq 5$  segundos.

(5) Comportamientos trofalaxia y no trofalaxia que fueron anotados manualmente por el observador.

A continuación, probamos si los comportamientos de la trofalaxia podían clasificarse automáticamente en función de su duración. Aplicamos el umbral de duración de  $\geq 5$  segundos a los EB clasificados automáticamente\* del conjunto de pruebas que comprendía 43 comportamientos de encuentro. Observamos que el 100% de los comportamientos de la trofalaxia se clasificaron automáticamente (Tabla 5). Sin embargo, el 28% de las conductas detectadas se clasificaron falsamente como trofalaxia (tasa de falsos positivos; Tabla 5). Estas tasas de clasificación sugieren que podemos clasificar automáticamente la gran mayoría de los comportamientos de la trofalaxia en un grupo de abejas obreras utilizando nuestro "clasificador de encuentros" junto con el umbral de duración de  $\geq 5$  segundos.

## Discusión

Introdujimos el BBAS, un sistema que puede clasificar automáticamente los comportamientos estereotipados de los trabajadores individuales en un grupo de abejas melíferas. Nuestros resultados muestran que el BBAS se puede utilizar de forma fiable para detectar automáticamente los comportamientos de encuentro.

Los métodos actuales de observación de la conducta suelen requerir la detección manual de las conductas por parte de un observador<sup>12</sup>. La detección manual limita el número de comportamientos observables, especialmente cuando el comportamiento es mostrado con frecuencia por las muchas abejas obreras de una colonia, como es el caso de los comportamientos de encuentro. En este estudio, clasificamos con precisión los comportamientos de encuentro entre las abejas obreras utilizando la clasificación automática. De los comportamientos de encuen-

tro que se anotaron manualmente, el 93% se detectaron con precisión. A pesar de que es posible que nuestro clasificador no detecte el 7% de los comportamientos de encuentro, la gran cantidad de comportamientos de las muchas abejas obreras que se pueden detectar durante varios días de observación produce una sensibilidad de prueba confiable. Este poder estadístico apoyará la identificación de incluso pequeñas diferencias entre los estados fisiológicos internos o los efectos de la manipulación experimental. De acuerdo con las anotaciones manuales, nuestro clasificador clasificó falsamente otros comportamientos como comportamientos de encuentro. De estas falsas detecciones, el 13% no tenía similitud con los comportamientos de encuentro, mientras que el 15% tenía una gran similitud con los comportamientos de encuentro, lo que posiblemente sugiere que nuestro clasificador puede detectar un espectro más amplio de comportamientos de encuentro y relacionados con el encuentro que se puede anotar manualmente. Estos casos limítrofes pueden tener

una función biológica similar y requieren más investigación.

En este estudio, la duración de las cuatro clases diferentes de comportamientos de encuentro (trofalaxia, mendicidad, ofrenda y antena) se obtuvo de 100 abejas de la misma edad mantenidas en una colmena de observación de un marco sin reina ni cría. Nuestros resultados muestran que los comportamientos de la trofalaxia duraron entre 5 y 30,5 segundos. La duración de las conductas de ofrenda y mendicidad osciló entre 0,25 y 6,75 segundos, mientras que la antena duró entre 0,25 y 9,25 segundos. Estas mediciones corresponden a informes previos sobre la duración de la trofalaxia, el comportamiento de mendicidad y ofrenda que se obtuvieron en condiciones más naturales (colonias de reina derecha en colmenas de observación de uno o dos cuadros). Los comportamientos de trofalaxia de diferentes abejas obreras de edad avanzada en estas pequeñas colonias de reinas duraron de 4 a 30 segundos, mientras que la mendicidad y la ofrenda duraron menos de 0,5 a 10 segundos. Esta constancia en diferentes condiciones sugiere que la duración puede ser utilizada como un parámetro predictivo para distinguir entre las clases conductuales de encuentros.

Nuestro estudio de los comportamientos de encuentro anotados manualmente sugiere que se puede utilizar un umbral de duración de  $\geq 5$  segundos para un comportamiento de encuentro para separar con precisión el comportamiento de la trofalaxia de los otros comportamientos de encuentro (mendicidad, ofrenda y antena). Cuando aplicamos nuestro 'clasificador de encuentros' junto con el umbral de duración, pudimos clasificar el 100% de los comportamientos de la trofalaxia anotados manualmente. Sin embargo, la tasa de falsos positivos fue relativamente alta (28%), lo que sugiere que es posible que necesitemos más ajustes del parámetro de duración del comportamiento para reducir las clasificaciones falsas.

Se ha propuesto que los comportamientos de encuentro y la transmisión de alimentos son formas para que las abejas obreras recopilen información sobre el estado de su colonia y, por lo tanto, puedan ajustar sus comportamientos de acuerdo con las necesidades de la colonia. Hasta ahora, tenemos un conocimiento detallado sobre el papel de la trofalaxia, los comportamientos de mendicidad y ofrenda entre las recolectoras entrantes y las abejas obreras dentro de la colonia en el acceso a la información sobre la calidad y el origen del néctar y las reservas de miel de la colonia. Las abejas obreras recolectoras generalmente descargan el néctar del cultivo de miel a las abejas obreras dentro de la colmena a través de la trofalaxia. Las abejas obreras receptoras almacenan el néctar dentro de las celdas de cera o reducen aún más el contenido de agua. El comportamiento de ofrenda es realizado por las recolectoras de néctar que regresan, que están dispuestas a descargar el contenido de su cosecha a una abeja obrera receptora. Dentro del nido, las abejas obreras ruegan a las abejas recolectoras entrantes que reciban néctar. La tasa de comportamiento de mendicidad se ve afectada por el estado de la colonia y la cantidad de miel almacenada en la colonia. El com-

portamiento de la antena es esencial para establecer y mantener el contacto entre las abejas que se encuentran. Prevemos que con más clasificadores entrenados para otros comportamientos, podemos examinar más a fondo los posibles efectos de los comportamientos de encuentro en la participación posterior en la tarea.

Para entrenar el clasificador y medir la precisión de la detección, utilizamos 100 abejas obreras marcadas en este estudio. Sin embargo, con la configuración actual, el BBAS puede rastrear hasta 1000 abejas obreras en un panel de cría en una pequeña colmena de observación (datos preliminares). Se puede ampliar aún más a más de 2000 abejas obreras agregando una cámara adicional, un sistema de iluminación y un grupo de cinco computadoras. Por lo tanto, sugerimos que el BBAS mejorará nuestra capacidad para recopilar conocimientos sobre los comportamientos individuales y colectivos de las abejas obreras. Con más clasificadores entrenados para detectar diferentes comportamientos en las abejas melíferas, el BBAS se puede utilizar para examinar los fenotipos de comportamiento de una sola obrera y las interacciones entre obreras dentro de pequeñas colmenas de observación. Prevemos que el BBAS será una herramienta poderosa para detectar los efectos experimentales de las manipulaciones genéticas y fisiológicas en trabajadores individuales. Además, proponemos que el BBAS puede ser un método preciso para medir los efectos subletales de los plaguicidas en el comportamiento. La clave para comprender los efectos de los plaguicidas en las colonias de abejas melíferas es adquirir conocimientos sobre cómo influyen en el comportamiento individual. Con el BBAS podremos analizar los efectos de los plaguicidas en el comportamiento individual, ya que podremos cuantificar de forma continua y simultánea los comportamientos en la colmena de cientos de abejas obreras en condiciones estandarizadas con clasificadores informáticos. En el caso de los comportamientos de encuentro, por ejemplo, podemos analizar los efectos de los plaguicidas en la duración de los encuentros o en su cantidad.

En conclusión, prevemos que el BBAS será beneficioso en diversas áreas de investigación para los investigadores de abejas melíferas que necesitan obtener información detallada sobre el comportamiento de cientos de abejas individuales.

## Métodos

### Dispositivo y procedimiento de seguimiento

Las grabaciones de vídeo de las abejas obreras en un panel y la información de seguimiento se obtuvieron con un dispositivo de seguimiento desarrollado para hormigas por Mersch y modificado para el seguimiento de las abejas melíferas (véase la información complementaria en línea). El dispositivo de rastreo de abejas consistía en una cámara monocromática de alta resolución, un grupo de cinco computadoras de escritorio, un sistema de iluminación infrarroja y una colmena de observación que sostenía un solo panel "Deutsch Normal" (Fig. 1a). La

luz infrarroja se proporcionaba en destellos sincronizados con las imágenes tomadas cada cuarto de segundo (4 fotogramas por segundo) por la cámara. Para omitir la exposición a la luz del día, tanto la colmena de observación como la cámara se encontraban en un laboratorio cubierto por una caja de cartón que estaba forrada con una lámina reflectante de infrarrojos, lo que intensificaba la iluminación infrarroja del área del panel. La caja de cartón estaba equipada con un dispositivo de ventilación que mantenía la temperatura a unos 29 °C ( $\pm 1$  °C).

Utilizamos etiquetas de 2 × 2 mm con códigos de barras 2D de la biblioteca AprilTags (Fig. 1b) Etiquetar y rastrear a las obreras de las abejas melíferas. Estos códigos de barras 2D consistían en un contorno cuadrado con una palabra clave de 36 bits codificada en el interior, que podía generar hasta 2320 números de identificación (ID) únicos. Un experimento sobre la mortalidad y las observaciones conductuales de las abejas marcadas mostró que las abejas que llevaban marcas sobrevivían y se comportaban como lo hacían las abejas no marcadas (véase Experimentos introductorios y observaciones en Información complementaria en línea). La información de seguimiento obtenida por el software de seguimiento contenía (después del procesamiento posterior) el número de identificación de la etiqueta, las coordenadas x e y de su centro y su orientación con el número de fotograma y la marca de tiempo correspondientes en tiempo UNIX (con una precisión de 1/100 segundos).

### Clasificación automática del comportamiento utilizando la información de seguimiento

A partir de la información de seguimiento, utilizamos el programa JAABADetect para calcular las características sociales por fotograma para proporcionar información sobre las propiedades de las abejas en relación con su compañera de nido más cercana en cada fotograma (por ejemplo, la distancia, la velocidad y la orientación de la abeja más cercana).

Para producir el “clasificador de encuentros”, etiquetamos ejemplos de comportamiento de encuentro y no encuentro en 105 minutos de información de seguimiento y material de video utilizando la interfaz gráfica de usuario del programa JAABA. Solo se etiquetaron las conductas de encuentro y no encuentro para las que teníamos una alta confianza en la clasificación. Por lo tanto, para las conductas de encuentro, solo etiquetamos aquellas para las que podíamos identificar con confianza que se mostraban las características conductuales que caracterizaban las conductas de encuentro. La información sobre las características sociales por fotograma que se calcularon a partir de la información de seguimiento se utilizó para entrenar el “clasificador de encuentros” a través del aprendizaje automático implementado en el programa JAABA.

La precisión del clasificador se determinó utilizando el método de validación cruzada implementado en el programa JAABA. Utilizamos la configuración predeterminada de JAABA para la validación cruzada y realizamos 10 rondas de validación cruzada para obtener una estima-

ción promedio de la precisión del clasificador (consulte Información complementaria en línea para obtener más detalles sobre el cálculo de la precisión y la validación cruzada).

### Anotación manual de los comportamientos de encuentro y análisis posterior

Examinamos manualmente las grabaciones de vídeo para detectar todos los comportamientos de los encuentros. Se determinó la duración en segundos y el tipo de comportamiento de encuentro: i) comportamiento de antena, ii) comportamiento de mendicidad, iii) comportamiento de ofrecimiento, iv) comportamiento de trofalaxia. El análisis estadístico se realizó con el software SigmaPlot 13.

### Manipulación de abejas

Utilizamos abejas melíferas recién emergidas que se originaron en una colonia de abejas melíferas occidentales *Apis mellifera* de nuestro patio de abejas en la Universidad Heinrich-Heine de Düsseldorf, Alemania. Se tomó un panel de cría sellado de la colonia de origen y se incubó a 34 °C. Las abejas obreras emergentes se recolectaron cuando tenían entre 0 y 24 horas de edad. Un centenar de abejas fueron marcadas con etiquetas cortadas a mano pegándolas en el centro del tórax de las abejas con pegamento (“Opalith Zeichenleim”, Heinrich Holtermann KG, Brockel, Alemania).

Las abejas fueron rastreadas del 3 al 4 de mayo de 2016 en un panel compuesto por 40 celdas tapadas llenas de miel. Las abejas estaban restringidas a un lado del panel sin una reina. Como los encuentros entre trabajadores eran el interés de este estudio, no se incluyó ni una reina ni zánganos en el grupo. El panel no contenía cría porque utilizamos abejas obreras recién emergidas para el rastreo, y se sabe que la cría de la cría comienza a la edad de dos a tres días.

Para garantizar que se produjeran suficientes comportamientos de encuentro durante el proceso de seguimiento, una proporción de las abejas fueron alimentadas ad libitum con una solución azucarada (Ambrosia Bienenfutter-Sirup, Nordzucker AG, Braunschweig, Alemania) o se les privó de alimentos antes de que se iniciara el seguimiento. En el primer día de seguimiento, 16 abejas fueron alimentadas con la solución de azúcar antes de comenzar el experimento de seguimiento, mientras que las abejas restantes fueron hambrientas durante aproximadamente una hora. Para su sustento, proporcionamos a las abejas un pastel de azúcar (Apifonda Futterteig, Südzucker AG, Mannheim, Alemania) dos horas después de que se iniciara el seguimiento. En el segundo día de seguimiento, retiramos la masa de azúcar y volvimos a alimentar a 15 de las 100 abejas con la solución de azúcar. Las otras 85 abejas pasaron hambre durante tres horas. Las 15 abejas fueron reintroducidas en la colmena de observación antes de que comenzara el rastreo. En total, se generó información de 22 horas de seguimiento para 96 abejas. Cuatro abejas perdieron sus marcas durante el rastreo.

# Australian Bees



*Australian bees es una empresa familiar que produce una de las mejores mieles del mundo en los desiertos de Australia en más de 17 floraciones de eucaliptos.*

Ibero  **ABEJA**  
Revista Apícola Internacional  
Beekeeping International Magazine

DUBBO NSW 2830 +61 429 931 810 +61 432 213 241  
AUSTRALIANBEES@HOTMAIL.COM | ANTONIORBEE@HOTMAIL.COM  
[HTTP://WWW.AUSTRALIANBEES.COM.AU](http://www.australianbees.com.au)



¡ Apicultores  
Trabajando para  
Apicultores!



*Apicultores trabajando por apicultores viene trabajando por el desarrollo Apícola del Peru, Latinoamérica y el Mundo.*

*Siendo uno de los principales miembros de Conapi-Peru que a recorrido todo el Peru llevando conocimiento de desarrollo y transformación de los Apicultores Peruanos y Latinoamericanos mediante diferentes formas de trabajo en conjunto con la Revista Apícola Iberoabeja. Los Tours Apícola de Latinoamérica y otros.*

CONTACTAR: [jhonnyrbee@msn.com](mailto:jhonnyrbee@msn.com)  
FACEBOOK: Apicultores trabajando por Apicultores  
TELÉFONO: +61 432 213 241



*Franziska Boenisch, Benjamin Rosemann,  
Benjamin Wild, David Dormagen, Fernando  
Wario, Tim Landgraf\**

# SEGUIMIENTO DE TODOS LOS MIEMBROS DE UNA COLONIA DE ABEJAS MELÍFERAS

## A LO LARGO DE SU VIDA UTILIZANDO MODELOS DE CORRESPONDENCIA APRENDIDOS

Los enfoques computacionales para el análisis del comportamiento colectivo en insectos sociales se basan cada vez más en las trayectorias de movimiento como una capa de datos intermedia a partir de la cual se pueden inferir comportamientos individuales o interacciones sociales. Las abejas melíferas son un modelo popular para el aprendizaje y la memoria. Se ha demostrado que la experiencia previa afecta y modula las interacciones sociales futuras. Hasta ahora, no se han reportado observaciones

de la historia de vida de todas las abejas de una colonia. En un trabajo anterior, introdujimos una configuración de grabación personalizada para rastrear hasta 4.000 abejas marcadas durante varias semanas. Debido a los errores de detección y decodificación de los marcadores de abejas, vincular las correspondencias correctas a través del tiempo no es trivial. En esta contribución presentamos una descripción en profundidad del algoritmo subyacente de varios pasos que produce trayectorias de movimiento

y también mejora significativamente la precisión de la decodificación de marcadores. La solución propuesta emplea dos clasificadores para predecir la correspondencia de dos detecciones consecutivas en el primer paso y dos tracklets en el segundo. Rastreamos automáticamente ~ 2,000 abejas melíferas marcadas durante 10 semanas con hardware de grabación de bajo costo utilizando marcadores sin bits de corrección de errores. Descubrimos que el seguimiento en dos pasos propuesto redujo las decodificaciones de identificación incorrectas de ~ 13% inicial a alrededor del 2% posterior al seguimiento. Junto con este artículo, publicamos el primer conjunto de datos de trayectoria para todas las abejas de una colonia, extraído de ~ 3 millones de imágenes que cubren 3 días. Invitamos a los investigadores a unirse al esfuerzo científico colectivo para investigar este intrigante sistema animal. Todos los componentes de nuestro sistema son de código abierto.

## Introducción

Las colonias de insectos sociales son organismos modelo populares para la autoorganización y la toma de decisiones colectivas. Desprovistos de control central, a menudo parece milagroso cómo las termitas ordenadas construyen sus nidos o las colonias de hormigas organizan su trabajo. Las abejas melíferas son un ejemplo particularmente popular: se destacan debido a un rico repertorio de comportamientos de comunicación (von Frisch, 1965; Seeley, 2010) y su división del trabajo altamente flexible (Robinson, 1992; Johnson, 2010). Una colonia de abejas melíferas se adapta robustamente a las condiciones cambiantes, ya sea un agujero en la colmena que necesita ser reparado, intrusos que necesitan ser defendidos, crías que necesitan ser criadas o alimentos que necesitan ser encontrados y procesados. El comportamiento de la colonia emerge de las interacciones de muchos miles de individuos. La complejidad que resulta del gran número de individuos se ve incrementada por el hecho de que las abejas son excelentes aprendices: la evidencia empírica indica que la experiencia personal puede modular el comportamiento de comunicación (Richter y Waddington, 1993; De Marco y Farina, 2001; Goyret y Farina, 2005; Grüter et al., 2006; Grüter y Farina, 2009; Grüter y Ratnieks, 2011; Balbuena et al., 2012). Especialmente entre los recolectores, la experiencia personal puede ser muy variable. Los diversos lugares que visita un recolector pueden estar dispersos en grandes distancias (hasta varios kilómetros alrededor de la colmena) y cada sitio puede ofrecer diferentes calidades de alimento, o incluso representar amenazas. Por lo tanto, no hay dos individuos que compartan la misma historia y experiencias. Evaluar cómo la experiencia personal da forma a la aparición del comportamiento colectivo y cómo la información individual es comunicada y procesada por la colonia requiere una identificación sólida de las abejas individuales durante largos periodos de tiempo.

Sin embargo, los insectos son particularmente difíciles de distinguir por un observador humano. Por lo tanto, el seguimiento manual de una abeja es difícil de realizar sin marcar a estos animales individualmente. Además, seguir a más de un individuo simultáneamente es casi

imposible para el ojo humano. Por lo tanto, la grabación de video debe verse una vez por individuo, lo que, en el caso de una colmena de abejas, puede ser varios cientos o miles de veces. Por lo tanto, el procesamiento de largos periodos de tiempo o la observación de muchas abejas es altamente inviable, o se limita a solo un pequeño grupo de animales. Además, la mayoría de los estudios se centraron en una propiedad focal, como ciertos comportamientos o la posición del animal. A lo largo de las últimas décadas, se han investigado diversos aspectos de las interacciones sociales en las colonias de abejas melíferas con notables esfuerzos en la recopilación de datos: Naug (2008) siguió manualmente a alrededor de 1.000 abejas marcadas en un video de 1 hora de duración para analizar las interacciones de intercambio de alimentos. Baracchi y Cini (2014) extrajo manualmente las posiciones de 211 abejas una vez por minuto durante 10 h de datos de video para analizar la red de proximidad de la colonia. Biesmeijer y Seeley (2005) se observaron comportamientos relacionados con la búsqueda de alimento de un total de 120 abejas marcadas durante 20 días. Couvillon y sus colegas decodificaron manualmente más de 5.000 bailes de video (Couvillon et al., 2014). Las preguntas de investigación que requieren múltiples propiedades, muchos individuos o largos periodos de tiempo están limitadas por los costos de la mano de obra.

En los últimos años, el software de visión artificial para la identificación y el seguimiento automáticos de animales se ha convertido en una herramienta popular para cuantificar el comportamiento (Krause et al., 2013; Dell et al., 2014). Aunque es posible que algunos comportamientos focales se extraigan directamente de la fuente de video (Berman et al., 2014; Wiltshko et al., 2015; Wario et al., 2017), el seguimiento de la posición de un animal a menudo es suficiente para inferir su estado de comportamiento (Kabra et al., 2013; Eyjolfsson et al., 2016; Blut et al., 2017). El seguimiento de las abejas dentro de una colonia es una tarea particularmente desafiante debido a las poblaciones densas, la apariencia similar del objetivo, las oclusiones frecuentes y una parte significativa de la colonia que abandona la colmena con frecuencia. Los vuelos de exploración de las recolectoras pueden durar varias horas, las abejas guardianas pueden permanecer afuera todo el día para inspeccionar a los individuos que llegan. La observación de la actividad individual durante muchas semanas, por lo tanto, requiere medios robustos para una identificación única.

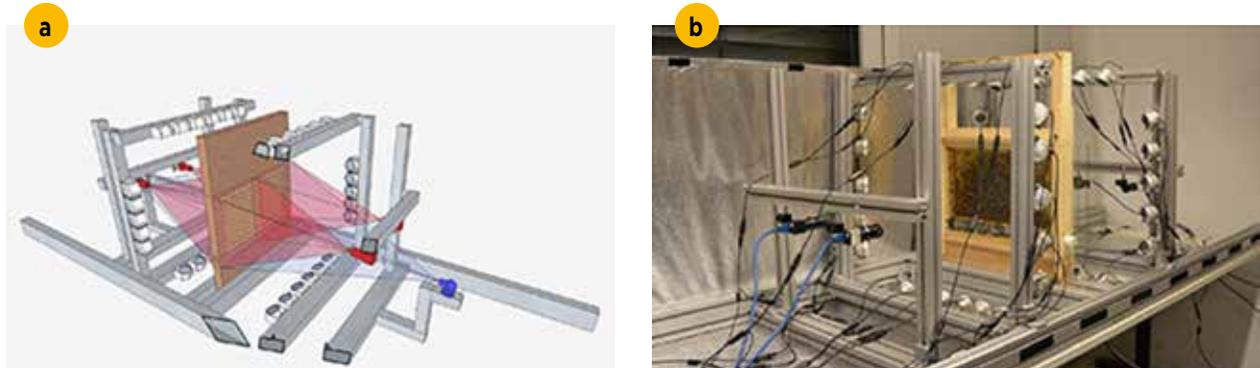
En el caso de un sistema que decodifica de forma robusta la identidad de una detección determinada, la tarea de seguimiento se reduce a la simple conexión de identificadores coincidentes. Recientemente, tres sistemas de seguimiento de insectos basados en marcadores (Mersch et al., 2013; Crall et al., 2015; Gernat et al., 2018) que utilicen un código binario de hasta 26 bits para la corrección de errores (Thompson, 1983). El proceso de decodificación puede detectar y corregir errores de manera confiable, o rechazar una detección que no se puede decodificar. Este enfoque tiene dos desventajas. En primer lugar, la corrección de errores requiere un equipo de grabación relativamente caro (la mayoría de los sistemas utilizan al

menos un sensor de 20 MP con una lente de alta calidad). En segundo lugar, las detecciones que no se pudieron decodificar generalmente no se pueden integrar en la trayectoria, lo que reduce efectivamente la precisión de detección y la frecuencia de muestreo.

En contraste con estas soluciones, hemos desarrollado un sistema llamado BeesBook que utiliza equipos de grabación mucho menos costosos (Wario et al., 2015). La Figura 1 muestra nuestra configuración de grabación, la Figura 2 visualiza los pasos de procesamiento realizados

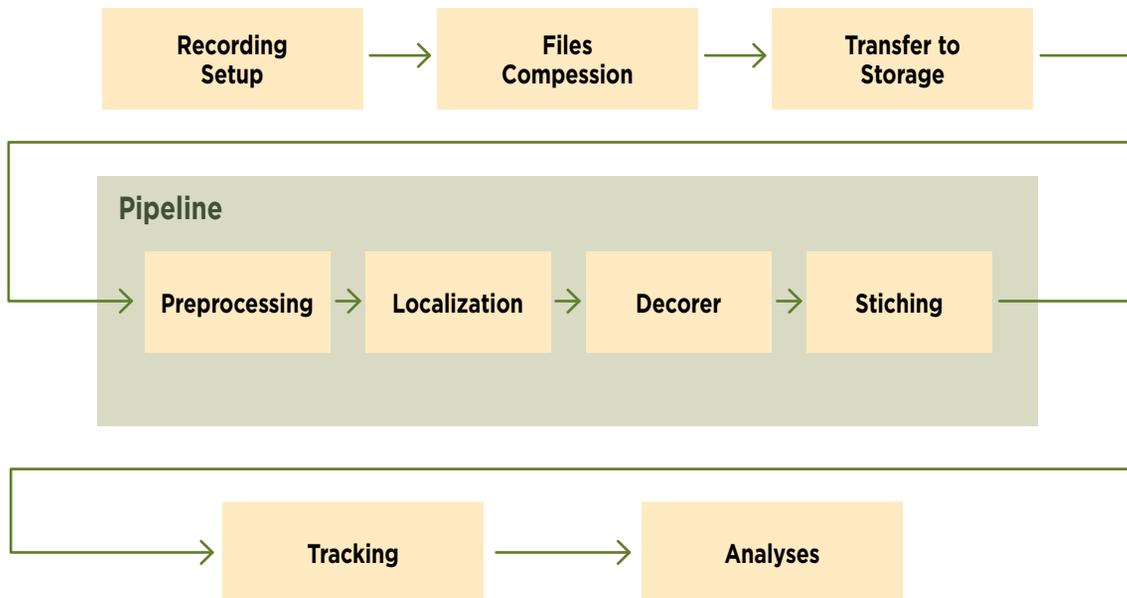
después de la grabación. Nuestro sistema localiza etiquetas con una recuperación del 98 % con una precisión del 99 % y decodifica correctamente el 86 % de las identificaciones sin depender de códigos de corrección de errores (Wild et al., 2018). Consulte la Figura 3 para ver el diseño de la etiqueta. Vincular las detecciones solo en función de las identificaciones coincidentes acumularía errores rápidamente, las trayectorias a largo plazo exhibirían brechas o saltos entre individuos. Por lo tanto, el seguimiento de las personas de forma robusta requiere un algoritmo de seguimiento más elaborado.

**Figura 1**



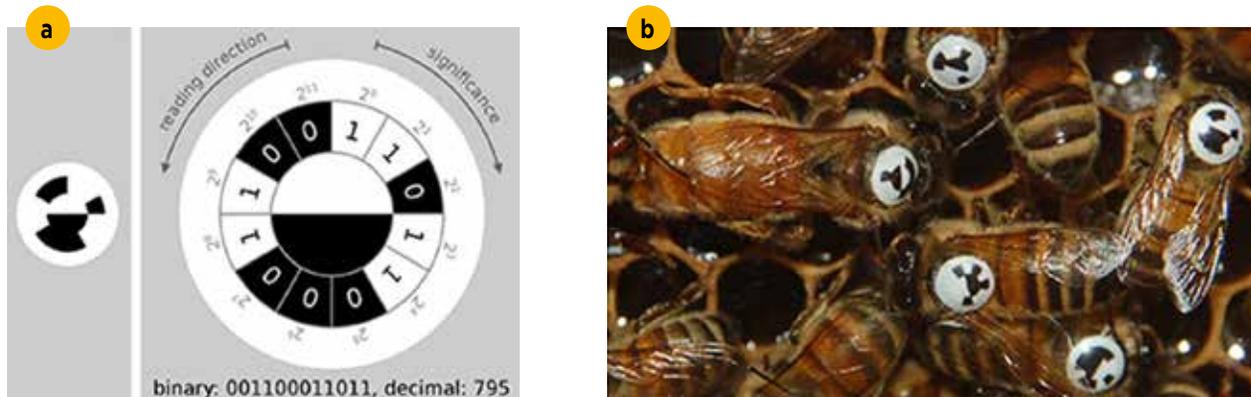
**Figura 1.** (A) Representación esquemática de la configuración. Cada lado del peine es grabado por dos cámaras PointGray Flea3 de 12 MP. Las imágenes tienen una superposición de varios centímetros a cada lado. (B) La configuración de grabación utilizada en el verano de 2015. Se muestran el panal, las cámaras y las luces infrarrojas, el tubo que pueden usar las abejas para salir de la configuración no es visible. Durante la grabación, la configuración está cubierta. Cifras adaptadas de Wario et al. (2015).

**Figura 2**



**Figura 2.** Los pasos de procesamiento de datos del proyecto BeesBook. Las imágenes capturadas por la configuración de grabación se comprimen sobre la marcha en videos que contienen 1,024 fotogramas cada uno. A continuación, los datos de video se transfieren a un gran almacenamiento desde donde la canalización puede acceder a ellos para su procesamiento. Preprocesamiento: ecualización del histograma y submuestreo para el localizador. Localización: los marcadores de abejas se localizan mediante una red neuronal convolucional. Decodificación: una segunda red decodifica los ID y los ángulos de rotación. Unión: las coordenadas de imagen de las etiquetas se transforman en coordenadas de colmena y se eliminan los datos duplicados en las regiones donde las imágenes se superponen.

Figura 3



**Figura 3.** (A) El diseño de etiquetas en el proyecto BeesBook utiliza 12 segmentos de codificación dispuestos en un arco alrededor de dos semicírculos que codifican la orientación de la abeja. La etiqueta se pega en el tórax de tal manera que el semicírculo blanco gira hacia la cabeza de la abeja. Figura adaptada de Wario (2017). (B) Varias abejas melíferas marcadas en un panal. Las etiquetas redondas y curvas están diseñadas para soportar actividades pesadas, como inspecciones de celdas y viajes de búsqueda de alimento.

El campo del seguimiento de objetos múltiples ha producido numerosas soluciones para diversos casos de uso, como el seguimiento de peatones y vehículos (para ver las revisiones, consulte Cox, 1993; Wu et al., 2013; Luo et al., 2014; Betke y Wu, 2016). Los animales, especialmente los insectos, son más difíciles de distinguir y las soluciones para rastrear múltiples animales durante largos periodos de tiempo son mucho menos numerosas (ver Dell et al., 2014 para una revisión sobre el seguimiento de animales). Dado que nuestros sujetos objetivo pueden abandonar el área bajo observación en cualquier momento, la identidad del animal no se puede preservar solo mediante el seguimiento. Requerimos algún medio de identificación para una nueva detección, ya sean marcas de pintura o etiquetas numéricas en los animales, o descriptores que preserven la identidad extraídos de la detección.

Si bien los códigos de color son inviables con imágenes monocromáticas, el uso de estadísticas de imágenes para huellas dactilares de secuencias de animales visibles (Kühl y Burghardt, 2013; Wang y Yeung, 2013; Pérez-Escudero et al., 2014) puede funcionar incluso con rotuladores de pintura no estructurados. La fusión de tracklets después de las oclusiones se puede hacer haciendo coincidir las huellas dactilares. Sin embargo, aún no se ha probado si estos enfoques pueden resolver las numerosas ambigüedades en las observaciones a largo plazo de muchos cientos o miles de abejas que pueden abandonar la colmena durante varias horas.

A continuación, describimos las características que usamos para entrenar clasificadores de aprendizaje automático para vincular detecciones individuales y rastreos cortos en una colmena de abejas abarrotada. Evaluamos nuestros resultados con respecto a la corrección de la ruta y la identificación. Concluimos que el seguimiento a largo plazo se puede realizar sin códigos de corrección de errores basados en marcadores. Por lo tanto, el seguimiento se puede realizar sin costosos equipos de cámara de alta resolución y bajo ruido. En cambio, los errores de decodificación en marcadores simples pueden mitigarse

con la solución de seguimiento propuesta, lo que lleva a una mayor precisión final de las identificaciones asignadas en comparación con otros sistemas basados en marcadores que no emplean un paso de seguimiento.

### Descripción de los métodos

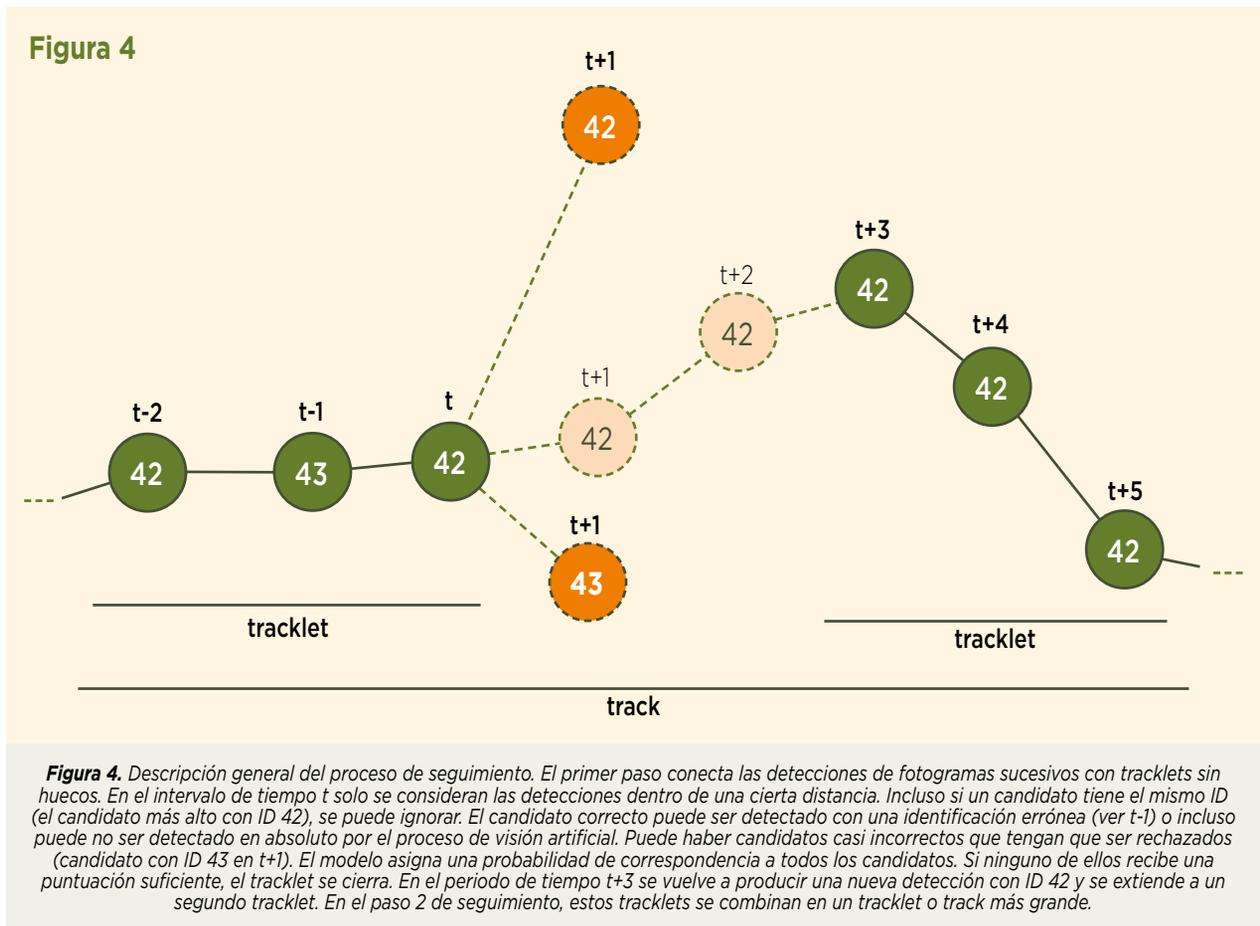
#### Planteamiento del problema y descripción general del enfoque de seguimiento

El problema de seguimiento se define de la siguiente manera: Dado un conjunto de detecciones (marca de tiempo, ubicación, orientación e información de identificación), busque correspondencias correctas entre las detecciones a lo largo del tiempo (pistas) y asigne la identificación correcta a cada pista. La información de ID de las detecciones puede contener errores. Además, es posible que no existan correspondencias correctas entre las detecciones de fotogramas consecutivos debido a la falta de detecciones causadas por marcadores ocluidos. En nuestro conjunto de datos, la información de ID consiste en un número en el rango de 0 a 4.095, representado por 12 bits. Cada bit se da como un valor entre 0,0 y 1,0, que corresponde a la probabilidad de que el bit esté activado.

Para resolver el problema de seguimiento descrito, proponemos un enfoque de seguimiento iterativo, similar a trabajos anteriores (para revisiones, ver Luo et al., 2014; Betke y Wu, 2016). Utilizamos dos pasos: 1. Las detecciones consecutivas se combinan en tracklets cortos pero fiables (Rosemann, 2017). 2. Estas vías están conectadas a través de huecos más largos (Boenisch, 2017). Los trabajos anteriores que empleaban el aprendizaje automático en su mayoría puntuaban diferentes medidas de distancia por separado para combinarlas en un valor umbral para el primer paso de seguimiento (Wu y Nevatia, 2007; Huang et al., 2008; Fasciano et al., 2013; Wang et al., 2014). Para fusionar pistas más largas, se han propuesto modelos de potenciación para predecir una clasificación entre las pistas candidatas (Huang et al., 2008; Fasciano

et al., 2013). Utilizamos modelos de aprendizaje automático en ambos pasos para conocer la probabilidad de que dos detecciones, o tracklets, se correspondan. Entrenamos los modelos en un conjunto de datos etiquetado manualmente de tracklets de realidad del terreno. Las características que se utilizan para predecir la correspondencia pueden diferir entre el nivel de detección y el nivel de tracklet, por lo que tratamos estas dos etapas como problemas de aprendizaje separados. Ambos pasos de seguimiento utilizan el algoritmo húngaro (Kuhn, 1955) para asignar coincidencias probables entre detecciones

en pasos de tiempo posteriores en función de la probabilidad de correspondencia predicha. A continuación, describimos qué características son adecuadas para cada paso y cómo utilizamos varios modelos de regresión para crear trayectorias precisas. También explicamos cómo integramos las decodificaciones de identificación de los marcadores a lo largo de una trayectoria para predecir la identificación más probable para este animal, que luego se puede utilizar para extraer huellas a largo plazo que cubran toda la vida de un individuo. Consulte la Figura 4 para obtener una descripción general de nuestro enfoque.



### Paso 1: Vincular detecciones consecutivas

El primer paso de seguimiento tiene en cuenta las detecciones en fotografías sucesivas. Para reducir el número de candidatos, solo consideramos las detecciones suficientemente cercanas (usamos aproximadamente 200 píxeles o 12 mm).

De estos pares candidatos extraemos tres características:

1. Distancia euclidiana entre la primera detección y su posible sucesora.
2. Diferencia angular de las orientaciones de ambas detecciones en el plano de peine.

3. Distancia de Manhattan entre las probabilidades de identificación de ambas detecciones.

Usamos nuestros datos de entrenamiento etiquetados manualmente para crear muestras con estas características que incluyen ejemplos de correspondencia correctos e incorrectos. A continuación, se entrena con estas muestras una máquina de vectores de soporte (SVM) con un núcleo lineal (Cortés y Vapnik, 1995). También evaluamos el desempeño de un clasificador forestal aleatorio (Ho, 1995) con resultados comparables. Utilizamos la SVM implementada en la librería scikit-learn (Pedregosa et al., 2011). Su implementación de la estimación de probabilidad utiliza el método de Platt (Platt, 1999). A continua-

ción, esta SVM se puede utilizar para obtener la probabilidad de correspondencia de pares de detecciones que no se incluyeron en los datos de entrenamiento. Para crear pistas cortas (tracklets), iteramos a través de los datos grabados fotograma a fotograma y mantenemos una lista de tracklets abiertos. Inicialmente, tenemos un tracklet abierto para cada detección del primer fotograma. Para cada periodo de tiempo, utilizamos la SVM para puntuar a todos los nuevos candidatos con respecto a la última detección de cada tracklet abierto. A continuación, se utiliza el algoritmo húngaro para asignar las detecciones candidatas a los tracklets abiertos. Los tracklets se cierran y no se expanden más si su mejor candidato tiene una probabilidad inferior a 0,5. Las detecciones que no se pudieron asignar a un tracklet abierto existente se utilizan para iniciar un nuevo tracklet abierto que se puede expandir en el siguiente paso de tiempo.

## Paso 2: Fusionar tracklets

El primer paso produce un conjunto de tracklets cortos que no contienen huecos y que podrían conectarse con un alto nivel de confianza. El segundo paso de seguimiento fusiona estos tracklets en tracks más largos que pueden contener huecos de duración variable (para ver las distribuciones de tracklet y longitud de hueco en nuestros datos, consulte la sección 3). Tenga en cuenta que un tracklet puede constar de una sola detección o que su tracklet consecutivo correspondiente puede comenzar en el siguiente periodo de tiempo sin un hueco. Para reducir la complejidad computacional, definimos una longitud máxima de intervalo de 14 pasos de tiempo (~4 s en nuestras grabaciones).

De forma similar al primer paso de seguimiento, usamos el conjunto de datos de realidad del terreno para crear muestras de entrenamiento para un clasificador de aprendizaje automático. Creamos muestras positivas (es decir, fragmentos que deben clasificarse como pertenecientes a la junta) dividiendo cada pista etiquetada manualmente una vez en cada paso de tiempo. Las muestras negativas se generan a partir de cada par de pistas con diferentes ID que se superponen en el tiempo con un tamaño máximo de espacio de 14. Estos también se dividen en todos los periodos de tiempo posibles. Para incluir más muestras positivas y más fragmentos de pistas cortas en los datos de entrenamiento, también utilizamos todas las subpistas correctas de longitud 3 o menos y las volvemos a dividir en todas las ubicaciones posibles. De esta manera se generaron 1.021.848 parejas de entrenamiento, de las cuales el 7,4% fueron muestras positivas.

En pruebas preliminares, encontramos que para la tarea dada de encontrar correspondencias correctas entre tracklets, un clasificador de bosque aleatorio funcionó mejor entre una selección de clasificadores disponibles en scikit-learn (Boenisch, 2017).

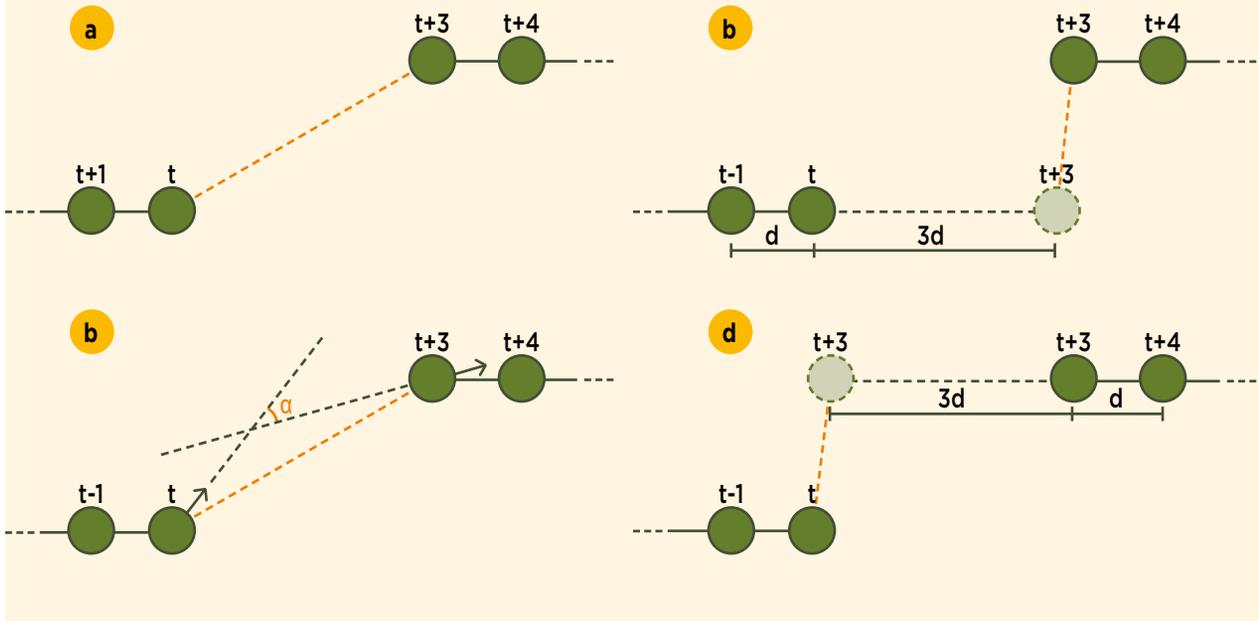
Los tracklets con dos o más detecciones permiten características más complejas y discriminativas en comparación con las utilizadas en el primer paso. Por ejemplo, la

coincidencia de tracklets separados por huecos más largos puede requerir entidades que reflejen una tendencia a largo plazo (por ejemplo, la dirección del movimiento). Implementamos 31 características diferentes extraíbles de pares de tracklets. A continuación, utilizamos cuatro métodos diferentes de selección de características de la biblioteca scikit-learn para encontrar las características con el mayor poder predictivo. Esta evaluación se realizó dividiendo los datos de entrenamiento en un conjunto de entrenamiento y un conjunto de validación más pequeños. Los métodos utilizados fueron Select-K-Best, Recursive Feature Elimination, Recursive Feature Elimination with Cross-Validation y Random Forest Feature Importance para todos los tamaños posibles de subconjuntos de características según lo proporcionado por scikit-learn (Pedregosa et al., 2011). En todos estos métodos, las mismas cuatro características (números 1-4 en la lista a continuación) se desempeñaron mejor de acuerdo con la puntuación AUC de ROC (Spackman, 1989) que demostró ser una métrica adecuada para medir los resultados del seguimiento. Por lo tanto, los elegimos como un subconjunto inicial.

A continuación, intentamos mejorar el subconjunto de características manualmente de acuerdo con métricas más específicas del seguimiento. Las métricas que utilizamos fueron el número de pistas en el conjunto de validación de la verdad del terreno que se reconstruyeron de forma completa y correcta, y el número de inserciones y eliminaciones en las pistas (para obtener más información sobre las métricas, consulte la sección 3). Agregamos las características que conducen a las mayores mejoras en estas métricas en nuestro conjunto de validación. De esta manera, primero agregamos la función 5 y luego la 6. Después de agregar la característica 6, la expansión del subconjunto con cualquier otra característica solo conduce a una disminución del rendimiento en forma de más inserciones y pistas menos completas. Por lo tanto, mantuvimos las siguientes seis características. Las visualizaciones de las entidades 2 a 5 se pueden encontrar en la Figura 5.

1. Distancia de Manhattan de los ID promediados bit a bit de ambos tracklets.
2. Distancia euclidiana entre la última detección de la vía 1 y la primera detección de la vía 2.
3. Error de avance: Distancia euclidiana de la extrapolación lineal del último movimiento en el primer tracklet a la primera detección en el segundo tracklet.
4. Error hacia atrás: Distancia euclidiana de la extrapolación lineal del primer movimiento en la segunda vía a la última detección en la primera vía pequeña.
5. Diferencia angular de la orientación de la etiqueta entre la última detección del primer tracklet y la primera detección del segundo tracklet.
6. Diferencia de confianza: Todos los ID en ambos tracklets se promedian con una mediana bit a bit, seleccionamos el bit más cercano a 0.5 para cada tracklet, calculamos la diferencia absoluta a 0.5 (la confianza) y calculamos la diferencia absoluta de estas dos confianzas.

Figura 5



**Figura 5.** Las entidades espaciales utilizadas en el segundo paso de rastreo. (A) Distancia euclidiana entre la última detección de la vía 1 y la primera detección de la vía 2. (B) Error de avance: Distancia euclidiana de la extrapolación del último vector de movimiento en el tracklet 1 a la primera detección en el tracklet 2. (C) Diferencia angular entre las orientaciones de las etiquetas de la última detección en el tracklet 1 y la primera detección en el tracklet 2. (D) Error hacia atrás: Distancia euclidiana entre la extrapolación inversa del primer vector de movimiento del tracklet 2 hasta la última detección del tracklet 1.

### Asignación de ID de seguimiento

Después del segundo paso de seguimiento, determinamos el ID de la abeja rastreada calculando la mediana de las probabilidades de ID bit a bit de todas las detecciones en el rastreo. A continuación, el ID final se determina binarizando las probabilidades resultantes para cada bit con un umbral de probabilidad de 0,5.

### Paralelización

Las pistas con una duración de varios minutos ya muestran una decodificación de ID muy precisa (ver sección 3). Para calcular recorridos más largos de hasta varios días y semanas, ejecutamos los pasos de seguimiento 1 y 2 para intervalos de 1 hora y luego fusionamos los resultados con recorridos más largos en función del ID asignado. Esto nos permite paralelizar de manera efectiva el cálculo de seguimiento y realizar un seguimiento de toda la temporada de 10 semanas de datos en menos de una semana en un pequeño clúster con <100 núcleos de CPU.

### Resultados y evaluación

Marcamos una colonia entera de 1.953 abejas en una sesión de 2 días y añadimos continuamente abejas jóvenes marcadas que se criaron en una cámara de incubación.

En total, se marcaron 2.775 abejas. El sistema BeesBook se utilizó para registrar 10 semanas de datos de imágenes continuas (frecuencia de muestreo de 3 Hz) de una colmena de observación de un fotograma. Las grabaciones de imágenes se almacenaron y procesaron después de la temporada de grabación. La canalización de visión artificial se ejecutó en una supercomputadora Cray XC30. En total, se extrajeron 3.614.742.669 detecciones de 67.972.617 fotogramas individuales, correspondientes a 16.993.154 instantáneas de las cuatro cámaras. Tenga en cuenta que los datos también podrían procesarse en tiempo real utilizando hardware de consumo (Wild et al., 2018).

Se crearon manualmente dos conjuntos de datos reales para el entrenamiento y la evaluación de nuestro método. Se utilizó un programa personalizado para marcar las posiciones de un animal y definir su ID (Mischek, 2016). Los detalles de cada conjunto de datos se pueden encontrar en la Tabla 1. Para evitar el sobreajuste a estados específicos de la colonia, los conjuntos de datos se eligieron para contener períodos de alta actividad (alrededor del mediodía) y baja actividad (en las primeras horas de la mañana), diferentes cámaras y, por lo tanto, diferentes áreas de panal. El conjunto de datos 2015.1 se utilizó para entrenar y validar los clasificadores y el conjunto de datos 2015.2 se utilizó para probar su rendimiento.

**Tabla 1.** El conjunto de datos 2015.1 se utilizó para el entrenamiento y el conjunto de datos 2015.2 para las pruebas.

Dataset	2015.1	2015.2
Date	18.09.2015	22.09.2015
Times	11:36; 04:51	13:36
Frames	201 (3 fps)	200 (3 fps)
Detections	18,085	10,945
False positives	222 (1.23%)	82 (0.75%)
Individuals	144	98

*The number of detections is the number of tags localized and decoded by the deep learning approach over all frames in the data set. The number of false positives shows how many times the deep learning pipeline detects a detection when there is none. The number of individuals indicates how many different bees are present in the dataset.*

El conjunto de datos 2015.1 contiene 18.085 detecciones de las que se extrajeron 36.045 pares de muestras (es decir, todos los pares con una distancia de < 200 píxeles en fotogramas consecutivos). Estas muestras se utilizaron para entrenar la SVM, que se utiliza para vincular detecciones consecutivas (paso 1 de seguimiento). Los hiperparámetros se determinaron manualmente mediante validación cruzada en este conjunto de datos. El modelo final se evaluó en el conjunto de datos 2015.2.

Los tracklets para el entrenamiento y la evaluación de un clasificador de bosque aleatorio (paso 2 de seguimiento) se extrajeron de los conjuntos de datos 2015.1, respectivamente 2015.2 (consulte la sección 2 para obtener más detalles). Los hiperparámetros se optimizaron con hyperopt-sklearn (Komer et al., 2014) en el conjunto de datos 2015.1 y el modelo optimizado se probó en el conjunto de datos 2015.2.

Para validar el éxito del seguimiento, analizamos su impacto en varias métricas de los tracks, a saber:

1. Mejora de la identificación
2. Proporción de pistas completas
3. Corrección de los tracklets resultantes
4. Longitud de las vías resultantes

Para poder evaluar la mejora a través del enfoque de seguimiento iterativo presentado, comparamos los resultados de los dos pasos de seguimiento con el enfoque ingenuo de vincular las detecciones originales a lo largo del tiempo en función de su ID decodificado inicial únicamente, en lo sucesivo denominado "línea de base". Para obtener una visión general de las mejoras logradas por los diferentes pasos de seguimiento, consulte la Tabla 2. Cuadro 2

**Tabla 2.** Se utilizaron diferentes métricas para comparar los dos pasos de seguimiento con una línea de base ingenua basada en los ID de detección y con pistas creadas manualmente sin errores (seguimiento perfecto).

	Baseline (%)	After step 1 (%)	After step 2 (%)	Perfect tracking (%)
Incorrect detection IDs	13.3	3.9	1.9	0.6
Incorrect track IDs	63.5	27.2	18.2	8.2
Complete tracks	10.2	26.5	70.4	77.6
Detections missing from their track (deletions)	32.2	1.38	2.37	0
Tracks with at least one deletion	94.6	26.7	18.25	0

*In all cases, the baseline performs worst and the two tracking steps successively improve the performance.*

## Mejora de la identificación

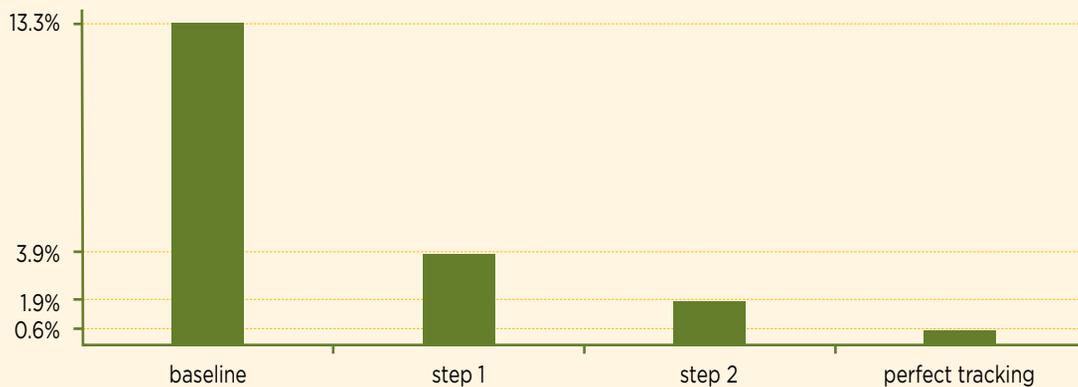
Un objetivo importante del seguimiento es corregir las identificaciones de las detecciones que no pudieron ser decodificadas correctamente por el sistema de visión artificial. Sin el algoritmo de seguimiento descrito anteriormente, todos los análisis de comportamiento posteriores tendrían que considerar esta proporción sustancial de decodificaciones erróneas. En nuestro conjunto de datos, el 13,3% de todas las detecciones tienen una identificación decodificada incorrectamente (Wild et al., 2018).

En el conjunto de datos de realidad del terreno, asignamos manualmente las detecciones que corresponden al

mismo animal a una trayectoria. Por lo tanto, los datos reales sobre el terreno pueden considerarse como el “seguimiento perfecto”. Incluso en estas pistas perfectas, el algoritmo de asignación de ID de mediana descrito anteriormente proporciona ID incorrectos para el 0,6% de todas las detecciones, debido a oclusiones parciales, desenfoque de movimiento y ruido de imagen. Esto representa el límite de error inferior para el sistema de seguimiento. Como se muestra en la figura 6, el primer paso de seguimiento reduce la fracción de identificadores incorrectos del 13,3 % al 3,9 % de todas las detecciones. El segundo paso mejora aún más este resultado a solo un 1,9% de identificaciones incorrectas.

**Figura 6**

**Detections with incorrect ID assignment**



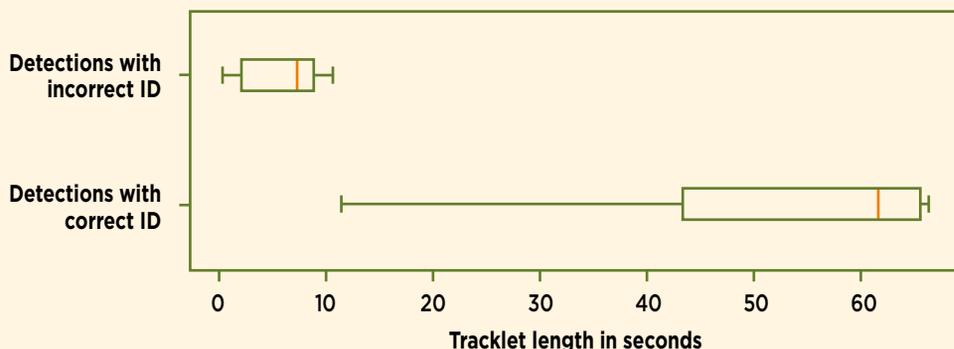
**Figura 6.** Alrededor del 13% de las detecciones sin procesar se decodifican incorrectamente. El primer paso de seguimiento ya reduce este error a alrededor del 4% y el segundo paso lo reduce aún más a alrededor del 2%. Incluso un seguimiento perfecto (definido por la verdad del terreno humano) daría como resultado un 0,6% de identificaciones incorrectas cuando se utiliza el método de asignación de ID propuesto.

La mayoría de los errores se producen en tracklets cortos (consulte la Figura 7). Por lo tanto, el 1,9 % de asignaciones de ID erróneas corresponde al 18,2 % de los tracklets resultantes a los que se les asigna un ID mediano inco-

recto. Esto supone una mejora con respecto a la línea de base ingenua y al primer escalón de seguimiento, con un 63,5 y un 27,2%, respectivamente. Un seguimiento perfecto podría reducirlo al 8,2% (véase la Figura 8).

**Figura 7**

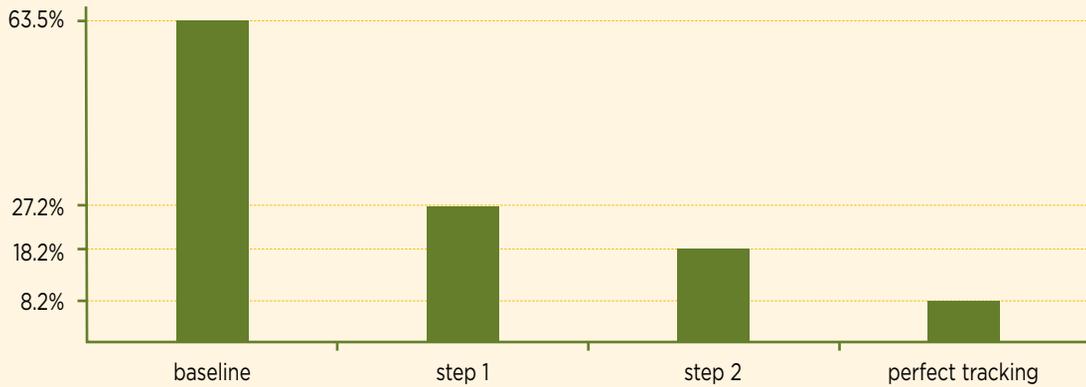
**Distribution of tracklet lengths**



**Figura 7.** La evaluación de las longitudes de los tracklets de los ID de detección asignados incorrectamente después del segundo paso de seguimiento revela que todos los errores del conjunto de datos de prueba 2015.2 se producen en tracklets muy cortos. Tenga en cuenta que este conjunto de datos cubre una duración de alrededor de 1 minuto.

**Figura 8**

**Detections with incorrect ID assignment**



**Figura 8.** Un enfoque de seguimiento ingenuo que utilice solo los ID de detección daría como resultado que alrededor del 64% de todos los rastreos se asignaran a un ID incorrecto. Nuestro enfoque de seguimiento en dos pasos reduce esto a alrededor del 27 y el 18%, respectivamente. Debido a la corta longitud de la mayoría de los tracklets incorrectos, este 18,2% representa solo el 1,9% de las detecciones. El uso de nuestro método de asignación de ID sin ningún error de seguimiento reduciría el error al 8,2%.

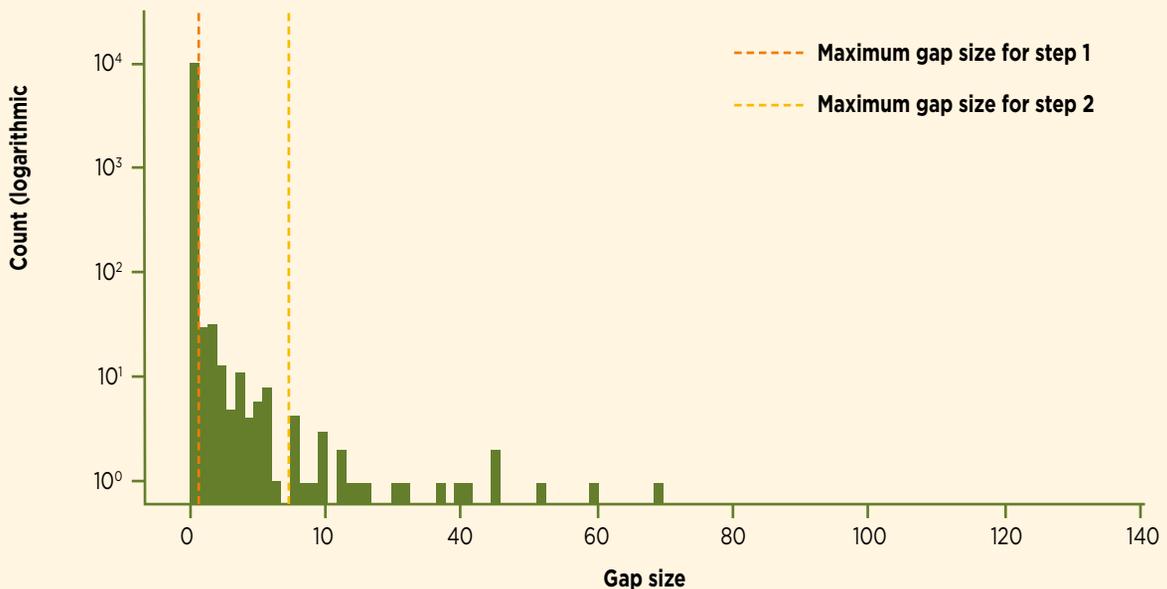
**Proporción de pistas completas**

Casi todos los intervalos entre las detecciones en nuestras pistas de realidad sobre el terreno no superan los 14 fotogramas (99,76 %, véase la Figura 9). A pesar de que las grandes brechas entre las detecciones son raras, es probable que las pistas largas contengan al menos una de esas brechas: solo alrededor de un tercio (34,7%) de las pistas de realidad del terreno no contienen brechas y el 77,6% contienen solo brechas de menos de 14 fotogra-

mas. Como se muestra en la Figura 10, el seguimiento de línea base encuentra solo un 10,2 % de pistas completas sin errores (es decir, un 30 % de todas las pistas sin huecos). El paso 1 es capaz de ensamblar correctamente el 26,5% de las pistas completas (es decir, alrededor del 76,5% de todas las pistas que no contienen huecos). El paso 2 ensambla correctamente el 70,4 % de las pistas completas (aproximadamente el 90,4 % de todas las pistas con un tamaño máximo de separación de < 14 fotogramas).

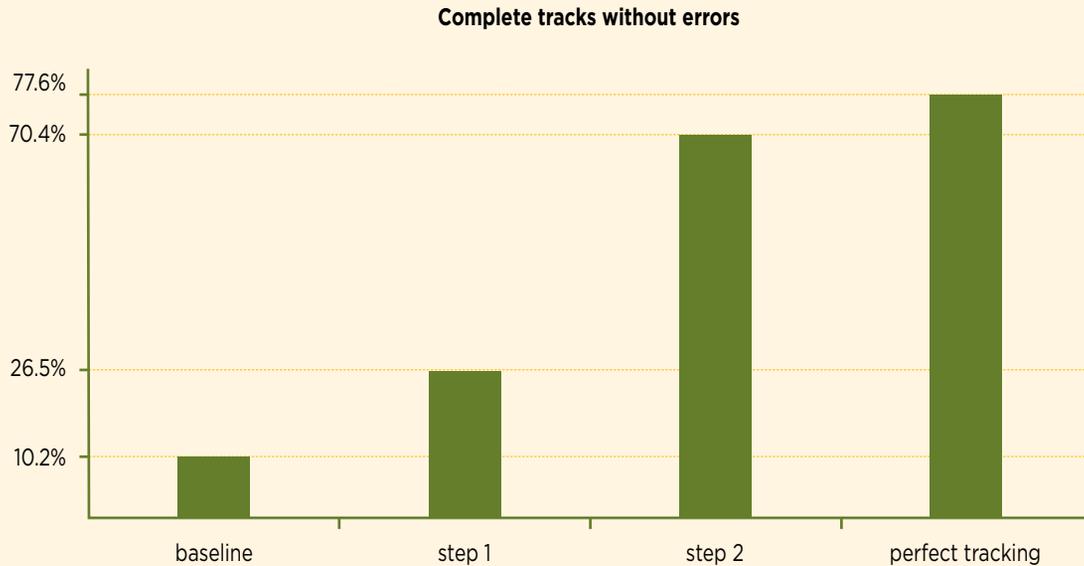
**Figura 9**

**Gap distribution in truth data (22/09/2015)**



**Figura 9.** Distribución de los tamaños de las brechas en el conjunto de datos de datos reales sobre el terreno 2015.2. La mayoría de las detecciones correspondientes (es decir, el 97,9%) no tienen lagunas y, por lo tanto, pueden coincidir con el primer paso de seguimiento. Los tracklets resultantes se fusionan en el segundo paso. El tamaño máximo de la brecha de 14 cubre el 99,76% de las brechas.

Figura 10



**Figura 10.** Una pista completa reconstruye perfectamente una pista en nuestros datos reales sobre el terreno sin detecciones faltantes o incorrectas. Incluso un seguimiento perfecto que se limita a un tamaño máximo de espacio de 14 fotogramas solo podría reconstruir alrededor del 78% de estas pistas. La línea de base ingenua basada solo en los ID de detección ensamblaría un 10% sin errores, mientras que nuestros dos pasos de seguimiento logran un 26,5 y un 70,4%, respectivamente.

### Corrección de los tracklets resultantes

Para caracterizar el tipo de errores en nuestros resultados de seguimiento, definimos una serie de métricas adicionales. Contamos las detecciones que se introdujeron incorrectamente en una pista como inserciones. Tanto los pasos de seguimiento como la línea de base insertaron solo una detección incorrecta en otro tracklet. Así, el <1% tanto de las detecciones como de los tracklets se vieron afectados.

Contamos las detecciones que faltaban en un tracklet (y que fueron reemplazadas por un hueco) como eliminaciones. En la línea de base, el 32,2% de todas las detecciones faltaban en su pista correspondiente (el 94,6% de todas las pistas tenían al menos una deleción). Después del primer paso, faltaba el 1,38% de las detecciones en su pista, lo que afectó al 26,7% de todas las pistas. Después del segundo paso, el 2,37% de todas las detecciones y el 18,25% de todas las pistas seguían afectadas.

También evaluamos si las detecciones incorrectas estaban contenidas en una pista en situaciones en las que la detección correcta habría estado disponible (en lugar de un hueco) como discrepancias, pero ninguna pista resultante contenía tales discrepancias.

### Longitud de los tracklets resultantes

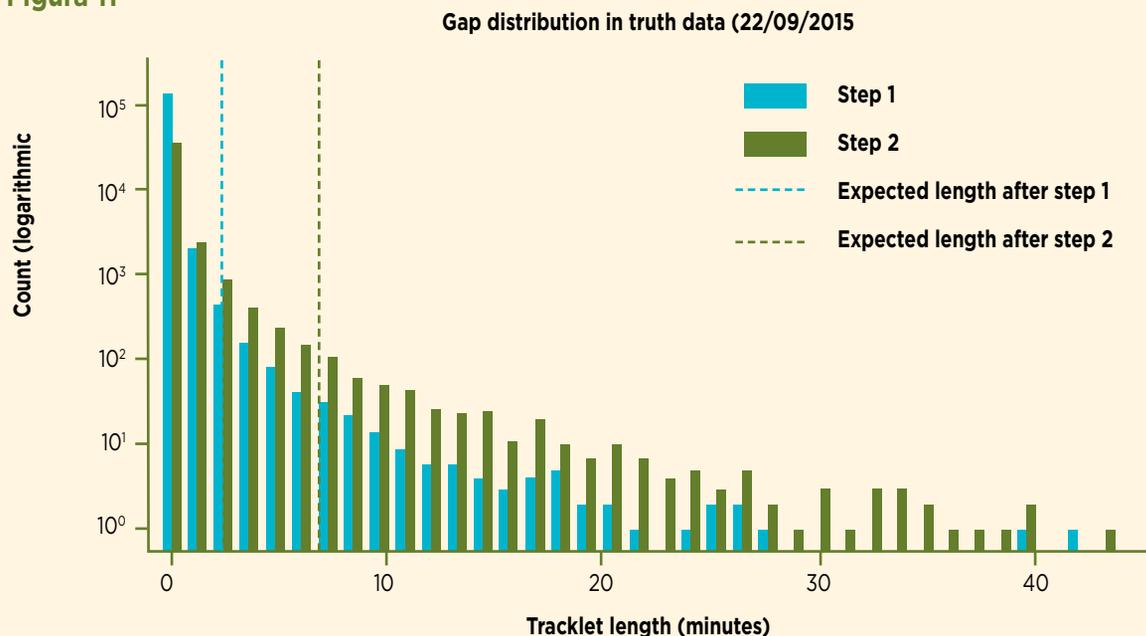
Los datasets de realidad del terreno contienen solo recorridos cortos con una longitud máxima de 1 min. Para evaluar la longitud media de las huellas, también rastreamos

1 h de datos para los que no se disponía de datos reales sobre el terreno. El primer paso de seguimiento produce fragmentos más cortos con una longitud esperada de 2:23 min, el segundo paso de seguimiento fusiona estos fragmentos con tracklets con una duración esperada de 6:48 min (consulte la Figura 11 para ver las distribuciones de longitud de tracklet).

### Discusión

Hemos presentado un algoritmo de seguimiento de varios pasos para detecciones fragmentarias y parcialmente erróneas de marcadores de abejas melíferas. Hemos aplicado el algoritmo propuesto para producir trayectorias a largo plazo de todas las abejas melíferas en una colonia de aproximadamente 2.000 animales. Nuestro conjunto de datos comprende 71 días de datos posicionales continuos a una velocidad de registro de 3 Hz. El conjunto de datos presentado es, con mucho, el reflejo más detallado de las actividades individuales de los miembros de una colonia de abejas melíferas. El conjunto de datos cubre toda la vida útil de muchos cientos de animales, desde el día en que emergen de su celda de cría hasta el día en que mueren. Las abejas melíferas dependen de una división del trabajo flexible, pero generalmente dependiente de la edad. Por lo tanto, nuestro conjunto de datos refleja todos los aspectos esenciales de una colonia autosuficiente, desde una reina ponedora de huevos y una cría de crías de obreras jóvenes, hasta la recolección de alimentos y la defensa de la colonia. Hemos publicado un conjunto de datos de muestra de 3 días para el lector interesado (Boenisch et al., 2018). Nuestra implementación

Figura 11



**Figura 11.** Realice un seguimiento de las longitudes después de realizar el seguimiento de 1 h de datos de vídeo a tres fotogramas por segundo. La longitud esperada de una pista es de 2:23 min después del primer paso y de 6:48 min después del segundo paso.

del algoritmo de seguimiento propuesto está disponible en línea<sup>1</sup>.

El marco de seguimiento presentado en las secciones anteriores es una parte esencial del sistema BeesBook. Proporciona un enfoque computacionalmente eficiente para determinar las identificaciones correctas para más del 98% de los individuos en la colmena de abejas melíferas sin usar bits adicionales para la corrección de errores.

Aunque es posible utilizar la corrección de errores con marcadores de 12 bits, esto reduciría el número de bits de codificación y, por lo tanto, el número de animales observables. Mientras que otros optaron por aumentar el número de bits en el marcador, nosotros resolvimos el problema en la etapa de seguimiento. Con el sistema propuesto, pudimos reducir los costos de hardware para cámaras y almacenamiento. Cuando se aplica a la salida sin procesar del paso de decodificación de imágenes, la precisión de otros sistemas que utilizan la corrección de errores (por ejemplo, Mersch et al., 2013) puede incluso mejorarse aún más.

Nuestro sistema proporciona trayectorias de movimiento de las abejas de alta precisión. Dada una observación a largo plazo de varias semanas, estos caminos, sin embargo, aún pueden considerarse fragmentos cortos. Dado que los ID de estos tracklets son muy precisos, ahora solo se pueden vincular mediante ID coincidentes.

Aun así, algunos aspectos del sistema pueden mejorarse. Para entrenar nuestros clasificadores, necesitamos un conjunto de datos lo suficientemente grande y etique-

tado manualmente. Rice et al. (2015) propusieron un método para crear un conjunto de datos similar de forma interactiva, reduciendo el trabajo manual requerido. Además, el esquema de codificación circular de nuestros marcadores hace que algunas configuraciones de bits parezcan similares bajo ciertas poses de objeto. Este conocimiento podría integrarse en nuestro algoritmo de determinación de ID. Es posible que los identificadores a lo largo de una trayectoria no proporcionen la misma cantidad de información. Algunos pueden grabarse en cámara rápida y, por lo tanto, son menos fiables. Otras detecciones podrían haber sido registradas de una abeja inmóvil cuya marca estaba parcialmente ocluida. Considerar lecturas similares como menos informativas podría mejorar la precisión de la identificación de nuestro método. Aún así, con el método propuesto solo hay un 1,9% de detecciones decodificadas incorrectamente, en su mayoría en tracklets muy cortos.

Las trayectorias resultantes ahora se pueden utilizar para análisis adicionales del comportamiento individual de las abejas melíferas o de las interacciones en la red social. Además del conjunto de datos de tres días publicado junto con este artículo, planeamos publicar dos conjuntos de datos más que cubran más de 60 días de grabaciones, cada uno. Con estos datos podemos investigar cómo las abejas adquieren información en la colonia y cómo esa experiencia modula el comportamiento y las interacciones futuras. Esperamos que a través de este trabajo podamos interesar a los investigadores para que se unan al esfuerzo colectivo de investigar la inteligencia individual y colectiva de la abeja melífera, un organismo modelo que conlleva un gran número de preguntas de investigación fascinantes.

# Beep

roducts

**Profesionales con experiencia  
a su servicio**





*Chenyu Zhu, Han Li, Xinjian Xu, Shujing Zhou, Bingfeng Zhou, Xiang Li, Hongzhi Xu, Yuanmingyue Tian, Yanxin Wang, Yu Chu, Xianlan Zhang, Xiangjie Zhu*

# EL DESARROLLO DEL CUERPO DE LOS HONGOS Y LA CAPACIDAD DE APRENDIZAJE DE LAS ABEJAS ADULTAS

## SE VEN INFLUENCIADOS POR LA EXPOSICIÓN AL FRÍO DURANTE SU ETAPA TEMPRANA DE PUPA

Las abejas melíferas son el polinizador más importante en la producción de cultivos y productos frescos. La temperatura afecta la supervivencia de las abejas melíferas y determina la calidad de su desarrollo, lo que es de gran importancia para la producción apícola. Sin embargo, poco se sabía sobre cómo el estrés por bajas temperaturas durante la etapa de desarrollo causa la muerte de las abejas y cualquier efecto subletal en las secuelas. La etapa de pupa temprana es la etapa más sensible a las

bajas temperaturas en la etapa de pupa. En este estudio, las crías tempranas de pupas fueron expuestas a 20°C durante 12, 16, 24 y 48 h, seguidas de una incubación a 35°C hasta la emergencia. Descubrimos que 48 h de duración de baja temperatura hacen que el 70% de las abejas individuales mueran. Aunque la mortalidad a las 12 y 16 h no parece muy alta, la capacidad de aprendizaje de asociación de los individuos supervivientes se vio muy afectada. Las rodajas de cerebro de las abejas melíferas

mostraron que el tratamiento a baja temperatura podría hacer que el desarrollo del cerebro de las abejas melíferas casi se detuviera. Los perfiles de expresión génica entre los grupos de tratamiento a baja temperatura (T24, T48) y el control revelaron que 1.267 y 1.174 genes se expresaron diferencialmente respectivamente. El análisis de enriquecimiento funcional de genes expresados diferencialmente mostró que la expresión diferencial de los genes *Map3k9*, *Dhrs4* y *Sod-2* en MAPK y la vía de señalización de peroxisomas causó daño oxidativo a la cabeza de la abeja. En la vía de la señal *FoxO*, *InsR* y *FoxO* se regularon al alza, y *JNK*, *Akt* y *Bsk* se regularon a la baja; y en la vía de señalización de síntesis de hormonas de insectos, los genes *Phm* y *Spo* se regularon a la baja. Por lo tanto, especulamos que el estrés por bajas temperaturas afecta la regulación hormonal. Se detectó que las vías relacionadas con el sistema nervioso fueron la sinapsis colinérgica, la sinapsis dopaminérgica, la sinapsis GABAérgica, la sinapsis glutamatérgica, la sinapsis serotoninérgica, la vía de señalización de la neurotrofina y el ciclo sináptico de las vesículas. Esto implica que el desarrollo sináptico de las abejas melíferas se ve muy afectado por el estrés por bajas temperaturas. Comprender cómo el estrés por bajas temperaturas afecta la fisiología del desarrollo del cerebro de las abejas y cómo afecta el comportamiento de las abejas proporciona una base teórica para una comprensión más profunda del mecanismo de adaptación a la temperatura que subyace al desarrollo “estenotérmico” de los insectos sociales y ayuda a mejorar las estrategias de manejo de las abejas melíferas para garantizar la salud de la colonia.

## Introducción

Como el insecto polinizador más importante, las abejas melíferas han traído grandes beneficios económicos a los seres humanos en términos de polinización de cultivos y mantenimiento de la estabilidad de los ecosistemas (Bareke y Addi., 2019; Reilly et al., 2020). Sin embargo, muchos factores amenazan la supervivencia de las abejas melíferas, como la mala nutrición (Martelli et al., 2022), los parásitos (Wu et al., 2022), los pesticidas (Wang et al., 2022) y la temperatura del nido. Las estrategias de manejo de la temperatura de los nidos es uno de los factores causantes de la disminución de las poblaciones de colonias (Nazzi y Le Conte, 2016). La capacidad de adaptarse a un rango de temperatura determinado es esencial para la supervivencia de todos los seres vivos. La temperatura del ambiente tiene un impacto significativo en el crecimiento y desarrollo de las abejas melíferas, sus actividades de colonia, el comportamiento individual y la capacidad de resistir enfermedades (Irwin y Lee, 2000; Stabentheiner et al., 2021). Especialmente, cuando experimentan estrés por frío a principios de la primavera, las colonias generalmente luchan por regular la temperatura del nido para sus crías estenotérmicas. Particularmente las colonias de pequeño tamaño poblacional, tienden a encogerse durante las olas de frío, lo que lleva a que las crías distribuyan el borde exterior de la colmena expuestas al frío sin protección (Simpson, 1961; Becher et al., 2009; Stalidzans et al., 2017). Estas crías dañadas por el frío serán sacadas de la colonia en consecuencia. El

desarrollo de las crías de abejas melíferas determina el nivel de salud de las colonias, lo que afecta la calidad y el rendimiento de los productos de la colonia (Zhou, 2002).

La temperatura es un factor ecológico crucial que afecta significativamente el desarrollo individual de las abejas melíferas. Los estudios han demostrado que el estrés térmico puede tener efectos negativos en el desarrollo de la cría de abejas, tanto en el laboratorio como en el campo (Zhao et al., 2021). En comparación con la mayoría de los insectos, el rango de temperatura de desarrollo de las abejas melíferas es mucho más estrecho, por lo que son más susceptibles a las fluctuaciones de temperatura. El rango de temperatura de las áreas de cría varía dentro de un rango de temperatura estrecho de 32 °C a 36 °C (Kleinhenz et al., 2003). Las investigaciones han demostrado que la amplitud ecológica de la temperatura para el desarrollo de los huevos y pupas de las abejas melíferas está entre 29 °C y 38 °C, según lo reportado por varios estudios (Medrzycki et al., 2010; Zhu et al., 2006; Es'kov, 1998), que de hecho es un rango de temperatura más estrecho. Además, para asegurar el desarrollo de las crías de abejas melíferas, los requisitos de temperatura son más estrictos (Kronenberg y Heller, 1982; Jones et al., 2004). La temperatura óptima de desarrollo es de 35°C para completar su metamorfosis de huevos a larvas, pupas y finalmente a eclosión (Seeley, 1983; Seeley y Visscher, 1985). Un estudio reportó que las nidadas cultivadas a temperatura constante de 33°C exhibieron un peor desempeño en el comportamiento de la danza y menores tasas de búsqueda después de la emergencia, mientras que las cultivadas a 30°C no pudieron aprender la recolección de comederos (Tautz et al., 2003). Otro estudio mostró que la incubación de crías tapadas a temperatura constante a 29 °C - 33 °C condujo a una disminución significativa en el número de complejos sinápticos en la región del labio del hongo cerebral de la abeja melífera, lo que puede explicar su pobre capacidad de aprendizaje y memoria (Groh et al., 2004). Además, la exposición a bajas temperaturas durante la etapa de cría puede conducir a un aumento de la mortalidad de las pupas, la desorientación, la mortalidad adulta y las venas anormales de las alas en las abejas melíferas (Wang et al., 2016; Zhu et al., 2018).

La etapa pre-pupal de las abejas melíferas es altamente susceptible a las bajas temperaturas, como señalan Wang et al. (2016). Un estudio sobre la expresión diferencial de genes bajo estrés a bajas temperaturas a 20°C reveló que las abejas melíferas occidentales pre-pupas y pupas regulan principalmente su proceso de desarrollo a través de hormonas para adaptarse a las bajas temperaturas ralentizando o deteniendo su desarrollo (Yao et al., 2020; Li et al., 2022; Liu et al., 2022). De todas las etapas de pupa, la etapa temprana de pupa es la más vulnerable al tratamiento a baja temperatura durante 12-48 h, lo que resulta en la tasa de mortalidad más alta y una reducción en la longevidad de las abejas emergentes en un 30%-60% (Wang et al., 2016). Esto lo convierte en una muestra ideal para estudiar los efectos de las bajas temperaturas en el desarrollo y el comportamiento de las abejas melíferas. Este artículo investiga los efectos de las bajas

temperaturas en la mortalidad de las abejas antes de las pupas, la morfología del tejido cerebral, la capacidad de aprendizaje de los individuos adultos y el transcriptoma. Los resultados proporcionarán no solo una comprensión teórica del estrés en el desarrollo del cerebro y la función cerebral en las abejas melíferas, sino que también se pueden utilizar para evaluar los efectos negativos del estrés temprano en la calidad de vida posterior. Específicamente, es probable que las crías experimentadas con estrés por frío exhiban tasas de mortalidad elevadas, disfunciones cerebrales subletales que conducen a la disminución y el fracaso de las colonias.

## Material y métodos

### Preparación de la muestra

En primavera, se muestrearon las colonias de abejas melíferas occidentales (*Apis mellifera*). Para obtener huevos consistentes de abejas melíferas, las reinas se limitaron a poner huevos en un solo marco individualmente. A estos huevos se les permitió madurar en la colonia hasta que fueron tapados. Los parches de panal que contenían las crías recién descubiertas en un plazo de 4 h se extirparon y se colocaron en una cámara con una temperatura y humedad constantes ( $35\text{ °C} \pm 0,2\text{ °C}$ , HR 75%) [THB-250, Allison Instruments and Equipment (Shanghai) Co., Ltd., precisión  $\pm 0,1\text{ °C}$ ] durante 4 días (Wang et al., 2016).

### Mortalidad e investigación del comportamiento asociado al olor

El estudio consistió en el tratamiento de celdas de cría con tapón de 4 días a  $20\text{ °C}$  (HR 60%, CTHI-250B, Stik Group LLC, Estados Unidos; precisión,  $\pm 0,1\text{ °C}$ ) durante duraciones variables de 12, 16, 24 o 48 h, denotadas como T12, T16, T24 y T48 respectivamente. Excepto durante el estrés por frío, las células de cría se incubaron a  $35\text{ °C}$ . El grupo control comprendió 110 muestras, mientras que T12, T16, T24 y T48 tuvieron 49, 65, 59 y 51 muestras respectivamente. La diferencia en las tasas de mortalidad entre el grupo de tratamiento y el grupo control se determinó mediante la prueba de chi-cuadrado (SPSS 16.0). Las abejas recién emergidas se transfirieron a las jaulas y se incubaron a  $33\text{ °C}$  y 50% HR durante 7 días antes de iniciar los estudios de comportamiento. Las abejas melíferas fueron alimentadas con caramelos de polen hechos de polen de canola mezclado con jarabe (50%) y se les proporcionó polen/jarabe (50%)/agua ad libitum, que se reemplazó cada 2 días. En el estudio sobre aprendizaje asociativo participaron 211 participantes agrupados en control, T12, T16 y T24, con tamaños de muestra de 108, 35, 48 y 20 individuos respectivamente. El experimento se repitió tres veces y, debido a una elevada tasa de mortalidad en el grupo T24, el tamaño de la muestra disponible para medir el comportamiento de aprendizaje era limitado.

El experimento implicó el uso de abejas melíferas individuales que se aseguraron en tubos de cobre con cinta

de tela, lo que permitió que su probóscide se moviera libremente. Las antenas de las abejas fueron expuestas a una solución que contenía 50 mg/mL de jarabe, y las que no respondieron extendiendo su probóscide fueron excluidas del experimento. A continuación, las abejas se sometieron a una inanición durante 2 h a una temperatura de  $30\text{ °C}$  con una humedad relativa del 60%, tras lo cual se realizó una prueba de aprendizaje de asociación. Durante la prueba, las abejas melíferas fueron expuestas al olor de alcohol nonílico durante un período de 3 s, seguido de una estimulación de 4 s de agua azucarada al 50%. El intervalo entre cada proceso de entrenamiento fue de 10 min, y cada abeja obrera repite el entrenamiento tres veces. Cuando solo fueron estimuladas por el olor, si las abejas obreras pudieron extender su probóscide, se registró que el aprendizaje de la asociación olfativa fue exitoso (Müller, 2002; Felsenberg et al., 2011).

### Preparación y observación de la sección de tejido

Los grupos de tratamiento para la observación posterior de la sección estuvieron compuestos por las muestras que exhibieron un desempeño deficiente en el experimento de comportamiento de asociación de olores, a saber, T24 y T48. Mientras tanto, se establecieron tres grupos control, conformados por celdas de cría de crías de 4 días de edad, 5 días de edad y 6 días de edad que fueron incubadas a  $35\text{ °C}$ . Estos grupos de control fueron etiquetados como Control, Control 24 y Control 48, respectivamente. Con el fin de preparar los especímenes para la observación, las cabezas de las abejas fueron cortadas y sometidas a corte en parafina. Posteriormente, se empleó el método de tinción de hematoxilina-eosina, según el protocolo descrito por Estrada et al. (2005).

## Métodos transcriptómicos

### La preparación de la muestra

El método de preparación de la muestra para el análisis del transcriptoma sigue siendo coherente con el procedimiento descrito en la sección 2.1. Las condiciones experimentales implican someter las muestras a un tratamiento a baja temperatura durante 24 y 48 h, denominadas T24 y T48, respectivamente. La sección HE documenta los cambios morfológicos observados en varias partes del cerebro de la abeja melífera durante la etapa temprana de pupa. Se encontró que la morfología del tejido cerebral de las muestras tratadas con baja temperatura era más similar al estado previo al tratamiento, lo que indica que la baja temperatura resultó en el cese de la diferenciación tisular. En consecuencia, el grupo control se seleccionó a partir de muestras con un estado de desarrollo similar al de las sometidas a tratamiento a baja temperatura. Para garantizar la representatividad de las muestras, cada grupo estuvo compuesto por 100 abejas y tres réplicas biológicas.

## Secuenciación de alto rendimiento y control de calidad de datos de secuenciación

La plataforma Illumina HiSeq™ 4000 fue empleada por Guangzhou Chidio Biotechnology Co., Ltd., para construir cada biblioteca de muestras y llevar a cabo una secuenciación de alto rendimiento. Los datos sin conexión obtenidos se filtraron con fastp, lo que dio como resultado lecturas limpias después de eliminar las lecturas que contenían adaptadores, las lecturas con más del 10 % de bases no reconocidas, las lecturas con más del 50 % de contenido de adenina y las lecturas con un valor de masa  $Q \leq 20$ . Los datos brutos se compararon con el genoma de *A. mellifera*, Amel\_HAV3.1 (Ensamblaje del NCBI: GCF\_003254395.2), y se depositaron en la base de datos SRA del NCBI con los números de acceso SRR15710549-SRR15710554.

## Selección y evaluación de la funcionalidad de los DEG

Utilizando el software DESeq2, se investigó la diferencia entre el grupo de tratamiento y el grupo de control de duplicados biológicos (Love et al., 2014). Los DEGs (Genes Expresados Diferencialmente) se identificaron con una condición de cribado de  $|\log_2FC| \geq 1$  (FC, Cambio de plegado = FPKM del grupo de tratamiento/FPKM del gru-

po control) y  $FDR \leq 0,05$ . Los DEGs de T24 vs. Control, T48 vs. Control fueron analizados individualmente para obtener los DEGs después del tratamiento a baja temperatura. A continuación, se llevó a cabo la clasificación funcional de GO y el análisis de la vía KEGG de los DEG.

## PCR cuantitativa de fluorescencia en tiempo real

Los cebadores utilizados en este estudio se diseñaron utilizando NCBI Primer Blast (enumerados en la Tabla 1). Cada muestra se sometió a tres réplicas biológicas y tres réplicas técnicas del gen diana. El ARN total se extrajo de las muestras utilizando el kit de ARN Transzol Up Plus, y el ADNc se sintetizó mediante transcripción inversa. El ADNc resultante se utilizó como plantilla para la PCR cuantitativa (qPCR) y el sistema de reacción (10  $\mu$ L) se realizó de acuerdo con las instrucciones proporcionadas con el PerfectStart™ Green qPCR SuperMix. La expresión relativa del gen diana se determinó mediante el método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  (Livak y Schmittgen, 2001), con actina como gen de referencia interno. El valor medio de la expresión relativa de cada gen se transformó utilizando  $\log_2$ . La diferencia en la expresión génica entre el grupo de tratamiento y el grupo de control se analizó mediante una prueba t no apareada para determinar la significación estadística.

**Tabla 1.** Imprimaciones para qPCR de DEGs.

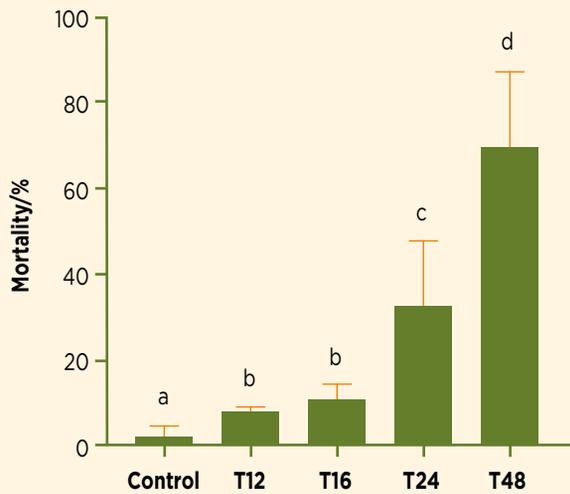
Gene	Gene ID	Gene description	Primer sequence
Actin	LOC413144	Actin related protein 11	F: TGCCAACACTGTCCTTTCTG R: AGAATTGACCCACCAATCCA
Mblk-1	LOC 408521	Mushroom body large-type Kenyon cell-specific protein 1 isoform X1	F: AACACCAAATACGACCCAAAAC R: CAACAGAGCCTTCTCCACTTCT
I(2)efl	LOC 412197	Protein lethal(2) essential for life-like	F: GCGTCGATATGTGCTTCCAC R: GCTGCCTTAATAGCTGGTGC
Orct	LOC412056	Organic cation transporter protein-like isoform X1	F: TAGTTGATCGCTGTAGCTCCC R: CCTTGGGAAACGAACGTGAAT
FoxP	LOC 408423	FoxP protein isoform X17	F: GCGCACATTACACGGCATT R: GGGTTGTTGGAGAGACGGTT
FoxO	LOC 727091	Forkhead box protein O isoform X2	F: CGCTCGCTTCTCCATTATCT R: GGCAGTAGGAAGTACCGAG

## Resultados

### Mortalidad

La exposición prolongada a bajas temperaturas durante la cría tapada resultó en un aumento de la mortalidad. Se encontró que las tasas de mortalidad fueron significativamente más altas en los grupos expuestos a una duración de frío de 12, 16, 24 y 48 h, con tasas de 8,25%, 11,06%, 32,9% y 69,6%, respectivamente, en comparación con el grupo control (2,61%). La tasa de mortalidad más alta, del 70%, se observó en el grupo de exposición de 48 horas en todos los tratamientos a baja temperatura (Figura 1). Desafortunadamente, algunas abejas recién emergidas murieron prematuramente, lo que les impidió someterse a una prueba de capacidad de aprendizaje de asociación después de 7 días.

**Figura 1**

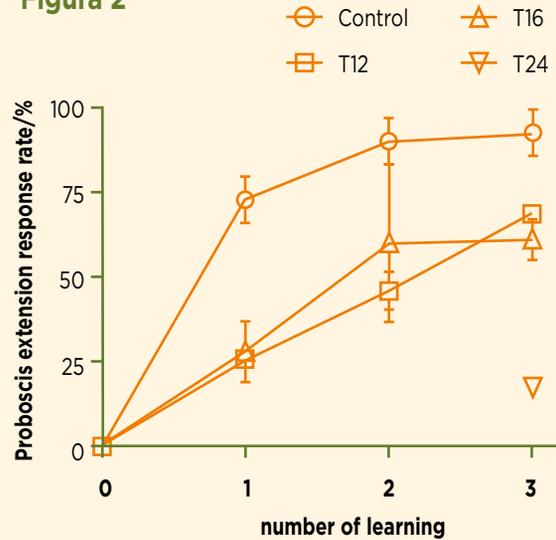


**Figura 1.** El tamaño de la muestra del grupo control, T12, T16, T24 y T48 fue de 110, 49, 65, 59 y 51 respectivamente. Mortalidad (valor medio  $\pm$  desviación estándar,  $\bar{X} \pm DE$ ) de la pupa temprana experimentada con 20°C durante 12, 16, 24 y 48 h. Las diferentes letras en minúsculas indicaron diferencia significativa  $p < 0,05$ .

### Capacidad de aprendizaje por asociación

Los resultados indican que la tasa media de respuesta de extensión de la probóscide en abejas adultas expuestas al tratamiento con frío fue significativamente menor que la del grupo control, como se muestra en la Figura 2. Además, un aumento en el tiempo de procesamiento condujo a una disminución en su capacidad de aprendizaje, como lo demuestra la proporción de aprendizaje final y el número de pruebas de aprendizaje necesarias para alcanzar ese nivel de aprendizaje.

**Figura 2**



**Figura 2.** La tasa de éxito de aprendizaje de asociación (valor medio  $\pm$  desviación estándar,  $\bar{X} \pm DE$ ) de la abeja melífera adulta PER después del tratamiento a baja temperatura. Nota: El tamaño de la muestra del grupo control, T12, T16 y T24 fue de 108, 35, 48 y 20 respectivamente. Se ha observado que el tratamiento a baja temperatura en la etapa temprana de las pupas puede tener un efecto en el comportamiento de aprendizaje en las abejas adultas emergidas. Prolongar el tiempo de tratamiento conduce a una disminución de su capacidad de aprendizaje. Se encontró una diferencia significativa entre el grupo control y los grupos de tratamiento a baja temperatura ( $p < 0,05$ ). El grupo de control mostró habilidades de aprendizaje más fuertes y un aprendizaje más rápido, mientras que el grupo de tratamiento a baja temperatura requirió tres veces de entrenamiento y solo unos pocos individuos pudieron aprender. Además, el tiempo prolongado de tratamiento de 48 h condujo a un aumento del número de abejas que no pudieron emerger, y las que lo hicieron tuvieron una vida corta, la mayoría de ellas murieron dentro de los 7 días y, por lo tanto, no pudieron probar sus habilidades de aprendizaje.

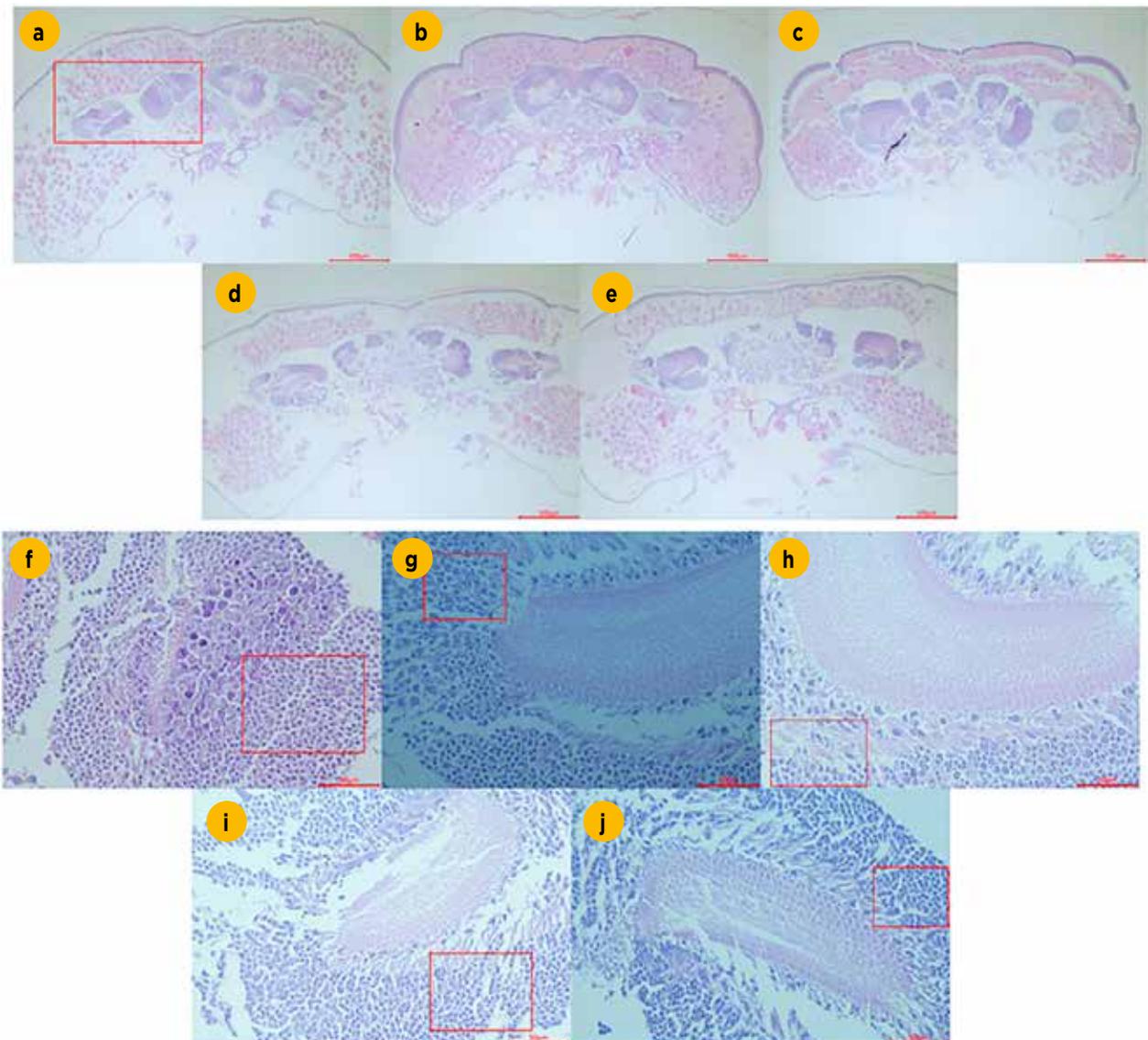
Al comienzo del experimento, cuando los cuatro grupos de muestras fueron expuestos al olor, ninguna de las abejas de ningún grupo exhibió una respuesta de extensión de la probóscide, lo que indica que ninguna de las muestras fue preferida en el experimento de comportamiento de asociación de olores. Los resultados del estudio mostraron que el grupo control de abejas melíferas tuvo una tasa de aprendizaje del 72,61% después de la fase inicial de aprendizaje, que aumentó al 89,80% y 92,23% en la segunda y tercera fase de aprendizaje, respectivamente. Esto sugiere que la mayoría de las abejas melíferas del grupo de control aprendieron con éxito la tarea. En contraste, las abejas expuestas a bajas temperaturas (T12 y T16) mostraron una baja tasa de aprendizaje de 25,7% y 28,2%, respectivamente, después de la primera fase de aprendizaje. Su tasa de aprendizaje mejoró en las fases posteriores, alcanzando el 46,1% y el 60,0% después de la segunda fase de aprendizaje, y el 68,6% y el 61,0% después de la fase final de aprendizaje. Sin embargo, su tasa de aprendizaje siguió siendo inferior a la del grupo control ( $p < 0,01$ ). En concreto, las abejas expuestas a

bajas temperaturas durante 24 h tuvieron una capacidad de aprendizaje reducida, y después de dos fases de aprendizaje, todos los individuos fueron incapaces de formar una memoria asociativa entre el extraño olor y el agua azucarada. La tasa de éxito después de tres fases de aprendizaje fue solo del 15%, significativamente más baja que la del grupo control y los grupos de tratamiento sometidos a 12-16 h de bajas temperaturas ( $p < 0,01$ ). Estos hallazgos demuestran el impacto negativo de las bajas temperaturas en las habilidades de aprendizaje de las abejas melíferas.

### Sección del cerebro

Se ha observado que la hipotermia dificulta el desarrollo adecuado del cerebro al causar un crecimiento cerebral lento o estancado. En las pupas de abejas sanas, el desarrollo del cerebro suele progresar con la edad, lo que da lugar a regiones más definidas y límites más claros para cada parte del cerebro, junto con un aumento en el número de células (Figuras 3A-C). Por el contrario, las pupas de abejas melíferas sometidas a un tratamiento a baja temperatura mostraron un nivel de diferenciación tisular y recuento celular similar al de las muestras no tratadas (Figuras 3D, E).

**Figura 3**



**Figura 3.** Observación de la sección de parafina teñida con hematoxilina y eosina de la pupa temprana de la cabeza de la abeja melífera. (A-C) representa la sección de la cabeza del grupo de control en el primer, segundo y tercer día de la etapa de pupa (grupos de control, 20x). (D,E) representa la sección de la cabeza de la pupa del primer día en el grupo de tratamiento durante 24 y 48 h respectivamente. (F-H) representa el cuerpo del hongo (área del recuadro rojo en (A)) secciones de la pupa del primer, segundo y tercer día (grupos de control, 400x); (I,J) representa la sección del área del cuerpo del hongo de la pupa del primer día en el grupo de tratamiento durante 24 y 48 h respectivamente.

Además, el tratamiento a baja temperatura también afectó el desarrollo del cuerpo del hongo de la abeja, que generalmente crece y se vuelve más distintivo con la edad, mientras que el recuento de células nerviosas disminuyó y la diferenciación se hizo más evidente (Figuras 3F-H). Por el contrario, el cuerpo del hongo de las muestras tratadas a baja temperatura durante 24 y 48 h exhibió una velocidad de diferenciación más lenta, con neuroblastos relativamente densos aún presentes (Figuras 3I, J).

### Efecto de la baja temperatura sobre el transcriptoma

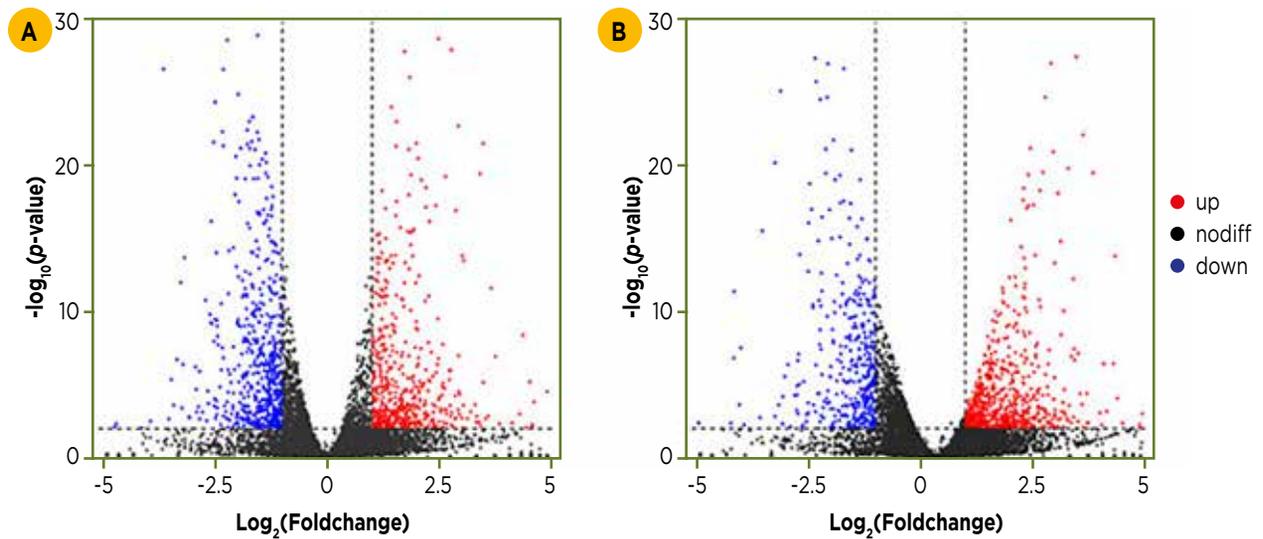
El número promedio de segmentos de lectura sin procesar para Control, T24 y T48 después de la secuenciación fue de 42668763, 46607571 y 42077939 respectivamente. Después del filtrado, el número promedio de lecturas lim-

pias efectivas de alta calidad fue de 42541931, 46451527 y 41938079 respectivamente, con una proporción de segmentos de lectura efectiva de alta calidad superior al 99%. Esto sugiere que la calidad de la secuenciación fue satisfactoria y podría utilizarse para un análisis posterior. Adicionalmente, el promedio de Q20 y Q30 en ambos extremos fue de 97.42% y 93.20% respectivamente (Cuadro Suplementario S1).

### Análisis funcional de ontología génica (GO)

En la etapa temprana de pupa, un total de 1.267 y 1.174 genes se expresaron diferencialmente en la cabeza después de 24 y 48 h de estrés por baja temperatura a 20 °C respectivamente (Figura 4).

**Figura 4**



**Figura 4.** Visualizado por gráfico volcánico de genes de expresión diferencial (DEGs). (A) Control vs. T24. (B) Control vs. T48. Nodiff: genes sin diferencia significativa de expresión; DEG regulados al alza; DEG regulados a la baja.

24 h: Estos genes expresados diferencialmente se enriquecen significativamente en siete funciones moleculares de GO, que fueron la actividad del transportador transmembrana de aniones inorgánicos, la actividad del factor de transcripción de la ARN polimerasa II, la unión al ADN específica de la secuencia activada por el ligando,

la actividad del factor de transcripción, la unión directa al ADN específica de la secuencia regulada por el ligando, la actividad del transportador transmembrana de aniones, la actividad de la liasa carbono-oxígeno, la actividad de la hidrolasa y la actividad del factor de transcripción de unión a ácidos nucleicos (Figura 5A).



48 h: Las vías significativamente enriquecidas fueron el espliceosoma, la endocitosis, la vía de señalización MAPK: mosca, la adhesión focal, la vía de señalización del hipopótamo, el fagosoma, la vía de señalización PI3K-Akt, la unión estrecha, la vía de señalización Wnt, la vía de señalización del hipopótamo, la mosca, la vía de señalización Ras, la resistencia a la insulina, la vía reguladora de la longevidad: múltiples especies, la vía de señalización de la insulina, la activación plaquetaria, la vía de señalización de la oxitocina, la vía reguladora de la longevidad: mamíferos, la vía de señalización de la neurotrofina, Unión adherente, vía de señalización de la hormona tiroidea, mitofagia animal, sinapsis dopaminérgica, vía de señalización del erizo, interacción entre la MEC y el receptor, vía de señalización de la adipocitoquina, biosíntesis de valina, leucina e isoleucina (Figura 6B).

El enriquecimiento de las vías relacionadas con el sistema nervioso fue el mismo en ambos grupos de tratamiento.

Fueron Sinapsis colinérgica, Sinapsis dopaminérgica, Sinapsis GABAérgica, Señalización endocannabinoide retrógrada, Potenciación a largo plazo, Ciclo sináptico de vesículas, Sinapsis glutamatérgica, Sinapsis serotoninérgica, Vía de señalización neurotrofina. Esto implica que el desarrollo sináptico de las abejas melíferas se ve muy afectado por el estrés por bajas temperaturas.

### RT-qPCR

Los genes de diferencia entre Control y T24 incluyeron Mblk-1, I (2) efl, FoxP y FoxO (Figura 7); mientras que los genes de diferencia entre Control y T48 comprendieron Mblk-1, I (2) efl, FoxP, FoxO y Orct (Figura 8). Los resultados indicaron que el nivel de expresión de estos DEGs fue consistente con la tendencia de alteración del nivel de expresión génica de los datos de secuenciación de RNA-Seq.

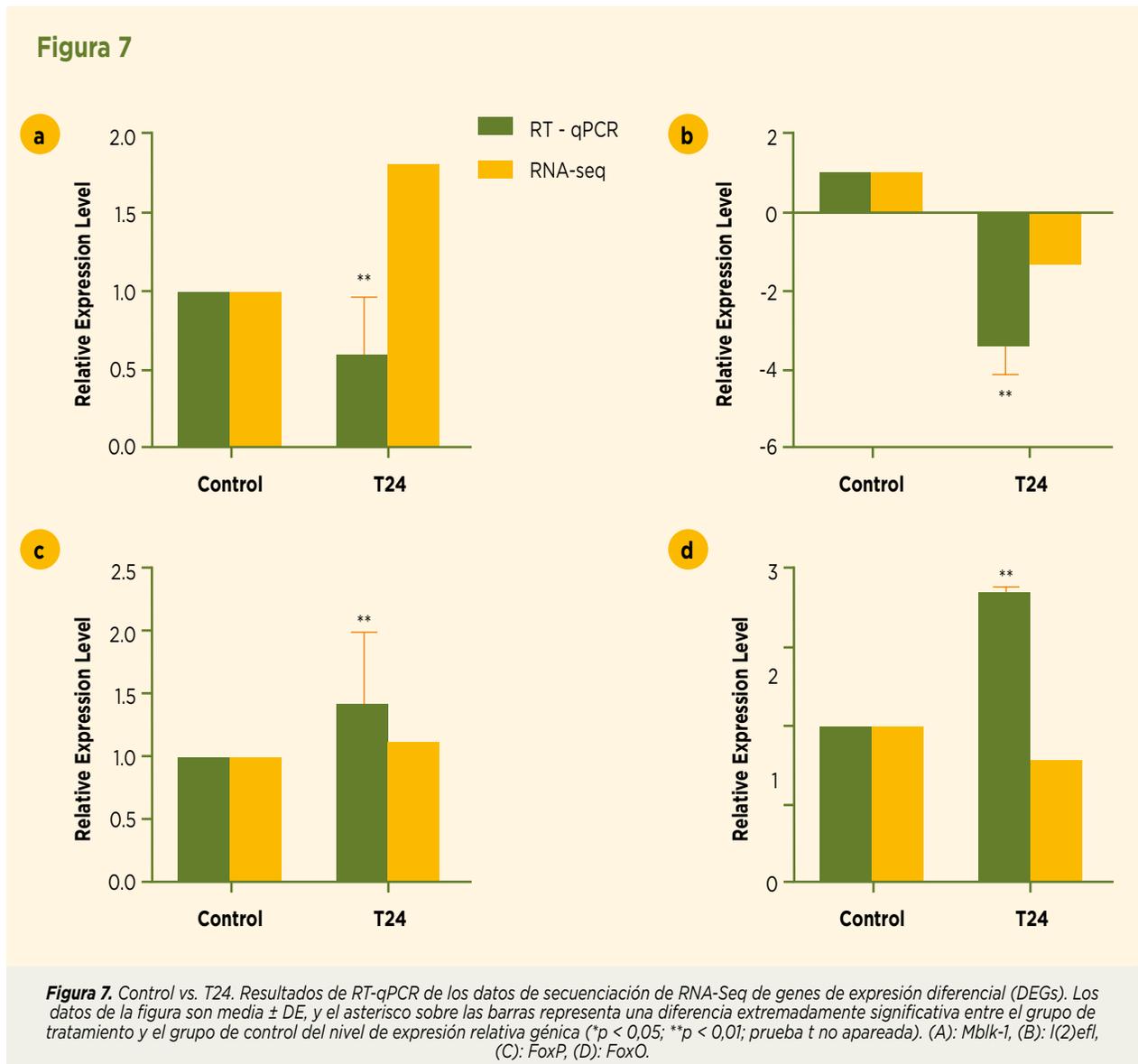
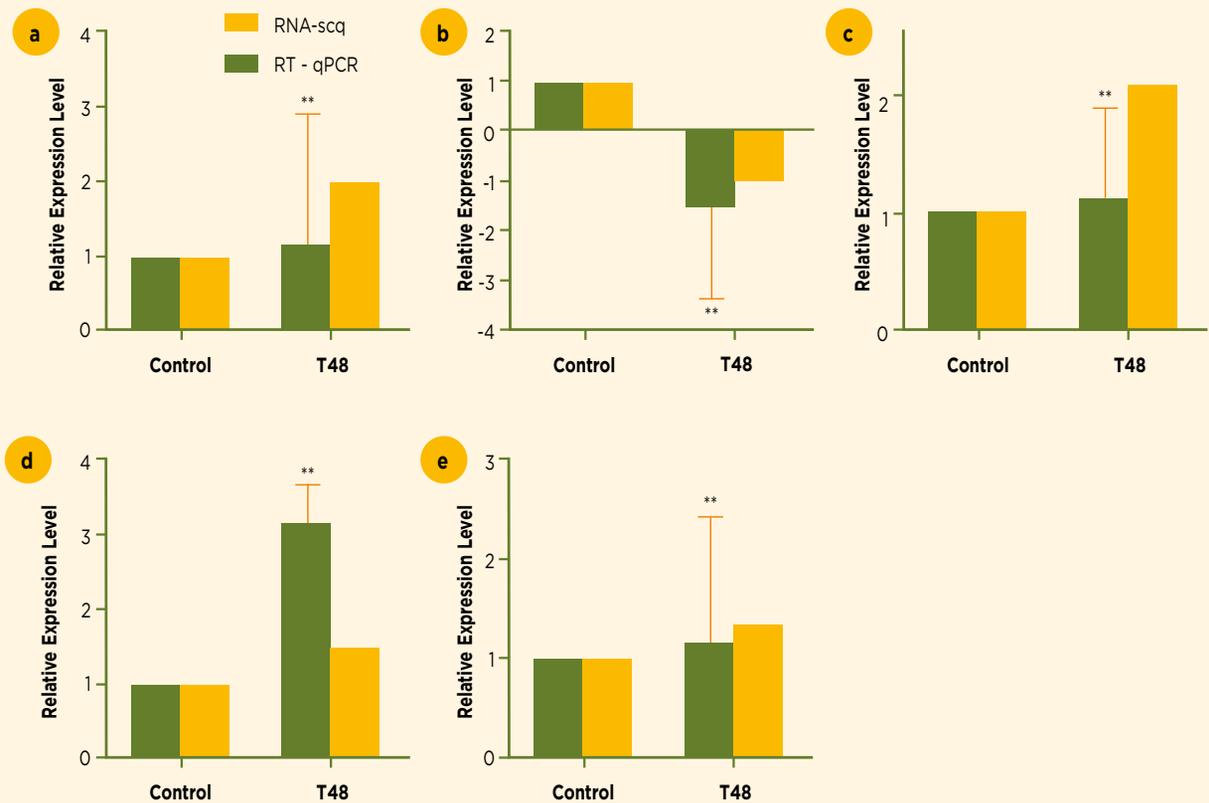


Figura 8



**Figura 8.** Control vs. T48. Resultados de RT-qPCR de los datos de secuenciación de RNA-Seq de genes de expresión diferencial (DEGs). Los datos de la figura son media  $\pm$  DE, y el asterisco sobre las barras representa una diferencia extremadamente significativa entre el grupo de tratamiento y el grupo de control del nivel de expresión relativa génica (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; prueba t no apareada). (A): Mblk-1, (B): I(2)efl, (C): FoxP, (D): FoxO, (E): Orct.

## Discusión

Es ampliamente reconocido que las crías de abejas melíferas están adaptadas a una temperatura estable de aproximadamente 35 °C, que es mantenida por las abejas adultas en la colonia. Para nuestra investigación, seleccionamos las pupas tempranas como nuestro organismo de estudio, ya que esta etapa de desarrollo es fundamental para el desarrollo del cerebro y el aumento de volumen. Además, la exposición prolongada a temperaturas frías resultó en un aumento significativo de la mortalidad adulta, con una tasa de mortalidad del 70% observada después de 48 h de estrés por frío. Aunque la exposición a temperaturas frías durante 12 o 16 h resultó en tasas de mortalidad más bajas, tuvo efectos subletales en el desarrollo de la pupa, particularmente en el desarrollo histológico del cuerpo del hongo y la capacidad de aprendizaje asociada al olor. Esto nos llevó a predecir que los efectos subletales en el desarrollo del cerebro de las abejas melíferas ocurren cuando se exponen al estrés

por frío. A través de un análisis transcriptómico comparativo de RNAseq, identificamos genes relacionados con el daño oxidativo que se regulaban durante las pupas tempranas después del estrés por frío. En general, nuestros hallazgos proporcionan más información sobre el argumento propuesto por Tautz et al. (2003), Groh et al. (2004) y Becher et al. (2009) de que las bajas temperaturas pueden afectar la función cerebral de las abejas. El tratamiento a baja temperatura afecta la regulación hormonal en el desarrollo del cerebro de la pupa. Investigaciones anteriores han indicado que el retraso en el período de desarrollo causado por el tratamiento con frío está altamente correlacionado con la duración del tratamiento (Wang et al., 2016). Además, las secciones cerebrales examinadas en esta investigación indican que el crecimiento del cerebro se mantiene constante tanto antes como después de la exposición a temperaturas frías. Como resultado, durante el período de exposición al frío, se puede inferir que las pupas sufren un estado de estancamiento o lentitud. Al integrar los datos del

transcriptoma y realizar un análisis de conglomerados funcionales de genes expresados diferencialmente, se infiere que el estrés por frío desencadena una elevación en el título de la hormona juvenil mientras suprime la síntesis de ecdisona. Además, la baja temperatura también impide la transmisión de señales de ecdisona, regulando así el proceso de desarrollo de las abejas melíferas.

Un análisis de los datos comparativos del transcriptoma reveló que la exposición a bajas temperaturas durante 24 h dio lugar a la regulación positiva de los genes *InsR* y *FoxO*, mientras que la expresión de los genes *JNK*, *Akt* y *Bsk* se reguló a la baja en la vía de señalización *FoxO*. *FoxO* se une a la secuencia promotora de *Jheh*, y su regulación positiva inhibe la expresión de *Jheh* (Zeng et al., 2017), que es responsable de degradar la hormona juvenil (JH) y, por lo tanto, regula sus niveles (Zhang et al., 2005; Tsubota et al., 2010). Esto sugiere que el estrés por bajas temperaturas afecta la degradación de JH, lo que resulta en un título de JH más alto de lo normal, lo que ayuda a mantener el desarrollo de las abejas melíferas. *InsR* tiene la capacidad de fosforilar *FoxO*, evitando que entre en el núcleo y provocando su degradación en el citoplasma. Durante el desarrollo de los insectos, la proteína *FOXO* activa el gen *Br-c* aguas abajo de la ecdisona (Süren-Castillo et al., 2012; Jin et al., 2013; Cai et al., 2016), que es un eslabón esencial para que la ecdisona funcione (Gonzy et al., 2002). Esto indica que las bajas temperaturas pueden inhibir la función de la ecdisona, lo que lleva a un desarrollo más lento o detenido. *JNK* desempeña un papel fundamental en la respuesta al estrés celular, ya que se activa principalmente por las citoquinas y el estrés del medio ambiente, y participa en diversos procesos celulares, como la proliferación celular, la diferenciación, la descomposición y la respuesta al estrés. La regulación a la baja de *JNK* y su gen isómero *Bsk* debido a la baja temperatura afecta la transmisión de señales en las células, interrumpiendo así la diferenciación celular normal en el cerebro de la pupa.

La expresión del gen *Phm*, que está implicado en la síntesis de hormonas de insectos, disminuye en respuesta al tratamiento a baja temperatura de las pupas dentro de las primeras 24 y 48 h. Este gen está relacionado con la actividad de la 25-hidroxilasa de carbono, que controla la producción de 20-hidroxiecdisona (20E) (Warren et al., 2004). Además, sellar la tapa durante 48 h después de 4 días de estrés por baja temperatura da como resultado una disminución en la expresión de *Spo* (P450 307a1), que está involucrada en la síntesis de ecdisona (Chávez et al., 2000). Esto, a su vez, afecta a la síntesis de 20E, dificultando el funcionamiento normal de la red reguladora hormonal. Además, la 20E en la etapa de pupa está relacionada con la proliferación celular (Bialecki et al., 2002), lo que sugiere que la baja temperatura afecta la síntesis de 20E al afectar los niveles de expresión de los genes *Spo* y *Phm* y, por lo tanto, perjudica el desarrollo de la proliferación de las células de la cabeza. Además, el gen *Kibra* en la vía de señalización de *Hippo* se regula al alza después de 48 h de tratamiento a baja temperatura. La proteína *KIBRA* y otras proteínas de la vía de señalización de *Hippo* forman un complejo proteico *KIBRA-MER-*

*EX* para activar la fosforilación de *Yki*, mientras que la fosforilación de *Yki* impide que entre en el núcleo (Xiao et al., 2011). *Yki* se asocia con la activación del gen *diana* de la 20-hidroxiecdisona (Genevet y Tapon, 2011). Por lo tanto, cuando el estrés a baja temperatura provoca un aumento en la expresión del gen *Kibra* en la cabeza de la tapa, la fosforilación de *Yki* aumenta, inhibiendo así el gen *diana* aguas abajo de 20E y afectando el papel de 20E en la proliferación celular (Bialecki et al., 2002; Parvy et al., 2014).

### Daño oxidativo en el desarrollo del cerebro de la pupa bajo exposición al frío

Las bajas temperaturas podrían acumular daño oxidativo debido a la reducción de la actividad de las enzimas antioxidantes bajo el frío y provocar la muerte de la pupa. Nuestros datos mostraron que el gen de la proteína quinasa activada por mitógenos (*Map3k9*, perteneciente a las quinasas quinasas *MAP*, *MAKs*) estaba regulado al alza en el grupo T24, que es una proteína quinasa serina/treonina y una parte clave de la vía *MAPK*.

*MAPK* desempeña un papel fundamental en la transmisión de señales desde la superficie celular hasta el núcleo, lo que permite la transferencia de información extracelular al interior de la célula y el ajuste de la actividad celular en respuesta a estímulos externos (Santos et al., 2007). El estudio de *Apis cerana* reveló que el silenciamiento del gen *Mapk9* condujo a un aumento en la concentración de malondialdehído y una disminución en la actividad de *SOD* y *POD*, causando daño oxidativo a las células (Gerber et al., 1998; Santos et al., 2007). La especulación sugiere que la expresión de *Mapk9* aumentó para resistir el daño oxidativo cuando las pupas se expusieron al estrés a baja temperatura. Además, la regulación negativa de los genes *Dhrs4* y *Sod-2* en la vía de señalización de los peroxisomas puede provocar daño oxidativo en las abejas. La retinol deshidrogenasa/reductasa dependiente (*NRDR*), como carbonil reductasa, participa en la reacción redox de diversas sustancias en las células (Zhang, 2014). El gen *Dhrs4* codifica *NRDR*, que se encuentra en la membrana plasmática de los fagocitos y produce oxígeno activo para eliminar microorganismos patógenos (Persson et al., 1995). El estrés a bajas temperaturas puede inhibir la síntesis de *NRDR*, afectar a las enzimas antioxidantes y provocar una acumulación de daño oxidativo en las células.

La superóxido dismutasa 2 mitocondrial (*Sod-2*) contrarresta la toxicidad oxidativa celular mediante la eliminación de especies reactivas de oxígeno intracelular (Li et al., 1994; Wu, 2010; Xiao, 2015). La investigación ha revelado que una disminución de la temperatura puede resultar en un aumento del oxígeno activo en los insectos. Para regular esto, los insectos dependen de las enzimas antioxidantes. El escarabajo tortuga de pecho pequeño (*Microdera punctipennis*), un insecto del desierto, mejoró los altos niveles de la enzima antioxidante *Sod* gen cuando se expuso a bajas temperaturas (Xiao, 2015); asimismo, la actividad enzimática *SOD* de la langosta tibetana (*Locusta migratoria tibetensis*) en su pared corporal y

tracto digestivo se incrementó en respuesta a su nivel de oxidación corporal cuando la temperatura era baja (Wu, 2010). Por el contrario, cuando las abejas fueron sometidas a 24 h de estrés a baja temperatura, la expresión del gen Sod-2 en sus cabezas se reguló a la baja, lo que indica que la concentración de especies reactivas de oxígeno había excedido el rango regulador del sistema antioxidante de la abeja, lo que resultó en daño oxidativo.

### Proliferación celular y apoptosis

Las bajas temperaturas pueden interferir con la proliferación celular habitual y la apoptosis de las pupas de abejas melíferas. Este estudio reveló que Bcl-2 (gen antiapoptótico) y Diap2 (inhibidor de la apoptosis relacionada con la muerte) de la vía de la señal de apoptosis estaban reguladas al alza. Estos dos inhibidores de la caspasa, que interviene en la proteólisis de la apoptosis celular (Roy et al., 1997; Leulier et al., 2006), se encontró que inhiben la apoptosis de las células en la cabeza de la etapa temprana de pupa después del estrés por bajas temperaturas. En este estudio, se encontró que el gen Akt1, que está estrechamente relacionado con la proliferación celular, está regulado a la baja en la vía de señalización mTOR. Cuando se silencia el gen Akt, se inhibe la proliferación celular, como demostraron You et al. (2019). En consecuencia, un tratamiento a baja temperatura aplicado en la etapa temprana de la pupa puede inhibir la proliferación de células de cabeza de abeja.

### Desarrollo neuronal del cerebro de las abejas melíferas

Investigaciones anteriores han demostrado que las pupas de abejas melíferas expuestas a una temperatura constante de 33 °C exhiben una disminución en su comportamiento de baile y en la capacidad de regresar a su nido de obreras adultas (Tautz et al., 2003). Posteriormente, los investigadores investigaron el desarrollo del cuerpo del hongo de las abejas melíferas en las mismas condiciones y descubrieron que el número de complejos sinápticos en el área del labio del cuerpo del hongo disminuyó, y los cambios sinápticos afectaron la plasticidad neuronal y el comportamiento (Groh et al., 2004). Este estudio reveló que las bajas temperaturas durante la etapa de pupa resultaron en una reducción del número de neuroprogenitores en el cuerpo del hongo, lo que, a su vez, afectó la capacidad de aprendizaje de las abejas melíferas (Figura 2). Además, este estudio detectó que las vías relacionadas con el desarrollo del sistema nervioso estaban asociadas con el desarrollo de diversas sinapsis. El desarrollo del cuerpo de hongo del cerebro está estrechamente relacionado con la regulación hormonal, el daño oxidativo, el desarrollo sináptico, etc. En consecuencia, los datos del transcriptoma se examinaron meticulosamente para evaluar la expresión diferencial de los genes implicados en el sistema nervioso. Lo que sigue es una discusión de algunos genes clave.

Los resultados de este estudio indicaron que los genes A (Creb A) y Creb-2 (Atf4) de unión al elemento de respuesta cíclica del AMP, que forman parte de la vía

de señalización sináptica colinérgica, están regulados al alza. Cuando se estimulan las neuronas en el cerebro, el cerebro activará su mecanismo de autoprotección, por lo que Creb se combina con los sitios de fosforilación de los factores neuroprotectores para reducir el daño neuronal (Pugazenthi et al., 1999; Marshall R et al., 2000). En respuesta al estrés por bajas temperaturas, los genes CrebA y Creb-2 aumentaron para activar medidas neuroprotectoras y minimizar el daño cerebral.

El MRJP 1, que representa aproximadamente el 46% de las proteínas solubles en agua de la jalea real, se ha identificado como un factor regulador importante en el desarrollo (Kamakura, 2011). La investigación ha revelado que el gen Mrjp 1 se expresa en todo el cerebro de la abeja, con una presencia altamente concentrada en el cuerpo del hongo del cerebro, particularmente en la fibra y el área pericelular de la neurona intermedia (Peixoto LG et al., 2009). Al inhibir la expresión del gen Mrjp1, la expresión relativa del gen Mrjp1 en el cerebro de las abejas melíferas disminuyó significativamente, lo que condujo a una marcada disminución de la capacidad de aprendizaje (Yu et al., 2021). En este estudio, se observó que el gen Mrjp 1 estaba reducido en la cabeza de las pupas tempranas que fueron sometidas a baja temperatura. Se plantea la hipótesis de que la temperatura fría podría ser perjudicial para el crecimiento del sistema nervioso de las abejas, lo que afectaría la capacidad de aprendizaje de las abejas.

La proteína MBLK-1 se expresa predominantemente en las células grandes de Kenyon (LKC) de pupas y abejas adultas (Kubo, 2012). Esta proteína desempeña un papel importante en la metamorfosis aguas abajo de la señal de ecdisona en la etapa de pupa y MBLK-1 y P-MBLK-1 participan en la morfogénesis cerebral durante la etapa de pupa. En la etapa adulta, Mblk-1 (E93) está implicado en la plasticidad sináptica asociada al aprendizaje y la memoria de las abejas adultas (Kubo, 2012; Kumagai H et al., 2020). En consecuencia, Mblk-1 se ha convertido en el criterio para evaluar la proliferación de IKCs, representando así el desarrollo del cuerpo del hongo hasta cierto punto. Esto ha convertido a Mblk-1 en un foco de investigación. Los datos no publicados de la expresión génica y la abundancia de proteínas de Mblk-1 muestran que MBLK-1 se sintetizó en una cantidad sustancial durante el proceso de desarrollo del cerebro de la pupa temprana, alcanzando su punto máximo en el segundo día de la etapa de pupa temprana y disminuyendo ligeramente en el tercer día, sin embargo, aún permaneciendo en un nivel alto, lo que sugiere que las IKC proliferaron en esta etapa. La expresión de Mblk-1 en los grupos de tratamiento a baja temperatura aumentó, pero no pudo alcanzar el pico normal. A medida que se incrementó el tratamiento a baja temperatura, la expresión de Mblk-1 también aumentó, lo que sugiere que las IKC en el cuerpo del hongo continuaron desarrollándose en condiciones de baja temperatura, aunque a un ritmo menor que el nivel normal de proliferación. Esto sugiere que el tratamiento a baja temperatura inhibió la proliferación de IKCs. Por lo tanto, se debe prestar más atención al desarrollo de IKC en diferentes áreas funcionales del cuerpo del hongo.



**¡ Apicultores  
Trabajando para  
Apicultores !**



**JHONNY ROJAS ROJAS**  
PRESIDENTE DE LA CONAPI - PERU

# URGE INNOVACIÓN TECNOLÓGICA EN EL SERVICIO DE POLINIZACIÓN

La Confederación Nacional de Apicultores del Perú (CONAPI), es una de las organizaciones de mayor representación de la Apicultura Peruana; está acreditada legalmente ante el Estado peruano e instituciones privadas, como interlocutor válido en materia apícola.

Nuestro compromiso, es desarrollar programas que contribuyan a mejorar las condiciones técnicas, económicas, sociales e institucionales de la apicultura en su relación con la agricultura; nuestra visión, alcanzar un sistema apícola nacional competitivo, rentable y sostenible. En este propósito, el crecimiento de la agroindustria necesita la provisión de un servicio eco-sistémico como la polinización, cuya demanda actual y potencial está relacionada al crecimiento acelerado de la superficie con cultivos para la agroexportación.

El mercado actual (año 2022) de esta demanda, está dado por: 56 mil hectáreas de palto, 85 721 de cítricos, 16 291 de arándanos; superficie que crece a tasas de entre 3 - 8 % anual. En suma, totalizan 158 mil hectáreas, esperándose se incorporen anualmente a la demanda, por servicios de polinización, unas 7 mil nuevas hectáreas. El desarrollo de esta demanda viene impactando en un crecimiento de la oferta (colmenas) aún desordenada y carentes del uso de herramientas técnicas para garantizar

eficiencia, competitividad, calidad y, sostenibilidad en la prestación del servicio de polinización.

En la actualidad se estima existirían unas 250 mil colmenas para atender parcialmente la demanda actual, la demanda real teórica a plena atención sería de alrededor a 1,6 millones de colmenas para satisfacer plenamente la demanda por los servicios de polinización. El reto no solo es atender la demanda para el servicio sino también, el mejorar los índices de eficiencia y control de la colmena en el servicio de polinización; obviamente, ello es alcanzable cuando se incorporen/acondicionen, instrumentos modernos para dichos propósitos. A esta demanda actual de colmenas (1,6 millones), se sumarían entre 40 mil a 55 mil nuevas colmenas por año para prestar dicho servicio eco sistémico.

En este escenario, la CONAPI en su buen relacionamiento con el sector agroexportador (Demandante) está comprometida a contribuir al desarrollo técnico y sostenido del servicio de polinización. Por ello y considerando su representatividad en el sector apícola y, dada la magnitud del reto señalado, señala la necesidad de establecer alianzas colaborativas, tecnológicas y comerciales, que garanticen construir un servicio ordenado, eficiente y competitivo.

**PERÚ.** Estimado de demanda total de colmenas de abejas para servicio de polinización. 2022 - 2030

Variable	Años							
	2022	2023	2025	2026	2027	2028	2029	2030
Hectáreas 1/	158000	163530	169254	175177	181309	187654	194222	201020
% crecimiento 2/	3.5	5530	5724	5924	6131	6346	6568	6798
N° colmenas 3/	8							
Demanda 4/	1264000	1308240	1354028	1401419	1450469	1501235	1553779	1608161
Oferta 5/	250000	262500	275625	289406	303877	319070	335024	351775
Balance 6/	-1014000	-1045740	-1078403	-1112013	-1146593	-1182165	-1218755	-1256386

1/: superficie cultivada paltos, arándanos, cítricos (demanda por servicios polinización). 2/: tasa anual simple  
3/: promedio de colmenas por hectárea para polinizar. 4/: demanda potencial lineal de número de colmenas  
5/: número actual de colmenas para dar servicio de polinización a una tasa anual crecimiento 5 %  
6/ balance teórico (O - D). El número dependerá del periodo de contratación de servicio y la distancia y cobertura % de la superficie a atender con servicio (N° teórico de colmenas faltantes)..

**Elaborado: CONAPI**

EXPO Apícola del Mercosur

# 2º MACIÁ

FIESTA NACIONAL DE LA APICULTURA



22, 23 y 24 de **MARZO** de **2024**

Dinámicas y Conferencias | Muestras y Exposiciones | Concursos |  
Ronda Internacional de negocios | Espectáculos en vivo de primer nivel

municipio@macia.gob.ar  
 MuniMacia  
 municipalidadmacia

EXPO Apícola del Mercosur

# 2º MACIÁ

FIESTA NACIONAL DE LA APICULTURA

24, 25 Y 26 - 20  
MARZO 23

23º CONCURSO INTERNACIONAL DE  
**MIELES MULTIFLORALES**

MÁS  
INFO >



(03445) 15431111  
(03445) 461397



lepmmacia@gmail.com



Lepma Maciá



@laboratoriomacia



EMPRESA  
100%  
MEXICANA

líder en el ramo  
de la Apicultura

X-NOX SA DE CV  
INNOVACIÓN

PATENTES  
APICOLAS



Descarga nuestro Catalogo  
Escanea el código QR

SOMOS los Expertos en la fabricación de  
maquinaria con ACERO INOXIDABLE  
TIPO 304 GRADO ALIMENTICIO.



XNOX SA De CV



xnox.sa.de.cv



XNOX S.A. DE C.V.

WWW.XNOX.COM.MX

# Ibero ABEJA

Revista Apícola Internacional

Suscribete para obtener las  
ultimas ediciones.

Se el primero en enterarse de las  
nuevas ediciones de la revista  
internacional IberoABEJA.



SCANEAME

Haz clic para ir a la revista [www.revistaiberoabeja.com](http://www.revistaiberoabeja.com)