

EFFECTIVIDAD EN COLMENAS DE MEZCLAS DE ACEITES ESENCIALES SOBRE LOQUE AMERICANA

ALBO, Graciela *; CERIMELE, Elsa **; RE, María Susana **, DE GIUSTI, Marisa R. ***;
REYNALDI, Francisco ***, ALIPPI, Adriana M. ***

* Zootecnia (AMG), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, C.C. 31, calle 60 y 118,
C.P. 1900. La Plata. ARGENTINA. E-mail: zooamg@ceres.agro.unlp.edu.ar.

** Fitoquímica, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP.

*** Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la Provincia de Buenos Aires.
ARGENTINA.

RESUMEN

Se efectuaron ensayos de campo para evaluar la efectividad de diferentes mezclas de aceites esenciales: 1) pasto limón + tomillo y albahaca; 2) pasto limón, tomillo, ajedrea orégano y albahaca, y 3) pasto limón y tomillo, en la prevención y control de infecciones de loque americana en colmenas de *Apis mellifera* L.

Se efectuaron dos experiencias de campo en forma preventiva, utilizando tilosina como control de efectividad y un testigo blanco. Los tratamientos se aplicaron en forma de *candies* y jarabe respectivamente.

Los resultados obtenidos del análisis del porcentaje de colmenas enfermas / total de colmenas y el nivel de infección muestran a tilosina como el único tratamiento efectivo, dado que las esencias a las dosis y métodos de administración probados no fueron adecuados para eliminar la infección de loque americana.

INTRODUCCIÓN

La loque americana es la enfermedad más grave que afecta la etapa larval (Figura 1) de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.) causada por la bacteria esporulada *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* (White) Heyndrickx, et al.).

El uso de antibióticos para el control de la enfermedad, como método alternativo a la quema de colmenas, presenta grandes riesgos de contaminación de la miel y selección de cepas bacterianas resistentes.

Los aceites esenciales extraídos a partir de plantas aromáticas poseen actividad antimicrobiana *in vitro* (Calderone et al. *J. Ess. Oil Res.* 6: 279-289, 1994; Alippi et al. *J. Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 4: 9-16, 1996). Algunos de ellos se han probado en colmenas para el control de loque americana (Albo et al, XXXVI Apimondia Congress, Actas pg. 260, 1999; Floris et al., *Apidologie* 27: 111-119, 1996), de la cría yesificada (Higes Pascual et al., *Rev. Iberoamer. Micol.* 15: 151-154, 1998) y la varroasis (Imdorf et al., *Apidologie* 25: 49-60, 1994)

Figura 1: Síntomas típicos de loque americana en un cuadro de cría.

OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo han sido:

1. Evaluar la respuesta de colmenas infectadas con loque americana a tres mezclas de esencias: 1) pasto limón, tomillo y albahaca; 2) pasto limón, ajedrea, tomillo, orégano y albahaca y 3) pasto limón y tomillo.
2. Evaluar el tiempo de consumo de las diferentes mezclas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1º experimento de campo. Aplicación de esencias en candies: El 1º experimento fue realizado en La Plata (Prov. de Buenos Aires), Argentina. Se usaron 25 colmenas de abejas italianas (*Apis mellifera ligustica* L.). Las colonias estaban conformadas por: 15.000 abejas adultas, 3 cuadros de cría (2 de cría operculada y 1 de cría abierta), 2 cuadros de miel y polen y 5 cuadros de cera labrada. Las colmenas fueron distribuidas en un diseño completamente aleatorizado. La inoculación, manejo y evaluación de las colmenas fue realizado de acuerdo con una metodología puesta a punto previamente (Albo *et al*, XXXVI Apimondia Congress, Actas pg. 260, 1999), efectuándose 5 periodos de inspección, una vez por mes a partir de la inoculación. Se realizaron 9 aplicaciones quincenales de mezclas de esencias en forma de candies de 70 grs. (relación 1:4 azúcar impalpable- jarabe de maíz de alta fructosa). El 1º candy fue suministrado en forma preventiva 15 días antes de la inoculación. En total, se realizaron 5 tratamientos con 5 repeticiones. Las dosis por aplicación fueron: *Tratamiento A*: 10% pasto limón (*Cymbopogon citratus*) + 20% tomillo (*Thymus vulgare*) + 70% de albahaca (*Ocimum basilicum*) (1,75 grs. de mezcla esencias); *Tratamiento B*: 5% pasto limón + 11% tomillo + 21% ajedrea (*Satureia hortensis*), + 26% orégano (*Origanum vulgare*) + 37% albahaca (3,32 grs. de mezclas de esencias); *Tratamiento C*: 20% pasto limón + 80% tomillo (0,4375 grs. de mezclas de esencias / quincenalmente); *Tratamiento D*: control sin tratamiento y *Tratamiento E*: 0,750 grs. de tartrato de tilosina como control de efectividad. Cada *candy* fue pesado cada quince días para determinar el tiempo de consumo y reemplazado por uno nuevo.

2º experimento de campo. Aplicación de esencias en jarabe: Las características de las colmenas, inoculación, manejo, periodo de aplicación preventivo de las mezclas de esencias, periodos de inspección y evaluación de las colmenas inoculadas fueron similares al 1º experimento, con la diferencia que se empleó jarabe dosificado mensualmente. Se efectuaron 3 tratamientos con 6 repeticiones *clu*: *Tratamiento A*: 0,750 grs. de tartrato de tilosina como control de efectividad; *Tratamiento B*: 20% de pasto limón + 80% de tomillo (3,375 grs. de mezcla de esencia) y *Tratamiento C*: control sin tratamiento (sacarosa al 50% en jarabe). El *Tratamiento A* fue aplicado por única vez en 750 cm³ de jarabe al inicio del experimento. Los *Tratamientos B* y *C* fueron suministrados en 5 aplicaciones mensuales de 750 cm³ de jarabe de sacarosa al 50%. Para mejorar la palatabilidad se agregó 0,5 cm³ de esencia de frambuesa en cada frasco de jarabe. El jarabe residual fue medido semanalmente para determinar el tiempo de consumo.

Para la evaluación estadística de ambos ensayos se consideraron 2 variables de salida: Porcentaje de colmenas enfermas / total de colmenas y nivel de infección. Los valores de la variable porcentaje de colmenas enfermas / total de colmenas fueron transformados y analizados por ANOVA con GLM con una comparación de medias por LSD. El nivel de infección fue determinado usando el siguiente criterio: Nivel 1: 1-10 larvas infectadas. Nivel 2: 11-30 larvas infectadas. Nivel 3: 31-100 larvas infectadas y nivel 4: más de 100 larvas infectadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

1º experimento de campo. Aplicación de esencias en candies: El análisis de la variable de porcentaje de colmenas enfermas / total de colonias muestra diferencias significantes entre tratamientos ($p= 0,000$) y entre diferentes niveles de inspección ($p=0,003$). Los gráficos LSD presentan a tilosina como el único tratamiento diferente y al primer nivel de inspección con diferencias significativas respecto al resto (Fig. 2)

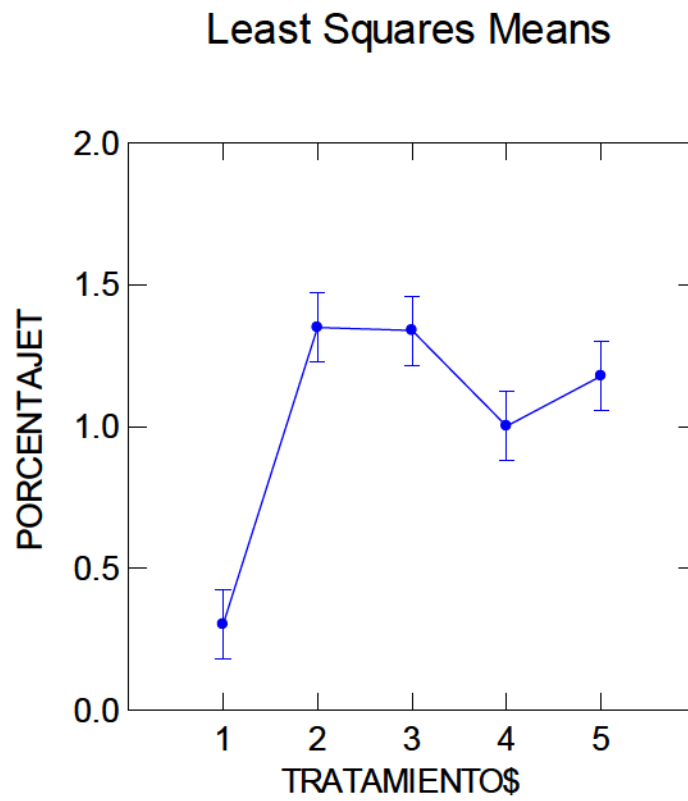
La variable nivel de infección presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($p= 0,000$) y entre los niveles de inspección ($p= 0,003$). Nuevamente, los gráficos LSD mostraron diferencias significativas para el tratamiento tilosina y el primer nivel de inspección (Fig.3)

En el análisis comparativo de las mezclas de esencias, se observaron diferencias significativas en el porcentaje de colmenas enfermas / total de colmenas sólo con respecto a los niveles de inspección ($p= 0,03$), pero no para los distintos tratamientos ($p=0,07$).

Los resultados del análisis del nivel de infección no fueron significativamente diferentes para los tratamientos ($p= 0,244$), ni para los niveles de inspección ($p= 0,189$).

Se evaluó el consumo de las mezclas de esencias (*Tratamientos A, B y C*), el testigo blanco (*Tratamiento D*) y el testigo control efectividad tilosina (*Tratamiento E*). En todos los casos, se usaron *candies* de 70 grs. como medio para vehicular los respectivos biocidas. Se realizaron nueve evaluaciones quincenales durante 150 días. El cuadro 1 muestra que todos, con excepción del *Tratamiento E*, dejaron residuos al momento de ser reemplazados. El *Tratamiento C* (pasto limón y tomillo) presentó el mejor perfil de consumo entre las mezclas de esencias (Fig. 4). El no consumo de los *candies* pudo deberse a la baja palatabilidad de los mismos debido a la mezcla de aromas.

Figura 2: Análisis de la variable porcentaje de colmenas enfermas / total de colmenas en el 1º experimento.



Least Squares Means

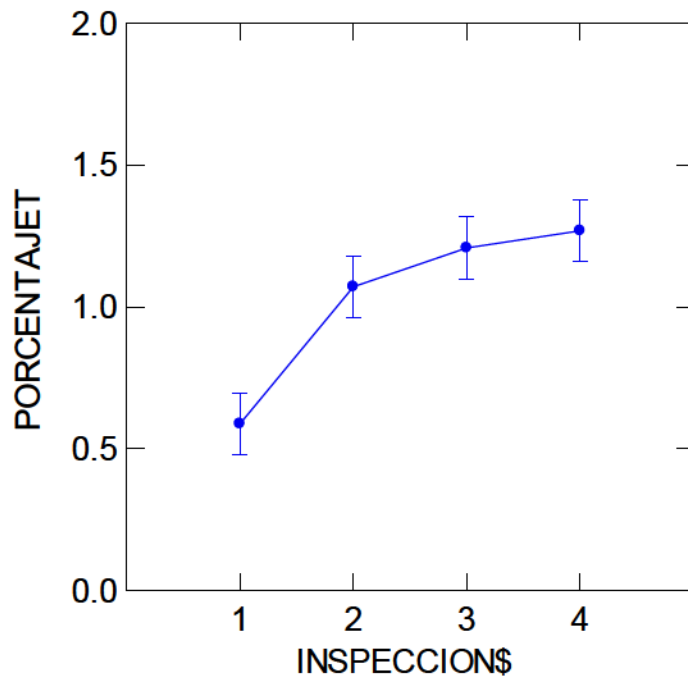
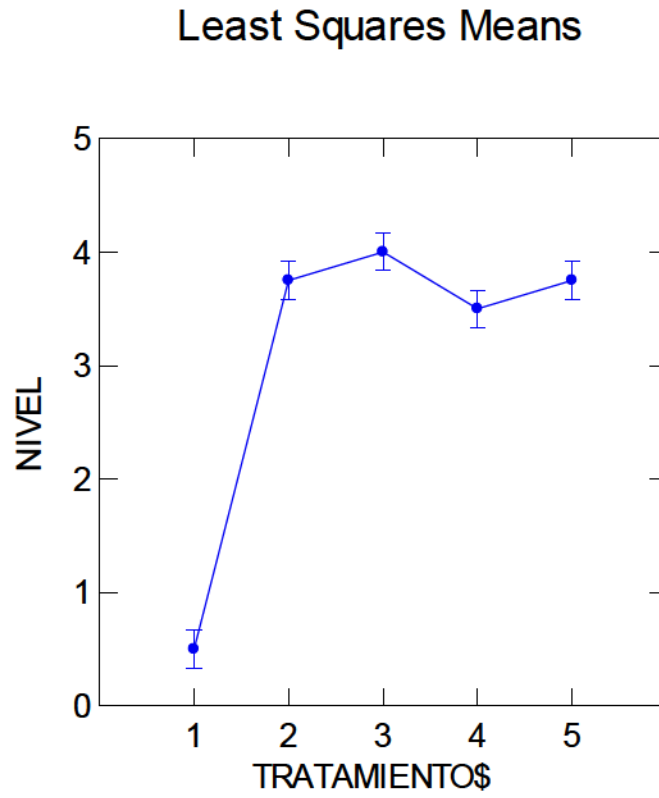


Figura 3: Análisis de la variable nivel de infección en el 1º experimento.



Least Squares Means

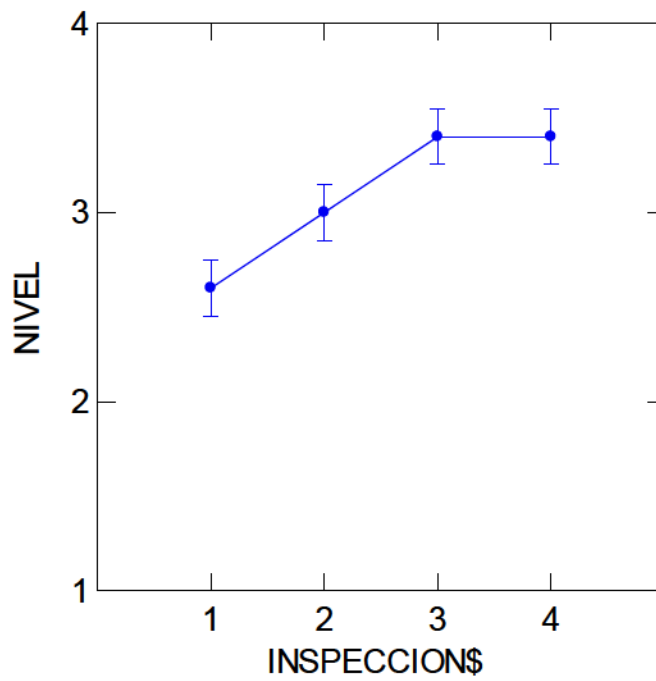
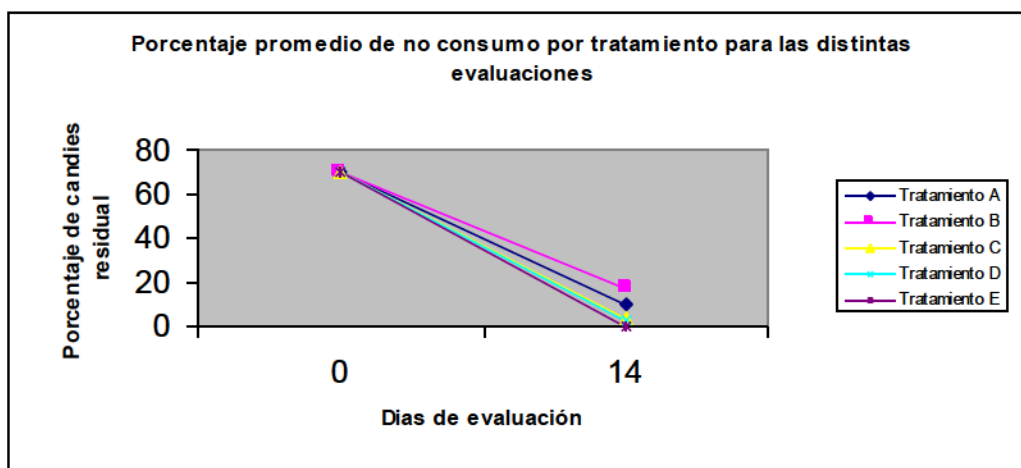


Figura 4: Porcentaje promedio de no consumo por tratamiento para las distintas evaluaciones



Cuadro 1: Porcentaje promedio de no consumo por tratamiento. En rojo se resalta el menor residuo de *candy* que presentó el *tratamiento C* (mezcla pasto limón –tomillo).

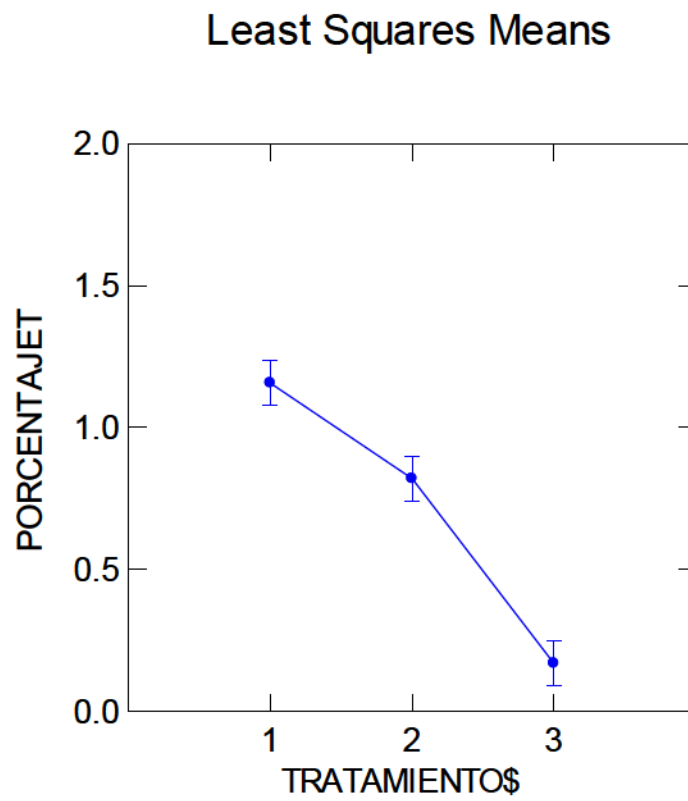
	Porcentaje promedio de no consumo por tratamiento	
	0	14 días
Tratamiento A (pasto limón-tomillo-albahaca)	70	10.1
Tratamiento B (pasto limón-tomillo-albahaca-ajedrea-orégano)	70	16.9
Tratamiento C (pasto limón –tomillo).	70	3.5
Tratamiento D (testigo blanco)	70	3
Tratamiento E (tilosina)	70	0

2º experimento de campo. Aplicación de esencias en jarabe: El porcentaje de colmenas enfermas / total de colmenas presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($p= 0,000$) pero no para los niveles de inspección ($p=0,210$). Los gráficos de LSD mostraron a tilosina como el único tratamiento diferente (fig. 5).

Con respecto a la variable nivel de infección, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p= 0,000$) pero no para los niveles de inspección ($p= 0,134$). Una vez más los gráficos de LSD señalan a tilosina como el tratamiento diferente (fig. 6).

Con relación al consumo, los resultados muestran que el *tratamiento B* (pasto limón-tomillo) presentó un consumo muy inferior comparándolo con ambos controles, probablemente debido una baja palatabilidad del jarabe habida cuenta que el tratamiento B fue el único que dejó residuos de jarabe en la cuarta evaluación (fig. 7 y cuadro 2)

Figura 5: Análisis de la variable porcentaje de colmenas enfermas/ total de colmenas en el 2º experimento.



Least Squares Means

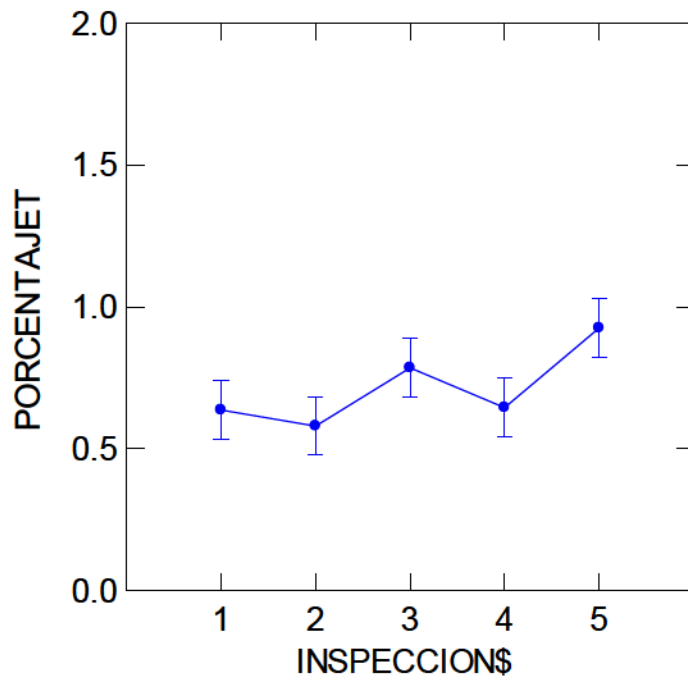
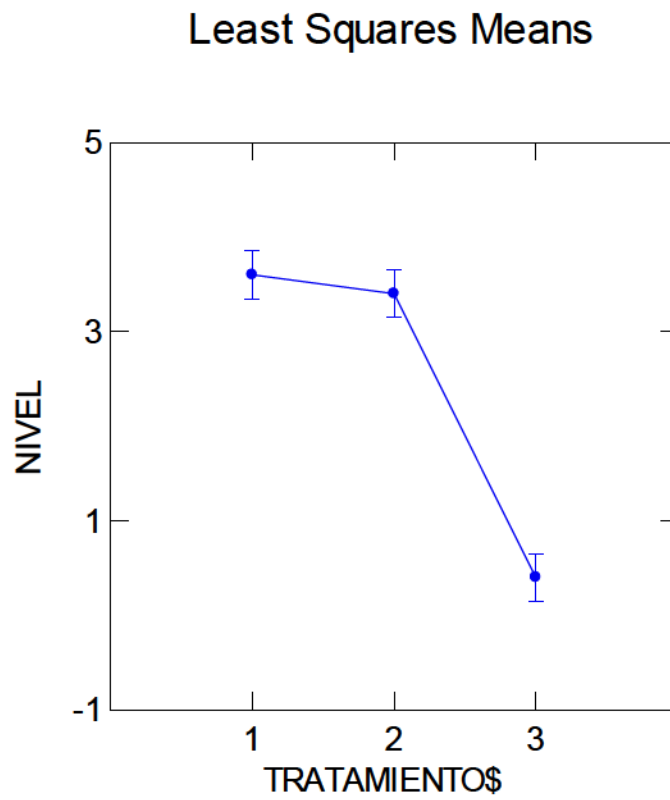


Figura 6: Análisis de la variable nivel de infección en el 2º experimento.



Least Squares Means

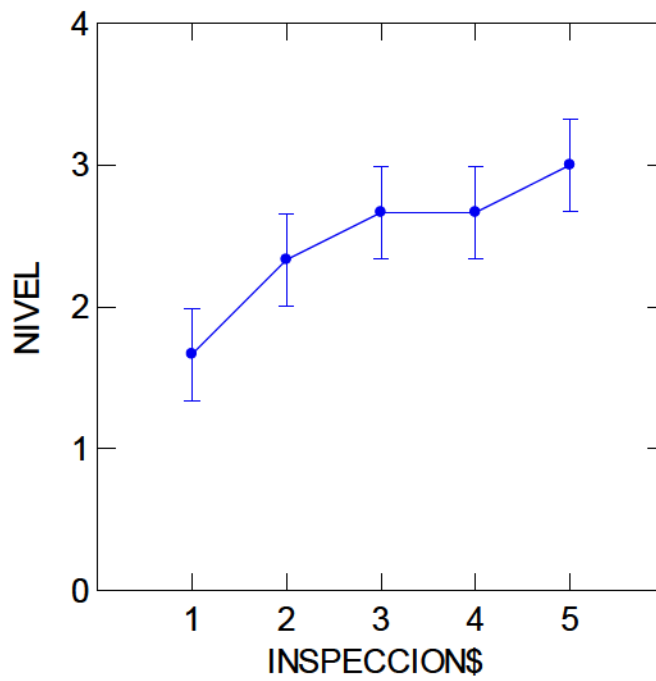
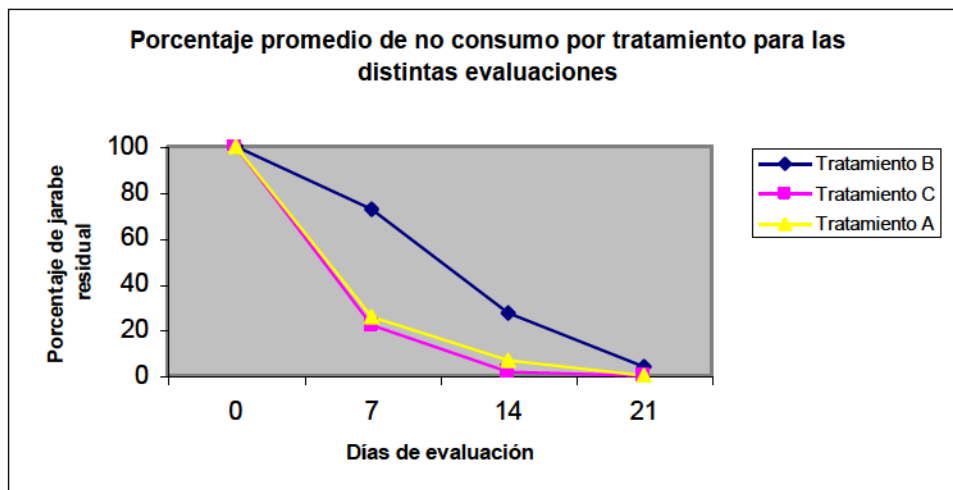


Figura 7: Porcentaje promedio de no consumo por tratamiento para las distintas evaluaciones.



Cuadro 2: Porcentaje promedio de no consumo por tratamiento. En celeste se denota el jarabe residual que queda en el tratamiento B luego de un mes.

Porcentaje promedio de no consumo por tratamiento				
	0	7 días	14 días	21 días
Tratamiento B (pasto limón tomillo)	100	72.7	27.4	3.9
Tratamiento C (testigo blanco)	100	22.0	1.8	0.0
Tratamiento A (tilosina)	100	25.6	6.7	0.0

CONCLUSIONES

Ninguna de las mezclas de aceites esenciales resultó efectiva para el control de loque americana en colmenas. Es importante destacar que el antibiótico tilosina en todas las formas de aplicación probadas fue altamente efectivo para el control.