

NOSEMIASIS DE LAS ABEJAS

(EVALUACION DE LA NOSEMIASIS DE LAS ABEJAS (APIS MELLITICA L.) (SEGUNDA PARTE)

Frederico Alvarado Viquez*
Gilberto Fuentes G., M.Sc.**

William Ramirez B., Pb. D.***
Carmen Ma. Sáenz Sánchez****

CUADRO 1

ANALISIS DE LA VARIACION DEL NUMERO DE ESPORAS DE NOSEMA APIS

Fuentes de variación	G.L.	C.M. del No. de esporas de Nosema
Bloques	6	11.122,58ns
A	1	883.419,50**
B	1	5.492,75ns
A x B	1	129.925,00*
Error A	4	17.963,24
C	4	165.206,70**
A x C	4	21,41**
A x C	4	
C		
lineal	1	1.027.589,00**
cuadrático	1	34.756,38**
cúbico	1	16.610,75ns
cuarto	1	13.175,17ns
A ² x C		
C		
lineal	1	59.697,26ns
cuadrático	1	206.581,90**
cúbico	1	2.757,24ns
cuarto	1	1.841,94ns
B x C	4	5.981,75ns
A x B x C	4	7.158,06ns
Error B	96	7.631,99
CVa		99,14
cVb		58,10

** Significativo al 1o/o

* Significativo al 5o/o

ns No significativo

A= Con y sin inóculo

B= Con y sin Fumidil B

C= Tiempo

La segunda parte de este estudio, realizada en el Covoil de Alajuela, en donde se inoculó con nosema a unas colmenas y otras no, reveló que entre los tratamientos con y sin N. apis hubo diferencias estadísticas significativas. Sin embargo no hubo diferencias significativas entre los tratamientos con y sin Fumidil B (Cuadro 1) Esto quiere decir que el número de esporas en los tratamientos con y sin inóculo arrojó diferencias considerables, mientras que en los tratamientos con y sin antibiótico no hubo diferencias en el número de esporas, a tal punto que fueron estadísticamente iguales. En la Figura 2 se observa que el mayor número de esporas, se presentó en el tratamiento en donde se inoculó N. apis y no se aplicó el antibiótico. El tratamiento con inóculo más Fumidil B, arrojó un resultado menor que el anterior. Estos son los dos tratamientos en que se presentó el mayor número de esporas. También se observa que en los dos tratamientos sin inóculo, fue donde se detectó el menor número de esporas. El tratamiento en que se aplicó el antibiótico y no se inoculó con nosema, fue el que tenía menor número de esporas. En el tratamiento que no se aplicó el antibiótico y tampoco se suministró el inóculo de nosema, arrojó un número de esporas mayor que el anterior (Fig. 2). En el Cuadro 1 se aprecia la interacción de A x B, que es el efecto producido por la aplicación o no aplicación de inóculo o antibiótico. Este arrojó diferencias estadísticamente significativas; con esto se demostró que el antibiótico puede ser usado para las colmenas enfermas, pero su efecto benéfico se extiende también para las colmenas supuestamente sanas, a las que se les suministra como preventivo. Esto es muy importante porque el Fumidil B se puede utilizar en zonas donde la incidencia del patógeno es muy alta. En la zona en donde se llevó a cabo este experimento no hubo diferencias significativas que demostraran la necesidad de usar el Fumidil B,

pues los datos demuestran que todas las colmenas se recuperaron durante el período de cosecha, independientemente de si se aplicó o no el antibiótico. También en el Cuadro 1 se aprecia el efecto de C, el cual estadísticamente es altamente significativo, esto quiere decir que el tiempo es un factor importante en el desarrollo del esporozario en cada uno de los tratamientos. También reveló diferencias estadísticas significativas, la interacción del factor tiempo, con el efecto producido por los tratamientos con o sin inóculo.

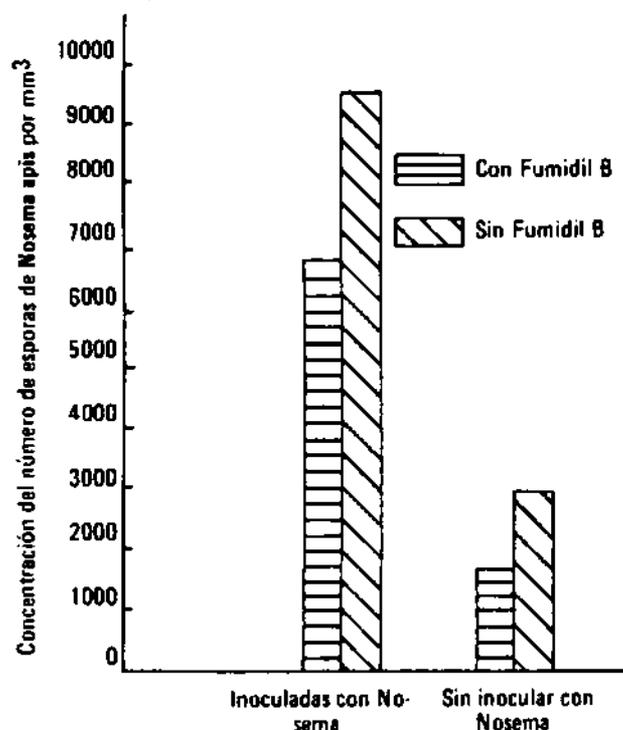


Fig. 2. Concentración del número de esporas de *Nosema apis* en cada tratamiento.

En la Figura 3 se observa que al empezar el experimento se obtuvo un mayor número de esporas en los tratamientos con *N. apis*, que en las colmenas que no fueron tratadas con este microorganismo, pero luego disminuyó constantemente el número de esporas y para el 15 de diciembre prácticamente no se determinó esporas en los recuentos microscópicos. El número de esporas de los tratamientos en que no se inoculó el esporozario, se debe al efecto que pudo haber producido la entrada de abejas enfermas, colmenas sanas, por desorientación al regreso a la colmena, ya que las colonias se colocaron en bloques, cada uno estaba formado por un tratamiento diferente y estuvieron a su vez, por razones de espacio, muy juntas una colmena de la otra.

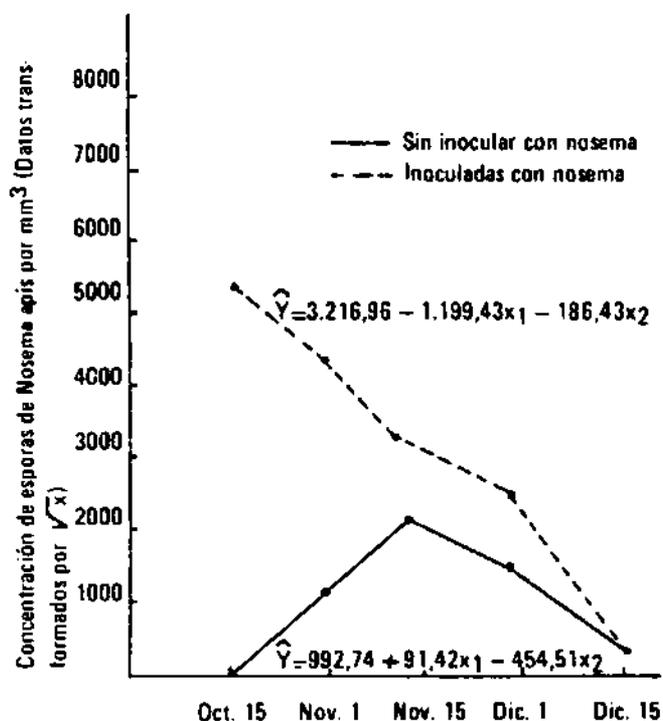


Fig. 3. Concentración del número de esporas de *Nosema apis* en el tiempo, (Efecto C), en colmenas inoculadas y sin inocular con este patógeno.

También podría ser que durante la época del experimento todas las colmenas tenían una infección incipiente. Otra explicación pudo haber sido el efecto producido por la deriva. El efecto de la interacción del factor C (tiempo) con la aplicación del antibiótico, no fue estadísticamente significativo. Tampoco la interacción del tiempo con la aplicación del antibiótico y el inóculo. En la Figura 3 se aprecia los datos del análisis de regresión por polinomios ortogonales del número de esporas en función del tiempo. El efecto producido por el número de esporas en las colmenas inoculadas con nosema, en función del tiempo, es cuadrático ($P \leq 50\%$) y su ecuación es $\hat{Y} = 3.216,96x_1 - 186,43x_2$. El número de esporas en colmenas sin inocular con nosema, en función del tiempo, arrojó un efecto cuadrático ($P \leq 10\%$) y lo describe la ecuación $\hat{Y} = 992,74 - 91,42x_1 - 454,51x_2$. En el Cuadro 2 se muestra el análisis de variación del índice de peso de las colmenas, con respecto al peso inicial; el tiempo (C) fue la única fuente de variación que mostró ser significativa ($P \leq 10\%$). Las

demás fuentes de variación no fueron significativas ($P \leq 5\%$). Hubo diferencias en el peso final de las colmenas de cada una de los tratamientos, sin embargo éstos no fueron estadísticamente significativos; por el contrario, la diferencia en peso de las colmenas de todos los tratamientos en el transcurso del experimento y a lo largo de cada una de las pesadas, fue significativo con respecto al tiempo. En la Figura 4 se aprecia que a partir del tercer mes, el aumento del peso de las colmenas fue notablemente aumentado debido a un incremento del flujo de néctar, esto se debe a que a partir de este momento las colmenas en general ya se habían liberado del patógeno. En el punto de la curva en donde se realizó la primera pesada (1 de octubre), el inóculo fue suministrado y luego se aplicó el antibiótico por primera vez a los 15 días (15 de noviembre) y 15 días después se realizó la segunda aplicación del antibiótico. El peso registrado al mes de haberse inoculado el protozooario, se mantuvo en forma ascendente, pues hay que tomar en cuenta que las reinas habían sido alimentadas con anterioridad al suministro del inóculo. Esto estimuló a la reina a una mayor postura. Como es típico con este patógeno, el inóculo afectó en mayor grado a las abejas adultas pecoreadoras. El peso de las colmenas no fue afectado pues había una gran cantidad de cría joven por nacer debido al estímulo que la colmena había recibido por alimentación artificial del jarabe de azúcar, antes de ser inoculadas. El objeto de haber dejado este lapso entre la aplicación del inóculo y de la primera dosis de Fumidil B, fue para permitir que se infectara la abeja adulta y la que está por entrar a la fase adulta. La primera dosis de antibiótico ayudó a combatir las esporas de la generación más vieja, pero no fue suficiente, pues la generación que la precedía se contaminó con esporas provenientes de los panales o de las reservas de miel, por lo que fue necesario la segunda aplicación de Fumidil B para eliminar el número de esporas que quedaba en la colmena. En ese momento había un déficit de abejas pecoreadoras, por lo que las abejas que quedaron en la colmena, aprovecharon las reservas que habían hasta que la colmena se recuperó y apareció un mayor número de abejas con la suficiente edad para pecorear y volver a incrementar el peso de la colmena. El aumento en peso a lo largo de todo el experimento se debió a que se llevó a cabo antes de que el flujo de néctar comenzara y este estudio terminó en la mitad del período de cosecha. Es de suponer que por esta razón la colmena pudo haber aumentado más de peso.

CUADRO 2

ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN DEL ÍNDICE DE PESO DE LAS COLMENAS CON RESPECTO AL PESO INICIAL DE LAS MISMAS

Fuentes de variación	G.L.	C.M.
Bloques	5	2,10ns
A	1	0,0001ns
B	1	1,07ns
A x B	1	1,99ns
Error A	15	1,13
C	4	27,01**
lineal	1	97,3081**
cuadrático	1	5,3505**
cúbico	1	0,6869**
cuarto	1	4,7128**
A x C	4	0,40ns
B x C	4	0,33ns
A x B x C	4	0,52ns
Error B	80	0,40
CVa		45,43
CVb		27,03

** Significativo al 1%o

* Significativo al 5%o

ns No significativo

A= Con y sin inóculo

B= Con y sin Fumidil

C= Tiempo

CUADRO 3

PROMEDIOS MENSUALES DE TEMPERATURA, HUMEDAD RELATIVA Y PRECIPITACION EN LA ESTACION EXPERIMENTAL AGRICOLA FABIO BAUDRIT M., ALAJUELA (OCTUBRE 1980 - MARZO 1981)

Meses	\bar{X} Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	\bar{X} Humedad relativa (%o)	\bar{X} Precipitación (mm)
Octubre	21,5	88,0	271,1
Noviembre	21,6	84,0	196,7
Diciembre	22,0	71,0	31,0
Enero	21,9	68,5	0,0
Febrero	23,4	63,2	0,3
Marzo	23,4	66,0	5,2

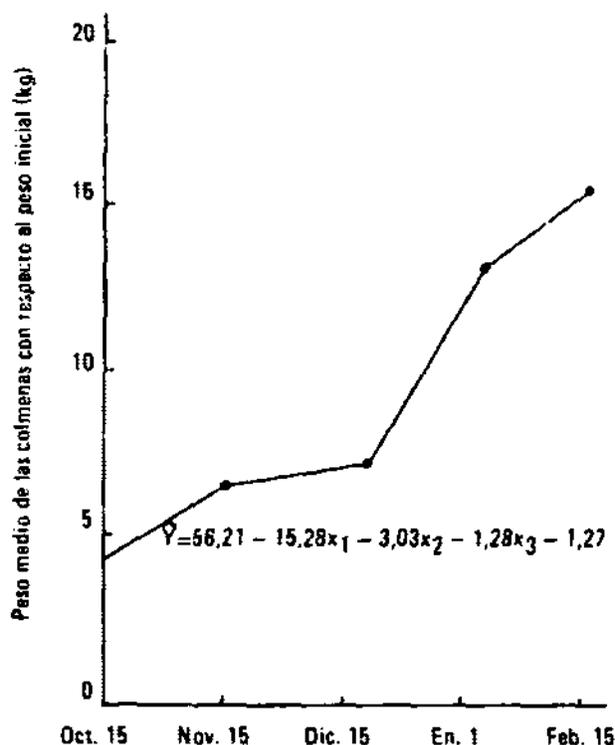


Fig. 4. Peso medio del porcentaje en peso de las colmenas inoculadas y no inoculadas en el tiempo.

En el Cuadro 2 y en la Figura 4 se muestra el aumento en peso de las colmenas por regresión de polinomios ortogonales en el tiempo, se comprobó el aumento de peso al final de la prueba de todas las colmenas. De acuerdo con este Cuadro 2, su efecto es cuarto y reveló diferencia estadística significativa ($P \leq 1\alpha/0$); su ecuación está dada por $Y = 56,21 - 15,28x_1 - 3,03x_2 - 1,28x_3 - 1,27x_4$. En los meses de setiembre y octubre se registraron las mayores precipitaciones, esto pudo haber provocado un "stress" en las colmenas, al reducirse el flujo de néctar y polen, ocasionando que en esos días las abejas defecaran dentro de la colmena, pudiendo aumentar de esta manera la cantidad de inóculo por auto-infección. Doull y Cellier (7) y El-Bamby (9), aseguran que las abejas enfermas mueren durante la actividad de recolección de néctar y polen, pero la mortalidad es superada por lo general por la cría desarrollada durante los períodos en que hay aumento de la misma y del flujo de polen y las diferencias entre apiarios no pueden ser correlacionadas con condiciones de clima. Ellos sugieren que las prácticas de manejo tienen un efecto importante en el nivel de infección. Un

adecuado manejo y alimentación artificial estimularían a la colmena lo suficientemente como para mantener buenas reservas de miel, polen y una intensa postura. Esto fue precisamente lo que se hizo con el apiario experimental en la segunda parte de este estudio y es la razón por la cual las colmenas se fueron recuperando del inóculo al ir disminuyendo el número de esporas y aumentar el peso de las colmenas.

CONCLUSIONES

- 1.- Un buen manejo de las colmenas, que incluye cambio de reina cada año, evitar excesiva manipulación eliminación de panales viejos, una alimentación artificial adecuada que proporcione suficientes reservas de miel y polen durante los períodos críticos, mantienen a la colmena libre de la infección de nosemiasis. De ahí que es recomendable cambiar de reina todos los años, para que la postura no decline y así la colmena no se debilite.
- 2.- La nosemiasis con buen manejo de las colonias desaparece en las condiciones del Coyo de Alajuela, provincia de Alajuela, aunque la colmena sea infectada artificialmente con altas concentraciones de nosemiasis, y aún cuando sean o no tratadas con el antibiótico Fumidil B.
- 3.- La nosemiasis no es una enfermedad limitante de la apicultura en las condiciones del Valle Central, donde la precipitación, nubosidad y humedad relativa no son altas, como en la Vertiente Atlántica y posiblemente otras zonas donde pareciera que sí hace más estragos en las colmenas.

RESUMEN

Se evaluó el desarrollo del patógeno *Nosema apis* y la respuesta de la abeja milífera (*Apis mellifera*) a este esporozoario, en condiciones del Coyo de Alajuela, en el Valle Central de Costa Rica. El estudio se dividió en dos partes; una de ellas consistió en un muestreo en varios apiarios con el propósito de ubicar y evaluar el desarrollo del esporozoario y su nivel de infección durante el período de estudio. Se detectó al esporozoario, pero su nivel de infección en los lugares en que se encontró no fue de importancia económica. La segunda parte consistió en un diseño de bloques completos al azar, se realizó lecturas sucesivas del peso de las colmenas, para generar parcelas divididas en el tiempo. Se pesó cada colmena una vez al mes. También cada 15 días se tomó muestras de 25 abejas a las que se les hizo

el recuento esporular por el método del hemocitometría, en un microscopio óptico. Los tratamientos fueron cuatro: a dos de ellos se les suministró el antibiótico Fumidil B (fumagilina) y a los otros dos no se les dio este antibiótico. De cada uno de estos dos, a uno se le suministró inoculo de la nosemiasis y al otro no. Se determinó que hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos inoculados y no inoculados con nosema. Entre los tratamientos con y sin antibiótico, no hubo diferencias estadísticas significativas en cuanto al recuento de esporas. El efecto del factor C (tiempo) fue altamente significativo, esto significa que desempeña un papel importante en el desarrollo del patógeno, debido a que conforme avanzó, el peso aumentó y el número de esporas producto de la inoculación disminuyó con el tiempo. Este patógeno en condiciones de bosque húmedo premontano pareciera que no es un peligro potencia, ya que tanto los tratamiento con y sin inoculo o antibiótico, con el tiempo fueron ganando peso y fue desapareciendo el patógeno. Basta con un buen manejo y adecuada alimentación artificial en las épocas de escasez de néctar y polen, para que la colmena se vea estimulada y haya un buen control de la nosemiasis, por lo que no es necesario suministrar antibióticos para combatir este patógeno en condiciones del Valle Central.

LITERATURA CITADA

1. Bailey, L. Effect of fumagillin upon *Nosema apis* (Zander). *Nature* 171: 212. 1953.
2. Patogénesis y ecología de *Nosema apis*. In Apimondia. Simposio de Biología y Patología Apícola. Aspectos biológicos de la nosemiasis. Editorial Apimondia, Bucarest. Rumania, 1977. pp. 41-46.
3. Burnside, C.F. y Revell, I.L. Observations on the nosema disease of honey bees. *Journal of Economic Entomology* 41 (4): 603-607. 1948
4. Buys, B. Una nosemiasis que afecta a las crías de abejas melíferas en la República Sudafricana. In Apimondia. Simposio de Biología y Patología Apícola. Aspectos biológicos de la nosemiasis. Editorial Apimondia, Bucarest, Rumania, 1977. pp. 79-82.
5. Cornejo, L. G. y Rossi, L.O. Enfermedades de las abejas, su profilaxis y prevención. Segunda Edición. Editorial Hemisferio Sur Argentina. 238 p. 1975.
6. Doull, K.M. A theory of the causes of development of epizootics of nosema disease of the honey bee. *Journal of Insect Pathology* 3 (3): 297-309. 1961.
7. Doull, K.M. y Cellier, K.M. A survey of the incidence of nosema disease (*Nosema apis* Zander) of the honey bee in South Australia. *Journal of Insect Pathology* 3(3): 280-288. 1961.
8. Doull, K.M. y Eckert, J.E. A survey of the incidence of nosema disease in California. *Journal of Economic Entomology* 55: (3) 313-317. 1962.
9. El-Bamby, M.A. Estudios ecológicos acerca de la nosemiasis en la República Arabe de Libia. In Apimondia. Simposio de Biología y Patología Apícola. Aspectos biológicos de la nosemiasis. Editorial Apimondia, Bucarest. Rumania. 1977. pp. 57-59.
10. Espina-Pérez, D. Apicultura Tropical. Segunda edición. Edit. Tecnológica de Costa Rica, Cartago, Costa Rica, 420 p. 1981.
11. Farrar, C.L. *Nosema* losses in package bees as related to queen supersedure and honey yields. *Journal of Economic Entomology* 40(3): 333-338. 1947.
12. Furgala, B. The effect of the intensity of nosema inoculum on queen supersedure in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Journal of Insect Pathology* 4(4): 429-432. 1962.
13. Guillian, M. y Shimanuki, H. In vitro phagocytosis on *Nosema apis* spores by honey bee hemocytes. *Journal of Invertebrate Pathology* 9: 387-389. 1967.
14. Hartuig, A. y Przelecka, A. Nucleic acids in intestine of *Apis mellifera* infected with *Nosema apis* and treated-with fumagillin DCH: Cytochemical and autoradiographic studies. *Journal of Invertebrate Pathology* 18: 331-336. 1971.
15. Jacobs, F. Aspectos morfológicos del desarrollo de *Nosema apis* (microsporidia) estu-

- diados con microscopio óptico. In Apimondia. Simposio de Biología y Patología Apícola. Aspectos biológicos de la nosemiasis. Editorial Apimondia, Bucarest, Rumanía, 1977. pp. 85-89.
- 16.- Jerebkin, M.V. Estado fisiológico de las abejas infectadas con nosema. In Apimondia. Simposio de Biología y Patología Apícola. Aspectos biológicos de la nosemiasis. Editorial Apimondia, Bucarest, Rumanía, 1977. pp. 90-94.
- 17.- Acerca de la capacidad de un extracto del intestino medio de los insectos de coagular la caseína de la leche. In Apimondia. Simposio de Biología y Patología Apícola. Aspectos biológicos de la nosemiasis. Editorial Apimondia, Bucarest, Rumanía, 1977, pp. 105-108.
- 18.- Katznelson, H. y Jamieson, C.A. Control of nosema disease of honey bee with fumagillin. *Science* 115: 70-71. 1952
- 19.- Kostecki, R. Aspectos de la lucha biológica contra la nosemiasis en Polonia. In Apimondia. Simposio de Biología y Patología Apícola. Aspectos biológicos de la nosemiasis. Editorial Apimondia, Bucarest, Rumanía, 1977, pp. 47-50.
- 20.- L'Arrive, J.C.M. Tolerance of honey bees to nosema disease. *Journal of Invertebrate Pathology* 7: 408-413. 1965.
- 21.- Moeller, F.E. Nosema disease control in package bees. *American Bee Journal* 102: 390-392. 1962.
- 22.- Nosema disease. It's control in honey bee colonies. U.S. Department of Agriculture. Technical Bulletin No. 1569. 16 p. 1978
- 23.- Morse, R. Honey bee pests, predators and disease. Cornell University. Press, Ithaca & London, pp. 64-73, 320-322.
- 24.- Oertel, E. Nosema disease in the baton Rouge area. *Gleanings in Bee Culture* 92: 427-437. 1964.
- 25.- Revell, I.L. Longevity of refrigerated nosema spores, *Nosema apis*, a parasite of honey bees. *Journal of Economic Entomology* 53(6): 1132-1133. 1960.
- 26.- Roberts, M.D. Coprological examination for the detection of *Nosema apis* in the honey bee. *Journal of Invertebrate Pathology* 9: 143-144. 1967.
- 27.- Shabanov, M. Estudios relativos a la nosemiasis en Bulgaria. In Apimondia. Simposio de Biología y Patología Apícola. Aspectos biológicos de la nosemiasis. Editorial Apimondia, Bucarest, Rumanía, 1977, pp. 95-104.
- 28.- Shimanuki, H., Lehnert, T. y Knox, D. Transmisión of nosema disease from infected honey bee workers to queens in mating nuclei. *Journal of Economic Entomology* 66(3): 777-778. 1973.
- 29.- Steche, W. Problemas abiertos en relación con la biología de *Nosema apis* (Zander). In Apimondia. Simposio de Biología y Patología Apícola. Aspectos biológicos de la nosemiasis. Editorial Apimondia, Bucarest, Rumanía, 1977. pp. 25-40.
- 30.- Wang, Der. I. y Moeller, F.E. Histological comparissons of the development of hypopharyngeal glands in healthy and nosema infected worker honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology* 14: 135-142. 1969.