

LA ASCOSFERIOSIS DE LA ABEJA MELÍFERA (*APIS MELLIFERA* L.) EN LA PROVINCIA DE CÁCERES. ESTUDIO MORFOMÉTRICO DE *ASCOSPHAERA* SP.

Alonso Rodríguez, J. M.; Hermoso de Mendoza Salcedo, J.;
Cardenal Galván, J. A.; Rey Pérez, J. M.; Antón Belvis, J. M.;
Naranjo Cerrillo, G.; Hermoso de Mendoza Salcedo, M.

Unidad de Patología Infecciosa. Departamento de Medicina y Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. 10071 Cáceres.

SUMMARY:

Morphological features of *Ascospaera* sp. ascospores from five local Chalkbrood outbreaks on Cáceres province are compared.

Statistical study reveals a population differing in some aspects from the *Ascospaera* species described as pathogens to *Apis mellifera*, with local variants more defined in the North of the province.

Palabras clave: Ascosferiosis, *Apis mellifera*, Etiología.

Key words: Chalkbrood, *Apis mellifera*, Aetiology.

INTRODUCCIÓN

La Ascosferiosis, «pollo escayolado o calcáreo», es una micosis invasiva que afecta a las larvas y prepupas de la abeja melífera, entre otros insectos apoideos (1-3).

El agente causal es un hongo filamentoso, Ascomiceto (4), perteneciente al orden Ascospaerales, familia Ascospaeraceae, género *Ascospaera* (5).

Su acción patógena se deriva de la germinación de las esporas ingeridas con el alimento, que tiene lugar en el tubo digestivo, desde el cual prolifera el micelio a expensas de los tejidos larvarios hasta irrumpir a través de la cutícula (6-9).

La muerte y posterior desecación de la larva producen una momia de aspecto y consistencia yesosos, que justifican la denominación vulgar del proceso.

El heterotalismo de las especies de *Ascospaera* que afectan a *Apis mellifera* (5) ocasiona la aparición en los cuadros de cría de dos tipos de momias, en función de que proliferen en ellas micelio de uno o ambos signos.

En el primer caso se habla de momia blanca.

En el segundo se produce la conjugación y la formación de ascocistos o cuerpos fructíferos, en cuyo interior se encuentran las ascas o aglomeraciones de ascosporas.

La pigmentación de la membrana de los ascocistos explica el término de momia negra.

En la mayoría de los brotes de Ascosferiosis en *Apis mellifera* se ha aislado *Ascospaera apis*, si bien *Ascospaera major* y *A.*

proliperda, que en condiciones naturales afectan a diversas especies de abejas solitarias (10, 11), son experimentalmente patógenas para la abeja melífera (9) y no se excluye su intervención (2, 5, 12). Esta incertidumbre, asociada a la incidencia de la enfermedad y a la importancia del sector apícola en la provincia de Cáceres (13-15), justifica el presente estudio.

De entre los distintos criterios de diferenciación de especies de Ascospaerales, hemos adoptado el morfológico o morfométrico, en el cual se basan inicialmente los restantes (16-20) y que intenta definir las especies en base al rango de variación de las dimensiones de sus estructuras reproductivas: ascocistos, ascas y ascosporas (3, 5, 21-24).

No obstante, dado el solapamiento entre las dimensiones de ascocistos y ascas para algunas especies (5, 25), en el presente estudio etiológico preliminar sólo hemos considerado las ascosporas, pues son su longitud, su grosor y la relación entre ambos o índice de esbeltez, los que aportan una mayor información (5, 26).

MATERIAL Y METODOS

El material patológico examinado consistió en momias negras extraídas asépticamente de cuadros de cría de *Apis mellifera* infectados, procedentes de colmenas enfermas.

Estas larvas se mantienen en cápsulas de gelatina individuales, conservadas a 30° C hasta su procesamiento.

Intentando cubrir las comarcas de mayor densidad apícola de la provincia de Cáceres (11), se obtuvieron muestras de las siguientes localizaciones (Figura 1):

- Márgenes del Tajo (Garrovillas);
- Cáceres-Trujillo (Cáceres);
- Sierra de San Pedro (Aliseda);
- Las Villuercas (Cañamero);
- Las Hurdes (Las Mestas).

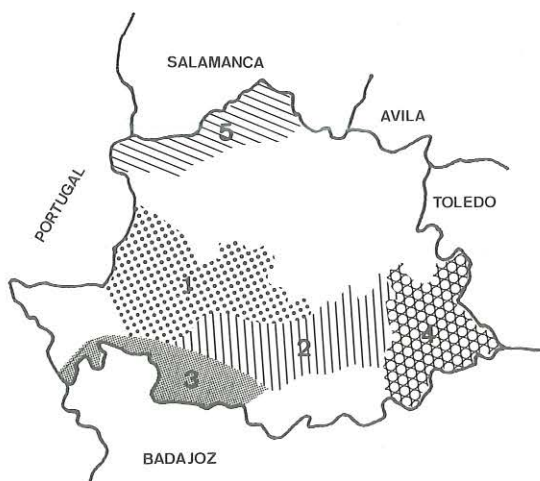


Figura 1.-Comarcas apícolas consideradas en el estudio: 1) márgenes del Tajo; 2) Cáceres-Trujillo; 3) Sierra de San Pedro; 4) Las Villuercas; 5) Las Hurdes.

Diez momias negras de cada procedencia fueron raspadas en superficie con hojas de bisturi estériles. El producto del raspado se aclaró con hidróxido potásico al 20% durante 10-15 minutos, tras los cuales se montan las preparaciones y se observan con ocular micrométrico a 1.000x.

Se obtienen el grosor y la longitud de 200 ascosporas de cada procedencia (24), calculándose posteriormente el índice de esbeltez.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis estadístico (método de la t de Student y análisis de la varianza).

RESULTADOS

El análisis de frecuencias de las medidas de longitud, grosor e índice de esbeltez de las ascosporas para el conjunto de la población, sin tomar en consideración su procedencia, muestran que en los tres casos se ajustan a sendas curvas de distribución normal (Figuras 2 a 4).

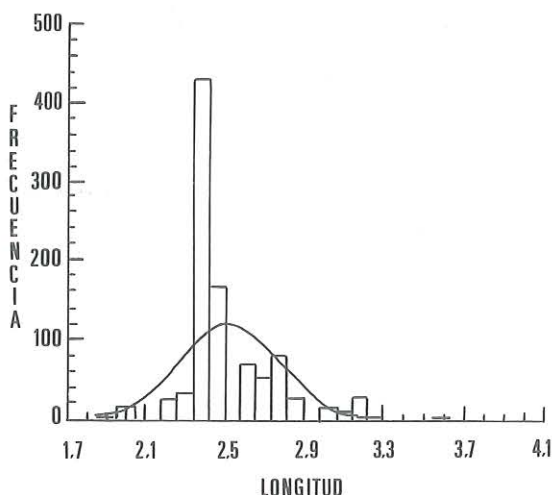


Figura 2.-Histograma de frecuencias correspondiente a la longitud de ascosporas (expresado en μm).

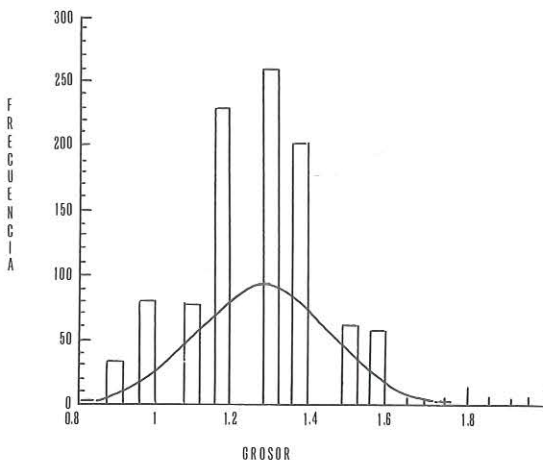


Figura 3.-Histograma de frecuencias correspondiente al grosor de ascosporas (expresado en μm).

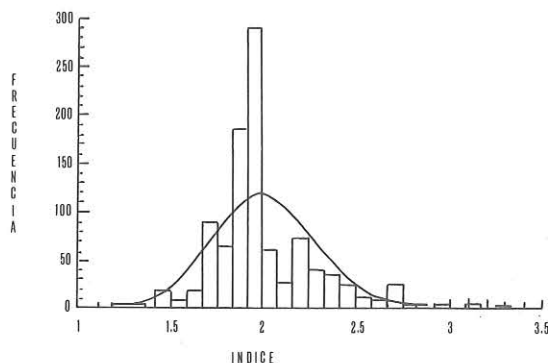


Figura 4.-Histograma de frecuencias correspondientes al índice de esbeltez.

La comparación de dichos parámetros con los de las especies de *Ascospaera* descritas por Skou y King (3) y Skou (5) en *Apis mellifera*, mediante el método de la *t* de Student, muestra la existencia de diferencias significativas al 99,99% entre las medidas proporcionadas por los citados autores y las obtenidas por nosotros.

Por otra parte, si tenemos en cuenta la procedencia de las muestras, el estudio comparativo de las mismas mediante análisis de la varianza, muestra diferencias significativas al 95% para los tres parámetros considerados separadamente.

Sólo la muestra procedente de Las Hurdes mantiene una clara diferenciación respecto a los tres parámetros simultáneamente, en tanto las restantes se agrupan de forma variable según el parámetro considerado.

DISCUSIÓN

El análisis de frecuencias efectuado para los tres parámetros, haciendo abstracción de la procedencia de las muestras, ajustado a sendas curvas de distribución normal, nos permite inferir la existencia de una población homogénea de *Ascospaera* sp., y su comparación con los valores de *Ascospaera apis*, *A. major* y *A. proliperda* (3, 5), muestra que:

— La longitud de ascosporas (1,6-2,5-3,6 μ m) es menor que la correspondiente a las descritas para *Ascospaera apis* (2-2,7-3,5 μ m), *A. major* (3-3,4-4 μ m) y *A. proliperda* (3,5-5,5-8 μ m).

— El grosor de ascosporas (0,9-1,3-1,7 μ m) es muy similar al de *Ascospaera major* (1-1,3-1,5 μ m), y menor que los señalados para *A. apis* (1-1,4-2 μ m) y *A. proliperda* (2-2,5-3,5 μ m).

— El índice de esbeltez (x : 2,0) se sitúa intermedio entre los de *Ascospaera apis* (x : 1,9) y *A. proliperda* (x : 2,2), y menor que el de *A. major* (x : 2,6).

En los tres casos el intervalo de confianza considerado fue del 99,99%.

La existencia de estas diferencias respecto de las especies ya descritas nos tienta a especular con que nos encontremos ante una nueva, que explicase la virulencia y la capacidad de propagación inusitadas de los actuales brotes de Ascosferiosis.

Sin embargo, hemos de tener presente el carácter fenotípico de los valores morfométricos, sujetos a un amplio rango de variación (20).

Ello requiere, para establecer el status taxonómico de esta población de *Ascospaera* sp., ampliar el tamaño del espacio muestral con nuevas procedencias geográficas y

estudiar otros caracteres morfológicos y culturales (2, 24, 27).

Si tomamos en consideración la procedencia de las muestras, encontramos cierta similitud para los tres caracteres morfométricos estudiados en las poblaciones de *Ascospaera* sp. asociadas a las comarcas apícolas del centro y sur de la provincia.

Sin embargo, la muestra procedente de Las Hurdes no mantiene tal relación con las restantes.

Ello se hace especialmente patente si consideramos el grosor de las ascosporas y el índice de esbeltez derivado.

El grosor de las ascosporas se sitúa alrededor de 1,2 μ m, en tanto que las de otras procedencias alcanzan un valor superior, próximo o mayor a 1,3 μ m.

El índice de esbeltez de la muestra de Las Hurdes es 2,2, mientras las ascosporas de las restantes procedencias presentan un valor medio en torno a 2,0.

Ello puede justificarse en base al aislamiento geográfico de la comarca (orografía, barreras fluviales, etc.) y a que la trashumancia y las transacciones comerciales entre apicultores se suelen dirigir hacia el Norte.

Podemos concluir la existencia en la provincia de Cáceres de una población de *Ascospaera* sp. no coincidente con el patrón de *Ascospaera apis* por las características morfométricas de sus ascosporas, pero cuyo status taxonómico consideramos incierto todavía, posiblemente subespecífico y digno de posteriores profundizaciones, en cuyo seno se registran variantes locales, más acusadas en zonas geográficas aisladas y de población apícola estante o trashumante a corta distancia.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer a Don Pedro Luis Rodríguez y D. José Trujillo su asesoramiento en el tratamiento estadístico de los resultados.

RESUMEN

Se comparan las características morfológicas de ascosporas de *Ascospaera* sp. aisladas de cinco brotes locales de ascosferiosis en la provincia de Cáceres.

El estudio estadístico revela la existencia de una población diferente en algunos aspectos de las especies de *Ascospaera* descritas como patógenas para *Apis mellifera*, y con variantes locales más acusadas en el Norte de la provincia.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BAILEY, L. (1963): Chalkbrood. En: *Infectious diseases of the Honeybee*. pp. 63-110. London Land Book Ltd., London.
- (2) BAILEY, L. (1981): Fungi. En: *Honey bee Pathology*, pp. 40-47 y 93. Academic Press, London.
- (3) SKOU, J. P., y KING, J. (1984): *Ascospaera osmophila* sp. nova, an Australian spore cyst fungus. *Aust. J. Bot.*, 32: 225-231.
- (4) ALEXPOULOS, C. J., y MIMS, C. W. (1985): Introducción a la Micología. Ed. Omega, Barcelona.
- (5) SKOU, J. P. (1972): Ascospaerales. *Friesia*, 10 (1): 1-24.
- (6) MATUS, E.; SARBACK, I. (1974): Ocurrance of Chalkbrood disease in Hungary. *Magy. Allatorv. Lap.* 29: 250-255.
- (7) HEATH, L. A. F. (1982): Development of Chalkbrood in a honeybee colony: a review. *Bee Wld.* 63(3): 119-130; 130-135.
- (8) PUERTA, F.; HERMOSO DE MENDOZA, M.; BUSTOS, M.; HERMOSO DE MENDOZA, J., y PADILLA, F. (1987): La Ascoseriosis en *Apis mellifera*. Aspectos de interés aplicativo. II Feria Apic. de Andalucía. Andújar (Jaén).
- (9) PUERTA, F. (1988): Etiopatogenia y tratamiento de la Ascoseriosis en *Apis mellifera* L. Estudios de infección experimental en larvas cultivadas *in vitro*. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba. Córdoba. 188 pp.
- (10) BAKER, G. M., y TORCHIO, P. F. (1968): New records of *Ascospaera apis* from North America. *Mycologia*. 60: 189-190.
- (11) HACKETT, K. J. (1980): A Study of Chalkbrood Disease and viral infection of the alfalfa leaf-cutting bee. Ph. D. Thesis. Univ. of California. Berkeley. 483 pp.
- (12) HERMOSO DE MENDOZA, M.; GALISTEO, I., y SERRANO, I. (1985): *Ascospaera* sp. en pollo escayolado en la provincia de Cádiz. Estudio morfológico y cultural. I Jorn. Apic. de Andalucía. Cazorla (Jaén).
- (13) GOMEZPAJUELO, A. (1986): Propuesta de Plan Apícola Regional. 46 pp. Ed. J. de Extremadura.
- (14) TORRES, F. J.; S.E.Y.C.A. (1987): Censo apícola de Extremadura, 1986. 12 pp. Ed. Dir. Graf. Inv., Ext. y Cap. Agrar. Cons. de Agric. y Com. Junta de Extremadura.
- (15) MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION. (1988): Anuario de estadística agraria de 1986. pp. 425-426. Ed. MAPA.
- (16) KOWALSKA, M. (1984): Biochemical properties of *Ascospaera apis* and *Bettisia alvei*. *Polskie Archiwum Weterynaryjne*, 24 (1): 7-15.
- (17) MAGHRABI, H. A., y KISH, L. P. (1985): Isozyme characterization of Ascospaerales associated with bees. I. *Ascospaera apis*, *A. proliferda*, and *A. aggregata*. *Mycologia*, 77 (3), 358-365.
- (18) MAGHRABI, H. A., y KISH, L. P. (1985): Isozyme characterization of Ascospaerales associated with bees. II. *Ascospaera major*, *A. atra* and *A. asterophora*. *Mycologia*, 77 (3), 366-372.
- (19) MAGHRABI, H. A., y KISH, L. P. (1986): Isozyme characterization of Ascospaerales associated with bees. III. *Bettisia alvei*. *Mycologia*, 78(4): 676-677.
- (20) MAGHRABI, H. A., y KISH, L. P. (1987): Isozyme characterization of Ascospaerales associated with bees. IV. Analyses. *Mycologia*, 79 (4): 519-523.
- (21) SKOU, J. P. (1975): Two new species of *Ascospaera* and notes on the conidial state of *Bettisia alvei*. *Friesia*, 11 (1): 62-74.
- (22) SKOU, J. P., y HACKETT, K. (1979): A new homothallic species of *Ascospaera*. *Friesia*, 11 (5): 265-271.
- (23) SKOU, J. P. (1982): *Ascospaera asterophora* species nova. *Mycotaxon*, 14 (1): 149-159.
- (24) SKOU, J. P. (1988): Japanese species of *Ascospaera*. *Mycotaxon*, 31 (1): 173-190.
- (25) MAURIZIO, A. (1935): Beiträge zur kaenntis der pilzflora und bienenstock. I. Die *Pericystis* infektion der bienenlarven". *Ber. Schweiz. bot. Ges.* 44: 133-156.
- (26) PRÖSKSCHL, H. (1953): Beiträge zur kaenntis der entwicklungsgeschichte von *Pericystis apis* Maasen. *Archiv. Microbiol.*, 18: 198-209.
- (27) BAILEY, L. (1966): The effect of temperature on the pathogenicity of the fungus *Ascospaera apis* for larvae of the Honeybee, *Apis mellifera*. *Procc. Int. Colloq. Pat. Microbial Control*. pp. 162-167. Wageningen, North Holland.