

Enfermedades fungicas de la Abeja

Dr. Juan Manuel Alonso*



Ascosferosis

definición, sinonimia e importancia

Micosis invasiva que afecta a las larvas de los insectos apoideos, causando su muerte y momificación, producida por especies del género *Ascosphaera*.

También denominada cría calcárea o pollo escayolado, criação calcificada o simplemente ascosferose, chalkbrood (inglés), couvain platreux (francés).

Su distribución es mundial, aunque es mayor su incidencia en las zonas templadas del planeta. Destaca entre las micosis y las enfermedades apícolas en su conjunto por su **importancia económica**, sobre todo desde mediados de los años 80 en que se constató una mayor gravedad en los brotes:

- **mortalidad de larvas**, pérdida de población, debilitamiento de colonias y predisposición para otras enfermedades.
- **descenso de producción directa** (capacidad pecoreadora, colecta de miel y polen) e **indirecta** (descenso de polinización de cultivos).
- **gastos de lucha** (tratamientos infructuosos, desinfección de material, reposición de material, etc.).

Etiología

Aunque han sido varias las especies fúngicas que se han asociado a esta enfermedad en la abeja melífera

desde su primera descripción (*Ascosphaera major*, *A. proliperda*, *Arrhenosphaera cranei*) lo cierto es que sólo *Ascosphaera apis* se aísla reiteradamente en brotes de campo. Así lo demuestra, en el caso de España, el estudio que realizamos para nuestra Tesis Doctoral sobre 47 brotes de la enfermedad con muestras procedentes de 11 Comunidades Autónomas.

A. apis es una especie fúngica con **dimorfismo sexual**, cuyo micelio masculino y femenino se conjugan originando estructuras reproductivas denominadas ascocistos. En el interior de éstos, se encuentran las ascas o aglomerados de esporas. Cuando se rompe la pared de los ascocistos se liberan numerosas esporas, que en las adecuadas condiciones de humedad y temperatura (en torno a 30°C) gemnaran produciendo nuevo micelio de uno u otro signo.

Las **ascosporas** representan la **forma de resistencia** en el medio ambiente (a pH, temperatura, desecación, presión osmótica y desinfectantes) y la forma infectante, es decir, la que penetrará en las larvas por ingestión. sin embargo, una vez que estas esporas germinen en el tubo digestivo de las larvas, será el **micelio** que de ellas se origine el que propiamente desarrollará la **acción patógena invasiva**

Este ciclo sucesivo de micelio-ascosporas-micelio se puede reproducir en el laboratorio sobre medios de cultivo artificiales (Agar Sabouraud, Agar malta, Agar PDA y sobre todo en el Agar MY20) y será la base para un diagnóstico específico de la enfermedad.

Epidemiología

Ahora bien, ¿ es suficiente la presencia de este hongo para que la enfermedad se desencadene en una colmena? Debemos afirmar tajantemente que no. En estudios realizados por varios equipos de investigación, incluido el nuestro, se ha comprobado que el hongo puede estar presente en las colmenas sin que ello signifique que esté enferma o que se vaya a producir un brote de la enfermedad. Sería un estado de infección latente o portador. Es por tanto necesario para que la enfermedad se presente cierto grado de acumulación de material infectante en las colmenas, como ha comprobado el equipo del Dr. Puerta.

¿ Dónde persiste el hongo cuando la enfermedad no está presente? Son numerosos los reservorios que se han citado, pero destacan el propio intestino de las abejas adultas, el material apícola, y las reservas de miel y polen.

Pero además, esto nos lleva a la idea del **carácter factorial** de la enfermedad. Es necesario que concurren diversos factores predisponentes y desencadenantes para que la presencia del hongo se traduzca en enfermedad. En esencia se trata de todas aquellas causas que debilitan la colmena en su población y manejo por una parte, y que favorecen la proliferación del hongo por otra. Un análisis pormenorizado de estos factores predisponentes sería prolijo, pero en resumen podemos citar:

- **genéticos:** heredabilidad de predisposición, conducta higiénica (evita la acumulación de material contaminante).
- **Otras enfermedades** (debilidad). Destacan las intoxicaciones por pesticidas-insecticidas (p.ej. diflubenzurón), que bien podrían intervenir como intoxicaciones agudas (descenso brusco de población, cría mal atendida), bien como intoxicaciones crónicas (acción sobre la cría con alargamiento del ciclo biológico, favoreciendo el desarrollo del hongo).
- **climáticos y microambiente** (temperatura: enfriamiento de la cría, óptimos para el hongo; humedad elevada). Coincide con cierta estacionalidad - primavera y otoño -, también influida por la presencia de cría.
- **nutricionales:** escasez de alimentos, cualitativa y cuantitativa.
- **manejo:** excesiva extracción de polen, gran producción de enjambres, suplementación precoz con azúcares, reinas viejas o mal fecundadas (puesta irregular, zanganeras), cualquier práctica que ocasione desequilibrios entre nodrizas y cría.
- **Abuso en el empleo de antibióticos:** este aspecto no está todavía aclarado por completo, pero podría tratarse de que estos antibióticos eliminaran competidores para el hongo en el tubo digestivo de las larvas.

En ensayos realizados por nosotros hemos observado que la sola presencia de quimioterápicos de uso apícola (tetraciclina, sulfamidas o fumagilina) no favorece el desarrollo del hongo, lo cual apoyaría ese posible mecanismo de competencia citado.

A estos factores habría que añadir todos aquéllos que favorezcan la **transmisión de la enfermedad** entre colmenas infectadas y colmenas libres del hongo. Los mecanismos por los que acontece dicha transmisión son los siguientes:

- 1) Deriva
- 2) Zánganos
- 3) Pillaje (abejas jóvenes)
- 4) Trashumancia de colmenas
- 5) Transacciones comerciales
- 6) El propio apicultor y el utillaje apícola (cepillos, rasquetas, guantes, vestimenta, etc.).

Una vez que la infección se ha introducido en una colmena, los propios mecanismos biológicos que en ella tienen lugar se encargan de diseminarla: alimentación de las larvas por las nodrizas, conducta limpiadora, trofalaxia (conducta social de flujo nutritivo), contacto de larvas sanas con restos de muda contaminados.

Patogenia

En el desarrollo de la infección y de la enfermedad se pueden diferenciar las siguientes etapas:

- 1 -**infección:** se va a producir por **ingestión de esporas** con el alimento; se ha intentado reproducir la enfermedad por ingestión de **micelio** o por vía epicuticular con esporas, pero el resultado no se asemeja a la enfermedad natural.
- 2 -**germinación** de las esporas en el intestino medio de la larva y producción de **micelio**; esta germinación no suele producirse en los 3 primeros días de vida de la larva, ya que es inhibida por el pH ácido de la jalea real con que son alimentadas.
- 3 -**proliferación del micelio** en intestino medio (mesodeo), atravesando las paredes de éste. El hongo sólo atraviesa las paredes del mesodeo, en tanto que las paredes de las porciones anterior y posterior del intestino, estomodeo y proctodeo respectivamente, no son atravesadas. Esto se asocia al origen embrionario de dichos segmentos, ectodérmico, y por tanto con recubrimiento cuticular quitinoso. Esta fase ha de producirse antes del día 6 de vida de la larva, ya que a partir de este momento el tubo digestivo que estaba cerrado caudalmente al exterior, se abre y se produce la defecación, eliminando así las esporas y el micelio originado de ellas.
- 4 -**invasión de tejidos larvarios y competición por los nutrientes** con la consiguiente muerte de la larva. En esta etapa igualmente se observa que el hongo no penetra las estructuras con recubrimiento quitinoso, como es el caso de las tráqueas.
- 5 -**irrupción del micelio en la superficie de la larva**, tras atravesar la cutícula. Al desecarse los tejidos muertos de la larva, se produce la típica **momificación**. Las momias pueden mostrar dos típicas apariencias:

momia blanca (micelio de un solo signo, aspecto de algodón) y momia negra (micelio de dos signos, conjugación y formación de ascocistos, de pared oscura).

Esta última etapa nos sugiere la cuestión siguiente: cómo el hongo que suele evitar las estructuras quitinosas -con recubrimiento cuticular- en su invasión de la larva, es capaz de atravesar la estructura más típicamente quitinosa, la propia cutícula? La acción del hongo a este respecto tiene una doble vertiente, enzimática y mecánica, mecanismos que actuarían conjuntamente y que muestran la adaptación del hongo al ciclo biológico de la larva de abeja.

En nuestra Tesis Doctoral incluimos un estudio de las actividades enzimáticas que *Ascosphaera apis* desarrolla encontrando, además de diversas actividades proteolíticas (gelatinasa, caseinolítica, varias aminopeptidasas), sobre carbohidratos (glucogenolítica, amilolítica, celulolítica) y lipolíticas (fosfatasas y estererasas), la presencia en un alto porcentaje de cepas (75%) de actividad acetilglucosaminidásica, capaz de degradar parcialmente la quitina.

Clinica

Las manifestaciones que observamos en una colmena enferma incluyen:

- Presencia de cadáveres larvarios (momias) en la piquera y en el suelo alrededor de la colonia (detectadas las larvas enfermas o muertas son extraídas por las abejas limpiadoras).
- Disposición dispersa de la cría en los cuadros: cría salteada (común a cualquier alteración/enfermedad de la cría) y operculos roídos por las abejas limpiadoras.
- Posibilidad de oír un sonido característico, de tableteo, al agitar los cuadros.
- Momias en posición vertical dentro de las celldillas, con extremo cefálico dirigido hacia el opérculo, recubiertas de micelio blanco o acompañado de cuerpos fructíferos (ascocistos).

Diagnostico

El diagnóstico de campo basado en los síntomas antes citados es fácil, si bien cabe la posibilidad de confusión con la aspergilosis, no obstante, mucho menos frecuente. Además es posible, cuando el grado de infección por *Ascosphaera* de la colmena es bajo, que los citados síntomas pasen desapercibidos. De cualquier forma el apicultor suele reconocerla cuando se presenta en su apiario.

El diagnóstico de ascosferosis en el laboratorio es fácil, aunque más complicado es determinar la especie concreta de *Ascosphaera* de que se trata. Ya dijimos

que la que aislamos normalmente es *A. apis*, pero la posibilidad, aunque muy rara, de que intervenga otra no debe descartarse a priori. Para ello se recurre a:

- 1) La observación a la lupa de las larvas afectadas, detectándose las estructuras del hongo, o a más aumentos con montaje entre porta y cubre de raspados de larvas.
- 2) la identificación de la especie de *Ascosphaera* se realiza fundamentalmente por el criterio morfométrico, midiendo al microscopio los diámetros de las estructuras reproductivas, ascocistos y ascas, y la longitud y grosor de las esporas, aunque también puede completarse estudiando al S.E.M. la estructura de la pared de los ascocistos, y tras el cultivo del hongo realizando pruebas de cruzamiento con cepas de especie conocida, dado el carácter heterotálico - existencia de dos signos - ya citado.

Lucha

A este respecto preferimos el término general de lucha, al más limitado de tratamiento, pues entendemos que aunque en un futuro se pueda disponer de quimioterápicos eficaces y específicos, el control o la eliminación de la enfermedad pasan por la aplicación de otras medidas higiénicas no menos importantes e imprescindibles.

Prueba de que todavía no existe un tratamiento idóneo, es la realización de frecuentes estudios acerca de sensibilidad *in vitro* del hongo frente a quimioterápicos, es decir, en condiciones de laboratorio. En estos estudios varios compuestos han mostrado su eficacia, como el benomilo, vinclozolina, captan, clortalonil y el grupo de los imidazólicos (enilconazol, isoconazol, etc.), pero no se ha extendido su empleo todavía al no haberse completado los estudios en colmenas pobladas (residuos, toxicidad para adultas y cría, creación de resistencias, etc.) o no haberse mostrado plenamente eficaces como para justificar su empleo.

La lucha debe basarse en medidas de tipo preventivo y de control que persiguen 4 objetivos:

- 1º Evitar la penetración del agente en colonias sanas;
- 2º Incrementar la resistencia de las colmenas a la enfermedad;
- 3º Evitar la acumulación del agente en las colonias;
- 4º Adecuar el manejo para reducir condiciones predisponentes.

En el primer objetivo, la medida básica sería el control sanitario del material apícola y del ganado que adquirimos, así como durante la trashumancia, informándonos del estado sanitario de los colmenares próximos. Es esencial la colaboración entre los distintos productores, al menos en materia sanitaria.

Resistencia de las colmenas: como ya indicamos existen diferencias de resistencia entre colmenas, tanto por predisposición genética de la cría, como sobre

todo por la distinta conducta higiénica de las poblaciones de nodrizas. Con esta conducta las abejas eliminan el opérculo de las celdillas en que existen larvas enfermas o muertas, y las extraen de la colonia, con lo que además evitan que las esporas del hongo se acumulen y sirvan de elemento infectante para otras.

Esto nos lleva a que incluso puede producirse una curación espontánea.

En experiencias realizadas por nuestro equipo, se observaron notables diferencias entre colmenas en cuanto a la extracción de larvas muertas (desde 4,8% a 62%). Ello es razón suficiente como para recomendar que la selección de colonias no se haga sólo atendiendo a criterios productivos, sino también a esta capacidad higiénica de las propias abejas y en ese camino parecen ir nuevas investigaciones que se están realizando.

En qué se puede traducir esto a nivel de colmenar? En favorecer el cambio de reinas en colonias donde persiste la enfermedad, aunque con el tiempo se deberían crear apiarios seleccionados por su resistencia que suministrasen reinas que transmitiesen dicho carácter a su descendencia.

Evitar la acumulación del hongo: con renovación periódica de cuadros de cera (40% anual) y desinfección periódica del material apícola.

Limitar factores predisponentes: como indicamos anteriormente son numerosos los factores que se han asociado a la enfermedad, pero a efectos prácticos las medidas debieran centrarse en no forzar excesivamente el ritmo productivo de las colonias, ni de población (obtención de núcleos) ni de extracción de miel y polen.

Control: Una vez iniciado un brote, aislamiento de colonias enfermas, eliminación sistemática de cuadros o incluso de colonias más afectadas, y desinfección del material mediante flameado de superficies. Otra opción es desinfección con formaldehído al 4% durante 30 minutos.

Aspergilosis

- Mucha menor frecuencia que ascosferosis.
- Agentes responsables: *Aspergillus fumigatus*; *A. flavus*.
- Afecta a larvas y adultas.
- Posible zoonosis: inflamaciones de vías respiratorias y alergias en el hombre.
- Enfermedad factorial (humedad muy elevada, el hongo prolifera incluso sobre los cuadros y las superficies internas de la caja) y esporádica (de rara presentación).
- Contagio: por ingestión de al menos contaminados con esporas del hongo que germinan en el intestino invadiendo el cuerpo el micelio.
- Acción patógena: mecánica (invasión por hifas) y tóxica (incordinación motora e incapacidad de vuelo en abejas adultas). Las larvas se endurecen (consistencia pétrea).
- Diagnóstico: preferible el laboratorial, por posible

confusión con ascosferosis en la cría y con intoxicaciones y virosis en las adultas. Observación microscópica de raspados de larva, detectándose la presencia de estructuras típicas (conidióforos).

- Lucha: no existe tratamiento eficaz. Se recomienda la desinfección de material (flameado) y medidas preventivas, así como fundir la cera.

Referências bibliográficas

- Alonso, J.M. (1991). La Ascosferiosis en *Apis mellifera* L. en España. Caracterización etiológica de brotes de la enfermedad en once comunidades autónomas. Resumen de Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura. Cáceres. 40 pp.
- Alonso, J.M., Puerta, F., Hermoso de Mendoza, J., Rey, J., Gil, M.C., Hermoso de Mendoza, M. (1993). Las ascosferosis de la abeja melífera en España. estudio micológico de 47 brotes de la enfermedad. *Rev. Iberoamer. Micol.* 10: 39-46.
- Alonso, J.M., Puerta, F., Hermoso de Mendoza, J., Rey, J., Gil, M.C., Hermoso de Mendoza, M. (1994). Perfil enzimático y variabilidad subspecífica de *Ascosphaera apis*. *Rev. Iberoamer. Micol.* 11: 32-36.
- Alonso, J.M., Puerta, F., Rey, J., Hermoso de Mendoza, J., Cardenal, J.A., Gil, M.C., Hermoso de Mendoza, M. (1993). *Ascosphaera*: Efecto *in vitro* sobre el crecimiento del hongo de algunos quimioterápicos de uso apícola. *Vida Apícola* 62: 41-44.
- Alonso, J.M., Rey, J., Puerta, F., Hermoso de Mendoza, J., Hermoso de Mendoza, M., Flores, J.M. (1993). Enzymatic equipment of *Ascosphaera apis* and the development of infection by this fungus in *Apis mellifera*. *Apidologie* 24: 383-390.
- Bamford, S. (1987). Studies on the infection of honeybee larvae with *Ascosphaera apis*. Ph.D. Thesis. Plymouth Polytechnic. Plymouth. 200 pp.
- Bamford, S., Heath, L.A.F. (1989). The infection of *Apis mellifera* larvae by *Ascosphaera apis*. *J. Apic. Res.* 28(1): 30-35.
- Bissett, J. (1988). Contribution toward a monograph of the genus *Ascosphaera*. *Canad. J. Botan.* 66: 2541-2560.
- Cardenal, J.A., Alonso, J.M., Hermoso, J., Rey, J., Hermoso, M. (1990). Eficacia de fungicidas frente a la micosis. Estudios *in vitro* con *Ascosphaera apis*. *Vida Apícola* 43: 47-53.
- Carrera, P., Sommaruga, A., Vailati, G. (1987). The development of *Ascosphaera apis* within larvae of *Apis mellifera ligustica*. *J. Apic. Res.* 26: 59-63.
- Gilliam, M. (1989). Aspectos generales sobre el pollo escayolado y estrategias para su control. *Vida Apícola* 36: 18-24.
- Heath, L.A.F. (1985). Occurrence and distribution of Chalkbrood disease of honeybees. *Bee Wild.* 66(1): 9-15.
- Liu, T.P. (1987). Fine structure of the sporocysts of *Ascosphaera apis* during development as revealed by the Scanning Electron Microscope. *Mycopathologia* 100: 155-158.
- Puerta, F., Alonso, J.M., Flores, J.M., Bustos, M., Padilla, F. (1991). Tropismos tisulares de *Ascosphaera apis* en la abeja productora de miel, *Apis mellifera*. III Reun. Soc. Esp. Anat. Pat. Veter. 6-8 Junio, Cáceres.
- Puerta, F., Flores, J.M., Bustos, M., Padilla, F., Campano, F. (1994). Chalkbrood development in honeybee brood under controlled conditions. *Apidologie* 25: 540-546.
- Puerta, F., Flores, J.M., Pellín, P., Bustos, M., Padilla, F. (1990). Influencia de la dosis infectante en la aparición de la Ascosferiosis y notas sobre su desarrollo. *Rev. Iberoamer. Micol.* 7(1): 14.
- Vey, A. (1990). Recent studies on Ascospheriosis. In: *Proceed. Intern. Symp. Recent. Res. Bee Pathol. Apimondia*. Septiembre 1990. Gent, Belgium.
- *Unidad de Enfermedades Infecciosas y Epidemiología. Facultad de Veterinaria. UEX. Cáceres.