

## EL ALIMENTO ACIDO Y LA NOSEMOSIS

Eva FORSGREN, Ingemar FRIES

Department of Entomology, Swedish University of Agricultural Sciences, Box 7044, S-75007, Uppsala, SUECIA  
E-mail: eva.forsgren@entom.slu.se

### Resumen

No es inusual que los apicultores añadan ácido acético al alimento invernal. Este resulta ser eficaz para la prevención de la formación de moho en el alimentador y puede tener otros efectos también. La composición química del alimento puede influir en la germinación de las esporas del parásito intracelular *Nosema apis*, pero los resultados son contradictorios en cuanto al impacto del alimento acidificado sobre las infecciones por *Nosema*. Estudiamos el efecto del alimento ácido sobre el desarrollo de *Nosema*, dentro del marco de un estudio de campo y en experimentos de laboratorio. A las colonias de abejas (N=82) del campo se les administró alimento invernal con distintas concentraciones de ácido acético. Muestras de abejas adultas de cada colonia se examinaron para la nosemosis, en otoño, en el momento de la alimentación y la siguiente primavera. Las abejas examinadas en el laboratorio (N=225) fueron alimentadas una a una con las mismas soluciones que las utilizadas en el estudio de campo, pero adicionadas de 10.000 esporas de *N. apis* por abeja. Las abejas testigo (N=75) recibieron jarabe de azúcar o sólo jarabe de azúcar acidificado. Se tomaron muestras a los 4, 8 y 12 días post-infección, y la cantidad de esporas del intestino de las abejas se contó con ayuda de un hemocitómetro. En un segundo experimento, también con adición de 10.000 esporas de *N. apis* por abeja, pero utilizando exclusivamente la más alta concentración de ácido acético, en comparación con el jarabe de azúcar sin acidificar, se estudió la tasa de abejas infectadas (n=210). No se encontró ningún efecto de la modificación del pH, consecuente a la agregación de ácido acético, ni sobre el desarrollo cuantitativo de la enfermedad ni tampoco sobre la tasa de infección de las abejas individuales. Los resultados del experimento en el campo confirman los resultados de laboratorio; la acidificación del alimento de las abejas melíferas no incide de ninguna manera sobre la predominancia o el desarrollo de la nosemosis.

**Palabras clave:** *Nosema apis* / ácido acético / alimento invernal

### Introducción

El parásito microsporidio *Nosema apis* infecta las células epiteliales de los ventrículos de la abeja melífera (*Apis mellifera*) (BAILEY, 1972; GRAAF, 1991). *N. apis* se ha ido extendiendo a escala mundial (NIXON, 1982), pero no se le considera como problema importante en los climas tropical y subtropical (WILSON y NUNAMAKER, 1983). En el clima templado, a la infección por *N. apis* se le debe considerar una seria enfermedad. *N. apis* tiene un importante impacto desfavorable sobre la capacidad productiva de las colonias de abejas en el clima templado (FARRAR, 1947; FRIES, 1984), así como sobre la supervivencia de la colonia durante el invierno, que se vea afectada por esta enfermedad (FARRAR, 1942; FRIES, 1988a). Los problemas ocasionados por la renovación de la reina se suman a los daños económicos causados por el parásito (FARRAR, 1947).

La adición de ácido acético al alimento invernal puede tener efectos favorables en la prevención de las distintas enfermedades. Un experimento, llevado a cabo en Noruega, evidenció que la adición de ácido acético al alimento reduce la incidencia de la cría calcificada (PEDERSEN, 1981), pero los resultados no se repitieron. Experimentos de laboratorio efectuados en Bélgica sugieren que el alimento acidificado reduce el desarrollo de *N. apis* en el intestino (MOTTOUL, 1996), pero los experimentos de campo, efectuados en Francia, no demostraron ningún impacto del alimento acidificado sobre el desarrollo de la nosemosis (VAILLANT, 1989). La composición química del alimento puede impactar sobre la germinación de las esporas de *N. apis*. Al penetrar en el intestino medio de la abeja, la espora germina bajo la influencia de los jugos intestinales. Numerosos estímulos químicos provocan la germinación *in vitro* (LAERE, 1977) y es posible que la modificación del medio químico circundante (un pH más bajo) *in vivo* tenga impacto sobre la germinación de las esporas. Por otra parte, el valor del pH de la miel es muy bajo, de 3,2-4,5, siendo la media de 3,9 (CRANE, 1975).

El objeto del experimento que presentamos es estudiar el efecto del alimento ácido sobre el desarrollo de *N. Apis* en condiciones de laboratorio y de campo.

### Materiales y métodos

#### *Estudios en el campo*

82 colonias, de 8 apiarios distintos, fueron tratadas aleatoriamente en tres modalidades diferentes, en el otoño del año 2002, en el momento de su alimentación.

1. Jarabe de azúcar 2:3 peso/vol. (w/v);
2. Alimento consistente en jarabe de azúcar 2:3 w/v, adicionado de 2 ml de ácido acético concentrado/1000ml;

3. Alimento consistente en jarabe de azúcar 2:3 w/v, adicionado de 4 ml de ácido acético concentrado/1000 ml.

Después de la alimentación, se recogieron muestras de abejas, al efecto de la determinación de la incidencia de *N. apis* y se midió el valor del pH en el alimento, en un determinado número de colonias sometidas a los distintos tipos de tratamiento.

#### Experimento de laboratorio I

Abejas adultas se alimentaron individualmente (10 µl por abeja, 30 abejas por tratamiento) con los mismos jarabes de azúcar que en el estudio de campo, pero adicionados de 10.000 esporas de *N. apis* por 10µl, en las siguientes combinaciones (Tabla I). Como se puede observar, las esporas se distribuyeron en el alimento acidificado o en el jarabe de azúcar, después de lo cual se procedió a la alimentación, con jarabe de azúcar o con alimento acidificado.

Tabla I

Combinación de tratamientos (no. del grupo), 30 abejas por tratamiento, experimento I

Tratamiento inicial	Tratamiento adicional		
	Jarabe de azúcar	Acido 1	Acido 2
Jarabe de azúcar + esporas	1	2	3
Acido 1 + esporas	4	5	6
Acido 2 + esporas	7	8	9
Jarabe solo	10	11	12

Jarabe de azúcar (azúcar:agua 3:2, pH 7,01)

Acido 1 (jarabe de azúcar + 0,2 % de ácido acético, pH 3,55)

Acido 2 (jarabe de azúcar + 0,4 % de ácido acético, pH 3,19)

Se incubaron las abejas a +30° C y 50 % de humedad relativa, teniendo constante acceso al alimento. Se examinaron las abejas, a razón de cinco por tratamiento, a los 4, 8 y 12 días del mismo, y el número de esporas del intestino medio se calculó con ayuda de un hemocitómetro. A los 12 días post-tratamiento se sacrificaron y se estudiaron las abejas para la presencia de la nosemosis.

#### Experimento de laboratorio II

Al efecto de profundizar el posible impacto del alimento ácido sobre *N. apis*, separadamente se llevó a cabo otro experimento, dentro del cual a las abejas se les administró esporas, inicialmente en jarabe de azúcar, y después se les alimentó con una cantidad adicional de jarabe de azúcar o con esporas en el alimento acidificado, seguido de una alimentación suplementaria con alimento acidificado solo. Dos grupos de abejas se alimentaron exclusivamente con jarabe de azúcar y, respectivamente, alimento acidificado. Estas abejas sirvieron como grupos control (Tabla II).

Tabla II

Combinación de tratamientos y número de abejas por tratamiento, experimento II

Tratamiento	No. de jaulas	Abejas/jaula	No. total de abejas
Jarabe de azúcar	1	15	15
Acido 2	1	15	15
Jarabe de azúcar + esporas	6	15	90
Acido 2 + esporas	6	15	90

A las abejas se les alimentó individualmente (10 µl/abeja) con jarabe de azúcar o alimento acidificado, adicionado de 10.000 esporas de *N. apis* por 10 µl. Las soluciones con contenido de esporas se congelaron por una semana. Todas las abejas se sacrificaron y se estudiaron para la presencia de la nosemosis a los 14 días post-tratamiento.

## Resultados

#### Experimento de laboratorio I

No se pudo encontrar ningún tipo de impacto del alimento acidificado sobre el desarrollo cuantitativo de *N. apis*, con respecto a los testigos (figura 1).

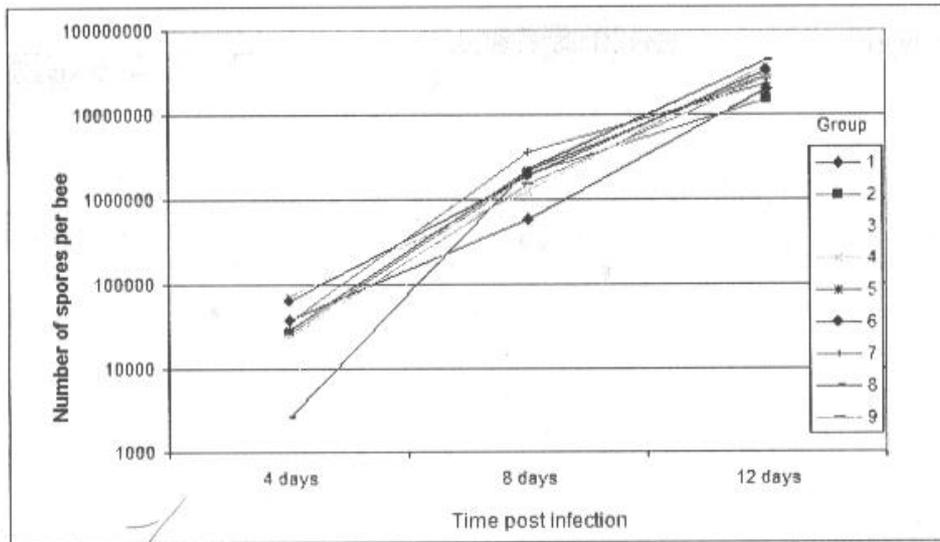


Figura 1 - Número promedio de esporas encontradas en el intestino medio de cinco abejas, estudiadas para la presencia de *N. apis*, a los 4, 8 y 12 días de la infección.

El número de abejas infectadas, en distintos grupos de tratamiento, se presenta en la figura 2. Las abejas examinadas a los 4 días de la infección están representadas en el gráfico, pero no se las incluyó en los cálculos de comparación (Kruskall-Wallis), al no presentar todas las abejas cantidades detectables de esporas a sólo 4 días de la infección (FRIES, 1988b).

En la figura 2, se presenta el número de abejas infectadas de los grupos infectados. No se registró ninguna diferencia significativa en la proporción de abejas infectadas entre los distintos tratamientos ( $X^2$ ,  $p > 0,05$ ).

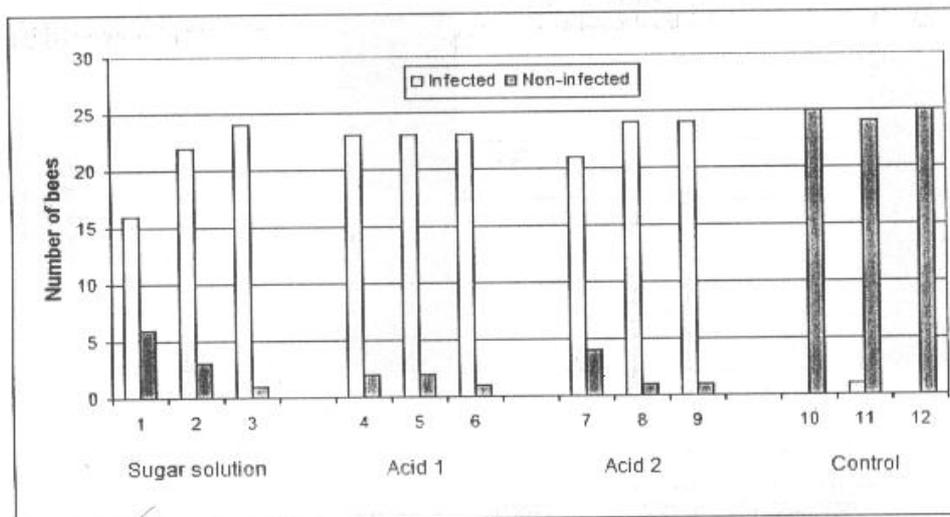


Figura 2 - Número de abejas infectadas en el experimento I. Los miembros de los grupos corresponden a la tabla I.

### Experimento de laboratorio II

En este experimento la mayor concentración de ácido acético se comparó con el jarabe de azúcar sin acidificar. Los datos demuestran que no se produce ninguna reducción de la proporción de abejas infectadas cuando las esporas se administran en el alimento acidificado y las abejas siguen recibiendo alimento acidificado también después de la infección ( $X^2$ ,  $p > 0,05$ ).

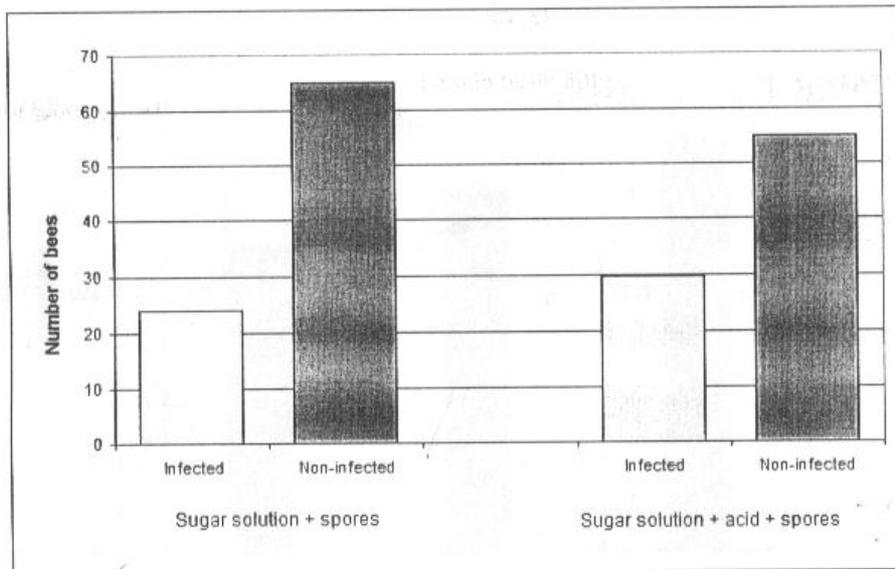


Figura 3 - Número de abejas infectadas en el experimento II. El tratamiento aplicado a los grupos está especificado en la tabla II.

*Experimento de campo*

La proporción de colmenas infectadas en el otoño del año 2002 está presentada en la figura 4. Ni en otoño ni en primavera se registra alguna diferencia significativa entre los distintos tratamientos, con respecto a los testigos ( $\chi^2$ ,  $p > 0,05$ ). La figura 5 presenta la reducción promedio de la cantidad de esporas por abeja, desde el otoño de 2002 hasta la primavera siguiente, calculada en porcentajes. No hay ninguna diferencia significativa entre las reducciones (inesperadas) en el nivel de esporas entre los grupos.

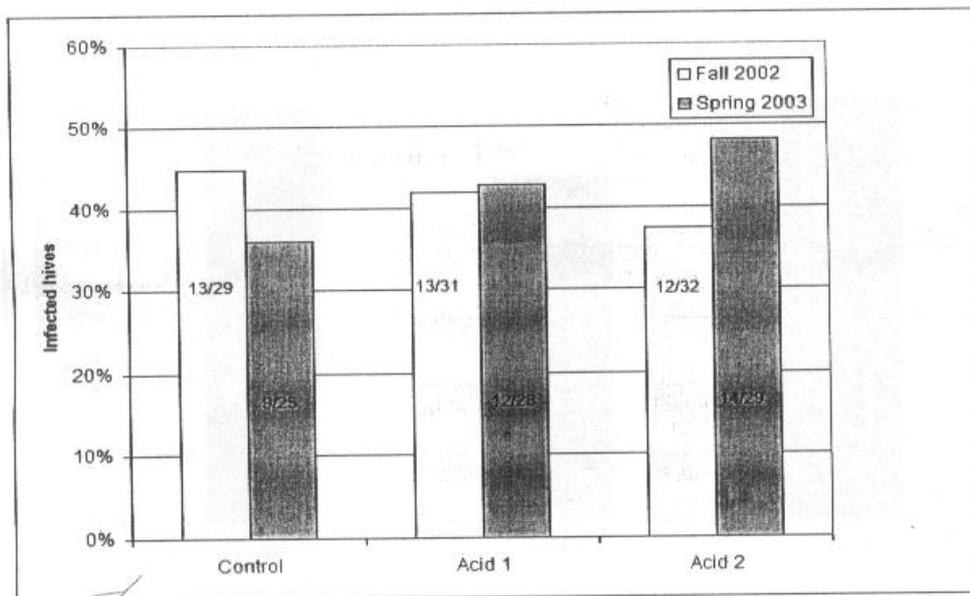


Figura 4 - Proporción de colonias de abejas infectadas, en otoño y respectivamente en primavera, en el grupo testigo alimentado con jarabe de azúcar y en los dos grupos, alimentados con distintas concentraciones de alimento acidificado. Los números de las columnas corresponden al número de colmenas infectadas, sobre el número total de colmenas.

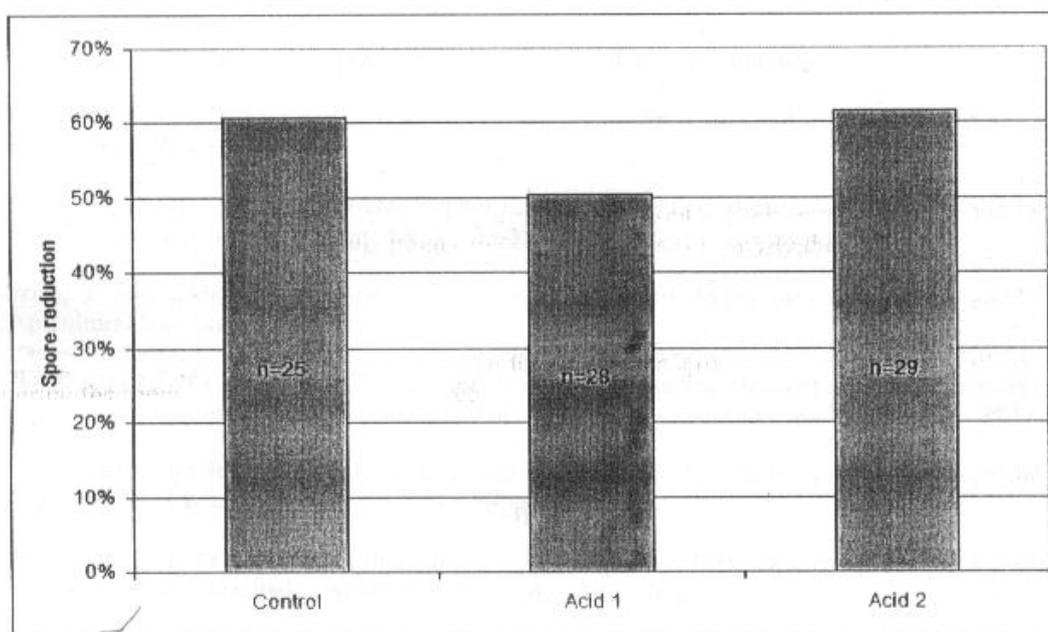


Figura 5 - Reducción media de las esporas, entre el otoño de 2002 y la primavera siguiente, calculada en porcentajes (%).

## Discusiones

Los resultados de laboratorio demuestran que la infectividad o el desarrollo cuantitativo de *N. apis* en la abeja melífera no están influidos por la acidez del alimento, cuando se consumen esporas. Esta conclusión es válida, sea cual sea la climatología en el momento del consumo de esporas en solución ácida y que, posteriormente, se administra a las abejas jarabe de azúcar normal, si las esporas se suministran en jarabe de azúcar y luego se les ofrece a las abejas jarabe ácido, o si las esporas se administran en jarabe ácido y a las abejas se les ofrece ulteriormente jarabe ácido.

Los resultados del experimento de campo ratifican las conclusiones de los experimentos de laboratorio. En la figura 4 se puede ver que la tendencia (no significativa) es contraria a la hipótesis de que la acidificación del alimento reduciría la incidencia de la nosemosis. De manera que los resultados de campo apoyan las conclusiones de los experimentos de laboratorio.

Conviene señalar que, en realidad, en este experimento la proporción de colmenas infectadas fue disminuyendo desde el otoño hasta la primavera (Figura 4) y que se registró una reducción del número de esporas por abeja, en el mismo intervalo (Figura 5), contrariamente a lo que se podía esperar (BAILEY y BALL, 1991), pero la tendencia es la misma en todos los grupos y sigue sin explicarse.

## BIBLIOGRAFIA

- Bailey, L. (1972), The preservation of infective microsporidian spores. *Journal of Invertebrate pathology* 20: 252-254
- Bailey, L.; Ball, B. V. (1991), Honey Bee Pathology. London, Academic Press
- Crane, E. (1975), Honey. Morrison and Gibb Ltd, London and Edinburgh
- Farrar, C. L. (1942), Nosema disease contributes to winter losses and queen supersedure *Gleanings in Bee Culture* 70: 660-661, 701
- Farrar, C. L. (1949), Nosema losses in package bees as related to queen supersedure and honey yields. *Journal of economic entomology* 40(3): 333-338
- Fries, I. and Ekbohm, G. (1984), Nosema apis, sampling techniques and honey yield. *Journal of Apicultural Research* 23:102-105
- Fries, I. (1988a), Contribution to the study of nosema disease (*Nosema apis* Z.) in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. PhD thesis
- Fries, I. (1988b), Infectivity and multiplication of Nosema apis Z. in the ventriculus of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 19: 319-328
- Van Laere, O. (1977), Factors influencing the germination of *Nosema apis* spores. Biological aspects of nosema disease, Merelbeke, Belgium, Apimondia Publ. House
- Mottoul, J.-Ph. (1996), Etude de l'acidification des nourritures contre *Nosema apis* Zander. *La Belgique Apicole* 2: 39-43
- Pedersen, K. (1981), Lovende resultater med eddik mot kalkyngel. *Birokteren* 97: 132-133
- Vaillant, J. (1989), Nourrissement au sirop de sucre acidifié. *La santé de l'abeille* 110: 55-60