



# Evaluación del efecto de *Beauveria bassiana* en el control biológico de *Varroa destructor*, parásito de la abeja melífera (*Apis mellifera*) en la finca Felisa en el municipio de los Patios, Norte de Santander

*Evaluation of the effect of Beauveria bassiana in the biological control of Varroa destructor, a parasite of honey bees (Apis mellifera) at the Felisa farm at the municipality of Patios, Norte de Santander.*

Christian Chacin Zambrano <sup>1</sup> Francyliliana Duarte <sup>2</sup> Lisbeth Carolina Reyes <sup>3</sup>

## RESUMEN

La apicultura es una actividad que produce importantes beneficios a la agricultura y el medio ambiente; Por medio de la acción polinizadora de las abejas se contribuye a aumentar la productividad así como también la diversidad biológica en el ecosistema. En los últimos años, se ha incrementado considerablemente las prevalencias parasitarias en esta especie, especialmente la Varroosis, enfermedad causada por el ácaro *Varroa destructor*. Este agente causal, produce pérdidas entre 30% y 50% del total de la producción y a su vez pueden generar daños en la calidad de la miel por el uso excesivo de químicos para el control de la enfermedad, así como el deterioro lento y progresivo en la salud de los productores<sup>1</sup>. Observando esta situación, se evaluó la incidencia del Hongo *Beauveria bassiana* en las poblaciones naturales de *Varroa destructor*, en la acarofauna asociada, y en los restos de la colmena, mediante pruebas de patogenicidad en condiciones de laboratorio evaluando el efecto entomopatógeno del biocontrolador para luego introducirlo en los apiarios infectados con la enfermedad. De acuerdo a los resultados obtenidos, la infestación en estado adulto de *V. destructor* en *A. mellifera* africanizada en el muestreo realizado en la finca Felisa ubicada en el municipio de Los Patios, registró porcentajes de infestación en colmenas entre 3,4 % a 8,3%, en estado de cría la infestación fue de 4,5% a 13,7%. Durante las pruebas de laboratorio se logró observar que el hongo *B. bassiana* atacó el ácaro realizando un control eficaz sin perjudicar a las abejas, el propóleo y la miel permitiéndole a este insecto seguir con sus actividades normales, controlando la enfermedad de forma biológica y no química.

**Palabras claves:** *Beauveria bassiana*, Entomopatógeno, Acarofauna, *Varroa destructor*.

## ABSTRACT

Beekeeping is an activity that produces significant benefits to agriculture and the environment; Through the pollination action of bees helps to increase productivity as well as biodiversity in the ecosystem. In recent years, has significantly increased prevalence of parasites in this species, particularly the Varroosis, a disease caused by the mite *Varroa destructor*. The causal agent produces losses between 30% and 50% of total production and in turn can cause damage to the quality of honey by the excessive use of chemicals for disease control and the slow and progressive deterioration health of producers. Noting this, we evaluated the incidence of fungus *Beauveria bassiana* in natural populations of *Varroa destructor* in acarofauna associated, and the remains of the hive by pathogenicity tests in laboratory conditions to evaluate the effect of the biocontrol entomopathogenic then enter in apiaries infected with the disease. According to the results obtained in the adult infestation of *V. destructor* in *Apis mellifera* Africanized sampling Felisa made on the farm in the municipality of Los Patios, recorded rates of infestation in hives from 3.4% to 8.3% on the infection status of breeding was 4.5% to 13.7%. In laboratory tests it was possible to observe that the fungus *B. bassiana* attacked by an effective control mites without harming bees, propolis and honey allowing the insect to continue their normal activities, controlling the disease in a biological, not chemical.

**Key words:** *Beauveria bassiana*, entomopathogenic, Acarofauna, *Varroa destructor*.

## INTRODUCCIÓN

La abeja *Apis mellifera* es proveniente de la cuenca del Mediterráneo, desde donde se ha extendido a todo el mundo. Su nombre indica “portadora de miel”. Dentro de la especie melífera existen grandes agrupaciones con características raciales propias que las diferencian entre sí, ocupando áreas geográficas limitadas generalmente por barreras naturales que le dieron carácter a través de los años. Estas grandes agrupaciones se diferencian a simple vista por sus características exteriores de coloración, negras, amarillas y grises, dentro de las cuales hay diversas razas.<sup>2</sup>

La Varroasis es una enfermedad, producida por el ácaro *Varroa destructor*, que parasita externamente a las abejas en todos los estadios de su desarrollo, y que actualmente es considerada como una de las enfermedades más graves que causa una alta mortandad en las colonias de abejas. Este ácaro ocasiona sobre sus hospedadores diversos tipos de alteraciones que pueden agruparse en dos categorías: de acción directa o indirecta.

La acción directa se presenta cuando la prevalencia del ácaro en la colmena es alta, las abejas parasitadas al emerger de las celdas de cría presentan diversos tipos de malformaciones. Las más comunes se presentan en las alas, patas (donde generalmente disminuyen el número de artejos) y abdomen. Otro de los efectos perjudiciales ocasionados por el parásito es una disminución en la vida media de los hospedadores<sup>1</sup>. La acción indirecta está ligada fundamentalmente a la acción inoculativa de diversos tipos de microorganismos. Se ha comprobado que el ácaro es capaz de inocular bacterias y diversos tipos de virus<sup>1</sup>.

La *V. destructor* fue descubierta en la Isla de Java, Archipiélago de Indonesia en 1904 por Edward Jacobson; Posteriormente fué encontrada en colonias de *Apis mellifera* en Asia y Europa en 19502. En Suramérica se detectó por primera vez en Paraguay en 19691. En Colombia, se presentó inicialmente en el Departamento de Cundinamarca en 1993 y luego, por su facilidad de diseminación se registró en Antioquía, Norte de Santander y Santander.

Desde la aparición del parásito en las colonias de *A. mellifera*, se han realizado distintos experimentos con el fin de obtener un método, que logre controlar el crecimiento poblacional del ácaro. Se han probado un número considerable de sustancias y métodos, teniendo en cuenta la toxicidad para *V. destructor* y al mismo tiempo, los efectos sobre las abejas. Entre ellos se encuentran los acaricidas sintéticos, los ácidos orgánicos, los aceites esenciales<sup>2</sup>.

En Colombia no se ha desarrollado algún tipo de investigación para el control de la *Varroa destructor* mediante hongos entomopatógenos, siendo la única referencia el realizado en el INIA – Chile<sup>3</sup>; En el cual usaron el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* para el control de *Varroa destructor* en colonias de abejas de miel en campo, el cual se obtuvieron resultados en un periodo de 42 días del experimento.

El objetivo del trabajo fue evaluar la incidencia del Hongo *Beauveria bassiana* en las poblaciones naturales de *Varroa destructor* mediante pruebas de patogenicidad a nivel de laboratorio.

## Materiales y Métodos

**Reactivación del hongo entomopatógeno *B. bassiana* partir de la cepa madre del Laboratorio de Sanidad Vegetal, UFPS.** Para la reactivación del hongo entomopatógeno, se utilizó el aislamiento BbCub0123 del banco de cepas del programa de Ingeniería Biotecnológica de la Universidad Francisco de Paula Santander, para ello, se sembró en placas de Petri en medio Agar Saboraud Glucosa (ASG) cubriendo las cajas con parafilm para incubarlas a una temperatura de 25 °C y un porcentaje de humedad de 88% por 25 días aproximadamente. Luego de reactivado el hongo, se realizó identificación macroscópica y microscópica del hongo mediante bibliografía consultada<sup>5</sup>.

**Preparación e inoculación del sustrato a base de arroz con el Hongo *Beauveria bassiana*.** Se utilizó 50 g de arroz en una botella de vidrio con 50 ml de agua destilada estéril, se adicionó 1 gota de ácido láctico para inhibir el crecimiento de bacterias y se autoclavó a 15 libras de presión y 120 °C por 30 minutos, luego de esterilizar el sustrato, se dejó a temperatura ambiente durante un (1) día para asegurar que no se presente el crecimiento de agentes externos.

**Recolección del material biológico a partir de la abeja melífera parasitada por *V. destructor*.** La recolección del ácaro *V. destructor* se realizó en la finca Felisa ubicada en el Municipio de los Patios Norte de Santander, Colombia mediante la metodología empleada por Peldoza, J. en 1996 seleccionando 10 colmenas en las cuales se tomó una muestra aproximada de 100 obreras. De igual manera de determinó el porcentaje de infestación de *Varroa* en adulto y cría<sup>1</sup>.

**Realización de Bioensayos *in vitro* de la actividad entomopatógena del Hongo reactivado a la *V. destructor*.** Para determinar la calidad de *Beauveria bassiana* se realizó la determinación de pureza, concentración de esporas, patogenicidad y germinación mediante la técnica de Velez<sup>5</sup>.

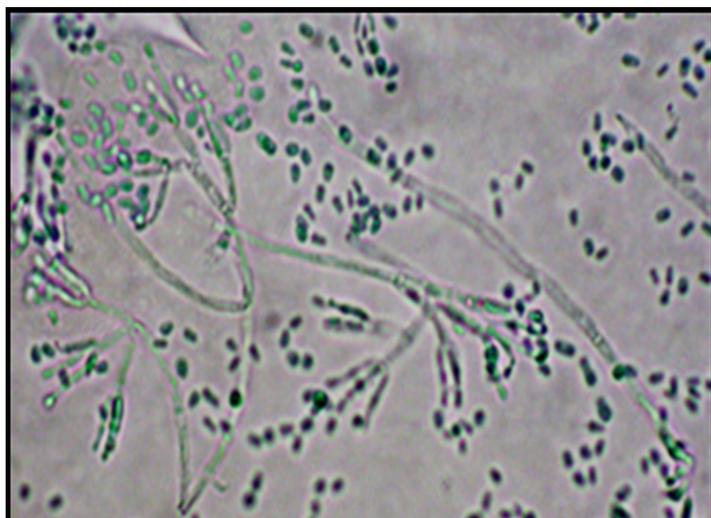
**Evaluación en campo del biocontrolador a la *V. destructor*, agente parásito de la abeja melífera (*A. mellifera*).** Para la evaluación en campo del entomopatógeno, se estableció inicialmente aplicar el hongo sobre partes del panal, abejas vivas, larvas, propóleo en el laboratorio con el fin de observar si el biocontrolador generaba un efecto negativo, dependiendo del resultado se llevó a campo aplicando el hongo a una muestra intencionada de 10 colonias registrando la información a través de observación directa y su consecuente análisis mediante estadística descriptiva.

## Resultados y discusión

Reactivación del hongo entomopatógeno *B. bassiana* partir de la cepa madre del Laboratorio de Sanidad Vegetal, UFPS. Macroscópicamente el hongo presentó un micelio blanco de aspecto algodonoso y superficie semielevada. (Figura 1). Microscópicamente se observó formación de sinemas (estructuras alargadas ramificadas), conidióforos sencillos agrupados y esporas redondeadas, siendo estructuras características del Hongo *Beauveria bassiana*. (Figura 2).



**Figura 1.** Crecimiento en caja de *B. bassiana*. Fuente de la imagen: Autores del texto.



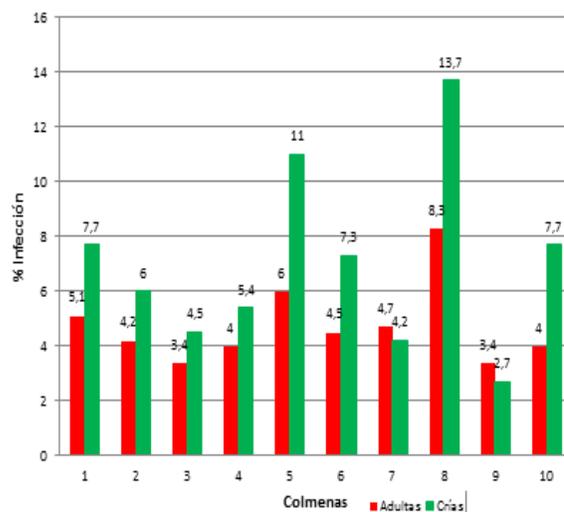
**Figura 2.** Conidióforos y conidias de *B. bassiana*. Fuente de la imagen: Autores del texto.

**Preparación e inoculación del sustrato en base de arroz con el Hongo *Beauveria bassiana*.** Se observó un buen crecimiento del hongo entomopatógeno en el sustrato de arroz. A los 10 días de inoculado, se evidenció la esporulación del hongo en el medio sólido.

**Recolección del material biológico a partir de la abeja melífera parasitada por *V. destructor*.** La recolección de la muestra se realizó en el mes de Noviembre del 2008 a partir de 10 colmenas ubicadas en la Finca Felisa del Municipio de Los Patios. (Figura 4). Se evidenció que la colmena que presenta la mayor infestación era la N° 8 con 8.3% seguido de la colmena N°5 con 6%; las colmenas que presentaron los menores registros fueron la N°9 y N°3 con 2.4% y 3.4% respectivamente.

Para la infestación en estado de crías se registró que la colmena N° 8 tiene el nivel de infestación con 13.7% seguido de la colmena N°5 con 11%; y la menores se registraron en la colmena N°9 y N°3 con 2.7 y 4.5% respectivamente. El porcentaje de infestación promedio fue en abeja adulta de 5% y en cría de 11%. (Figura 3).

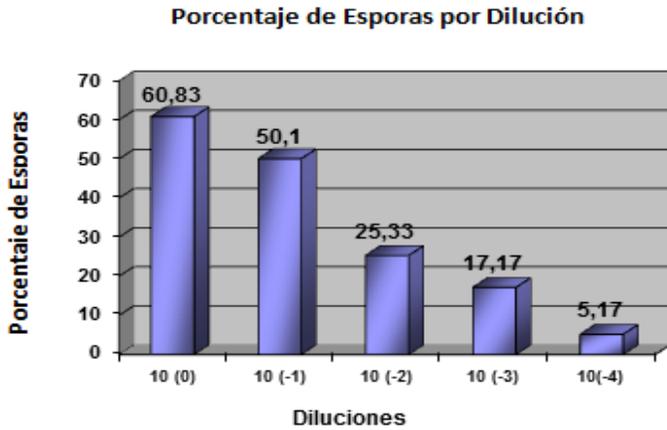
Comparación del porcentaje de infección de *V. destructor* por colmenas



**Figura 3.** Comparación del porcentaje de Infección *V. destructor* en colmenas. Fuente de la imagen: Autores del texto.

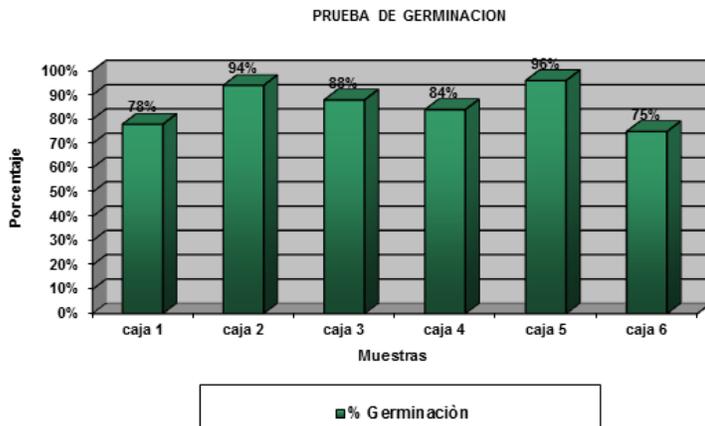
## Bioensayos *in vitro* de la actividad entomopatógena del hongo reactivado a la *V. destructor*.

**Prueba de concentración de esporas.** Se encontró que la concentración con mayor número de esporas fue la de  $10^0$  con un 60% equivalente a  $6,10 \times 10^7$  esporas/ml y la menor concentración de esporas fue  $10^{-4}$  con 5,47%, deduciendo que a mayor dilución mayor concentración de esporas teniendo un efecto significativo en su desarrollo. (Figura 4).

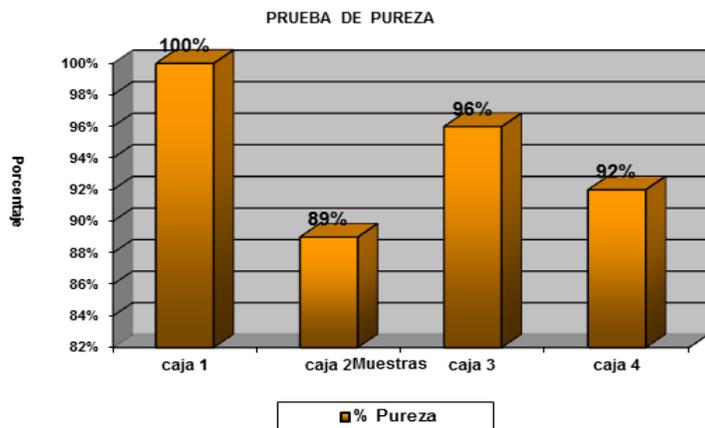


**Figura 4.** Comparación del porcentaje de esporas en la diluciones evaluadas. Fuente de la imagen: Autores del texto.

**Prueba de germinación.** Los valores obtenidos en esta prueba, demuestran que el rango de germinación fue entre 76% y 96%. La caja N° 5 fue la que presentó el mayor porcentaje de germinación a diferencia de la caja N° 6 que presentó una germinación del 76%. (Figura 5).



**Figura 5.** Porcentaje de germinación. Fuente de la imagen: Autores del texto.



**Figura 6.** Porcentaje de Pureza. Fuente de la imagen: Autores del texto.

**Prueba de pureza.** De acuerdo a los valores obtenidos en la figura 6, se observó que el porcentaje de pureza del hongo tuvo un rango entre 89 % a 100% en las cajas estudiadas.

**Figura 6.** Porcentaje de Pureza.

**Prueba de patogenicidad.** Para la prueba se estableció cinco concentraciones de esporas para aplicar como inóculo en los ácaros  $6.10 \times 10^7$ ,  $5.01 \times 10^6$ ,  $2.53 \times 10^5$ ,  $1.71 \times 10^4$  y  $5,17 \times 10^2$  para determinar la concentración letal a emplear en la prueba de campo.

De acuerdo al gráfico, la concentración que obtuvo una respuesta mayor en la mortalidad fue  $6.10 \times 10^7$  alcanzando el 100% de efectividad, mientras que la concentración  $5,17 \times 10^2$  mostró un menor porcentaje de mortalidad del parasito con un 20% de efectividad, siendo este la concentración letal menos adecuada para el control de la enfermedad.

Los resultados obtenidos en las dos concentraciones iniciales  $6,10 \times 10^7$  (figura 7) y  $5.01 \times 10^6$  presentan una concordancia ya que ambos alcanzan un 100 % de efectividad logrando dar muerte al insecto y su desarrollo total sobre este, con un alto grado de esporulación, luego de 10 días. Los inóculos con la concentraciones de  $2.53 \times 10^5$  y  $1.71 \times 10^4$  presentaron una efectividad de 70 % y 60% respectivamente.

**Prueba de Campo.** Antes de realizar la prueba en campo se realizó una ensayo a nivel de laboratorio con partes que conforman la colmena (panal, larvas, abejas adultas, propóleo, miel) aplicando el hongo por aspersión a una dilución  $10^{-1}$ . Después de tres días se observó una putrefacción produciendo malos olores y una cantidad de gusanos siendo negativo para la prueba.

Observando las alteraciones producida con la aplicación en aspersión, se decidió aplicar el hongo controlador en forma de gránulos, lo cual no evidenció putrefacción, ni malos olores o producción de gusanos en la colmena, por lo tanto, se determinó aplicar en las dos colmenas con mayor grado de infestación que eran la colmena N° 5 y la colmena N° 8 en el apiario de la finca Felisa.

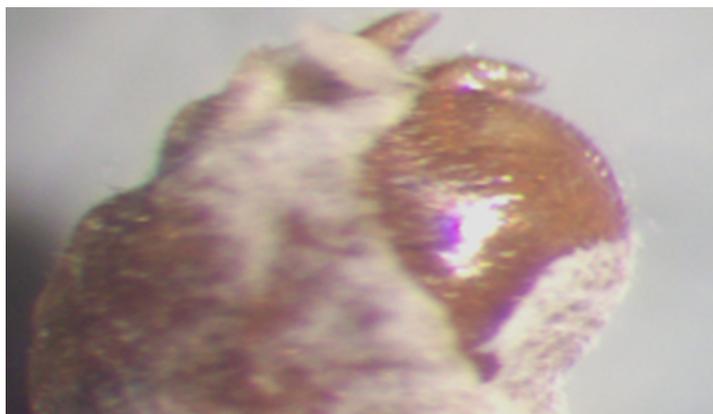
Directamente en campo se realizó la aplicación mediante dos metodologías: La primera es con tiras de cinta adhesiva en la entrada de la piquera. El segundo método fue ubicar trozos del hongo sobre los cuadrantes, desviando la actividad de las abejas nodrizas, observando al cabo de 24 horas, que el hongo ubicado completamente fuera de la colmena, ya había sido retirado por las abejas. Figura 8.

Al observar que las técnicas empleadas no fueron efectivas, fueron diseñados, a sugerencia del apicultor de la finca unos bastidores con medidas de 30cm largo x 4cm ancho la lámina de zinc, de calibre 31 zinc carbonizado, las reglillas de madera de tres líneas de espesor x 1cm ancho y el angeo metálico calibre 8cm x 8cm para impedir que sacaran tan rápido el hongo de la colmena, pero a las 48 horas de aplicado ya las abejas habían logrado sacar un 25% del hongo.

Después de observar los bastidores, se determinó que

el hongo no se puede diseminar por causa de la actividad de las abejas nodrizas, ellas trataron de limpiar los bastidores, hasta el límite que no logra tener contacto con el hongo dentro del bastidor. Esto lleva a concluir que la actividad de la abeja impide que el hongo se disemine dentro de la colmena con tranquilidad, por lo tanto se concluyó que se deben buscar otras alternativas que logren una mejor efectividad para el control de dicha plaga con el hongo *B. bassiana*.

Otra observación de la técnica aplicada, es que dentro del bastidor el hongo no logró un buen desarrollo debido al material escogido para diseñar el bastidor, no retenía humedad, generando que el biocontrolador no presentara el efecto esperado en la colmena.



**Figura 7.** *V. destructor* atacado con el inóculo de *B. bassiana* a una concentración de  $6,10 \times 10^7$  esp/ml Fuente de la imagen: Autores del texto.



**Figura 8.** Aplicación del hongo *B. bassiana* mediante la técnica de la cinta adhesiva. Fuente de la imagen: Autores del texto.

## CONCLUSIONES

El presente proyecto demuestra resultados preliminares en la evaluación del efecto en la aplicación del hongo *B. bassiana* para el control biológico de la *V. destructor*.

En general el nivel de infestación de *V. destructor* en las colmenas de la finca Felisa muestreadas es mayor en estado de cría (11%) con respecto a la infestación en adulto (5,4%). La aplicación de un tratamiento como control al parasitismo es una necesidad que se desarrolló en las colmenas con mayor grado de infestación.

Las pruebas de calidad realizadas demuestran que el hongo entomopatógeno usado en la investigación presentaba las condiciones propias para un excelente biocontrolador. Entre ellas, una buena concentración de esporas ( $6,10 \times 10^7$  esporas/ml), un alto porcentaje de germinación (96%), buen porcentaje de pureza (100%) y buena respuesta de mortalidad a la *Varroa destructor* con un 100% de patogenicidad.

Las pruebas a nivel de campo realizadas al hongo para el control de la *Varroa destructor*, se evidenciaron que el biocontrolador no generaba acción negativa a la colmena, a la miel y al propóleo.

Debido a la actividad realizadas por las abejas nodrizas (ayudan a la limpieza de la colmena), se debe formular otras técnicas de aplicación del hongo entomopatógeno a la colmena, ya que se demostró que no se logra el contacto del biocontrolador con la *Varroa* por la acción de saneamiento que realiza la abeja en el panal.

## AFILIACIONES

<sup>1</sup> Profesor Asociado Tiempo Completo Planta. Programa de Microbiología Industrial UDES – Bucaramanga. E-mail: cchacin@udes.edu.co

<sup>2</sup> Licenciada Biología y Química. Universidad Francisco de Paula Santander – Cúcuta. E-mail: licfrancy\_bb@hotmail.com

<sup>3</sup> Licenciada Biología y Química. Universidad Francisco de Paula Santander. E-mail: caroreyes86@yahoo.es

## BIBLIOGRAFIA

1. Carreño R. Prevalencia de (*Varroa destructor*) en los apiarios del municipio de pamplonita, Norte de Santander. Universidad Francisco de Paula Santander. Tesis. 2007.
2. Manrique A. Relación entre la producción de propóleos y la tasa de infestación de varroas (*Varroa destructor*) en abejas africanizadas (*Apis mellifera*). Brasil: Universidad Nacional de Brasil. 2004. V 8, P. 1 - 9.
3. Rodríguez M., Gerding M. Uso de hongos Entomopatógenos para el control de *Varroa destructor* (acari: Mesostigmata). Chile: Instituto Nacional de investigaciones agropecuarias del Gobierno de Chile. 2006. 38 p.
4. Tello J. El control de la varroasis. Manejo genético como alternativa. Bogotá: Revista CORPOICA 2000. 47 p.
5. Velez P. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Caldas: CENICAFE. 1997. 30 p.