



Estudio de la eficacia del Apimicos-B® en el control y la prevención de la ascosferiosis en la abeja de la miel

José Manuel Flores¹, Francisco Puerta¹, Inmaculada Gutiérrez¹ y Francisco Arrebola²

¹Centro Andaluz de Apicultura Ecológica, Universidad de Córdoba y ²Centro de Capacitación y Experimentación Agraria, Hinojosa del Duque, Córdoba, España

Summary

La ascosferiosis en *Apis mellifera* es una micosis que afecta a la cría en desarrollo, produciendo su muerte y posterior momificación. Se trata de una enfermedad con carácter factorial, lo que hace especialmente difícil estudiar en las colmenas sus diferentes aspectos. Uno de ellos es el tratamiento. En nuestras investigaciones hemos evaluado la eficacia del Apimicos-B®, un fármaco indicado para el tratamiento de la enfermedad. Hemos aplicado un estrés por enfriamiento a porciones de panal conteniendo cría con edad susceptible, provenientes de colmenas inoculadas con esporas del hongo y tratadas con el producto, y a otras provenientes de colmenas testigos inoculadas y sin tratamiento farmacológico. Los resultados muestran que no existieron diferencias significativas entre ambos grupos, con momificaciones del 53,12% y 59,58% respectivamente.

Key words

Ascosferiosis, Pollo escayolado, Abeja, Patología, Tratamiento, *Apis mellifera*, *Ascosphaera apis*

Efficacy of the Apimicos-B® to control and prevent chalkbrood disease in honey bees

Resumen

Chalkbrood disease in *Apis mellifera* is a fungal disease affecting developing brood, infested larvae become mummified. As it is a factorial disease, studies on this pathology are obstructed by the need of some predisposing conditions which must occur for such disease to develop. Thus, many questions are yet to be answered about which treatments to apply. The aim of this work is to evaluate the efficacy of the Apimicos-B®, a treatment against chalk brood. To induce the disease, some pieces of combs containing susceptible worker brood both from infected and treated colonies and from infected and untreated colonies were cooled. No significant differences were registered (53.12% and 59.58% of mummification respectively).

Palabras clave

Ascosferiosis, Chalkbrood, Honey bee, Pathology, Treatment, *Apis mellifera*, *Ascosphaera apis*

La ascosferiosis en la abeja de la miel es una micosis invasiva que afecta a las larvas en desarrollo, produciendo su muerte y posterior desecación, quedando el cadáver como una momia, con el aspecto y la consistencia de una pequeña porción de yeso de color blanco o pardo oscuro [1-4].

El agente causal de esta enfermedad es *Ascosphaera apis* (Maassen ex Claussen) Olive et Spiltoir. Las esporas del hongo son las formas de resistencia encargadas de transmitir la enfermedad. Una vez llegadas las esporas al tubo digestivo de las larvas, y cuando se dan las condiciones adecuadas, germinan, dando lugar al micelio, que es el responsable de invadir los tejidos larvarios. Aunque las esporas van a llegar hasta los tubos digestivos de las larvas antes de la operculación, la enfermedad no se va a manifestar hasta después de este momento, en el estado de pupa de la cría de las abejas [1-3].

Dirección para correspondencia:

Dr. José Manuel Flores Serrano
Centro Andaluz de Apicultura Ecológica
Departamento de Biología Animal
Campus Universitario de Rabanales
14071 Córdoba, España
Tel. y Fax: +34 957 218 697
E-mail: Ba1pupuf@uco.es

Aceptado para publicación el 23 de Octubre de 2001

Esta enfermedad alcanzó su máxima expresión en los años ochenta, siendo considerada un serio problema para la producción apícola. Con la extensión del ácaro parásito *Varroa destructor* en las abejas occidentales, pasó a un segundo plano, a lo que contribuyó una aparente atenuación de los brotes. No obstante, sigue siendo un problema, presentándose en determinados momentos o lugares repuntes del proceso, y manteniéndose en otros de forma más o menos latente, con el riesgo que todo esto supone de un posible rebrote de mayor virulencia.

La tendencia habitual a luchar contra las enfermedades aplicando tratamientos farmacológicos ha hecho que también para tratar la ascosferiosis se haya intentado encontrar productos químicos eficaces. Diferentes esfuerzos se han realizado en todo el mundo para conseguirlo, sin obtener los resultados apetecidos, incrementando por otra parte el riesgo de que residuos de estos tratamientos pudieran acabar contaminando los productos de las colmenas, poniendo en peligro su naturaleza de sanos y naturales [2].

Por otra parte, está comprobado que se trata de una enfermedad factorial, en la que además de la presencia del agente patógeno en forma de esporas, es necesaria la actuación de factores desencadenantes para que el proceso se manifieste. Precisamente, el control de la presencia de las esporas del hongo y evitar la actuación de las causas predisponentes, se ha mostrado como la mejor forma de prevenir y controlar la enfermedad [2,5].

No obstante, a pesar de lo expuesto, en algunas revistas especializadas se siguen anunciando productos para el tratamiento de esta enfermedad. Uno de estos productos es el Apimicos-B®. En nuestro trabajo hemos estudiado la eficacia que el fármaco puede tener en el control y la prevención de la ascosferiosis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos fueron realizados en el Centro Andaluz de Apicultura Ecológica, en Córdoba (España), entre el 2 de noviembre y el 19 de diciembre de 2000.

Para el desarrollo de los ensayos se seleccionaron 12 colonias de abejas (seis tratadas y seis testigos) albergadas en cajas del modelo Langstrth. Estas colmenas habían sido estimuladas con jarabe (50% glucosa – 50% agua) durante las doce semanas previas al inicio de los experimentos, para asegurar un buen estado poblacional, cubriendo las abejas adultas entre siete y ocho cuadros en todas las colmenas y la cría entre dos y tres cuadros. Todas las colmenas dispusieron de abundantes reservas (al menos tres cuadros de miel y dos de polen).

Las colmenas fueron infectadas con 15 momias esporuladas mezcladas con 150 g de polen (aproximadamente 1250×10^6 esporas/colmena) y suministradas sobre los cabezales de los cuadros. Cuarenta y ocho horas después, la práctica totalidad del polen inoculado había sido consumido por las abejas. Dos días después de la inoculación se aplicó el primer tratamiento con Apimicos-B® (Laboratorios Kessler Ibérica S.L.) (tiabendazol 0,4%, econazol 0,2%) de la forma indicada por el fabricante en las colmenas problema (solución acuosa al 0,2% aplicada sobre los panales); las testigos permanecieron no tratadas.

Cuarenta y ocho horas después del tratamiento se procedió a evaluar la incidencia de la enfermedad. Para ello tomamos una porción de panal de cada colmena, conteniendo larvas de obreras en quinto estadio en las horas próximas a la operculación [6]. Se eligió cría situada en la parte central o media de los cuadros. Las porciones de panales conteniendo esta cría fueron enfriadas a 18 °C

durante 24 h, y devueltas a las colmenas para la operculación de las celdillas por las abejas adultas. Quince horas después fueron nuevamente recuperadas. Sólo las celdillas operculadas en este periodo fueron consideradas. Las porciones de panal fueron después mantenidas en una estufa de cultivo a 25 °C y 60% de humedad relativa durante cinco días [7]. En los resultados registramos el número de celdillas que contenían cría afectada y cría sana.

El seguimiento de la enfermedad se realizó durante tres semanas más, tomando una nueva muestra por cada colmena y cada semana. Transcurrido este periodo, se aplicó un nuevo tratamiento con Apimicos-B® (como indica el fabricante en caso de persistir la enfermedad), y se hizo un nuevo seguimiento durante otras cuatro semanas más. Al finalizar los ensayos se inspeccionó visualmente las colmenas, registrando el estado general y la presencia de síntomas de la enfermedad.

Para el análisis estadístico de los resultados se usaron pruebas no paramétricas. Statistica/w 5.0 [8]. Para comparar entre los dos tratamientos se aplicó el Mann-Whitney U test.

RESULTADOS

Los resultados pueden ser consultados en la tabla 1 y en la figura 1.

Los porcentajes medios de momificación (porcentajes medios de momificación \pm error estándar) fueron $53,12 \pm 3,27$ para el grupo de colmenas tratadas con Apimicos-B® y $59,58 \pm 3,22$ para el grupo de colmenas testigos. No fueron detectadas diferencias significativas entre ambos grupos ($p = 0,197$).

En la inspección final de las colmenas pudimos comprobar un descenso en la población de abejas. No obstante, los síntomas de la enfermedad fueron prácticamente inexistentes, registrándose momias de ascosferiosis únicamente en tres colonias (dos testigos y una problema), aun que en ningún caso se superaron las ocho momias por colmena.

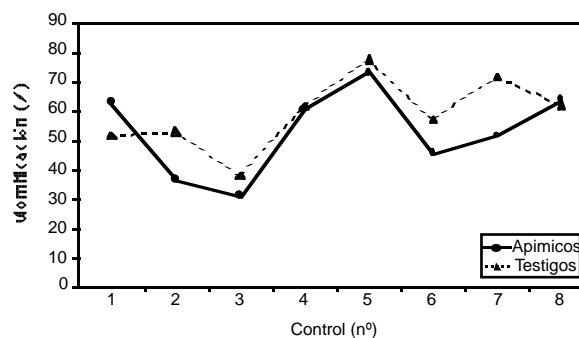


Figura 1. Evolución de la momificación en dos grupos de colmenas (6+6) inoculadas con esporas de *A. apis*. En uno de los grupos se suministró un tratamiento contra la enfermedad en base al Apimicos-B®, el otro quedó como testigo. El tratamiento se administró siguiendo las instrucciones del fabricante. La enfermedad fue evaluada aplicando un estrés por enfriamiento en porciones de panal conteniendo cría susceptible. Los resultados están expresados como porcentaje de momificación.

Tabla 1. Número de celdillas operculadas (OP) y porcentajes de momificación (%M) obtenidos en ensayos realizados para evaluar la eficacia del Apimicos-B® en el control de la ascosferiosis. Los resultados fueron registrados en 12 colmenas inoculadas, de las que seis fueron tratadas y otras tantas no tratadas. Las momias fueron registradas a partir de porciones de panal conteniendo cría de estas colmenas en las que se indujo la enfermedad aplicando un estrés por enfriamiento. En cada colmena se repitió el experimento en ocho ocasiones. Atendiendo a las indicaciones del fabricante de este producto, las colmenas problema fueron nuevamente tratadas después del cuarto control.

Control	Primer tratamiento								Segundo tratamiento							
	1	2	3	4	5	6	7	8	5	6	7	8	5	6	7	8
Colmenas	OP	%M	OP	%M	OP	%M	OP	%M	OP	%M	OP	%M	OP	%M	OP	%M
Apimicos																
Col. 68	19	63,16	39	56,41	32	34,38	89	62,92	118	88,14	87	22,99	37	27,03	99	36,36
Col. 156	27	81,48	71	36,62	73	38,36	91	62,64	106	43,40	55	69,09	30	66,67	107	42,99
Col. 158	44	63,64	12	8,33	25	16,00	104	64,42	83	79,52	115	36,52	111	48,65	94	74,47
Col. 178	22	40,91	7	57,14											55	89,09
Col. 189	48	54,17	9	11,11	67	19,40	83	50,6	113	94,69	91	46,81	47	46,81		
Col. 192	28	75,00	125	50,40	57	47,37	160	61,88	53	60,38	50	54,00	79	70,89	112	76,79
Testigos																
Col. 20	10	50,00	2	100,00	51	56,86	78	84,62	68	89,71			49	79,59	80	72,50
Col. 58			53	50,94	82	48,78	57	68,42	99	65,66	45	64,44	90	80,00	120	35,00
Col. 67	115	53,91	120	34,17	14	14,29	65	50,77	120	87,50	110	61,82	105	52,38	91	92,31
Col. 194	36	41,67	88	32,95	53	54,74	56	82,14	126	70,64	94	51,06	27	55,56	105	72,38
Col. 196	38	42,11			35	8,57	20	35,00	84	59,52	88	36,36	60	66,67	125	26,40
Col. 197	38	71,05	73	47,95	18	44,44	74	50,00	123	92,68	110	72,73	67	97,02	124	75,81

DISCUSIÓN

El principal problema al que se enfrenta la investigación de la ascosferiosis es la dificultad de reproducir el proceso de forma controlada en las colmenas [2,9,10]. Diversos autores han intentado provocar la micosis únicamente administrando esporas del hongo a las colmenas, y dejando que la enfermedad aparezca de forma natural, no obstante, lo más frecuente es que se manifieste en una baja proporción o de forma muy irregular entre colmenas dentro de un experimento o cuando se intenta repetir el experimento, lo que dificulta la obtención de resultados [9,11-16]. En nuestro caso, hemos podido comprobar cómo prácticamente no fueron detectados síntomas de la enfermedad en la inspección visual realizada al finalizar los ensayos, lo que nos podía inducir a pensar que el hongo no estaba presente, de no ser porque sí se manifestó el proceso cada vez que aplicamos el estrés a las porciones de panal con cría.

Por otra parte, la disminución de la población de abejas registrada al finalizar los ensayos, es perfectamente achacable a la dinámica invernal propia de las colonias.

La dificultad para que la enfermedad aparezca de forma controlada en las colmenas inoculadas, es la responsable de que aún permanezcan oscuros muchos aspectos del proceso, entre ellos la eficacia de algunos productos indicados para su tratamiento, lo que ha sido aprovechado para ofrecer a los apicultores tratamientos, en ocasiones de eficacia algo más que dudosa.

En investigaciones previas [17] pudimos comprobar cómo la única sustancia autorizada en aquel momento para el control de la enfermedad, el ácido tricloroisocianúrico, no se mostró eficaz cuando se trató de atacar la enfermedad en las colmenas. En el trabajo ahora presentado hemos evaluado otra sustancia indicada para el control de la ascosferiosis y anunciada en publicaciones profesionales.

Para investigar la eficacia del Apimicos-B® en el control de la ascosferiosis hemos aplicado la única causa predisponente que hasta el momento ha podido ser confirmada como desencadenante directo del proceso, se trata del enfriamiento de la cría en las horas próximas a la operculación [7,11,17]. Los resultados mostraron que no existieron diferencias significativas entre el grupo de colmenas inoculadas y tratadas con Apimicos-B® y las colmenas testigos no tratadas, lo que indica que este producto no fue eficaz, al menos en las condiciones ensayadas.

Por otra parte, en la figura 1 podemos observar la evolución de la enfermedad a lo largo de las ocho semanas que duraron los ensayos, tanto en las colmenas tratadas como en las testigos. Los resultados son muy concluyentes en cuanto que quedan patentes los altibajos de la enfermedad por causas no controladas en los experimentos. Pero esta evolución se produjo de igual manera en ambos grupos. La falta de continuidad en el tiempo es una de las responsables de los problemas con que nos solemos encontrar cuando tratamos de estudiar diferentes aspectos del proceso directamente en las colmenas, y es también responsable de achacar a algunos tratamientos propiedades que no poseen, especialmente cuando se trata de apicultores, que no suelen dejar un grupo testigo con el que comparar las colmenas tratadas.

Finalmente, es importante reseñar, que con la técnica que hemos aplicado, queda abierto un importante camino para el estudio de los aspectos oscuros de la ascosferiosis, incluidos los tratamientos.

Bibliografía

1. Moeller FE, Williams PH. Chalkbrood research at Madison, Wisconsin. *Am Bee J* 1976; 116: 484-495.
2. Heath LAF. Development of chalkbrood in a honeybee colony: a review. *Bee World* 1982; 63: 119-130.
3. Puerta F, Padilla F, Bustos M, Flores JM, Pellín PP, Alonso JM. Algunas aportaciones sobre la ascosferiosis en *Apis mellifera*. *Vida Apícola* 1989; 83: 44-51.
4. Gilliam M. Chalkbrood disease of honey bees, *Apis mellifera*, caused by the fungus, *Ascosphaera apis*: a review of past and current research. Proceedings from the VTH International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control. The XXIII Annual Meeting of the Society for Invertebrate and Pathology, Proceedings and Abstracts. Adelaide, Australia, 20-24 August, 1990: 398-402.
5. Flores JM, Puerta F, Bustos M, *et al*. Ascosferiosis: efecto de las causas pre-disponentes y métodos de prevención en el colmenar. *Vida Apícola* 1995a; 71: 33-39.
6. Rembold H, Kremer JP, Ulrich GM. Characterization of postembryonic developmental stages of the female castes of the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie* 1980; 11: 29-38.
7. Flores JM, Ruiz JA, Ruz JM, *et al*. Effect of temperature and humidity of sealed brood on chalkbrood development under controlled conditions. *Apidologie* 1996; 27: 185-192.
8. STATSOFIT. Statistics for windows (Computer program manual, Release 3.0 Ed. StatSoft, Inc., 1995
9. De Jong D. Experimental enhancement of chalk brood infections. *Bee World* 1976; 57: 114-115.
10. Gilliam M. Chalkbrood – Status today and hopes for control. *Am Bee J* 1978; 118: 468-471.
11. Bailey L. The effect of temperature on the pathogenicity of the fungus *Ascosphaera apis* for larvae of the honeybee, *Apis mellifera*. In: Van der Laan PA (Ed) *Insect pathology and microbial control*. Amsterdam, North Holland Publishing Co., 1967: 162-167.
12. Mehr Z, Menapace DM, Wilson WT, Sackett RR. Studies on the initiation and spread of chalkbrood within an apiary. *Am Bee J* 1976; 116: 266-268.
13. Gilliam M, Taber S, Bray Rose J. Chalkbrood disease of honey bees, *Apis mellifera* L.: a progress report. *Apidologie* 1978; 9: 75-89.
14. Befus-Nogel J, Nelson DL, Lefkovitch LP. Observations on the effect of management procedures on chalkbrood levels in honey bee (*Apis mellifera* L.: Hymenoptera: Apidae) colonies. *Bee Sc* 1992; 2: 20-24.
15. Gilliam M. Infectivity and survival of the chalkbrood pathogen, *Ascosphaera apis*, in colonies of honey bees, *Apis mellifera*. *Apidologie* 1986; 17: 93-100.
16. Herbert W, David JR, Chitwood J, Shimanuki H. The effect of a candidate compound on chalkbrood disease in New Jersey. *Am Bee J* 1986; 126: 258-259.
17. Flores JM, Puerta F, Bustos M, Padilla F, Jiménez A, Trocoli F. Efecto del ácido tricloroisocianúrico sobre la germinación de las esporas de *Ascosphaera apis*. *Rev Iberoam de Micol* 1995; 12: 49-51.