

EFFECTO ACARICIDA DE TINTURA DE AJO (*ALLIUM SATIVUM*) SOBRE EL ÁCARO *VARROA DESTRUCTOR* ANDERSON & TRUEMANN EN BIOENSAYOS DE LABORATORIO.

Dr. M.V.Z. Alain Vega Cárdenas, Dra. MVZ. Yolaisy Curbelo González., Dr. M.V. Edel Miranda Esquijarosa, Dra. M.V. Martha Vázquez Luaces, Téc. Alberto Morales y Beatriz Luaces.

Centro de Investigaciones Apícolas. La Habana, Cuba.

E-mail: alain@eeapi.cu

Introducción

La Varroosis es la parasitosis externa de las abejas melíferas cuyo agente causal es el ácaro *Varroa destructor* (Anderson y Trueman, 2000). Este ácaro se encuentra distribuido en todo el mundo con excepción de algunas islas (7 de las 9 de las Azores) en las que se practican estrictas medidas de control de introducción de abejas (Crespo et al, 2006). En virtud de su amplia distribución, difícil erradicación, a los innumerables daños que causa a las colmenas y a las pérdidas económicas que ocasiona, se le ha considerado el problema más serio que enfrenta la actividad apícola en el mundo (Bruno, 2005).

En Cuba (González, 1996) se realizó el reporte preliminar de la presencia del ácaro en tres apiarios de la provincia de Matanzas en abril de 1996, a través de un Informe Técnico del Instituto de Medicina Veterinaria, pero el pesquiasaje posterior permitió comprobar que ya estaba extendido además en las provincias de La Habana y Ciudad de La Habana (Puentes, Verde y Fregel, 1998 y 2000). En la actualidad se encuentra distribuida por todo el país. En el periodo 2000 al 2004 se reportaron un total de 21023 colmenas perdidas por acción directa e indirecta del ácaro (GEAM, 2005).

La búsqueda de alternativas eficientes, de bajo costo y menor riesgo de contaminación de la miel, para el control de la parasitosis en abejas melíferas es necesaria para la reducción de los efectos negativos. Una de estas alternativas es el uso de aceites esenciales de plantas aromáticas.

El ajo tiene una amplia utilización farmacológica, es eficaz como antibiótico, combatiendo numerosos hongos, parásitos, bacterias y virus; en el control de enfermedades cardíacas, ya que reduce el bloqueo de las arterias; reduce la presión arterial y el colesterol; incrementa el nivel de insulina en el cuerpo; controla los daños causados por la arteriosclerosis y el reuma (Roig, 1993). También se lo relaciona con la prevención de ciertos tipos de cáncer y en la reversión del estrés y la depresión (Salazar, 2000 y Wikipedia, 2006)

Esta investigación tuvo como objetivo principal evaluar el efecto acaricida de la tintura de ajo al 35%, sobre el ácaro *Varroa destructor* y determinar si las dosis utilizadas producían algún efecto tóxico sobre las abejas.

Materiales y Métodos

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Genética y Salud Apícola del Centro de Investigaciones Apícolas, La Habana, Cuba; en el período de septiembre a noviembre del 2006, con ácaros y abejas obreras, provenientes de colonias de *A. mellifera* L, que no habían recibido tratamiento previo contra el parásito. Se utilizaron para la obtención de abejas y ácaros colmenas del tipo Langstroth de un alza con 10 panales ubicados de afuera hacia dentro: 2 de miel, 2 de polen, 4 crías celladas y 2 crías abiertas.

En el laboratorio se utilizaron dos incubadoras (Kowell, modelo C2-1), un termohigrómetro, un estereoscopio, placas Petri de 9cm de diametro con 1,3cm de altura y otras más pequeñas de 5cm de diametro con 0,7cm de altura (Foto # 1 y 2), y 16 jaulas fabricadas con madera (8cm de diámetro x 8cm de altura) y rejilla de aluminio de 0,3cm de diámetro (Foto # 3 y 4).

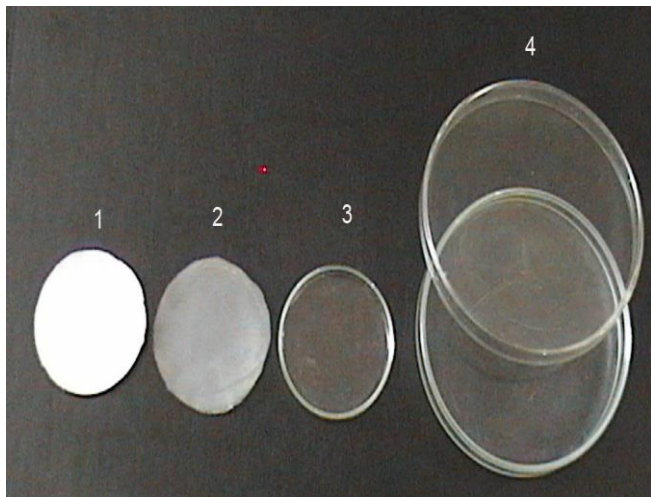


Foto # 1. ¹Papel de filtro, ²malla y ³placa Petri pequeña y ⁴placa Petri con tapa.



Foto # 2. Placa con larvas y varroas durante la aplicación de la tintura.

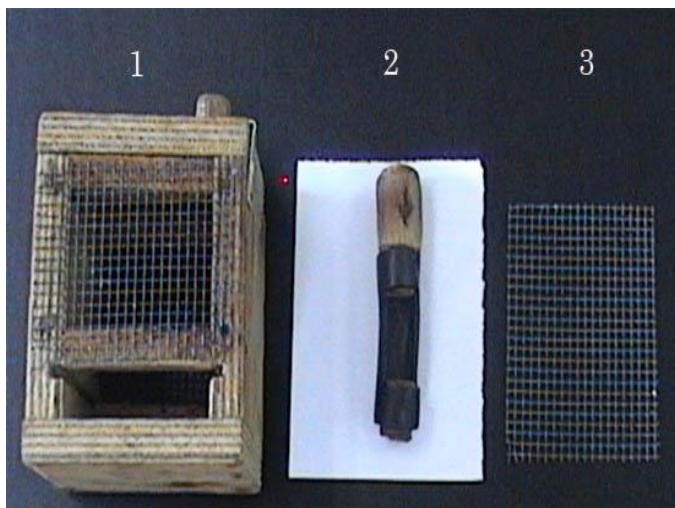


Foto # 3. ¹Jaula, ²alimentador y ³fondo.

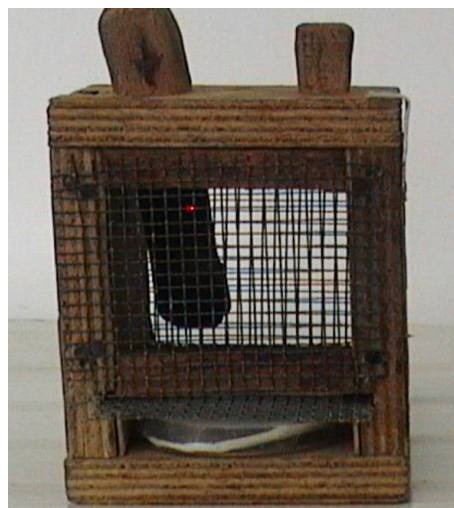


Foto # 4. Jaula lista para introducir las abejas y aplicar la tintura.

Tintura:

Se evaluaron diferentes dosis de una tintura de ajo con una concentración al 35% aplicadas sobre papel de filtro puesto dentro de pequeñas placas Petris las cuáles se taparon con una malla plástica de 0,1mm de diámetro, para evitar que las varroas se pusieran en contacto con la tintura. Esta se obtuvo previamente por maceración en alcohol al 70% siguiendo las instrucciones descritas por Fauron (1994).

Bioensayos en ácaros:

Los ácaros se recolectaron de panales de zánganos, destapando cada una de las celdas con un bisturí y extrayendo la larva infestada por varroa con una pinza de disección; se colocaron 10 varroas con 3 larvas para su alimentación en cada placa Petri; formándose cinco grupos homogenios. Posteriormente se les aplicó las diferentes dosis (0,25; 0,5; 0,75; 1ml) de tintura de ajo al 35% a los grupos bajo tratamiento, tomándose como modelo la metodología planteada por Ruffinengo, et al, (2006).

Bioensayos en abejas:

Las abejas utilizadas en cada unidad experimental, se recolectaron el primer día de nacidas de panales enjaulados puestos a nacer en las colmenas. Se colocaron de forma individual en las jaulas con el alimento (miel de abeja) formándose cinco grupos de 30 abejas cada uno. Se les aplicó el mismo número de dosis de tintura de ajo al 35% sobre papel de filtro a cada grupo bajo tratamiento, igual que en los bioensayos en ácaros.

Luego de la aplicación de la tintura, las unidades experimentales se llevaron inmediatamente a la incubadora. Se utilizaron dos incubadoras (una para el control y la otra para los tratamientos) para evitar que el control recibiera la acción de los vapores de la tintura.

Debido a que se trabajó con organismos vivos en condiciones de laboratorio, se tuvo cuidado de no afectar durante los ensayos la relación parásito-huésped que existe naturalmente. Por ello, el ensayo en el laboratorio otorgó, tanto a las abejas como a los ácaros, condiciones similares a las que se encuentran en forma natural. La temperatura, humedad y oscuridad en la cámara climática se regularon para simular las condiciones de la colmena. La temperatura se mantuvo regulada mediante un termostato, en un rango de $34^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. La humedad relativa se mantuvo entre 70-80% mediante pocillos con agua puestos en la incubadora. Ambas variables se midieron mediante un termohigrómetro colocado en el interior de la cámara. La puerta de ésta se cubrió con un plástico negro para evitar que entrara luz al abrirla; además las observaciones se realizaron bajo luz tenue, para no alterar las conductas de las abejas y los parásitos.

Después de la aplicación de cada tratamiento se dejó pasar un día para ventilar la cámara.

Cada unidad experimental fue identificada con una etiqueta la cuál contenía: grupo, dosis aplicada, cantidad de abejas y ácaros en estudio y fecha de inicio del experimento.

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar, con 4 tratamientos y un control que correspondieron a la aplicación de la tintura de ajo al 35% a diferentes dosis: 0,25ml (T1), 0,50ml (T2), 0,75ml (T3), 1ml(T4), y control (C) con 0,65ml de alcohol al 70%. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones. Se realizó análisis de varianza simple, utilizando el test de contraste multiple de rango LSD para comparar las medias de mortalidades entre grupos y entre observaciones, utilizándose para el procesamiento de los datos el paquete estadístico Statgraphics plus 5.1.

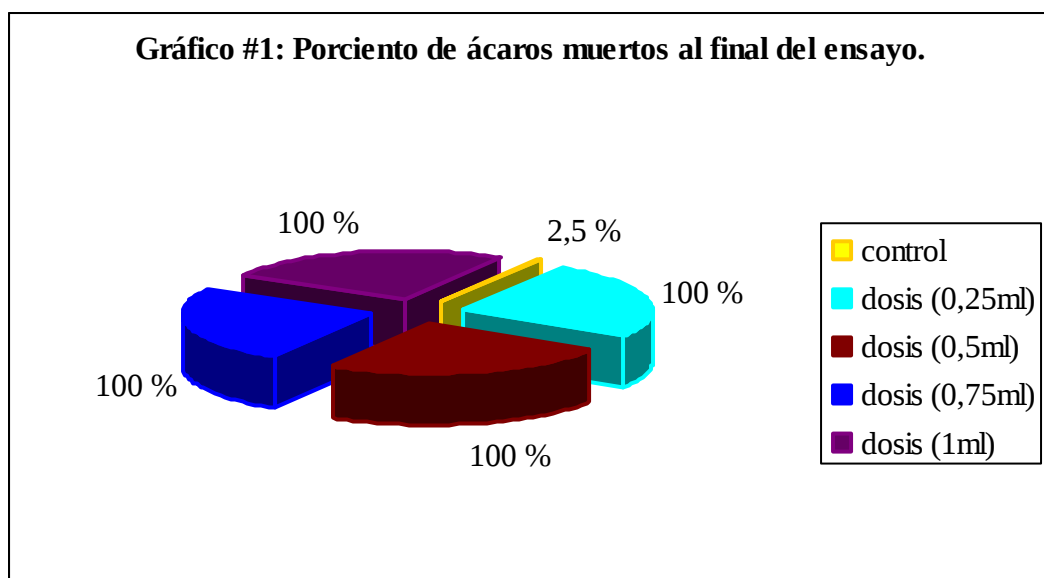
El período de evaluación de los tratamientos se extendió por 24 hrs, considerando intervalos de tiempo de 30min, 45min, 1, 2, 4, 6 y 24hrs posteriores a la aplicación de los tratamientos. Los ensayos comenzaron siempre en el mismo horario (10:00 am), lo que permitió realizar evaluaciones cronológicas a las 10:30, 10:45, 11:00, 12:00; 14:00, 18:00 y 10:00 del día siguiente, para hacer comparables los resultados obtenidos. Con estas evaluaciones se llevaron registros de temperatura y

humedad, verificando que las condiciones se mantuvieran constantes y no influyeran en la conducta normal de las abejas y ácaros.

El efecto de la aplicación de la tintura de ajo al 35% sobre los ácaros se midió evaluando el porcentaje de ácaros muertos. Los ácaros se observaron bajo el estereoscopio, por un período de 15 minutos. Al momento de las observaciones los ácaros se sometieron a estimulación táctil con una aguja entomológica, para verificar si realmente estaban muertos. Se consideraron ácaros muertos los que no presentaron movimiento luego del tiempo de observación. El efecto en las abejas se midió evaluando el porcentaje de muerte de las mismas y/o cualquier síntoma de intoxicación.

Resultados y discusión

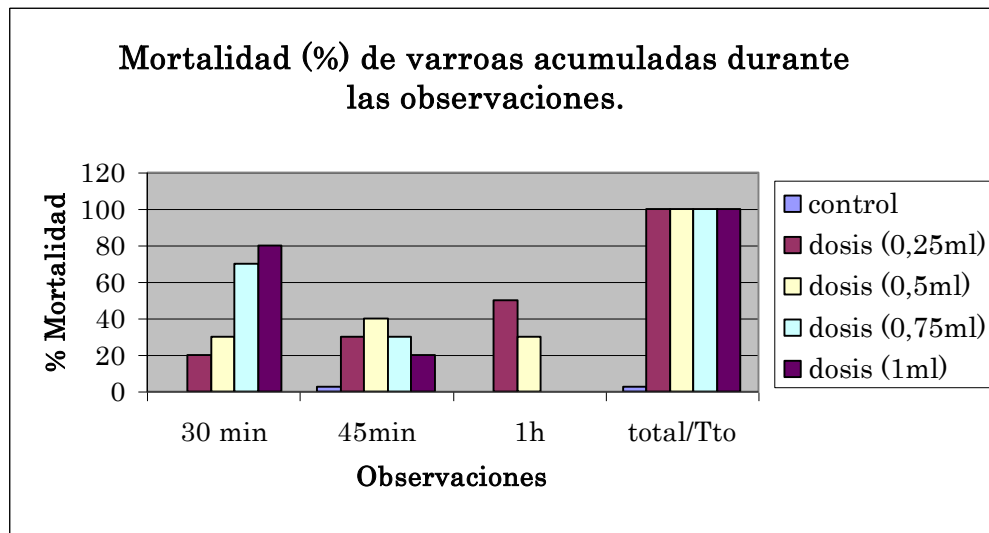
Efecto de la aplicación de diferentes dosis de tintura de ajo al 35% sobre el ácaro *Varroa destructor*:



En el Gráfico # 1, se observa el efecto de los tratamientos sobre el porciento de ácaros muertos al final del ensayo. Todas las dosis de tintura de ajo utilizadas causaron 100% de mortalidad en los ácaros, valor mayor que para el grupo control en el cuál la mortalidad se comportó en un 2,5%, la cuál pudo estar dada por muerte natural del ácaro.

Ruffinengo, et al. (2006) utilizándo dosis de 0.25, 0,5 y 1gr de aceite esencial de *Acantholippia seriphioidea* administrada por evaporación en bioensayos de laboratorio, obtuvo una mortalidad de ácaros del 88% a las 72 hrs en las dosis de 0,25 y 0,5gr; la mortalidad alcanzó valores de 90% para todos los casos que se le aplicó la dosis de 1gr. La toxicidad en abejas no difirió significativamente del control para ninguna de las dosis.

Resultados menores fueron alcanzados por Ruiz, et al. (1998) al utilizar tintura de Ruda en dosis de 0,5 ml, donde obtuvo una eficacia del 69% a las 24h de aplicada la tintura, sin producirse muerte en las abejas.



Al analizar el Gráfico #2 podemos observar el comportamiento entre las dosis y las observaciones donde obtuvimos que después de 1hr de aplicada la tintura de ajo al 35% en todas se alcanzó el 100% de la mortalidad de los ácaros, debido esto a que los productos que actúan por evaporación tienen mayor efecto durante las primeras horas después de la aplicación, disminuyendo progresivamente a medida que transcurre el tiempo, concordando con lo planteado por Neira, et al, (2004), donde utilizó para la evaluación de aceites esenciales de Lavanda y Laurel un período de 24h con intervalos de 2hrs entre las observaciones. En las dosis de 0,75 y 1ml a los 30 min de aplicada la tintura se obtuvo un 70 y 80% de mortalidad respectivamente, alcanzando el 100% de la mortalidad a los 45min.

Tabla # 1: Comparación de medias de mortalidad de ácaros entre los grupos.

Grupos	Mortalidad Media $\pm$ D S
Control (0,75ml de alcohol al 70%)	0,08 $\pm$ 0,29 a
T ₁ (0, 25 ml)	3,33 $\pm$ 1,30 b
T ₂ (0,5 ml)	3,33 $\pm$ 0,49 b
T ₃ (0,75 ml)	3,33 $\pm$ 2,99 b
T ₄ (1 ml)	3,33 $\pm$ 3,55 b

Letras diferentes indican diferencia significativa para $p \leq 0.05$.

En la tabla # 1 se comparan las medias totales de ácaros muertos entre los grupos, donde se obtuvo como resultado, que las mortalidades entre las dosis utilizadas no variaron significativamente entre ellas y si con el grupo control para una $p \leq 0,05$.

Pocos son los estudios científicos que se han realizado en el campo de salud animal para determinar la actividad acaricida del ajo, aunque se conoce que este presenta numerosas actividades farmacológicas como son: antibiótica, antivírica, fungicida, vermícidas, antisépticas e insecticida, las cuáles son producidas por los compuestos azufrados (Alicina, Ajocisteína y Tiosulfatos) y los no azufrados (ácidos fenólicos, saponinas (Gitonina F y Eurobósico B) y Escordina) (**García y Sánchez-Muñiz, 2006**).

Las sustancias activas presentes en el ajo son: fructosanas (75%), aceite esencial (garlicina, aliína que hidrolizada por la aliinasa produce alicina, responsable del característico olor del ajo, que rápidamente se transforma en disulfuro de alilo), pequeñas cantidades de vitaminas (A, B1, B2, B6, C), adenosina y sales minerales (hierro, sílice, azufre, yodo), según Freeman, (**1974,1975 y 1976**) y Malkeja y Bailey, (**1990**).

Efecto tóxico de la aplicación de diferentes dosis de tintura de ajo al 35% sobre las abejas (*Apis mellífera L*):

En los bioensayos en abejas no se observó ningún síntoma de intoxicación para estas dosis, y no hubo mortalidad en ninguno de los grupos, por lo que podemos plantear que la tintura de ajo al 35% utilizada en dosis de 0,25, 0,5, 0,75 y 1ml no produce efectos tóxicos para las abejas. Resultados similares fueron alcanzados por Ruffinengo et al, (**2001**) cuando evaluaron concentraciones al 5% de aceites esenciales de *Heterotheca latifolia* y *Tagetes minuta* en condiciones de laboratorio; obteniendo que estos aceites esenciales no producen efecto tóxico en abejas adultas, ya que al aplicar 10mg de sustancia activa en una solución con agua destilada no observaron diferencias significativas entre las mortalidades de los grupos bajo tratamientos y las de los grupos controles.

Imdorf et al, (**1999**) plantean que los compuestos con actividad acaricida aceptable y con toxicidad baja en las abejas son esenciales en la obtención de un candidato eficaz para el control de varroa en coloneas de abejas melífera.

Conclusiones

Las dosis de tintura de ajo al 35% utilizadas presentaron efecto como acaricida ya que posterior a 1 hora de su aplicación causaron un 100% de mortalidad en los ácaros.

- Las dosis utilizadas no causaron efecto tóxico en las abejas.

Recomendaciones

Utilizar otras concentraciones y dosis de tinturas de ajo para así determinar las concentraciones y dosis mínimas letales a utilizar en el control de esta parasitosis.

- Continuar los estudios del ajo a nivel de laboratorio utilizando abejas infestadas con *Varroa destructor*.

Bibliografías

- Anderson, D. L.; Truemann, J. W. H. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*; 24: 165- 189.
- Breu, W.; Dorch, W. 1994. *Allium cepa* L (onion): Chemistry analysis and pharmacology. *Econ Med Plant Res*;6: 116-147.
- Bruno, Susana. Beatriz. 2005. Sanidad Apícola. Varroosis: su control. *Ciencia y Abejas*. (ARG); 51: 11- 12. marzo.
- Crespo, J. M.; Alfonso, J.; Quesada, P. D.; Gómez, A. 2006. Primeras aportaciones en la etiología de las principales enfermedades de las abejas. *Vida Apícola*. (ESP), 138: 25. julio y agosto.
- Fauron, R. 1994. Galénica y fitoterapia: aspectos cualitativos. *Natura Medicatrix*. pág: 37-38.
- Freeman, G. G.; Whenham, R. J. 1974. Changes in onion (*Allium cepa* L.) flavour components resulting some postharvest processes. *J Sci Food Agric*; 25:499-515.
- Freeman, G. G. 1975. Distribution of flavour components in onion (*Allium cepa* L.), leek (*Allium porrum*) and garlic (*Allium sativum*). *J Sci Food Agric*; 26:471-481.
- Freeman, G.G; Whenham, R. J. 1976. Nature and origin of volatile flavour components of onions and related species. *Flavours*; 910:222-229.
- García, L. J.; Sánchez-Muñiz, F. J. 2006. Efecto cardiovascular del ajo (*Allium sativum*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Venezuela. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S000406222000000300002&script=sci_arttext [consulta: 18 de septiembre 2006].
- González, G. 1996. Reporte preliminar del ácaro *Varroa jacobsoni* Oud. en tres apiarios de la provincia de Matanzas. Informe Técnico. Instituto de Medicina Veterinaria. Cuba.
- Grupo Empresarial Agricultura de Montaña (GEAM). 2005. Análisis de las bajas de colmenas acumuladas hasta octubre, durante los años 2000-2005. Cuba. (Boletines Apícolas).
- Imdorf, A.; Bogdanov, S.; Ibáñez Ochoa, R.; Calderone, N. W. 1999. Use of Essential Oils for the Control of *Varroa jacobsoni* in honey bee colonies. *Apidologie*.(FR) (30) 209-228.
- Malkeja, A. N.; Bailey, J. M. 1990. Antiplatelet constituents of garlic and onions. *Agent Actions*; 29:360-363.
- Neira, M.; Heinshon, Paula.; Carrillo, R.; Báez, Andrea.; Fuentealba, J. 2004. Efecto de aceites esenciales de lavanda y laurel sobre el ácaro *Varroa destructor* Anderson & Truemann (acari: varroidae). *Agricultura Técnica*. (Chile). 64(3): 238-244. julio-septiembre.
- Puentes, T.; Verde, Maida.; Fregel, N. 1998. Análisis de los factores de riesgo asociados a la varroasis en la República de Cuba. VI Congreso Ibero-Latinoamericano de Apicultura. Memorias. México.
- Puentes, T.; Pérez, E.; Fregel, N. 2000. Estudio del impacto ocasionado por el huracán "Lili" en la dispersión del ácaro *Varroa jacobsoni* Oud en los territorios occidentales y centrales del país. V Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias. La Habana, Cuba: 284p.
- Ruffinengo, S.; Eguaras, M.; Bailac, P.; Torres, J.; Basualdo, M.; Ponzi, M. 2001. Essential in the control of *Varroa destructor*. An evaluation in laboratory conditions. *Proceeding of the International apicultural Congress*. Apimondia 2001, South Africa. november.

Ruffinengo, S.; Maggi, M.; Floris, I.; Faverin, C.; Pelayes, A.; Gascón, A.; Eguaras, M. 2006. Eficacia del aceite esencial microencapsulado de *Acantholippia seriphioides* sobre el acaro varroa destructor, en condiciones de laboratorio. Argentina.. Disponible en:

<http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/sanidad/206_varroa_aceite_esencial.pdf> [consulta: 17 de septiembre 2006]

Roig, J. T. 1993. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Científico Técnica. 125p.

Ruiz, J. A.; Flores, J. M.; Ruz, J. M.; Puerta, F.; Campano, F. 1998. Eficacia de plantas medicinales contra Varroa jacobsoni Oud en el Laboratorio. España.

Salazar, Yudaisi. 2000. Allium sativum L. Un agente antitrombótico diferente. Rev Cubana Angiología y Circulación Vascular. 1(2): 60-155.

Wikipedia. Allium sativum; Posible utilidad del ajo en el tratamiento del cancer y enfermedades del sistema circulatorio. Disponible en:

<http://es.wikipedia.org/wiki/Allium_sativum> [consulta: 17 de septiembre 2006].