

EXPERIENCIAS REALIZADAS CON ACEITES ESENCIALES PARA EL CONTROL DE LOQUE AMERICANA DE LAS ABEJAS

Graciela N. Albo^a, Francisco J. Reynaldi^b, Elsa Cerimele^c, Marisa R. De Giusti^d y Adriana M. Alippi^e

^a Curso Monogástricos, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, calles 60 y 119, 1900 La Plata, Argentina; ^b Becario CONICET, CIDEFI, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP; ^c Curso Química Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP; ^d Investigadora CIC, Departamento de Físico-Matemática, Facultad de Ingeniería, UNLP; ^e Investigadora CIC, CIDEFI, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. E-mail: Cidefibacterias@yahoo.com.ar / zooamg@agro.unlp.edu.ar

La loque americana ocasionada por la bacteria esporulada *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* es una de las enfermedades más graves de origen bacteriano que afecta a las larvas y pupas de las abejas (*Apis mellifera*, L.).

Los aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas poseen efectos antimicrobianos “*in vitro*” y han sido utilizados con éxito en colmenas para el control de la varroasis y la cría yesificada dado que son productos naturales no contaminantes (Imdorf *et al.*, 1994).



Síntomas clínicos de loque americana

Desde el año 1995 se está estudiando en la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, la efectividad de esencias para el control de loque americana en colmenas infectadas artificialmente.

Entre los diferentes experimentos realizados, se evaluó la toxicidad oral aguda de aceites esenciales (orégano, pasto limón, tomillo, ajedrea y albahaca) y mezclas de estas esencias sobre abejas adultas para el cálculo de los correspondientes valores de dosis letal media (DL_{50}) (Albo *et al.*, 2001, 2003). Los valores de DL_{50} obtenidos demuestran que las esencias y las mezclas de esencias son compuestos “virtualmente no tóxicos” o “levemente tóxicos”, respectivamente (ICBB, 1985).

Se efectuaron 4 ensayos de campo, los cuales se resumen a continuación:

Primer experimento: Tratamiento curativo con esencias puras aplicadas como único candy.

Se utilizaron 25 colmenas de abeja melífera de raza italiana (*Apis mellifera ligustica*) homegeneizadas e inoculadas mediante injerto de un trozo de panal con síntomas de loque americana (45 ± 5 escamas). Luego de 50 días de efectuada la inoculación se introdujeron los tratamientos (5 repeticiones de cada uno) en candies de 200 g c/u (1 parte de miel y 4 partes de azúcar) conteniendo: a) ajedrea, b) pasto limón, c) orégano y d) tomillo más el control inoculado sin esencias. Luego de la evaluación estadística, los resultados demostraron que ninguno de los aceites protegió a las colmenas de la contaminación por loque americana en las dosis y aplicaciones usadas (Albo *et al.*, 2001, 2003)



Cultivo de pasto limón

Segundo experimento: Tratamiento preventivo con esencias puras aplicadas en 6 candies escalonados.

Se utilizaron 25 colonias de abeja melífera de raza italiana homegeneizadas e inoculadas mediante injerto de un trozo de panal con síntomas de loque americana (20 ± 5 escamas). La aplicación de las dosis totales fue dividida en 6 partes, preparando candies de 70 g c/u (1 parte de miel y 4 partes de azúcar) conteniendo: a) ajedrea, b) pasto limón, c) orégano, d) tomillo y e) control inoculado sin esencias. Los tratamientos comenzaron 15 días antes de la inoculación de los panales enfermos. Ninguno de los aceites probados se diferenció del control sin tratamiento y todos presentaron altos niveles de infección (Albo *et al.*, 2001, 2003).

Tercer experimento: Tratamiento preventivo con mezclas de esencias en forma de 9 candies escalonados.

Se emplearon 25 colonias de abeja melífera de raza italiana. Las colonias se homogeneizaron y distribuyeron en un diseño enteramente al azar. Se inoculó colocando un trozo de panal de cría proveniente de colmenas naturalmente infectadas con loque americana, en el cuadro central de la cámara de cría (Alippi *et al.*, 1999). Se suministraron 9 aplicaciones quincenales de mezclas de esencias en forma de candies de 70 gramos cada uno. El 1º candy fue suministrado en forma preventiva 15 días antes de la inoculación. En total se realizaron 5 tratamientos con 5 repeticiones c/u, correspondientes a: *Tratamiento A*: 10% pasto limón + 20% tomillo + 70% de albahaca; *Tratamiento B*: 5% pasto limón + 11% tomillo + 21% ajedrea + 26% orégano + 37% albahaca ; *Tratamiento C*: 20% pasto limón + 80% tomillo y *Tratamiento D*: control sin tratamiento. Se efectuaron 4 períodos de inspección, una vez por mes a partir de la inoculación. En el análisis comparativo de las mezclas de esencias entre sí, se observaron diferencias significativas en el porcentaje de colmenas enfermas con respecto al 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 ($p= 0,189$), por lo tanto, ninguna mezcla de esencias presentó buen comportamiento para el control de la enfermedad (Albo *et al.*, 2003).

Cuarto experimento. Tratamiento preventivo con mezclas de esencias aplicadas en jarabe.

La aplicación de los tratamientos se realizó en forma líquida, suministrado en forma de 5 aplicaciones mensuales de 750 cm^3 de jarabe de sacarosa al 50%, adicionado con $0,5 \text{ cm}^3$ de esencia de frambuesa para mejorar la palatabilidad. Los tratamientos fueron: *Tratamiento A*: 20% de pasto limón + 80% de tomillo y *Tratamiento B*: control (sacarosa al 50% en jarabe).

Los resultados observados al cabo de los 5 meses que duró el ensayo, mostró a la mezcla de lemon grass - tomillo como el tratamiento estadísticamente diferente y el menos consumido, no presentando efecto favorable para el control de la enfermedad.

CONCLUSIONES

Pese a su alta efectividad en laboratorio (Alippi *et al.*, 1996, 2001) y su falta de toxicidad para abejas adultas, ni las esencias puras ni las mezclas de esencias resultaron efectivas para el control de loque americana a campo en ninguna de las dosis y formulaciones probadas. Por el contrario, en algunos casos, las colmenas tratadas con esencias, presentaron mayores niveles de infección que los tratamientos testigo.

El bajo consumo de algunos candies podría deberse a la baja palatabilidad de los mismos debido a la mezcla de aromas de las distintas esencias. Free (1987), demostró que el aire de la colmena normalmente se encuentra saturado de feromona real, y probablemente, al introducir nuevos olores, se genere un cierto desorden, que se manifiesta a través de una depresión fisiológica de la colonia, en el caso de la aplicación en jarabe, el mismo directamente no resultó palatable como lo demuestra el bajo consumo.

Sería interesante efectuar estudios ulteriores sobre los perfiles de distribución de estos aceites esenciales y mezclas entre las abejas, larvas, ninfas, miel y jalea real para comprender su farmacocinética y farmacodinámica en el interior de las colmenas y poder desarrollar una forma de aplicación diferente a las estudiadas que permita que las mismas estén disponibles y con actividad biológica para las larvas jóvenes que son las más susceptibles a contraer la enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

1. Albo, G. N., Cerimele, E., Re, M. S., De Giusti, M. y Alippi, A.M. 2001. Loque americana: Ensayos de campo para evaluar la efectividad de algunos aceites esenciales. *Vida Apícola*, 108: 41-46.
2. Albo, G.N.; Henning, C; Ringuelet, J.; Reynaldi, F.J.; De Giusti, M.R. & Alippi, A.M. 2003. Evaluation of some essential oils for the control of American Foulbrood disease in honey bees. *Apidologie* 34: 417-437.
3. Alippi, A.M., Ringuelet, J.A., Cerimele, E.L., Re, M.S., Henning, C.P. 1996. Antimicrobial activity of some essential oils against *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American Foulbrood disease. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 4(2) 9-16.
4. Alippi, A.M., Albo, G.N., Leniz, D., Rivera, I., Zanelli, M., Roca, A.E., 1999. Comparative study of tylosin, erythromycin and oxytetracycline to control American Foulbrood of honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 38 (3-4) 149-158.
5. Alippi, A.M., Ringuelet, J. A., Henning, C. P. y Bandoni, A. 2001. Loque Americana. Actividad antimicrobiana *in vitro* de algunos aceites esenciales y mezclas de esencias sobre *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*. *Vida Apícola*, 106: 41-44.

6. Free, J. B., 1987. Pheromones of social bees. Constock Publishing Associates, a division of Cornell University Press. Ithaca, New York. USA. 15pp.
7. ICCB (International Commission for Bee Botany) (1985) Third symposium on the harmonization of methods for testing the toxicity of pesticides to bees, Rothamsted Experimental Station, England.
8. Imdorf A, Kilchenmann V., Maquelin C., Bogdanov S. 1994. Optimierung der Anwendung von "Apilife Var " zur Bekämpfung von *Varroa jacobsoni* Oud. in Bienenvölkern, *Apidologie* 25, 49-60.