

MEMORIAS

X CONGRESO NACIONAL DE APICULTURA 2009

Apicultura y su impacto en la seguridad alimentaria

Editor:
Dr. Rafael A. Calderón Fallas

MEMORIAS

X CONGRESO NACIONAL DE APICULTURA 2009

Apicultura y su impacto en la seguridad alimentaria

13 – 14 noviembre 2009

Escuela Social Juan XXIII
San Rafael de Tres Ríos, Cartago-Costa Rica

Editor:

Dr. Rafael A. Calderón

Programa de Patología Apícola, Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales,
Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Colaboradores:

M.Sc. Ana Cubero

Programa Nacional de Apicultura
Ministerio de Agricultura y Ganadería

Dr. Johan Van Veen

Presidente

Cámara Nacional de Fomento de la Apicultura

Nota aclaratoria:

Los organizadores del X Congreso Nacional de Apicultura 2009 agradecen la contribución de los diferentes autores por sus trabajos, ya que representan un importante aporte para la apicultura y un valioso material de consulta y referencia para los participantes.

Deseo aclarar que el contenido de los trabajos publicados en esta memoria es responsabilidad exclusiva de los autores. El contenido de cada artículo se presenta como fue entregado por los autores, siguiendo únicamente un proceso de edición de formato.

Editor.

CONGRESO NACIONAL DE APICULTURA 2009

Apicultura y su impacto en la seguridad alimentaria

Tres Ríos-Cartago, 13 – 14 noviembre 2009

Comité organizador

Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT-UNA)
Cámara Nacional de Fomento de la Apicultura (CANAFAPI)
Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA)
Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG)

Presentación

El impacto de la apicultura en la seguridad alimentaria está relacionado con diferentes aspectos, uno de los principales es la participación de las abejas en la polinización de cultivos agrícolas y los bosques tropicales. Otro aspecto fundamental de las abejas es la elaboración de productos de alto valor nutritivo y abundantes beneficios para la salud pública, como la miel, el polen, el propóleo y la jalea real. El origen natural de los productos apícolas ha contribuido en gran parte a incentivar su consumo. Sin embargo, actualmente diversos factores amenazan estos beneficios, como por ejemplo, la desaparición de las abejas, la deforestación, el uso excesivo de productos químicos, la adulteración de la miel, las malas prácticas apícolas, entre otros.

La seguridad alimentaria es un concepto dinámico, pues ha variado con el tiempo, haciéndose cada vez más completo. Existe una definición global, oficializada unánimemente por los Jefes de Estado y de Gobierno de los países miembros de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). La definición adoptada indica que existe seguridad alimentaria "Cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico, social y económico a los alimentos suficientes, inocuos y nutritivos que satisfagan sus necesidades energéticas diarias y preferencias alimentarias para llevar una vida sana y activa". En otras palabras, como lo mencionó recientemente el Rector de la Universidad Nacional: "La Seguridad Alimentaria es un derecho humano desde la perspectiva ética y holística, que garantiza la producción, accesibilidad, inocuidad y disponibilidad oportuna de alimentos variados y nutritivos, con calidad e inocuidad, para el consumo en forma perdurable, respetando la diversidad cultural y genética y contribuyendo al desarrollo humano".

Indudablemente, la flora apícola se convierte en un aliado para que los apicultores logren alcanzar buenas cosechas de miel y/o polen, también por la necesidad que tienen las abejas de coleccionar resinas en las hojas, troncos y ramas, las cuales son indispensables para la producción de propóleos. También de las plantas las abejas requieren coleccionar gomas, partes florales y aceites, elementos de gran valor al interno de la colmena. Otro factor relevante, aparte del tipo alimenticio, es el sustrato natural que brindan las plantas, sobre todo los árboles maduros, para el establecimiento de nidos silvestres de abejas en el campo. Este hábitat es de gran importancia para la sobrevivencia de las abejas silvestres, tanto *Apis mellifera*, como también, abejas nativas sin aguijón y solitarias. Nuevamente, todos estos grupos tan diversos de abejas tienen un gran impacto en los sistemas de polinización en nuestros ecosistemas y en los campos de cultivo.

La relación entre las abejas y las plantas es ancestral, debido en primera instancia, a que las abejas requieren de una dieta completamente vegetariana. De esta forma, la energía o carbohidratos los obtienen del néctar, que luego transforman en miel; mientras tanto, las proteínas indispensables para el crecimiento y desarrollo larval, las obtienen del polen. Por otra parte, las plantas requieren de las visitas de las abejas para favorecer el proceso de polinización, el cual es vital para favorecer su reproducción sexual, y por ende, su sobrevivencia. A través de esta relación de interdependencia, ambos grupos abejas y plantas, se han perpetuado en la naturaleza, y muy importante, es que ese lazo vital debe conservarse y protegerse por el bien de la vida en nuestro planeta.

Dr. Rafael A. Calderón F.
M.Sc. Luis A. Sanchez Ch.

Índice

SITUACIÓN ACTUAL DEL SÍNDROME DE DESPOBLAMIENTO DE LA COLMENA.....	7
Rafael A. Calderón	
DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES DE LA CRÍA EN ABEJAS AFRICANIZADAS EN COSTA RICA	13
Rafael A. Calderón; Natalia Fallas; Gisella Chaves; Susana Ureña	
PROPIEDADES MEDICINALES DE LA MIEL DE ABEJAS SIN AGUIJÓN DE COSTA RICA.....	22
Natalia Fallas; Rebeca Solórzano; Gabriel Zamora; María Laura Arias; Eduardo Umaña; Ingrid Aguilar	
PROPOLEO: COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ESTANDARIZACIÓN DE LA CALIDAD.....	35
Eduardo Umaña; Guiselle Tamayo; Godofredo Solano; José Francisco Ciccio	
ANÁLISIS DE RESIDUOS DE CONTAMINANTES EN MIEL DE ABEJAS (<i>APIS MELLIFERA</i>) COMERCIALIZADA EN COSTA RICA.....	43
Luis Angel Sánchez; Clemens Ruedert; Eduardo Umaña; Efraín Solís	
IMPORTANCIA DE LA BIODIVERSIDAD APÍCOLA PARA LA SEGURIDAD ALIMENTARIA DE COSTA RICA.....	54
Luis A. Sánchez Chaves; Eduardo Herrera González	
PRODUCCIÓN DE REINAS MADRES PURAS, DE ORIGEN EUROPEO COMO “PIE DE CRÍA” PARA LOS APICULTORES DE COSTA RICA.....	61
José Fernando Ramírez Arias	

SITUACIÓN ACTUAL DEL SÍNDROME DE DESPOBLAMIENTO DE LA COLMENA

Rafael A. Calderón

Programa de Patología Apícola, Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: rcalder@una.ac.cr.

I. Introducción

El Síndrome de Despoblamiento de la Colmena (SDC), se ha reportado en países europeos como España, Francia, Suiza y Alemania, afectando colmenas de abejas melíferas (*Apis mellifera*). Asimismo, se ha indicado la pérdida masiva de abejas en diferentes zonas de los Estados Unidos, principalmente en estados de la costa este y oeste, así como en Texas. En este país, se le ha denominado al problema de despoblamiento, síndrome del colapso de la colonia (Colony Collapse Disorder= CCD). Se debe indicar que en los Estados Unidos, una gran cantidad de colmenas, se utiliza en la polinización de cultivos como el melón, manzana, pera, cítricos, entre otros. Además, más del 90.0% de las plantaciones de almendra en California, dependen de las abejas para su polinización. Por este motivo, este tipo de fenómeno se constituye en una alerta para los apicultores y el gobierno federal, teniendo un fuerte impacto en la seguridad alimentaria. Recientemente se le ha denominado a este fenómeno pérdida de abejas (Bee losses), para diferenciarlo del colapso de la colonia, el cual puede deberse en ciertos casos a la pérdida de la reina, mala alimentación de la colmena en época de escasez, entre otros.

Aunque el SDC concentró la atención internacional a principios de 2007, debido a su detección en los Estados Unidos y a las pérdidas económicas que podría ocasionar en este país, los primeros indicios empezaron a detectarse en España a finales de 1999 y a principios del 2000. Sin embargo, fue hasta el invierno del 2004 y la primavera del 2005, cuando se manifestó con mayor severidad.

En Costa Rica, aún cuando no se ha reportado la presencia del SDC, es importante señalar que en los últimos años, diferentes apicultores han indicado un debilitamiento de colmenas fuertemente pobladas, durante la época de mayor flujo nectarario (época de cosecha= diciembre - enero). Presentándose una baja considerable en la producción de miel.

II. Síntomas clínicos

No hay síntomas específicos que caractericen el SDC. Se ha indicado que se presenta una disminución en el número de abejas de la colmena, en un periodo relativamente corto, perdiendo la población de abejas adultas sin una causa aparente. Además, se ha observado que la reina se mantiene en la colonia y que las obreras dejan de consumir el alimento suministrado (jarabe o suplementos proteícos).

Las abejas que sobreviven no pueden mantener las tareas básicas de la colonia, como termorregulación y alimentación de la cría, por lo que es frecuente la aparición de otras enfermedades, como Loque Americano (*Paenibacillus larvae*) o Cría de Tiza (*Ascosphaera apis*). Esto explicaría la presencia de enfermedades de la cría, que se observó en colmenas afectadas por el CCD, en los Estados Unidos.

La cría sellada y la miel permanecen prácticamente intactas. Un aspecto importante de resaltar, es que no se observa mortalidad masiva de abejas en frente de la piquera. Igualmente, el ataque de plagas como la polilla, se retrasa notoriamente.

III. Posibles factores asociados al despoblamiento de la colmena

La causa exacta de este problema aún no está clara. Se han realizado estudios para determinar si el origen de este síndrome es una enfermedad (parasitaria o viral) o un conjunto de factores, como el efecto residual de ciertos insecticidas.

Hasta ahora las principales causas que se han asociado con el SDC son:

- 1- Acción de los insecticidas sistémicos imidacloprid y fipronil
- 2- Presencia de *Nosema ceranae*
- 3- Incidencia de enfermedades virales en colmenas infestadas con el ácaro *Varroa destructor*.
- 4- Presencia del Virus Israelí de la Parálisis Aguda

Un equipo de investigadores del Instituto Nacional de Biología de Eslovenia, reportó que la infección por los parásitos *V. destructor* y *Nosema sp.*, altera la conducta de vuelo de las abejas, necesitando más tiempo para volver a la colmena e incluso dificultando su regreso a la misma luego del pecoreo. Los investigadores concluyeron que este comportamiento, se puede interpretar como una forma de eliminar patógenos o parásitos de la colonia. Las abejas enfermas no vuelven a la colmena como un mecanismo de defensa.

Por otra parte, se menciona que la radiación producida por los teléfonos móviles (celulares) y otros aparatos de última tecnología, podrían estar asociados con este fenómeno. Sin embargo, existe poca evidencia científica que respalde esta causa. Además, se indica que la sobre-explotación de las colonias, la mala alimentación y el estrés competitivo, podrían provocar un debilitamiento del sistema inmune de las abejas, lo que conlleva a que sean más propensas a enfermedades. También se ha mencionado, la alta consanguinidad en apiarios comerciales que se dedican a la crianza y venta de reinas, como otro factor a considerar.

En este artículo, se hace referencia a cuatro posibles causas asociadas al SDC: acción de insecticidas sistémicos, *N. ceranae*, enfermedades virales en colmenas infestadas con el ácaro *V. destructor* y presencia del virus Israelí de la parálisis aguda.

3.1- Acción de insecticidas sistémicos

La acción de los insecticidas imidacloprid y fipronil, los cuales se aplican durante la siembra de cultivos, puede provocar en las abejas pérdida de la orientación, alteración de la memoria olfativa y pérdida de la coordinación motriz, lo cual afecta su regreso a la colmena luego del pecoreo.

Lo anterior conlleva a una reducción progresiva de la población de abejas adultas. Un aspecto relevante, es que no se observa una mortalidad masiva de abejas en frente de la colmena, lo cual es una diferencia con respecto a la presencia de algunas enfermedades vírales o la acción de ciertas intoxicaciones. Se ha indicado que el envenenamiento paulatino de las abejas, afecta inicialmente a las colmenas más pobladas del apiario.

El imidacloprid y fipronil, son insecticidas sistémicos neurotóxicos remanentes, los cuales causan una intoxicación lenta en las abejas. El imidacloprid es un derivado de la nicotina (neocotinoide), su acción en los insectos es sobre el sistema nervioso central, bloqueando de forma irreversible los receptores nerviosos. Mientras que los insectos que entran en contacto con el fipronil, incluidas las abejas, mueren por sobre-excitación, ya que afecta las transmisiones nerviosas. Estos insecticidas actúan en las plantas de manera sistémica, por lo que el producto aparece principalmente en el néctar. Estos principios activos, se han venido aplicando en nuestro país en productos utilizados para el control de mosca blanca y áfidos, en cultivos agrícolas como tomate, chile, melón, sandía, café y pepino.

Es importante indicar que luego de prohibirse la utilización de estos pesticidas en Francia, la mortalidad de las abejas no disminuyó. Por otra parte, el imidacloprid no está autorizado en España y el uso de fipronil está poco extendido, por lo que en este país Europeo, existe poca relación entre el despoblamiento de las colmenas y la aplicación de estos insecticidas.

3.2- Presencia de *Nosema ceranae*

La Nosemosis o Nosemiasis es una enfermedad ampliamente distribuida, la cual causa pérdidas económicas considerables en la industria apícola a nivel mundial. Esta enfermedad es causada por el microsporidio *Nosema sp.*, el cual afecta el tracto digestivo de las abejas adultas. Hasta hace algunos años, se consideraba que la Nosemiasis en abejas melíferas, *A. mellifera*, era causada estrictamente por *N. apis* Zander (1909) (Microspora, Nosematidae); mientras que la abeja asiática, *A. cerana*, era infectada básicamente por *N. ceranae* Fries *et al.* (1996) (Microspora, Nosematidae).

Las esporas producidas por este microsporidio, son ingeridas por la abeja y pasan rápidamente al intestino. Allí se desarrollan y se multiplican en el citoplasma de las células epiteliales. Se forman nuevamente esporas que pasan hasta el recto, donde se acumulan y son liberadas con las heces. Si la infección no es controlada, las funciones digestivas cesan al cabo de 2 ó 3 semanas y la abeja se debilita y muere. Las obreras nodrizas infectadas producen poca jalea real o dejan de producirla, mientras que la reina pone menos huevos y la población de la colmena se reduce, lo que puede acarrear su pérdida.

Por lo general, la Nosemiasis permanece latente durante todo el año y se manifiesta luego de períodos de encierro de las abejas dentro de la colmena (hacinamiento), debido principalmente a lluvias prolongadas, fríos intensos o fuertes vientos. Apiarios ubicados en lugares húmedos o con mucha sombra, suelen tener niveles de infección más altos que aquellos situados en sitios secos y soleados.

En el año 2005, se reportó en Taiwán, la presencia de esporas de *N. ceranae* en abejas melíferas. El apiario afectado estaba constituido por colmenas de abejas *A. mellifera* y *A. cerana*. En ese mismo año, fue confirmado en España el primer diagnóstico de *N. ceranae* en abejas de tipo Europeo.

Diferentes estudios del SDC en países europeos, han determinado la presencia de *N. ceranae*, la cual ha sido diagnosticada en abejas de colmenas afectadas por despoblamiento en España, Francia, Suiza y Alemania. El análisis de abejas durante la primavera del 2006, indicó que *N.*

ceranae estaba ampliamente distribuida en el continente Europeo y que su aparición era reciente. En colmenas infectadas con *N. ceranae* en España, se observaron síntomas generales, como despoblamiento gradual de las colonias, pérdida masiva de colmenas en el invierno y una disminución significativa en la producción de miel. Los daños a nivel celular en el aparato digestivo eran muy severos, no se reportó diarrea y afectó a las abejas durante el verano, una estación en la que los casos de Nosemiasis por *N. apis* son poco frecuentes (se presenta en primavera). Por otra parte, en Francia, Alemania, Italia y Portugal, las abejas presentaban síntomas similares. Ante esta situación, se ha relacionado fuertemente la presencia de *N. ceranae* como posible agente causal del SDC.

Diagnóstico diferencial: Debido a que las características morfológicas de las esporas de *N. Apis* y *N. ceranae* son relativamente similares, el diagnóstico diferencial utilizando el microscopio de luz, no es suficiente para caracterizarlas de manera adecuada. Una de las características que orienta el diagnóstico, es el tamaño de las esporas de *N. ceranae*, las cuales son ligeramente mas pequeñas comparadas con *N. apis*. Además, las esporas de *N. ceranae* son levemente irregulares, lo cual da una apariencia menos consistente que *N. apis*.

Recientemente se han desarrollado técnicas moleculares (PCR = marcadores genéticos y primers específicos para la región del gen 16S rRNA), las cuales permiten diferenciar de manera rápida y efectiva, las dos especies de Nosema.

Tratamiento: El antibiótico fumagilina, el cual se obtiene del hongo *Aspergillus fumigatus*, esta indicado para el tratamiento del parásito *N. apis* en las abejas melíferas; sin embargo, hay pocos estudios relacionados con el control de *N. ceranae*. Se han realizado algunos ensayos para el tratamiento de colmenas infectadas con *N. ceranae*, utilizando un total de 120 mg de fumagilina por colonia, dividiendo la dosis en cuatro aplicaciones, con un intervalo de una semana. Luego de la cuarta aplicación, no se determinó la presencia de esporas de *N. ceranae*. Asimismo, no se observó ningún efecto adverso sobre las abejas, notándose una mejoría considerable en la condición general de las colmenas.

Nosemiasis en Costa Rica: En los últimos años, se han analizado abejas adultas provenientes de diferentes zonas apícolas de Costa Rica, observándose en una cantidad importante de muestras la presencia de esporas de Nosema. Los niveles de infección determinados en las muestras variaron desde leves hasta muy fuertes (cantidad incontable de esporas). Debido al reciente hallazgo de *N. ceranae* en abejas melíferas, es importante realizar estudios para determinar su presencia en la región Centroamericana.

3.3- Incidencia de enfermedades causadas por virus en colmenas infestadas con el ácaro *V. destructor*

La Varroosis es una parasitosis externa y contagiosa que afecta tanto a la cría, como a las abejas adultas. Esta enfermedad parasitaria es causada por el ácaro *V. destructor* Anderson y Trueman (Mesostigmata: Varroidae), el cual ha sido reportado como uno de los parásitos que más pérdidas económicas causa en la producción apícola a nivel mundial.

Colmenas infestadas con este ácaro, pueden colapsar debido a la presencia de enfermedades virales. Existe una fuerte relación, entre la infestación de las colmenas con *V. destructor* y la

presencia de algunos agentes virales. Se ha descrito que varroa actúa como vector del virus que deforma las alas, virus de la cría Sacciforme y el virus de las celdas reales negras; así como el virus de la parálisis aguda (APV). Algunos autores, sugieren que varroa actúa primariamente como un activador de la replicación del virus de la parálisis y secundariamente como vector.

Diferentes estudios de la Universidad de Pensylvania, indican que la presencia de varroa en combinación con agentes virales, como el virus que deforma las alas, produce una supresión del sistema inmunológico de las abejas adultas. Debido a la amplia distribución de varroa nivel mundial, se le considera como una de las principales causas de la pérdida de abejas.

3.4- Presencia del virus Israelí de la Parálisis Aguda (IAPV)

En un estudio realizado en los Estados Unidos, mediante análisis de tamizaje de enfermedades (screening) y utilizando técnicas genéticas (secuenciado de ADN), se analizaron colmenas de abejas afectadas por el CCD, con el objetivo de detectar agentes infecciosos. Se determinó la presencia de bacterias, hongos, parásitos y virus. El virus Israelí de la Parálisis Aguda (IAPV), fue detectado en muestras de abejas provenientes de colmenas fuertemente afectadas por el colapso de las colonias. Este virus fue descrito en Israel en 2004 y se clasificó como un dicistrovirus. En Israel produce algunos síntomas no reportados en los Estados Unidos, como mortalidad de abejas cerca de la colmena.

Mediante un análisis estadístico, se determinó que colmenas infectadas con el virus IAPV, tienen 65 veces más posibilidades de presentar CCD que colmenas sin el virus. Por lo anterior, se encontró una alta correlación entre el virus IAPV y el CCD (estudio estadístico relacionado con prevalencia viral). Este es el primer reporte de IAPV en los Estados Unidos. Asimismo, se indica que podría existir relación entre el ácaro varroa y el IAPV, ya que este ácaro inmunosuprime las abejas, haciéndolas más susceptibles a infecciones, principalmente de tipo viral.

IV. Impacto económico del despoblamiento de las colmenas

El efecto del SDC en Francia, ha sido una disminución considerable en la producción de miel y un incremento de un 24% en su importación. Esta es una situación muy severa, para un país que es considerado como uno de los principales productores de miel en Europa. En Alemania, Bélgica e Italia, se reporta una reducción considerable en la cantidad de colmenas. España ha sido uno de los países más afectados por este síndrome. En zonas como Galicia, las pérdidas económicas han sido cuantiosas, afectando a más del 30% de los apiarios.

V. Conclusión

Se debe indicar que el SDC es un fenómeno muy importante, que está causando daños cuantiosos en la apicultura. No podemos asegurar que el debilitamiento de colmenas, reportado por apicultores de Costa Rica, este asociado con este síndrome; sin embargo, no se puede descartar (este país no está exento de padecer esta problemática). Por lo anterior, debe dársele un mayor seguimiento al problema, siendo necesaria la participación conjunta de los diferentes sectores involucrados en la producción apícola.

VI. Perspectivas

Uno de los aspectos que debe ser considerado, es realizar estudios para determinar la presencia de *N. ceranae* en la región Centroamericana. Para realizar un estudio minucioso sobre la presencia

de *N. ceranae* en nuestra región, el CINAT-UNA de Costa Rica, esta en la mejor disposición de recibir muestras de abejas sospechosas de Nosema, para realizar el análisis y diagnóstico respectivo.

VII. Referencias bibliográficas

CALDERÓN RA.; ZAMORA LG (2007) Síndrome del despoblamiento en colmenas de abejas melíferas (*Apis mellifera*). Boletín de Parasitología 8(3): 2.

CALDERÓN RA.; Sánchez LA (2007) *Nosema Ceranae*. Boletín de Parasitología 8(4): 3-4.

CHAUZAT MP; HIGES M; HERNANDEZ RM; MEANA A; COUGOULE N; FAUCON JP (2007) Presence on *Nosema ceranae* in French honey bee colonies. Journal of Apicultural Research 46(2): 127-128.

CUBERO A (2007) Debilitamiento de colmenas en algunas zonas apícolas de Costa Rica. Comunicación Personal.

FRIES I; MARTIN R; MEANA A; GARCÍA-PALENCIA P; HIGES M (2006) Natural infections of *Nosema ceranae* in European honey bees. Journal of Apicultural Research 45(3): 230-233.

FRIES I; DA SILVA A; SLEMENDA SB; PINIAZEK NJ (1996) *Nosema ceranae* (microspora, Nosematidae) morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). European Journal of Parasitology 32: 356-365.

HUANG WF; JIANG JH; CHEN YW; WANG CH (2007) A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. Apidologie 38: 30-37.

HIGES M, SANZ A, ARÁNZAZU M, MARTÍN R, GARCÍA M, ALVAREZ N; SANZ Á (2005) El Síndrome de despoblamiento de las colmenas en España: consideraciones sobre su origen. Vida apícola 133: 15-21.

HIGES M; MARTÍN R; MEANA A (2006) *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. Journal of Invertebrate Pathology 92(2): 93-95.

MAG (2007) Insecticidas utilizados en Costa Rica para el control de ciertas plagas en cultivos agrícolas. 30 pp.

MARTIN R; MEANA A; HIGES M (2005) Increase of Nosemosis prevalence in Spain. Acta Parasitologica Portuguesa 12: 50.

COLIN M E (2004) Patología Comparada: Fipronil-Imidacloprid. Vida Apícola 128.

DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES DE LA CRÍA EN ABEJAS AFRICANIZADAS EN COSTA RICA

Rafael A. Calderón; Natalia Fallas; Gisella Chaves; Susana Ureña

Programa de Patología Apícola, Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

I. Introducción

La detección de una enfermedad en la colmena, se inicia desde el primer contacto con el apicultor y se continúa cuando se visita el apiario. La información que brinda el productor de lo que observa en el apiario, contribuye a orientar el diagnóstico. Algunos signos clínicos como abejas con incapacidad para volar, alas dislocadas, temblorosas frente a la piquera, podrían estar asociados con alguna enfermedad.

Para determinar o descartar de manera precisa el problema que afecta a las abejas, el diagnóstico de laboratorio se convierte en una herramienta confiable, el cual permite confirmar la presencia de determinada enfermedad y así poder realizar el tratamiento apropiado.

Reportes sobre la prevalencia de enfermedades de la cría de abejas Africanizadas en Costa Rica son aislados. Se han realizado diferentes esfuerzos para conocer la situación de las enfermedades de la cría en nuestro país, analizando más de 3000 panales de manera periódica en los últimos 10 años (1997-2007). Sin embargo, la procedencia de las muestras no ha sido sistemática, ya que principalmente se han analizado aquellas enviadas de manera directa por los productores. Lo anterior ha reducido la representatividad de lo que ocurre, desde el punto de vista sanitario, en la mayoría de apiarios del país. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de las principales enfermedades que afectan la cría de las abejas en Costa Rica, realizando un muestreo sistemático y aleatorio (al azar) de las diferentes zonas apícolas del país.

II. Enfermedades analizadas

El diagnóstico de laboratorio se realizó para determinar la prevalencia de Loque americano, Loque europeo, Varroosis, Cría de tiza y Polilla.

2.1 Loque americano: Es una enfermedad bacterial que afecta a la cría de las abejas melíferas. Se considera como uno de los problemas sanitarios que más pérdidas causa en la apicultura mundial. La principal característica es la putrefacción de la cría, asociada con un olor fétido, similar al pegamento (cola), lo cual ayuda preliminarmente para el diagnóstico de campo. Es causada por el *Paenibacillus larvae*, bacteria que forma esporas altamente resistentes, las que pueden permanecer viables en el medio por varios años, favoreciendo su dispersión y alta patogenicidad. El *P. larvae* ocasiona pudrición de la cría operculada, entre más jóvenes son las larvas mayor es la susceptibilidad, provocando la enfermedad con la inoculación de unas pocas esporas en la larva. Las larvas o pupas mueren estiradas cuando la celda esta operculada. Los opérculos de la cría se observan hundidos y perforados. Las costras que quedan al secarse la cría tienen un color oscuro y son muy difíciles de retirar. Uno de los síntomas más característicos, es que la lengua de la pupa queda dispuesta hacia el centro de la celda.

2.2 Loque europeo: Es una enfermedad que afecta la cría abierta de las abejas melíferas. Es causada por un complejo número de bacterias, entre las que destaca el *Melissococcus plutonius*,

el cual se considera el agente que inicia la infección. Algunos de los síntomas que se observan son: cría salteada, olor avinagrado y la costra que se forma al morir la cría se desprende fácilmente. Además, en su proceso de desecación, la larva afectada cambia su coloración, tornándose oscura conforme avanza la infección. Se debe realizar diagnóstico diferencial con Loque americano.

2.3 Varroosis: Es una parasitosis causada por el ácaro *Varroa destructor*, el cual afecta tanto a las abejas adultas como a la cría. El ácaro se alimenta de la hemolinfa de la abeja, debilitándola y ocasionándole alteraciones internas y la transmisión de agentes infecciosos, como virus. La Varroosis inicia sin signos visibles, siendo difícil para el apicultor determinar su presencia en las colmenas. Usualmente, cuando se manifiesta clínicamente, la infestación es demasiado alta. Los principales signos son: reducción de la población de la colonia, las abejas se muestran inquietas, hay mortalidad de la cría, abejas que emergen con malformaciones en las alas, entre otras.

2.4 Cría de tiza: Es una enfermedad fúngica causada por el hongo *Ascosphaera apis*, el cual afecta a la cría entre los 3 y 4 días de edad. Las esporas del hongo son ingeridas con el alimento larval y germinan en el tracto digestivo de la larva, formándose micelios que se expanden rápidamente recubriendo la superficie de la larva. La cría que muere se transforma en estructuras duras y de color blanco (momias), similares a un pedazo de tiza. Generalmente se presenta en colmenas débiles o pequeñas, las cuales no tiene suficiente población de abejas adultas para mantener constante la temperatura interna de la colmena. Sin embargo, si las condiciones ambientales son adversas para las abejas (fuertes lluvias o vientos) podría afectar colmenas fuertes. Generalmente, se presenta durante la época lluviosa, cuando el número de abejas no es suficiente para alimentar la cría, mantener la temperatura interna de la colmena y ventilar el exceso de humedad.

2.5 Polilla: La polilla de la cera, también conocida como palomilla o alevilla de la cera, es un pequeño insecto que pertenece al orden Lepidoptera, familia Pyralidae. Los lepidópteros son un grupo de insectos que agrupan a lo que comúnmente conocemos como mariposas y polillas. Estos artrópodos se caracterizan por presentar un par de alas muy desarrollado, las cuales se encuentran recubiertas con escamas. Se diferencian dos tipos de polilla de la cera; la polilla de mayor tamaño corresponde a *Galleria melonella* (polilla mayor) y la más pequeña a *Achroea grisella* (polilla menor). Las larvas de la polilla son auténticas minadoras, capaces de devorar diferentes materiales blandos, como los panales de cera. La larva deja túneles, seda y pelusa a medida que avanza. Los túneles se detectan fácilmente cuando se examinan los panales, al igual que los capullos tejidos por la larva (espeso y blanco), los cuales cuando son desprendidos dejan marcas en la madera de cajas y panales.

III. Metodología

Para determinar la prevalencia de Loque americano, Loque europeo, Varroosis, Cría de tiza y Polilla, se realizó un muestreo de panales con cría, entre los meses de setiembre-noviembre del 2007. Las muestras de panales se colectaron de las diferentes zonas apícolas de Costa Rica.

3.1 Número de colmenas muestreadas: Los apicultores y apiarios muestreados se seleccionaron de manera aleatoria (al azar). De la mayoría de apiarios se muestreo una colmena, ubicada

generalmente al inicio del apiario (corresponde con la entrada). De aquellos apiarios que se colectó dos muestras, se seleccionó la colmena inicial y la intermedia.

3.2 Características de la muestra de panal: De cada colmena se seleccionó un panal con cría (abierta y sellada) y se cortó un pedazo de 10 x 10 cm. La muestra se envolvió en papel periódico y luego se colocó en un sobre de papel, con su respectiva identificación. 1- Nombre del propietario 2- Lugar de colecta 3- Nombre del apiario 4- Número de la colmena 5- Fecha de la colecta 6- Número de colmenas en el apiario 7- Observaciones generales, en las que se describió algún síntoma observado en la colmena.

3.3 Acreditación de técnicos apícolas: Para coleccionar las muestras de panal a nivel de campo, se acreditaron 15 técnicos, los cuales se encargaron de tomar las muestras de panal en los apiarios y su posterior envió al laboratorio. Además, efectuaron una encuesta al productor solicitando información sobre los tratamientos realizados durante el año.

3.4 Técnicas utilizadas en el laboratorio para el diagnóstico enfermedades: Para realizar el diagnóstico de las enfermedades, las muestras de panal se analizaron en el Laboratorio de Patología Apícola del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), ubicado en Barreal de Heredia.

Cada panal fue revisado para determinar su condición general, evaluando algunos aspectos como la apariencia de los opérculos, el aspecto de la cría; así como la presencia de costras y su olor. Aquellas larvas o pupas sospechosas fueron analizadas utilizando las siguientes técnicas.

3.4.1 Loque americano y Loque europeo:

Tinción de Gram: Es un tipo de tinción diferencial empleada para la visualización de bacterias. Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana, como para poder realizar una primera aproximación a su diferenciación, considerándose bacterias Gram positivas las que se observan de color violeta y bacterias Gram negativas las que se visualizan de color rojo. Para aplicar esta prueba, se preparó un frotis con cría afectada, el cual se fijó con calor y se tiñó inicialmente con cristal violeta. Posteriormente, el frotis se lavó con agua y se cubrió con una solución yodada. Luego se decoloró con una mezcla de alcohol etílico / acetona y finalmente se cubrió con safranina (color de contraste). El examen de la lámina se realizó en el microscopio utilizando el objetivo de inmersión (100x).

Técnica de la gota colgante: La cría afectada se mezcló con una gota de agua destilada en un cubreobjetos, hasta que se formó una película opaca, la cual se fijó al cubreobjetos con calor. Se procedió a teñir el frotis con fuchsina-fénica durante 5-7 segundos. Finalmente, se colocó el cubreobjetos sobre un portaobjetos con aceite de inmersión. Para el examen de la lámina, se utilizó el objetivo de inmersión del microscopio, mediante el cual se ubicó las áreas donde el agua se estancó entre los grumos de aceite, para determinar la presencia de esporas flotantes. Únicamente las esporas del *P. larvae* muestran movimiento Browniano. Esporas de otros agentes se observan fijas al cubreobjetos.

Cultivo bacteriológico: Inicialmente larvas afectadas se maceraron y diluyeron en una solución de agua peptonada estéril, la cual fue posteriormente calentada a 85°C por 5 minutos, con la finalidad de eliminar formas vegetativas.

Para el cultivo bacteriológico se utilizó el medio Infusión Cerebro-Corazón enriquecido con 0.1 mg de Hidroclorato de tiamina (vit B1). Se incubó por un periodo de 96 h a 37°C en una atmósfera de 5-10% de CO₂. Asimismo, se usó el medio de cultivo J, el cual contiene triptona, extracto de levadura, K₂HPO₄, agar y glucosa. Es importante indicar que este medio propicia un mejor crecimiento de la bacteria *P. larvae* y favorece su esporulación. Al igual que el medio de cultivo anterior, el medio J se incubó por 96 h a 37°C en una atmósfera de 5-10% de CO₂.

3.4.2 Varroosis: Para determinar la presencia del ácaro *V. destructor* y el nivel de infestación de las colmenas, se examinó un promedio de 50 celdas selladas de obrera. Se desoperculó cada celda y se revisó la cría (pupa) minuciosamente, así como el interior de la celda (inicialmente se revisó a simple vista y posteriormente utilizando una lupa). El nivel de infestación fue expresado como un porcentaje, el cual se obtuvo mediante la relación del número de ácaros, entre la cantidad de celdas examinadas x 100.

3.4.3 Cría de tiza: En esta enfermedad las larvas aparecen como estructuras duras y de color blanco, que pueden tornarse gris o negro, dependiendo de la formación de los cuerpos fructíferos. Además, la cría enferma se desprende fácilmente de la celda. Muestras de cría que presentaban los síntomas indicados, se revisaron preliminarmente mediante el examen directo. Cada larva fue montada en KOH al 5% y revisada al microscopio a 40 y 100x. Posteriormente, algunas de ellas se cultivaron en el medio Czapec Dox y se incubaron a temperatura ambiente.

3.4.4 Polilla: La larva de la polilla, se alimenta de polen, cera y restos de miel, perforando los panales (presencia de túneles). En su avance por el panal cavando túneles, deja hilos de seda, formando una verdadera tela junto a los restos de cera. La presencia de polillas adultas, larvas en distinto estado de desarrollo, ninfas, defecaciones, panales destruidos, entre otros, son síntomas que se consideraron para el diagnóstico de esta plaga. El diagnóstico diferencial entre ambos tipos de polilla, el cual se efectúa considerando el tamaño de los adultos, no se realizó en este estudio.

IV. Resultados y discusión

Se analizaron un total de 161 muestras de panal con cría, provenientes de diferentes zonas apícolas de Costa Rica. La mayoría de las muestras procedían de las provincias de San José y Guanacaste (Cuadro 1).

Provincia	Muestras analizadas	Porcentaje (%)
San José	56	34.8
Puntarenas	23	14.3
Guanacaste	51	31.7
Cartago	2	1.2
Alajuela	29	18.0

De las muestras analizadas un alto porcentaje resulto positiva a Loque europeo y Varroosis; mientras que todas las muestras resultaron negativas a Loque americano (Cuadro 2).

Cuadro 2. Muestras de panales examinadas para el diagnóstico de Loque americano, Loque europeo, Varroosis, Cría de tiza y polilla en Costa Rica (setiembre - noviembre 2007).

Enfermedad	Muestras analizadas	Muestras positivas	Porcentaje (%)
Loque americano	161	0	0
Loque europeo	161	88	54.7
Varroosis	161	61	37.9
Cría de tiza	161	7	4.4
Polilla	161	53	33.0

4.1 Loque americano: El primer reporte oficial de Loque americano en Costa Rica indica la presencia de esta enfermedad bacterial desde 1985. Sin embargo, en 1975 fue identificada por el Laboratorio de la Misión Técnica Alemana en Apicultura, en la zona de Turrialba.

En este estudio todas las muestras de panal analizadas resultaron negativas a Loque americano. Lo anterior corresponde con lo observado en los últimos 10 años, en los que reportes de esta enfermedad bacterial han sido aislados. En mayo de 1999, se determinó la presencia de Loque americano, en muestras de panal provenientes de San Ignacio de Acosta. Recientemente en diciembre 2006, un apiario ubicado en el cantón de Mora (Ciudad Colón) fue inspeccionado, debido a la sospecha de cría enferma. Se revisaron 10 colmenas, de las cuales dos presentaron serios problemas de mortalidad en la cría sellada. Con base en la inspección sanitaria realizada al apiario afectado, la sintomatología clínica observada en la cría sellada y en los diferentes análisis de laboratorio, se determinó la presencia de *P. larvae*, agente causal de Loque americano.

Ambos casos se confirmaron en el Laboratorio de Patología Apícola. Debido a la importancia de esta enfermedad, se recomendó la eliminación de las colmenas más afectadas y el tratamiento de las colmenas restantes con el antibiótico Oxitetraciclina. Asimismo, se restringió la movilización de colmenas del área afectada. Tomando en cuenta la facilidad de transmisión de la enfermedad, la práctica intensiva de trasladar colonias de abejas a diferentes zonas apícolas, la dispersión de enjambres africanizados y la ausencia de prácticas adecuadas de control, la incidencia de esta enfermedad hubiera tenido efectos muy drásticos, los cuales hasta la fecha no han sido observados.

4.2 Loque europeo: Un 54.7% de las muestras analizadas resultaron positivas a Loque europeo. En años recientes, se ha determinado una alta presencia de esta enfermedad en Costa Rica, correspondiendo con lo determinado en este estudio.

La mayor prevalencia correspondió al mes de octubre; mientras que en setiembre se determinó la menor cantidad de muestras positivas (Figura 2). La provincia con mayor prevalencia fue San

José, mientras que en Puntarenas se determinó la menor cantidad (Figura 1). Algunos de los cantones más afectados por Loque europeo fueron Hojanca, Coto Brus, Acosta, San Ramón, entre otros.

El alto índice de prevalencia de Loque europeo puede estar relacionado con la época del año en que se realizó el estudio (setiembre-noviembre). Las condiciones de alta humedad presentes en la época lluviosa y la reducción en la población de abejas en la colmena (colmenas débiles), favorecen el desarrollo de esta enfermedad bacterial. Se ha reportado que en casos de infección leve, el Loque europeo puede ser controlado por colmenas que presentan un alto comportamiento higiénico. Sin embargo, en colmenas débiles puede persistir, ocasionando un retraso en el desarrollo de la población de abejas pecoreadoras, una disminución significativa en la producción de miel y comprometiendo la viabilidad de la colonia.

4.3 Varroosis: En Costa Rica apicultores de diferentes zonas han reportado la pérdida de colmenas y reducción en la producción de miel por la presencia en las colmenas del ácaro *V. destructor*, lo que indica que es un problema sanitario de importancia económica en nuestro país. La pérdida de colmenas puede deberse a la presencia de infecciones secundarias, especialmente aquellas causadas por virus.

En este estudio un 37.9% de las muestras resultó positivo a Varroosis. Esta cantidad de muestras positivas fue menor a la observada en un estudio realizado en el 2007, en el que se determinó que más de un 42% de las colmenas presentaba Varroa.

Un aspecto que se debe resaltar es que el 60.7% (n= 61) de las muestras positivas presentó un nivel de infestación leve, mientras que un 21.3% mostró un nivel moderado y un 18.1% presentó un nivel de infestación fuerte (superior al 10.0% de infestación). En el mes de octubre se determinó el mayor número de muestras positivas a varroa (84.2% n= 61); mientras que en noviembre se observó la menor cantidad (27.9% n=61). El bajo nivel de infestación observado en el mes de noviembre, pueden estar relacionados con la aplicación de productos acaricidas para su control. Se debe tomar en cuenta que el daño que la Varroosis causa a las colmenas depende del grado de infestación. Se estima que el efecto negativo sobre la productividad comienza cuando la población de ácaros supera el 10%.

La provincia con la mayor prevalencia a varroa correspondió a Puntarenas, mientras que la menor prevalencia se observó en Guanacaste (Figura 2). Aunque Cartago presentó una prevalencia del 100%, únicamente se evaluaron dos muestras por lo que dicho resultado no se considera significativo.

Recientemente, en diciembre 2008, se determinó una alta infestación de varroa (infestación= superior al 13.0%) en colmenas ubicadas en Jicaral- Puntarenas y Linda Vista-Cartago. Siendo lo anterior, muy importante, ya que en diciembre inicia la cosecha de miel. Para esta época, las colmenas deberían presentar bajos niveles de infestación y estar en buenas condiciones sanitarias, para el inicio de la producción.

4.4 Cría de tiza: En el año 2005 se reportó la presencia del hongo *A. apis*, en colmenas de abejas Africanizadas en Costa Rica. Desde entonces, se ha observado un aumento en la presencia de este hongo en muestras de panal remitidas al laboratorio.

Durante el presente estudio se determinó una prevalencia del 5.0% siendo noviembre, el mes con mayor cantidad de muestras positivas. La provincia con la mayor prevalencia correspondió a San José, mientras que la menor se observó en Guanacaste. En la mayoría de panales con Cría de tiza, se determinó otras enfermedades como Loque europeo y Varroosis. Se indica que la presencia de esta enfermedad esta relacionada con una baja población de abejas adultas (incapaces de mantener la temperatura de la cámara de cría constante) y con las condiciones de alta humedad relativa (estación lluviosa).

En algunos países, la Cría de tiza no es considerada un problema muy serio, reportándose en muchos casos como una condición de escasa importancia económica. Sin embargo, ha habido un gran interés en desarrollar líneas de abejas resistentes a la Cría de tiza. El comportamiento higiénico de las abejas esta relacionado con la tolerancia a la Cría de tiza y a otras enfermedades, como Varroosis.

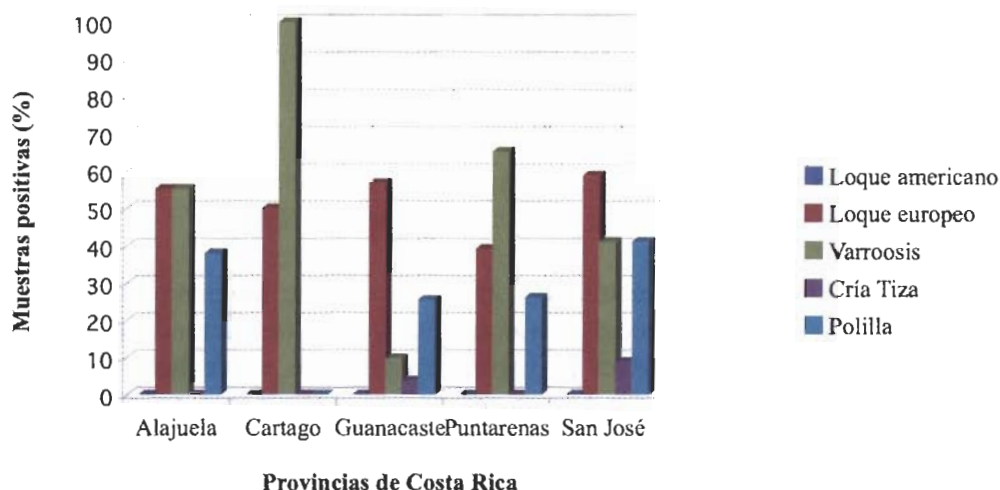


Figura 1. Prevalencia de las enfermedades de la cría en abejas Africanizadas determinadas por provincia.

4.5 Polilla: Un 32.9% de las muestras analizadas resultó positiva a polilla. La mayor prevalencia correspondió al mes de setiembre. La provincia con mayor porcentaje de muestras positivas fue San José, mientras que Guanacaste presento el menor número de panales positivos a polilla. Los cantones mas afectados son: Acosta, Aserrí, Hojanca y Jicaral.

Se ha indicado que ciertas condiciones favorecen el desarrollo de la polilla. Por ejemplo, la polilla mayor, *G. melonella*, produce mucho daño en colonias débiles, especialmente en aquellas colmenas que reciben una mala alimentación durante la época de escasez o en colmenas

altamente infestadas con el ácaro *V. destructor*. Asimismo, la polilla ataca colmenas abandonadas por las abejas (evasión) o panales que el apicultor deja en el apiario. Una colonia con una población moderada de abejas no permite el desarrollo de la polilla, ya que al emerger las larvas del lepidóptero, son rápidamente removidas de la colmena.

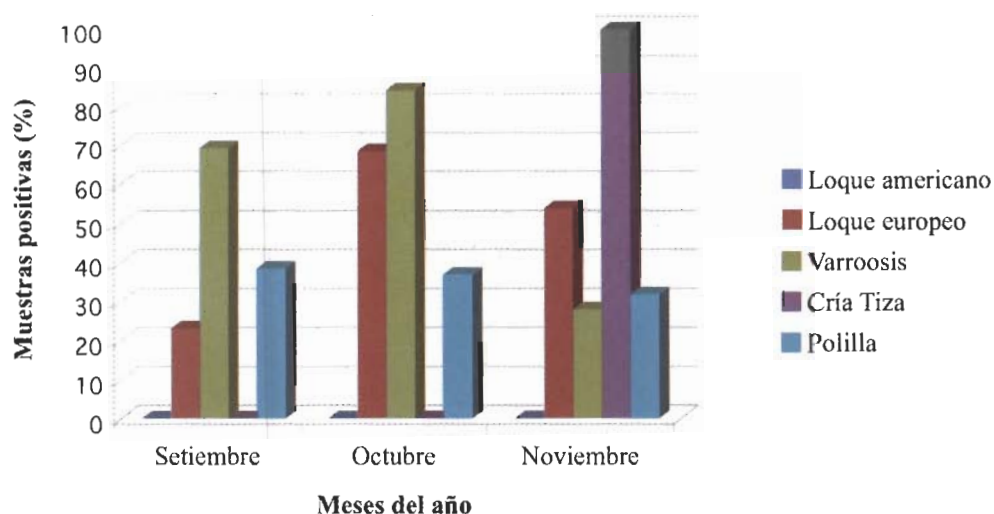


Figura 2. Presencia de las enfermedades que afectan la cría de abejas Africanizadas (determinada por mes).

V. Conclusiones: Con base en los resultados obtenidos en este muestreo de panales, se debe indicar una alta prevalencia de Varroosis y Loque Europeo. Considerando que la mayoría de apicultores aplican control anual contra la varroa, su impacto sobre las colmenas se puede disminuir. Sin embargo, la situación con Loque europeo es preocupante, ya que se determinó en los meses que se debe preparar las colmenas para la cosecha de miel. En relación a Loque americano, no se determinó su presencia, lo cual corresponde con la baja prevalencia observada en años recientes.

VI. Agradecimientos: Deseamos agradecer a los apicultores que participaron en este muestreo nacional de enfermedades, por la anuencia y disponibilidad para facilitar la colecta de muestras de panal. A los diferentes técnicos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), en especial a la Lic. Ana Cubero, por su participación activa en la colecta y envió de panales al laboratorio.

VII. Referencias bibliográficas

BAILEY L; BALL BV (1991) Honey Bee Pathology. Second Edition. Academic Press, Londres, Inglaterra, pp 193.

BEW, M (1992) Varroasis disease of honey bees-diagnosis and control. MAFF leaflet, pp 1-8.

- CALDERÓN RA; ARCE H; VAN VEEN J (1998) Detección, distribución y control de *Varroa jacobsoni* Oudemans en Costa Rica. Ciencias Veterinarias 21: 29-38.
- CALDERÓN RA; ARCE H; VAN VEEN J (1999) Varroasis: situación actual del ácaro en Costa Rica. Memorias del XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, pp 97.
- CALDERÓN RA; ARCE H; VAN VEEN J; LALAMA K (1999) Efectividad de algunos productos utilizados para el control de la Varroasis en Costa Rica. Memorias del VI Congreso Nacional de Apicultura, pp 24-26.
- CALDERÓN RA; ORTIZ A (2000) Principales enfermedades que afectan a las abejas melíferas. Notas Apícolas Costarricenses 6: 1-24
- CALDERÓN RA; RIVERA G; SÁNCHEZ LA; ZAMORA LG (2004) Chalkbrood (*Ascosphaera apis*) and some other fungi associated with Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Costa Rica. Journal of Apicultural Research 43: 187-188.
- CALDERÓN RA; ZAMORA LG (2007) Presencia de Loque americana en colmenas de abejas africanizadas en Costa Rica. Memorias del IX Congreso Nacional de Apicultura, pp 60-66.
- CALDERÓN RA; SÁNCHEZ L; FALLAS N; CUBERO A; MUÑOZ A (2007) Prevalencia de las principales enfermedades que afectan a las abejas melíferas en Costa Rica. Memorias del IX Congreso Nacional de Apicultura, pp 87.
- DUFOL M; MARTÍNEZ A; SÁNCHEZ C (1991) Comparative test of fluvalinate and flumethrin to control *Varroa jacobsoni* Oudemans. Journal of Apicultural Research 30: 103-106.
- MATHESON A (1992) Living with Varroa. En Andrew Matheson (ed). Living with Varroa. The International Bee Research Association, Cardiff, Inglaterra, pp 1-2.
- RITTER W. 2001. Enfermedades de las abejas. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España, pp 63-89.
- SHIMANUKI H; KNOX DA; DE JONG D (1992) Diseases of pests of honey bees. En Joe M. Graham (ed). The Hive and the Honey Bee. Dadant and sons, Illinois, EEUU, pp 1324.
- VAN VEEN J; CALDERÓN RA; CUBERO A; ARCE H (1998) *Varroa jacobsoni* Oudemans in Costa Rica: Detection, spread and treatment with Formic Acid. Bee World 79(1): 5-10.

PROPIEDADES MEDICINALES DE LA MIEL DE ABEJAS SIN AGUJÓN DE COSTA RICA

Natalia Fallas^{1*}; Rebeca Solórzano¹; Gabriel Zamora¹; María Laura Arias²; Eduardo Umaña¹; Ingrid Aguilar¹

1- Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. *nfallas@una.ac.cr; rebesolorzanov@hotmail.com

2- Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CIET), Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

1. Introducción

La miel es utilizada por las abejas como fuente de energía. Su composición química promedio es de 82.4% de azúcares (principalmente fructuosa y glucosa), 17.1% de agua, 0.2% de minerales (principalmente potasio) y 0.3% de componentes minoritarios entre los cuales están: la enzima invertasa, la glucosa oxidasa, las sustancias fitoquímicas y el hidroximetilfurfural (Crane, 1990). La composición química de la miel es dependiente en gran medida de los tipos de flores utilizadas por las abejas, así como también, por las condiciones regionales y climáticas.

Una amplia gama de constituyentes menores, está presente en la miel, algunos de ellos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. En los últimos años, se han descrito una serie creciente de compuestos que demuestran el carácter emergente del potencial de la miel de abejas sin agujón; entre éstos, los compuestos fenólicos.

La miel se ha reconocido principalmente como un alimento nutritivo de alto valor energético que en algunos reportes y experiencias de productores y personal de la medicina, la califican como un producto que posee propiedades curativas. Lo cual a llevado a que se realicen ensayos para comprobar la acción antimicrobiana y antioxidante de la miel de meliponinos. Debido a que en Costa Rica y en Latinoamérica esta miel es reconocida popularmente por sus propiedades terapéuticas (Roubik, 1983), empleándose para el tratamiento de diversas afecciones respiratorias, dermatológicas y gastrointestinales (Vit *et al.*, 2004), lo que incrementa su valor frente a la miel de *Apis mellifera* L. (Vit *et al.*, 1998).

1.1 Actividad antioxidante

La capacidad antioxidante es la habilidad que tienen algunas mieles para reducir la cantidad de reacciones oxidativas en el cuerpo, estas pueden producir efectos perjudiciales en los alimentos y el organismo, como enfermedades crónicas.

Dentro de los compuestos que contribuyen a la actividad antioxidante se tienen flavonoides, ácidos fenólicos, enzimas, ácido ascórbico, etc. Sin embargo la capacidad antioxidante varía de gran forma según el origen botánico de la miel.

El contenido de antioxidantes en la miel es comparable al de frutas y verduras, lo que lo convierte en una fuente de estos más aceptable para ciertos individuos.

Los radicales libres son átomos o moléculas extremadamente inestables, esta característica les confiere propiedades altamente reactivas las cuales, por medio de procesos oxidativos y presentes en concentraciones significativas, pueden ocasionar la destrucción de biomoléculas de la célula

(ácidos nucleicos, lípidos, carbohidratos y proteínas), induciendo una disminución en la resistencia al ambiente y un incremento en la fragilidad celular del cuerpo humano (Velázquez *et al*, 2004).

El daño oxidativo causado en estas biomoléculas, es un proceso que trae consigo el surgimiento del envejecimiento y el desarrollo de enfermedades en todos los aparatos y sistemas del organismo, como algunos tipos de cáncer (en pulmón, estómago y piel), la inflamación y padecimientos inmunitarios que involucran al riñón (glomerulonefritis, falla renal crónica), el hígado (hepatitis), el páncreas (diabetes mellitus) y el sistema nervioso (Alzheimer, Parkinson); alteraciones en los vasos el corazón y padecimientos oftalmológicos (Velásquez *et al*, 2004).

Los radicales libres se forman por fuentes exógenas o endógenas; en las primeras los radicales libres llegan al organismo por vías externas, ya sea por medio de la contaminación ambiental (ozono, óxido nitroso, dióxido de nitrógeno, polvo), humo del tabaco, consumo de alimentos ricos en grasas, exposición a las radiaciones solares . Con respecto a la fuentes endógenas, los radicales libres son elaborados continuamente en el interior del organismo como producto del metabolismo normal de la cada célula (Rodríguez *et al*, 2001).

Los antioxidantes son sustancias que hallándose presentes en bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato, evitando el daño celular causado por los radicales libres (Halliwell y Gutterioge, 1989).

El antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose y a su vez transformándose en un radical libre débil no tóxico. No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que a su vez reaccionan con los radicales libres (Rodríguez *et al*, 2001).

Los antioxidantes exógenos, son todos aquellas que ingresan al cuerpo a través de la cadena alimentaria, tales como la vitamina E, vitamina C, betacarotenos y polifenoles. Todos se pueden encontrar en, los vegetales, las frutas y en algunas plantas medicinales. Por otro lado, la incorporación de los cofactores como el cobre, el zinc, el hierro y el manganeso, es sumamente necesario; pues estos oligoelementos forman parte del núcleo activo de las enzimas antioxidantes (Rodríguez *et al*, 2001).

En fin, los antioxidantes al ser capaces de inhibir la oxidación de las biomoléculas, son importantes porque con ello ayudan a prevenir las enfermedades causadas por la acción de los radicales libres.

La actividad antioxidante de una determinada sustancia se define como, la capacidad que esta tiene para capturar o neutralizar radicales libres, de modo tal que cuanto más efectiva es la captación del radical, mayor será la capacidad antioxidante de dicha sustancia (González *et al*, 2001).

Una de las estrategias más aplicadas en las mediciones de la capacidad antioxidante de un compuesto, mezcla o alimento es la espectrofotometría, que consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias coloreadas de naturaleza radical, en la cual se observa la

pérdida de color del sistema y ocurre de forma proporcional con la concentración del antioxidante (Kuskoski *et al.*, 2005). No obstante, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas in vitro proporcionan tan sólo una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas in vivo, ya que en las primeras se tienen condiciones controladas y en las segundas muchos factores que intervienen en los procesos (Kuskoski *et al.*, 2005).

1.2 Actividad antimicrobiana

Diversos componentes son los responsables de la actividad antimicrobiana de la miel, entre ellos están la osmolaridad, la acidez, el peróxido de hidrógeno, el origen botánico de la miel, entre otros (Molan, 1992). Sin embargo, un componente importante son los fitoquímicos, sustancias que provienen de la floración visitada por la abeja para la colecta del néctar. Dentro de éste grupo están los flavonoides, que presentan propiedades antioxidantes y antimicrobianas, y son reconocidos por inhibir un amplio rango de bacterias Gram positivas y Gram negativas (Bogdanov, 1984).

Se han realizado estudios comprobando la actividad antimicrobiana de las mieles, en especial para *A. mellifera* contra una diversidad significativa de patógenos (Molan 1992, 2002; Demera *et al.*, 2003; Estrada, 2004), sin embargo, en mieles de abejas sin aguijón, este tipo de investigaciones son reducidas. No obstante, algunos estudios han demostrado su efectividad (Grajales *et al.*, 2003; Demera, 2003). Por esta razón, la evaluación de la actividad antimicrobiana de mieles de abejas sin aguijón de interés comercial, en Costa Rica, sobre diversos microorganismos asociados a infecciones de heridas y quemaduras permitiría emitir criterios sobre su posible efectividad en el tratamiento de diversas lesiones, especialmente como terapia alternativa en los casos donde los microorganismos causantes son resistentes a los antibióticos.

Tal es el caso de la marcada resistencia a la penicilina, que presenta *Staphylococcus aureus* y que lo distingue de otros patógenos. Dicha resistencia se debe a que el microorganismo produce una enzima que afecta a pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos, (Richardson *et al.*; 2008). Por otra parte, *Listeria monocytogenes* es un microorganismo que puede provocar abortos y meningitis especialmente en neonatos, ancianos e inmunodeprimidos. *Escherichia coli* O157:H7 es una causa emergente de enfermedad transmitida por los alimentos, la infección conduce a menudo a diarrea y, ocasionalmente, a falla renal. Mientras que *Pseudomonas aeruginosa*, es un patógeno oportunista de individuos inmunocomprometidos, que afecta el tracto pulmonar, el urinario, tejidos, heridas, y también causa otras infecciones de sangre (Ryan *et al.*, 2004, Rahme *et al.*, 1995 y Walker *et al.*, 2004)

2. Metodología

2.1 Actividad antioxidante

Se realizó un estudio por duplicado de 65 muestras de miel de abejas sin aguijón de diferentes especies para determinar su capacidad antioxidante mediante espectrofotometría, se determina la concentración de miel que causa el 50% de pérdida de la actividad del radical (IC₅₀), la cual se reporta en mg/ml de sólidos de miel.

2.2 Actividad antimicrobiana

Se trabajó con 35 muestras de miel de abejas sin aguijón pertenecientes a las especies: *Tetragonisca angustula*, *Tetragona perangulata* y *Melipona beecheii*. Además, se empleó como referencia una muestra de miel de manuka (*A. mellifera*), aprobada para su empleo en quemaduras y heridas.

2.2.1 Determinación de la actividad antimicrobiana

Se determinó la actividad antimicrobiana contra 6 bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli* O157:h7, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*; a través de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

2.2.2 Cromatografía

Mediante la técnica de cromatografía, el cual es un método de separación que permite la caracterización de sustancias, se determinó la presencia de flavonoides (Kaemferol, Quercetina, Leutolina y Naringenina) en las muestras de mieles de abejas sin aguijón.

2.2.3 Determinación del Origen Botánico

Se realizaron análisis melisopalinológicos de cada muestra, para la identificación del recurso floral utilizado por las abejas sin aguijón. Los granos de polen fueron identificados taxonómicamente a nivel de familia, empleando imágenes digitales y claves de granos de polen de Roubik y Moreno (1991); Palacios *et al* (1991) y Martínez *et al* (1993).

Se contabilizó, aproximadamente, entre 200 a 300 granos de polen en la lámina (por muestra), y se expresaron en porcentaje, estableciendo frecuencias fijas de clase, según Hodges (1984).

Polen predominante>45%
Polen secundario16-45%
Polen menor secundario3-15%
Polen menor<3%

3. Resultados y discusión

3.1 Actividad antioxidante

La figura 1 presenta los resultados de actividad antioxidante (IC_{50}) en muestras de sesenta y cinco mieles de abeja sin aguijón de distintas especies.

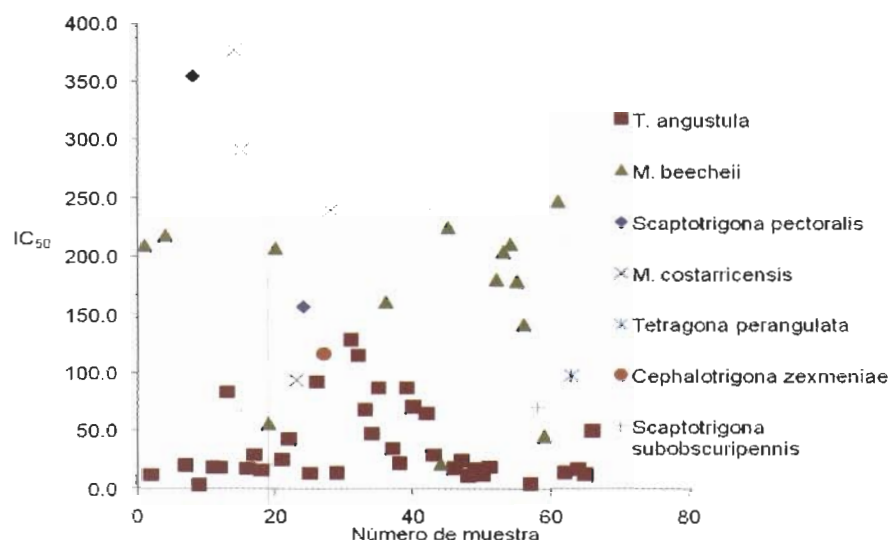


Figura 1. Resultados de IC_{50} obtenidos para las 65 muestras en estudio.

De la cantidad total de muestras que se estudiaron, la mayoría correspondieron a las especies *Tetragonisca angustula* y *Melipona beecheii*, ya que estas se encuentran en abundancia en Costa Rica y poseen una importancia superior a nivel comercial. De la figura 3 se extrae que las muestras de la especie *T. angustula* poseen un IC_{50} inferior a 100, esto le confiere una mayor actividad antioxidante ya que se requiere una menor cantidad de miel para inhibir el 50% del DPPH adicionado al inicio del análisis; a diferencia de las muestras de *M. beecheii* que tienen un IC_{50} superior a 100 (Pérez *et al*, 2007).

Las muestras restantes poseen valores más dispersos, para establecer un rango de resultados específico para estas sería necesario analizar una mayor cantidad de ejemplares de la misma especie.

Las muestras de *T. angustula* presentaron un IC_{50} promedio de 24,1 con una desviación estándar de 18. En el caso de la *Melipona beecheii* el promedio fue de 185,8 y la desviación de 37.

Como referencia se utiliza la miel de manuka, ésta es obtenida por las abejas a partir del néctar de una flor en particular que crece solamente en Nueva Zelanda, esta miel posee una fuerte actividad antioxidante con un $IC_{50} = 13.3 \pm 4.6$ similar a los valores obtenidos para *T. angustula* (Vit *et al*, 2006).

3.2 Actividad antimicrobiana

Un 25% de las muestras no fueron capaces de inhibir todas las bacterias, lo hicieron con al menos una o más. El restante 75%, presentaron actividad antimicrobiana contra todas las bacterias, incluyendo la única muestra de miel de la especie *T. perangulata*, la cual inhibió el crecimiento de todas las bacterias analizadas.

La mayoría de muestras de la especie *M. beecheii* (n = 12) fueron capaces de inhibir todas las bacterias, incluyendo *S. aureus*, lo que coincide con lo reportado con Enríquez y Dradón (2007),

quienes en una evaluación realizada de la actividad antibacteriana en la miel de 9 especies de abejas nativas de Guatemala demostraron que *S. aureus* fue inhibido por la miel de *M. beecheii*.

Además, la inhibición de las mieles de las especies *M. beecheii*, *T. perangulata* y *T. angustula* hacia esta bacteria es de gran importancia debido, a que es uno de los microorganismos más frecuentemente aislado de heridas infectadas y muchas cepas han desarrollado resistencia a los antibióticos (Estrada *et al*, 2005).

En lo que respecta a las mieles de la especie *T. angustula*, la mayoría inhibieron el crecimiento de todas las bacterias. Para la bacteria *P. aeruginosa*, todas las muestras (n = 22) fueron capaces de inhibirla. Mientras que para *E. coli* un 60.00% de las muestras inhibieron su crecimiento, lo que coincide con lo reportado por Gamboa *et al* (2008), quienes encontraron que la miel de *T. angustula* exhibe una mayor acción bactericida contra la cepa bacteriana *E. coli*.

Un 99.71% de las muestras de miel de las abejas sin aguijón, inhibieron el crecimiento de las bacterias analizadas a concentraciones menores que las registradas por la miel de Manuka (Cuadro 1.).

Cuadro 1. Comparación del efecto inhibitorio de las mieles de abejas sin aguijón con la miel de Manuka (+16 UMF), según las concentraciones utilizadas.

Bacterias analizadas	Concentración de miel (mg/ml)			
	Manuka (+16 UMF)	Especies de abejas sin aguijón		
		<i>T. angustula</i>	<i>T. perangulata</i>	<i>M. beecheii</i>
<i>S. aureus</i>	62.5mg/ml	62.5mg/ml	31.3 mg/ml	31.3 mg/ml
<i>S. epidermidis</i>	31.3mg/ml	62.5mg/ml	15.6 mg/ml	15.6 mg/ml
<i>E. coli</i>	125mg/ml	125mg/ml	62.5mg/ml	125mg/ml
<i>P. aeruginosa</i>	125mg/ml	62.5mg/ml	62.5mg/ml	62.5mg/ml
<i>L. monocytogenes</i>	125mg/ml	62.5mg/ml	15.6 mg/ml	62.5mg/ml
<i>S. enteritidis</i>	125mg/ml	125mg/ml	31.3 mg/ml	62.5mg/ml

Un 34.29% de las muestras de miel de abejas sin aguijón inhibieron el crecimiento de la bacteria *S. aureus* a una concentración similar a la de *A. mellifera*, mientras que un 20% a una concentración inferior. Para las bacterias *S. epidermidis* y *L. monocytogenes* un 8.57% y un 17.5% de las muestras respectivamente, inhibieron el crecimiento a una concentración menor que *A. mellifera*. Mientras que un 42.86% de las mieles lograron inhibir el crecimiento de *P. aeruginosa*, a una concentración inferior a la registrada para la miel de Manuka (125mg/ml).

Los resultados, demuestran una marcada actividad antimicrobiana por parte de las mieles de las abejas sin aguijón, cuyo efecto inhibitorio sobre *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* O157:h7, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* y *S. enteritidis* evidencia la presencia de factores responsables de sus propiedades antimicrobianas, entre ellos los flavonoides los cuales son componentes derivados del recurso floral (Bogdanov, 1989).

2.2.2 Cromatografía

La miel contiene alrededor de 181 sustancias, entre ellos, los flavonoides los cuales son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas

presentes en los alimentos, entre otros. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras, miel y en diversas bebidas y son importantes en la prevención y tratamiento contra el cáncer, enfermedades cardiovasculares, alergias, úlceras gástricas e infecciones virales y bacteriales (Brovo, 1998).

La técnica de cromatografía, evidenció la presencia de diversos compuestos orgánicos, en los extractos de miel de las especies: *T. angustula*, *T. perangulata* y *M. beecheii*, entre ellos, los flavonoides empleados como referencia. La presencia de Quercetina, Kaemferol, Naringenina y Leutolina, se determinó en 20 muestras, correspondientes a las especies de *T. angustula* y *M. beecheii* (Figura 2.).

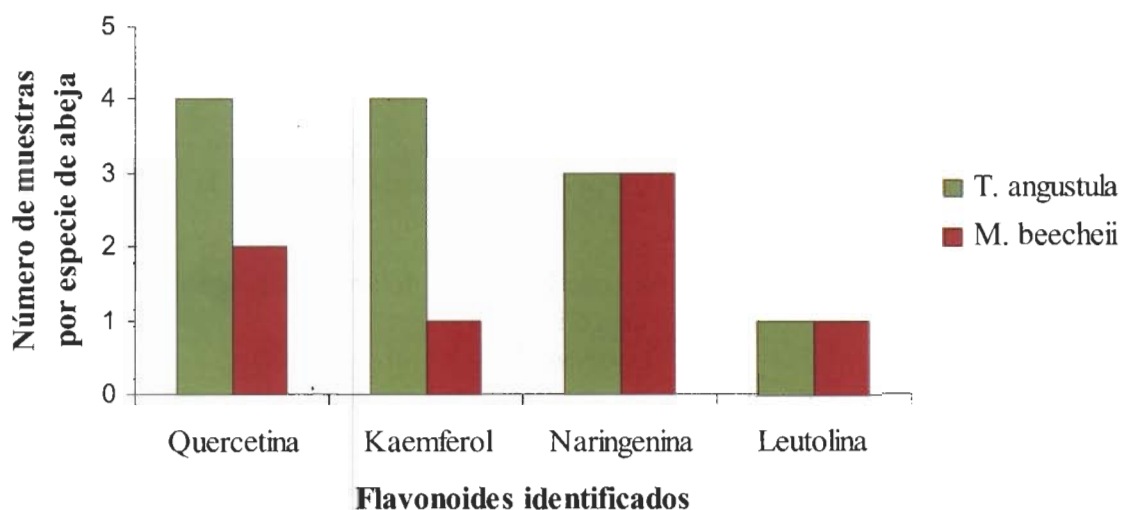


Figura 2. Flavonoides identificados presentes en la fase orgánica de miel de las especies *T. angustula* y *M. beecheii*.

Es importante mencionar, que la Quercetina y el Kaempferol, los cuales se presentaron con mayor frecuencia en los extractos de *T. angustula*, son importantes ya que inducen el sistema antioxidante celular y contribuye así a la prevención de enfermedades (Myhrstad *et al.*, 2002).

3.2.1 Origen botánico

Los recursos florales que mas destacan en las muestras de miel, pertenecientes a *T. angustula*, *T. perangulata* y *M. beecheii*, pertenecen a las familias de Anacardiaceae, Cyperaceae, Moraceae. El Espavel, Jocote, Jobo y Ojoche fueron las especies más dominantes, distribuidas en las provincias de Guanacaste, San José, Puntarenas, Heredia y Alajuela, zonas de las cuales procedían las muestras de miel de abejas sin aguijón. Por el contrario, las familias: Rutaceae, Melastomataceae, Umbelliferae, Fabaceae, Boraginaceae y Compositae, se registraron en menor frecuencia, el polen fue menor al 3%, del total de la muestra.

El polen predominante, en la muestra de *T. perangulata*, correspondió a *Brosimum alicastrum* (Ojoche), familia Moraceae. Mientras que, en las muestras de miel correspondientes a *M. beecheii* y *T. perangulata*, las especies predominantes fueron *Cyperus sp.* y *Spondias mombin*, *S. purpurea*, respectivamente. Sin embargo, únicamente en la muestra de *M. beecheii* se registró la

presencia de polen correspondiente a *Bursera simaruba* (Indio Desnudo), perteneciente a la familia Burseraceae (Figura 3.).

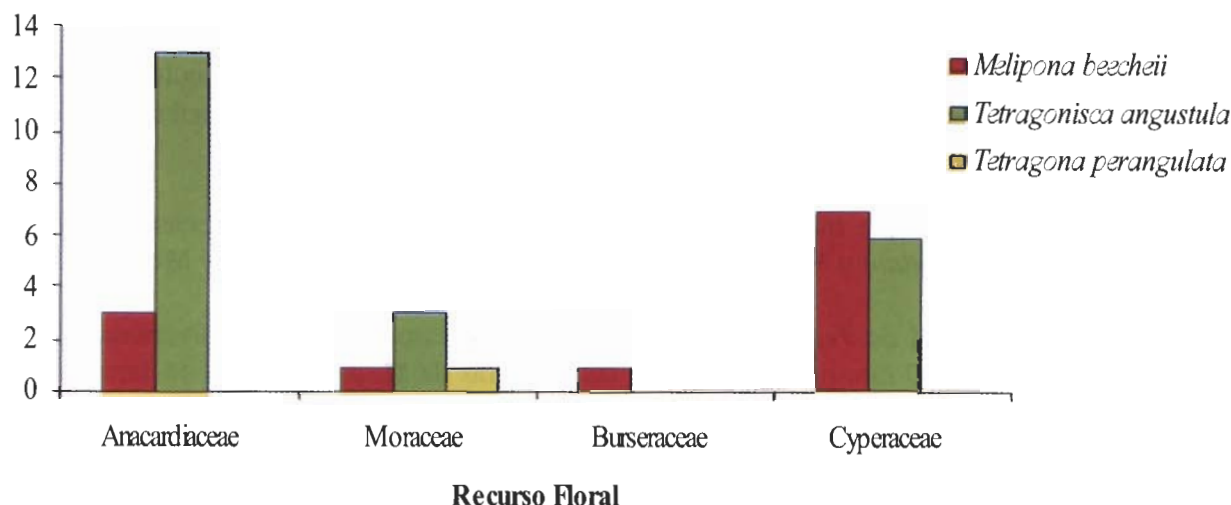


Figura 3. Recurso floral visitado según la especie de abeja (*M. beecheii*, *T. angustula* y *T. perangulata*).

Las familias con mayor predominancia en las muestras, concuerdan con las mencionadas por Arce *et al* (2001), quienes mencionan que las familias botánicas que aportan los mayores volúmenes de néctar para la cosecha de miel son: Fabaceae, Anacardiaceae, Burseraceae, entre otras.

Por otro lado, las muestras de miel de *T. angustula*, presentaron una mayor diversidad (19 familias), seguida de las muestras de *M. beecheii*, con 14. Mientras que, *T. perangulata* presentó tres familias; esto, debido principalmente a que las mieles tropicales se caracterizan por estar compuestas por una mezcla de néctar, proveniente de varias especies de plantas (Arce *et al*; 2001).

Conclusiones

- Las muestras con mayor actividad antioxidante fueron las pertenecientes a *T. angustula* (mariola). A diferencia de las muestras de *M. beecheii* (jicote gato), las cuales presentaron una menor actividad antioxidante.
- Otras muestras de especies menos comunes, presentaron datos variables, difíciles de agrupar debido a la poca cantidad de ejemplares que se disponía.
- Las mieles de meliponinos resultan efectivas para inhibir el crecimiento bacteriano de diversos patógenos como bacterias.

- De manera general, el microorganismo menos susceptible a la miel de abejas sin aguijón fue *Salmonella enteritidis*. Mientras que los más susceptibles a la miel de abejas sin aguijón fueron *Escherichia coli* O157:h7, *Staphylococcus epidermidis* y *Listeria monocytogenes*.
- La presencia de flavonoides (Quercetina, Kaemferol, Naringenina y Leutolina) se determinó únicamente en muestras de miel correspondientes a las especies de *T. angustula* y *M. beecheii*.
- Los recursos florales que más destacaron en las muestras de miel, pertenecientes a *T. angustula*, *T. perangulata* y *M. beecheii*, fueron Anacardiaceae, Cyperaceae y Moraceae.
- Las muestras de miel de *Tetragonisca angustula*, presentaron una mayor diversidad de especies vegetales (19 familias), seguida de las muestras de *M. beecheii* con 14 familias, mientras que, *T. perangulata* presentó tres familias.

5. Referencias bibliográficas

ALLEN, K L; MOLAN P C.; G M REID (1991) A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 43: 817-822.

AL-MAMARY, M; AL-MEERI A; AL-HABORI M (2002) Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research* 22 (9): 1041-1047.

ARCE, H; SÁNCHEZ L; SLAA J; SÁNCHEZ P; ORTIZ A; VAN VENN J; SOMMEIJER M (2001) Árboles Melíferos Nativos de Mesoamerica. Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional. 207p

ARIAS, L; ANTILLÓN F; CHAVÉS C; L VILLALOBOS (2008) Microbiología de Agua y Alimentos: principios y prácticas de laboratorio. Editorial UCR. San José, Costa Rica. 48 p.

ÁVILA, M; AG. CREVILLEN; M C GONZÁLEZ; A ESCARPA; L V HORTIGUELA; C DE LORENZO; R A PÉREZ (2006) Electroanalytical approach to evaluate antioxidant capacity in honeys: Proposal of an antioxidant index. *Electroanalysis* 18: 1821-1826.

BOGDANOV, S (1997) Antibacterial substances in honey. Swiss Bee Research Center en www.apis.admin.ch/english/pdf/BeeProducts/AntibacterialInternet_e.pdf

BOGDANOV, S (1989) Determination of pinocembrin in honey using HPLC. *Journal of Apicultural Research* 28: 55-57.

BROVO, L (1998) Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Review* 56 (11): 317-333.

DEMERA, J; E ANGERT (2003) Comparison of the activity of honey produced by *Tetragonisca angustula* (Meliponinae) and *Apis mellifera* L. from different phytogeographic regions of Costa

Rica. En memorias III Seminario Mesoamericano de abejas sin aguijón. Tapachula, Chiapas, México. 48-58 pp.

ENRÍQUEZ, E; MALDONADO C; M J DARDÓN (2007) Caracterización de la miel de abejas sin aguijón (Apidae: Meliponini) de Guatemala. En memorias V Congreso Mesoamericano sobre abejas sin aguijón. Mérida, México. 40-44 pp.

ESTRADA, H; M GAMBOA; C CHAVES; L ARIAS (2005) Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus níger*. Evaluación de su carga microbiológica. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 55 (2): 167-171.

FERRERES, F; GARCÍA-VIGUERA C; TÓMAS –LORENTE F; TÓMAS-BARBERÁN F A (1993) Hesperetin: a marker of the floral origin of citrus honey. Journal of the Science of Food and Agriculture 61: 121-123.

Food and Drug Administration. 2007. 501(k) Summary for Derma Sciences Medihoney Dressings with Active Manuka Honey. En www.fda.gov/cdrh/pdf7/k072956.pdf [Consulta: 4 de febrero, 2009]

GAMBOA, M; FIGUEROA J; NATES-PARRA G; CEPEDA M; J ROSSO (2008) Determinación del poder antibacterial de mieles de abejas sin aguijón, a partir de la concentración mínima inhibitoria. En Memorias V Congreso Mesoamericano sobre abejas sin aguijón. Mérida, Yucatán, México. 63-66 pp.

GHELDOLF, N; ENGESETH N (2002) Antioxidant capacity of honey from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 3050-3055.

GIL, MI; FERRERES F; ORTIZ A; SUBRA E; TOMÁS-BARBERÁN FA (1995) Phenolic metabolites and floral origin of rosemary honey. Journal of Agricultural and Food Chemistry 43(11): 2833-2838.

GONZÁLEZ, M; P MUÑIZ; V VALLS (2001) Actividad antioxidante de la cerveza: estudios *in vivo* e *in vitro*. Centro de información cerveza y salud. 5-19.

HALLIWELL, B; J GUTTERIOGE (1989) Free radical in biology and medicine. Oxford: Claredon; 1:142.

HARBORNE J B; BAXTER H (1999) The handbook of natural flavonoids. Vols 1 and 2. Chichester, UK: John Wiley and Sons.

HARBORNE JB, WILLIAMS CA (1992) Advances in flavonoid research since. Phytochemistry 55: 481-504.

HAVSTEEN B (1983) Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology* 32:1141-1148.

HODGES, D (1984) The Pollen Loads of the Honey Bee. International Bee Research Association. London, UK. 30 p.

KUSKOSKI, E M; A G ASUERO; A M TRONCOSO; J MANCINI-FILHO; R FETT (2005) Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas* 25(4): 726-732.

MARTÍNEZ, E; CUADRIELLO J; TÉLLEZ O; RAMIREZ E; MELCHOR E; MEDINA M; M LOZANO (1993) Atlas de plantas y el polen utilizados por cinco especies principales de abejas productoras de miel en la región del Tacana, Chiapas, México. Universidad Autónoma de México (UNAM). 105 p.

MIDDLETON J R E; CHITHAN K (1993) The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne JB, editor. *The flavonoids: advances in research since 1986*. London, UK: Chapman and Hall.

MOLAN, P (1992) The antibacterial activity of honey, I. The nature of antibacterial activity. *In* The antibacterial activity of honey. International Bee Research Association (IBRA). 5-28 pp.

MOLAN, P C (2002) Authenticity in honey, in PR Ashurst & MJ Dennis (ed.), *Food authentication*, Blackie Academic and Professional, London.

MOLAN, P C; K M RUSSELL (1998) Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. *Journal of Apicultural Research* 27(1): 62-67.

MYHRSTAD M C; CARLSEN H; NORDSTROM O; BLOMHOFF R; MOSKAUG JJO (2002) Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the gamma-glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. *Free Radical Biology and Medicine* 32:386-393.

National Honey Board. pH & Acids in Honey. (The National Honey Board, 390 Lashley Street Longmont, CO 80501-6045 USA). Disponible en: <http://www.nhb.org/download/factsht/ph-acid.pdf>

NOSTRO, A; M P GERMANÒ; V D'ANGELO; A MARINO; M A CANNATELLI (2000) Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology* 30: 379:384.

PALACIOS, R; LUDLOW-WIECHERS B; R VILLANUEVA (1991) Flora palinológica de la reserva de la Biosfera de Sian Ka'án, Quintana Roo, México. Centro de Investigaciones de Quintana Roo, México. 321 p

PÉREZ, R A; M T IGLESIAS; E PUEYO; M GONZÁLEZ; C DE LORENZO (2007) Amino Acid Composition and Antioxidant Capacity of Spanish Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 360-365.

PETERSON, J; DWYER J (1998) Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research* 18(12): 1995-2018.

RAHME, L; E STEVENS; S WOLFORT; J SHAO; R TOMPKINS; F M AUSUBEL (1995) Common virulence factors for bacterial pathogenicity in plants and animals. *Science* 268:1899-1902.

Revised Codex Standard for Honey. Codex Stan 12-1981., Rev. 2001. 24th Session of the Codex Alimentarius Commission, 7 pp.

RICHARDSON, A R; LIBBY SJ; FANG F C (2008) A nitric oxide-inducible lactate dehydrogenase enables *Staphylococcus aureus* to resist innate immunity. *Science* 319(5870): 1672-1676.

RODRÍGUEZ, J; J MENÉNDEZ; Y TRUJILLO (2001) Radicales libres en biomedicina y estrés oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar* 30(1): 36-44.

ROUBIK, D W; MORENO J (1991) Pollen and Spores of Barro Colorado Island. Missouri Botanical Garden. USA. 268 p

ROUBIK, D W (1983) Nest and colony characteristics of stingless bees from Panama (Hym: Apidae). *Journal of Kansas Entomological Society* 56 (3): 327-355.

RUSSELL, K M; MOLAN P C; WILKINS A L; HOLLAND P T (1990) Identification of some antibacterial constituents of New Zealand manuka honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38: 10-13

RYAN, K J; RAY C G (2004) Sherris Medical Microbiology, 4th ed. edición, McGraw Hill.

SUBRAHMANYAM, M; ARCHAN H; PAWAR S (2001) Antibacterial activity of honey on bacteria isolated from wounds. *Annals of Burns and Fire Disasters* XIV: 23-29.

TORTORA, G; FUNKE B; CASE C (2002) Microbiology: An Introduction Media Update. 7th ed. Cummings. San Francisco, EEUU. 887 pp.

VELÁZQUEZ, M; B PRIET; R CONTRERAS (2004) El envejecimiento y los radicales libres. Elixir del Dr Thermes. *Ciencias* 75. México. 36-43.

VIT, P; PERSANO L; MARANO M; E SALAS (1998) Venezuelan Stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. *Apidologie* 29: 377-389.

VIT, P; M MEDINA (2004) Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, México and Venezuela. *Bee World* 85: 2-5.

VIT, P; E ENRÍQUEZ; M O BARTH; AH MATSUDA; L ALMEIDA-MURADIAN (2006) Necesidad del control de calidad de la miel de abejas sin aguijón. *MedULA, Revista de Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela.* 15(2): 89-95.

WALKER, T S; H P BAIS; E DÉZIEL; H P SCHWEIZER; L G RAHME; R FALL; J M VIVANCO (2004) *Pseudomonas aeruginosa-plant root interactions. Pathogenicity, biofilm formation, and root exudation.* *Plant Physiology* 134:320-331.

YILDIRIM, A; A MAVI; A A KARA (2001) Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (49): 4083-4089.

PROPOLEO: COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ESTANDARIZACIÓN DE LA CALIDAD

Eduardo Umaña¹; Guiselle Tamayo²; Godofredo Solano²; José Francisco Ciccio³

1- Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
Correo electrónico: eumana@una.ac.cr

2- Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio)

3- Escuela de Química, Universidad de Costa Rica

1- Definición

El propóleo o própolis es un material producido principalmente por las abejas *Apis mellifera* para sellar grietas en el panal, embalsamar animales muertos dentro de la colmena y para establecer condiciones asépticas en las celdas que la reina utiliza para depositar los huevos para la cría. Es este un material compuesto de resinas que las abejas colectan de exudados de troncos de árboles o de partes tiernas de las hojas, mezclado con cera y sustancias salivares producidas por las abejas (1) (figura 1). Debido a su origen, el propóleo está constituido por una gran variedad de compuestos químicos que depende de la vegetación circundante a los apiarios. En general, se caracteriza por tener 55% de resinas, 30% de ceras, 10% de aceites esenciales y 5% de granos de polen (2).



Figura 1. Abejas sellando la entrada de la colmena con propóleo (tomado de “Value added products from beekeeping”, Krell, R.

II. Composición química y propiedades medicinales

El propóleo ha sido empleado en medicina popular alrededor del mundo. Dentro de sus aplicaciones principales, están su uso para el alivio de dolores musculares, artritis y reumatismo cuando se emplean tópicamente extractos en etanol. Los extractos alcohólicos mezclados con miel de abejas como vehículo, han sido usados para su ingestión para aliviar el asma, bronquitis y otros problemas respiratorios; también para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales y de la sangre, como estimulante del sistema inmune y para acelerar la curación de heridas y úlceras de lenta cicatrización (3).

En estudios efectuados por Sawaya *et al* (4) han encontrado que el propóleo tiene actividad antibacteriana especialmente contra bacterias gram positivas. Además este producto de la colmena presenta propiedades antifúngicas, antiinflamatorias y antioxidantes (5, 6, 7, 8, 9). Estas

propiedades biológicas han sido justificadas en la mayoría de los casos debido a la presencia de flavonoides y de ácidos fenólicos y sus ésteres. Como muestra de ello, los autores Grange and Davey (10) encontraron que extractos en etanol de propóleo fueron efectivos para inhibir el crecimiento de una clase de *Staphylococcus aureus* resistente al antibiótico Metilicina. Estos investigadores achacan parcialmente esta actividad biológica al flavonoide galangina y al feniletil éster del ácido cafeico.

Los flavonoides son un grupo de sustancias naturales con un rango de propiedades biológicas y farmacológicas que incluyen: antiinflamatoria, antiviral, antibacterial vasodilatadora, anticáncer, hepatoprotectora y antioxidante (11, 12, 13, 14, 15, 16). Los flavonoides se encuentran predominantemente en vegetales, frutas, vegetales, té y vino rojo. El contenido en flavonoides de la dieta típica occidental ha sido estimada entre 20 mg hasta 1 g por día. Se encontró una relación inversa entre el consumo de flavonoides y el riesgo de una enfermedad coronaria (17). Relacionado con esta capacidad de los flavonoides de prevenir enfermedades, que incluyen cáncer e inclusive Alzheimer, está su capacidad antioxidante; es decir, de reaccionar con radicales libres que producen degeneración (mutaciones) y muerte celular. Estos radicales libres se producen como parte del metabolismo de los alimentos, por radiación ultravioleta o de procesos de defensa corporal, como reacciones inflamatorias ante la presencia de agentes extraños en el organismo (17).

Varios investigadores han valorado explotar la capacidad antioxidante de los flavonoides como ingrediente de soluciones para la conservación de órganos para trasplante, por ejemplo del riñón (19). En éste caso, las principales causas de fallo del riñón a mediano y largo plazo en el paciente transplantado es el deterioro por isquemia/reperfusión y el ocasionado durante su conservación en frío. Las especies que median en este deterioro son especies radicalarias libres derivadas del oxígeno que causan la peroxidación lipídica. Usualmente para la conservación en frío del riñón se emplean soluciones preservantes especiales como la UW (University of Wisconsin) y la EC (Euro-Collins), sin embargo, las propiedades antioxidantes de estas soluciones son limitadas (17).

III. Origen Botánico

En la década de los 60 se tenía la idea de que el propóleo era una mezcla compleja, pero de una constitución química aproximadamente constante similar a la cera y al veneno de abejas, constituido sobre todo por flavonoides y ácidos fenólicos y sus ésteres. La razón para ello fue porque los propóleos mas estudiados para ese momento eran los producidos en regiones de clima templado. Sin embargo, posteriormente con el advenimiento de las nuevas técnicas instrumentales de análisis químico, se demostró que la constitución química del propóleo era altamente variable, dependiendo de la zona geográfica de procedencia de éste producto (14).

Para entender qué causa las diferencias en composición química del propóleo se debe tomar en cuenta su origen vegetal. Las abejas emplean exudados en heridas de plantas, usualmente son materiales lipofílicos (solubles con grasas y aceites), como gomas y resinas. De esta forma, la constitución química depende de la flora específica en el sitio de colecta y por tanto, de la zona geográfica y condiciones climáticas. Esto produce que los propóleos sean altamente variables, especialmente aquellos de origen tropical (15). Contrario, sucede con propóleos de clima templado en el que las abejas colectan resinas del árbol *Populus nigra*. Por ésta razón, el propóleo europeo contiene flavonoides del tipo de flavonas y flavanonas, ácidos fenólicos y sus

ésteres (16). En los trópicos estos árboles no crecen por lo que las abejas han tenido que buscar otras fuentes de resinas. Por ejemplo, el “propóleo verde” del Brasil es producido por las abejas a partir principalmente de las resinas de las hojas de *Baccharis dracunculifolia*. Entre los principales componentes están los derivados prenilados del ácido cumárico y de la acetofenona. Otras sustancias presentes son diterpenos, lignanos y flavonoides de naturaleza química diferente a los encontrados en propóleos de clima templado. Otro propóleo diferente es el propóleo cubano, el cual se caracteriza por tener benzofenonas poliisopreniladas. Estos componentes no se encuentran en el propóleo europeo ni brasileño. La fuente vegetal del propóleo cubano es la resina floral de *Clusia rosea* (18, 19).

IV. Propiedades físicas

El propóleo es una sustancia blanda y muy pegajosa a temperatura ambiente (de 25°C a 45°C). A temperaturas inferiores de 15°C y mas aún, cerca de 0°C el propóleo se convierte en un material duro y quebradizo. A temperaturas sobre 45°C incrementa su carácter gomoso. Generalmente, el propóleo llega a ser líquido a temperaturas entre 60-70 °C, pero en algunas muestras pueden tener un punto de fusión tan alto como 100 °C.

Debido a la diversidad de compuestos químicos que conforman a los propóleos, desde ceras, resinas y hasta restos de azúcares, no existe el solvente perfecto que disuelva a todos los componentes del propóleo a la vez. No obstante, los componentes de mayor interés son extraídos en alcohol etílico o propilenglicol (no puede utilizarse si el extracto va a ser ingerido o formulado con algún producto destinado para la ingestión humana o animal) (20).

V. Producción

La cantidad de propóleo producido por colmena varía desde 50 hasta 450 gramos, dependiendo del método utilizado para su obtención, tipo de abeja, manejo, clima y región. Su producción no interfiere con la cosecha de miel o el rendimiento de otros productos de la colmena. Artesanalmente el propóleo se puede obtener durante los trabajos rutinarios del manejo de la colmena, mediante el raspado de las partes internas de la misma (figura 2). Sin embargo, se deben tener los cuidados de evitar raspaduras de pintura, cosecharlo antes de aplicar tratamientos para el control sanitario de las colmenas, no someterlo a altas temperaturas, eliminar partículas extrañas y almacenarlo en bolsas plásticas y en refrigeración y protegido de la luz (21).

Un método de cosecha mas conveniente y limpio, es a través del uso de trampas plásticas. La trampa puede ser una lámina plástica con ranuras (figura 3) o un marco con una malla removible tipo mosquitera. La trampa se coloca sobre los cabezales de los marcos de la caja superior. Después de aproximadamente 20 días, las abejas han recubierto las aberturas de la trampa con propóleo y entonces se procede a retirarla de la colmena. Posteriormente la lámina se congela para que el propóleo se endurezca lo cual facilita su desprendimiento. Con este método se obtiene un producto libre de impurezas sólidas indeseables (21).



Figura 2. Raspado del propóleo acumulado en la tapa de una colmena.



Figura 3. Lámina plástica utilizada para la producción de propóleo.

VI. Diversificación

El propóleo se comercializa en diferentes presentaciones (figura 4) tales como cápsulas, bálsamos, homogenizados de miel, cremas para la piel, tinturas pastas dentales, tabletas para el dolor, jabones, shampoos, etc.



Figura 4. Productos que contienen propóleo: cápsulas, pastillas, caramelos, jarabe y aspersión.

La mayoría de usos comerciales del propóleo están basados en preparaciones elaboradas con extractos líquidos. Para la extracción, se utiliza principalmente alcohol etílico (etanol) de 95% de pureza y que sea grado alimenticio. Puede también emplearse propilenglicol pero el uso de estos extractos queda restringido para preparaciones de uso externo, nunca para productos que vayan a ser ingeridos por animales o humanos. El agua también puede ser empleada para la elaboración de extractos de propóleo, pero la extracción de los principios activos no es tan efectiva como con los alcoholes antes mencionados (20).

Los extractos típicos están en concentraciones del 5, 10, 20 y 35% masa/masa (m/m) de propóleo respecto al peso total. Por ejemplo, un extracto al 20% significa que por cada 100 g del extracto final, se han usado 20 g de propóleo sólido y 80 g del alcohol.

Para la elaboración del extracto, se colocan los materiales (propóleo y solvente de extracción) en un recipiente con tapa. El recipiente se mantiene en un cuarto oscuro a temperatura ambiente durante 2 o 3 semanas y se agita al menos dos veces al día. Luego de este tiempo, el extracto se filtra a través de una tela, algodón o papel filtro. El líquido filtrado se guarda un día en refrigeración (4°C) y luego se repite la filtración. El extracto líquido queda listo para ser envasado en recipientes oscuros de vidrio o plástico, o para ser incorporado en un producto de valor agregado (20, 21).

VII. Calidad

La calidad del propóleo o de sus extractos queda definida en función de su pureza (libre de impurezas sólidas y de contaminantes químicos como el plomo o el arsénico) y en la presencia de principios activos con actividad biológica. Por ejemplo, existen algunas especificaciones de calidad para el propóleo crudo o para sus extractos alcohólicos o acuosos que aplican empresas de alimentos para la salud que emplean el propóleo en algunos de sus productos. Estas especificaciones se indican en el cuadro I (22) y fueron establecidas con el objeto de estandarizar la calidad del propóleo.

Cuadro I. Especificaciones de calidad para propóleos para uso en productos para la salud.

Parámetro	Propóleo crudo	Extracto
Apariencia	Resinoso	Líquido
Color	Variable de claro a oscuro, café o verde hasta rojo o negro	Café claro u oscuro hasta negro
Organoléptico	Medianamente anestésiante cuando se coloca en la lengua	Medianamente anestésiante cuando se coloca en la lengua
Contenido de cera	50% m/m máximo	5% m/m máximo
Contenido de cenizas	5% m/m máximo	2% m/m máximo
Contenido de Crisina	1% m/m mínimo	2% m/m mínimo
Contenido de Pinocebrina	1% m/m mínimo	2% m/m mínimo
Contenido de Galangina	1% m/m mínimo	2% m/m mínimo
Contenido de Plomo	1 mg/kg máximo	1 mg/kg máximo
Contenido de Arsénico	1 mg/kg máximo	1 mg/kg máximo

Como se observa en el cuadro I, los parámetros “apariencia”, “color” y “propiedades organolépticas” están relacionadas con características físicas del propóleo y sus extractos. El contenido de cera, cenizas, plomo y arsénico se relaciona con la pureza del propóleo. En tanto, el contenido de crisina, pinocembrina y galangina se relaciona con la presencia de sustancias con actividad biológica. Estos compuestos poseen actividad antioxidante, la cual es considerada vital en los beneficios que el propóleo pueda brindar a la salud. Por ejemplo, en las últimas décadas, varios estudios epidemiológicos han mostrado que la ingesta diaria de alimentos ricos en antioxidantes naturales se correlaciona bien con una reducción del riesgo de padecer enfermedades coronarias. Se ha encontrado también que los antioxidantes tienen actividad antiinflamatoria, previenen la formación de tumores (23) y pueden ayudar a retrasar la aparición de enfermedades neurodegenerativas como el mal de Alzheimer (17).

Los propóleos europeos del tipo “poplar” (que proceden del árbol de *Populus nigra*) responden bien a estas especificaciones de calidad, sin embargo, dada la alta variedad en la composición química de los propóleos de diversas partes del mundo, no aplica en forma generalizada en cuanto a sustancias bioactivas. Por ejemplo, de un propóleo brasileño que se le realizaron estudios en el año 1999, mostraron la ausencia de los flavonoides crisina, pinocembrina y galangina. Sin embargo, se aisló un compuesto con una altísima actividad antioxidante, de la familia de los “ácidos cinámicos prenilados” (7). A priori, pudiese haberse erróneamente descartado este propóleo para su empleo en el campo de la salud. Esto muestra, que la estandarización de la calidad de los propóleos es un tema complicado y que debe efectuarse, de acuerdo, al tipo de propóleo, según sea su procedencia, origen botánico o composición química y por supuesto de la aplicación que se le dará finalmente al propóleo. El valor agregado de un propóleo estandarizado (y entonces, que cumple con una normativa o especificación particular) es altísimo puesto que asegura el desempeño de él para un uso particular, sea al emplearse en forma de extracto directamente o como ingrediente en una formulación.

VIII. Propóleos de origen costarricense

Hasta la fecha no se han realizado análisis químicos de los propóleos de origen costarricense. Debido a esto, la calidad de estos propóleos no ha sido posible estandarizarla. Es bien conocido que nuestro país posee una rica biodiversidad por lo que a priori es de suponer que los propóleos son muy variables en composición química. Esta suposición actualmente está siendo evaluada con un proyecto de tesis para optar por el grado de maestría en química de Eduardo Umaña. Este proyecto está siendo ejecutado entre el CINAT, el INBIO y la Universidad de Costa Rica. Paralelamente se está evaluando la capacidad antioxidante de los muestras de propóleo recolectadas, expresada como la capacidad de inhibir el 50% del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil).

El muestreo se hizo al azar. Se recolectaron un total de 119 muestras de propóleos de diferentes partes de país, distribuidas de la siguiente forma: 5 muestras por apiario de un total de 23 apiarios y 4 muestras de 1 apiario. Se incluyeron apiarios del Pacífico Norte, Pacífico Central, Zona Norte, Región Montañosa Sur, Pacífico Sur y Valle Central.

Preliminarmente, se ha encontrado que la variabilidad es amplia para apiarios de una misma región geográfica y que la actividad antioxidante es inclusive diferente hasta en muestras de un

mismo apiario, lo que sugiere que estas muestras tienen composición química diferente. Los análisis químicos están en proceso y permitirán clasificar los propóleos por composición química y no por procedencia geográfica, ya que hasta el momento se ha observado que la zona geográfica no determina si la actividad antioxidante será alta o baja.

Referencias bibliográficas

AHLENSTIEL, T; BURKHARDT G; KÖHLER H; KUHLMANN (2006) Improved cold preservation of kidney tubular cells by means of adding bioflavonoids to organ preservation solutions. *Transplantation* 81: 231-239.

BANKOVA, V (2005) Recent trends and important developments in propolis research. *eCAM* 2: 29-32.

BANKOVA, V; DE CASTRO S; MARCUCCI M (2000) Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31: 3-15.

CHENG, P; WONG G (1996) Honey bee propolis: prospects in medicine. *Bee World* 77: 8-15.

CUSHNIE, T; LAMB A (2005) Review: Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26: 343-356.

FARRÉ, R; FRASQUET J; SÁNCHEZ A (2004) Propolis and human health. *Ars pharmaceutica* 45: 21-43.

FEARNLEY, J (2001) Bee propolis: Natural healing from the hive. Souvenir Press, Londres, 172 pp.

FERNANDES, J R; LEOMIL L; FERNANDEZ A; SFORCIN J (2001) The antibacterial activity of propolis by *Apis mellifera* and Brazilian stingless bees. *Journal of venomous and toxins* 7: 2.

GRANGE, J; DAVEY R (1990) Antibacterial properties of propolis (bee glue). *Journal of the Royal Society of Medicine* 83: 159-160.

HAYASHI, K; KOMURA S; ISAJI N; OHISHI N; YAGI K (1999) Isolation of antioxidative compounds from Brazilian propolis: 3,4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 47: 1521-1524.

KRELL, R (1996) Value Added Products from Beekeeping. *FAO Agricultural Services Bulletin* No. 124, Roma, 363 pp.

KIM, H; SON K; CHANG H; KANG S (2004) Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of pharmacology Science* 96: 229-245.

MARCUCCI, M; FERRERES F; GARCÍA-VIGUERA C; BANKOVA V S; DE CASTRO S L; DANTAS, A P (2001) Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology* 74: 105-112.

MEDIC-SARIC, M; JASPRICA I; SMOLČIĆ-BUBALO A; MORNAR A (2004) Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. *Croatica Chemica Acta* 77: 361-366.

POKORNY, J; YANISHLIEVA N; GORDON M (2001) *Antioxidantes de los Alimentos. Aplicaciones Prácticas*. Editorial Acribia, Zaragoza, España, 364 pp.

PRASAIN, J; WANG C-C; BARNES S (2004) Mass Spectrometric methods for the determination of flavonoids in biological samples. *Free Radical Biology & Medicine* 37: 1324-1350.

SALATINO, A; TEXEIRA E; NEGRI G; MESSAGE D (2005) Origin and chemical variation of brazilian propolis. *ECAM* 2, (1): 33-38.

SAWAYA, A; PALMA A; CAETANO F; MARCUCCI M; CUNHA I; ARAUJO C; SHIMIZU M (2002) Comparative study of in vitro methods used to analyse the activity of propolis extracts with different compositions against species of *Candida*. *Letters in Applied Microbiology* 35: 203-207.

SAWAYA, A; SOUZA K; MARCUCCI M; CUNHA I; SHIMIZU M (2004) Analysis of the composition of Brazilian propolis extracts by chromatography and evaluation of their in vitro activity against gram-positive bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology* 35: 1-2.

TEXEIRA, E; NEGRI G; MEIRA R; MESSAGE D; SALATINO A (2005) Plant origin of green propolis: Bee behavior, plant anatomy and chemistry. *ECAM* 2, (1): 85-92.

TOLOSA, L; CAÑIZARES E (2002) Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleo de Campeche. *Ars Pharmaceutica* 43: 1-2 / 187-204.

UMAÑA, E; CALDERÓN R; VAN VEEN J; RAMÍREZ J F (2005) *Productos Apícolas: Diversificación y Beneficios para la Salud Humana*. Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Heredia, Costa Rica, 85 pp.

ANÁLISIS DE RESIDUOS DE CONTAMINANTES EN MIEL DE ABEJAS (*APIS MELLIFERA*) COMERCIALIZADA EN COSTA RICA

Luis Angel Sánchez^{1*}; Clemens Ruepert²; Eduardo Umaña¹; Efraín Solís³

1*-Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional.
Correo electrónico: luislsan83@gmail.com

2- Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas, Universidad Nacional

3- Laboratorio de Análisis y Servicios Químicos, Escuela de Química, Universidad Nacional.

Resumen

El empleo de medicamentos veterinarios para el control de enfermedades en las abejas, además de la aplicación de plaguicidas en los cuartos de procesamiento y extracción de la miel, así como en los campos aledaños a las colmenas, hace necesario el establecimiento de programas de control de contaminantes que por sus características puedan quedar retenidos en la miel y afectar de esta forma la salud de los consumidores e incidir en forma negativa en la calidad integral de la miel.

La necesidad de contar con una metodología que permita identificar los principales medicamentos veterinarios empleados principalmente para el control del ácaro *Varroa destructor*, así como algunos plaguicidas empleados en los cultivos predominantes en las principales zonas apícolas de Costa Rica, fue establecida en esta investigación.

Esta investigación pretende dejar las bases para la formulación de un futuro protocolo que recomiende concentraciones máximas permitidas de residuos de plaguicidas en la miel de abejas; de manera tal que no afecte a los consumidores y que además permita conocer la situación de las mieles que son importadas. Esto le asegurará al consumidor obtener un producto libre de sustancias dañinas para la salud y le permitirá al productor conocer mejor su calidad, evitando así tener pérdidas económicas por el rechazo de su producto, como consecuencia de la aplicación indebida, las malas prácticas de manejo de este tipo de sustancias ó por descuidos voluntarios o involuntarios.

La metodología fue empleada en el análisis de 46 muestras de miel de abejas provenientes de apicultores nacionales, así como 21 muestras de miel comercial y 15 muestras importadas.

I. Introducción

El Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) es un instituto de la Universidad Nacional especializado en el estudio de las abejas tropicales que procura el desarrollo de una apicultura sostenible en Costa Rica. El Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET), ente dedicado a conocer y mejorar la situación ambiental y la calidad de vida de los trabajadores y de la sociedad centroamericana, expuestos a sustancias tóxicas, principalmente plaguicidas. Ambas instituciones han reunido esfuerzos para el desarrollo del proyecto: "Control Integral de la Calidad de la Miel de abejas" (Umaña E, *et al*, 2005).

La valoración del contenido de residuos de plaguicidas en mieles comercializadas en Costa Rica es uno de los objetivos del proyecto formulado por el CINAT y el IRET. Además este tipo de estudios forma parte de la misión de ambos institutos.

Actualmente en el país, no se realizan este tipo de análisis a las mieles que se producen localmente ni a las que son importadas. Esta situación deja la posibilidad de que se estén comercializando mieles que puedan contener este tipo de residuos tóxicos. Por tal razón se hacía necesario establecer una metodología de análisis que permita identificar ó descartar la presencia de este tipo de residuos en la miel de abejas.

La miel de abejas es un alimento natural que ha aumentado su auge comercial en los últimos años, convirtiéndose en un importante medio de subsistencia para un gran número de apicultores a lo largo del territorio nacional. A inicios del siglo XX la actividad apícola estuvo en un constante crecimiento, hasta alcanzar su mayor nivel productivo en la década de los setentas. Sin embargo, con el ingreso de las abejas africanizadas al país a inicios de los ochentas, la producción de miel se vio disminuida debido a que un gran número de apicultores decidieron abandonar esta actividad, por lo difícil que resultaba trabajar con una raza (subespecie) que posee un comportamiento altamente defensivo (Umaña E., *et al*, 2005).

En la actualidad han surgido nuevos apicultores, se ha incrementado el número de colmenas y como consecuencia se ha logrado aumentar los niveles de producción de miel. Asimismo, a través de asociaciones y alianzas estratégicas con empresas se comercializa el producto y se obtienen mejores ganancias (Calderón R., *et al*, 2007).

1.1 Exposición de la miel a sustancias contaminantes

El proceso de producción de la miel de abeja puede verse afectado por ciertas plagas que atacan a las abejas, lo que provoca una disminución en la cantidad de producto que pueda comercializarse. Asimismo, la calidad de la miel puede ser alterada al estar en contacto con sustancias de composición química provenientes de los productos aplicados para el control de plagas y enfermedades en las colmenas (Dürdane, K, 2004; Blasco C, *et al*, 2003; Al-Rifai J, *et al*, 1997; Bogdanov S, *et al*, 1998).

Ciertos productos químicos utilizados en la colmena como: insecticidas, acaricidas, antibióticos y repelentes; empleados para el control de plagas y enfermedades, pueden ser retenidos en la miel y provocar efectos adversos en la salud de los consumidores (Dürdane, K, 2004; Blasco C, *et al*, 2003; Al-Rifai J, *et al*, 1997; Bogdanov S, *et al*, 1998).

Varroa destructor es una de las plagas que incide en forma negativa en el desarrollo de la apicultura. Por tal motivo, se pretende controlar o mantener niveles de prevalencia bajos en las colmenas, para este propósito se han utilizado una serie de productos químicos entre los que se mencionan: Bromopropilato, el Coumafos, el Fluvalinato, la Flumetrina, el Acrinacrilato, el Tetradifon y el Ácido fórmico (Blasco C., *et al*, 2003; Al-Rifai J., *et al*, 1997; Bogdanov S., *et al*, 1998; Szerletics T. M., *et al*, 2003; Kochansky J., *et al* 2001; Tsigouri A., *et al* 2003; Lodesani M., *et al*, 2003).

De la misma forma, la aplicación de plaguicidas principalmente en cultivos de café, cítricos, melón y caña; cercanos a los apiarios pueden dejar residuos de estas sustancias en la miel y afectar su calidad, esto mediante mecanismos de deposición naturales como el viento y la lluvia o bien mecanismos artificiales como la aplicación directa o indirecta de estos productos empleando

maquinaria o equipo para este fin (Dürdane, K, 2004; Blasco C, *et al*, 2003; Al-Rifai J, *et al*, 1997; Bogdanov S, *et al*, 1998).

Esta situación ha aumentado la posibilidad de encontrar sustancias tóxicas asociados con su control en los productos de la colmena, como la cera, el propóleo, la jalea real y la miel principalmente (Dürdane K., 2004; Blasco C., *et al*, 2003; Al-Rifai J., *et al*, 1997; Bogdanov S., *et al*, 1998; Dieguez, S, *et al*, 2002; Bogdanov, S, 2003).

1.2 Legislación

Costa Rica carece de los controles necesarios para verificar la presencia o ausencia de residuos químicos en la miel, ya que no cuenta con un programa de monitoreo de residuos químicos para este alimento, lo que permitiría evaluar la miel producida a nivel nacional, así como la que es importada. En este sentido es necesario y sumamente importante establecer los parámetros que aseguren un producto de calidad y que el mismo se encuentre en lo posible libre de sustancias tóxicas (Umaña, *et al*, 2005).

A pesar de que la norma nacional para miel de abejas se menciona que en cuanto a residuos químicos esta debe cumplir con lo estipulado por el Codex Alimentario, no se especifican cuales son las sustancias que deben ser evaluadas, ni los niveles máximos de estas sustancias que pueden ser permitidos (Norma oficial para miel de abejas, 2006).

Existen normas internacionales que si contemplan cuales son los niveles máximos de sustancias químicas cuyo uso si está permitido (ver cuadro 1), en Centroamérica la norma guatemalteca para miel de abejas prohíbe la presencia de plaguicidas organoclorados, organofosforados, piretroides y cualquier antibiótico utilizado en apicultura, sin embargo establece un límite máximo de residuos (LMR) para el amitraz, acaricida antes mencionado, en 200mg/kg (Norma Guatemalteca de miel, 2006).

Cuadro 1. Límite máximo de residuos de algunos plaguicidas (mg/kg) en miel de abeja.

Plaguicida	Unión Europea	Estados Unidos	Alemania	Italia	Suiza
Amitraz	0,2	1,0	0,01	0,01	0,01
Bromopropilato	-	-	0,1	0,01	0,1
Coumafos	0,1	0,1	0,01	0,01	0,05
Flumetrina	-	-	0,01	0,01	0,05
Fluvalinato	-	0,05	0,01	0,01	0,005

Fuente: Fernández, *et al*, 2002; Wallner, 1999.

La Unión Europea es uno de los principales mercados compradores de miel a nivel mundial, sin embargo también es uno de los organismos que presenta mayor restricciones a los alimentos que logran ingresar a esta región, esto mediante la aplicación de controles que garanticen el comercio de alimentos libres de residuos contaminantes o bien que cumplan con los límites máximos de residuos de las sustancias cuyo uso si es permitido. Ante estas políticas de control, la miel no está exenta de las regulaciones de este mercado, para ello se ha establecido una lista con los plaguicidas regulados, así como los Límites Máximos de Residuos (LMR) permitidos para estas sustancias (Pirro, *et al*, 2003: http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm).

En nuestro país al no conocer cuáles deben ser los plaguicidas que se deben evaluar y por lo tanto que LMR se deben cumplir, por no contar con programas de control de residuos para este alimento y por tener una legislación actual ambigua en este tema, es que muchos apicultores individuales, asociaciones apícolas e incluso el consumidor se ven afectados pues muchas de la mieles que se comercializan en el país pueden contener residuos tóxicos.

2. Materiales y métodos

2.1 Encuestas

Para validar el trabajo se efectuó una encuesta con una muestra de 83 apicultores, incluyendo todas las zonas apícolas del país y equivalente a un 20% del total de apicultores con que se cuenta. De estas encuestas se identificaron los principales factores de contaminación de la miel y se clasificaron en:

- Control de plagas en los cuartos de extracción y procesamiento de la miel
- Control de enfermedades
- Cultivos aledaños a los apiarios

Con base en la información obtenida de las encuestas realizadas, se procedió a seleccionar un grupo de sustancias químicas, plaguicidas y principios activos de medicamentos veterinarios, que fueran representativas de la realidad de la apicultura en Costa Rica, con el fin de implementar un método para el análisis de los contaminantes que puedan estar presentes en la miel, los cuales se aprecian en orden de acuerdo su clasificación química en el cuadro 2.

Cuadro 2. Plaguicidas seleccionados para el análisis.

Organofosforados	Piretroides	Organoclorados	Otros
Clorpirifos	Ciflutrina	Endosulfan (α , β y sulfato)	Amitraz
Bromofos (metil y etil)	Cipermetrina	Etión	Bromopropilato
Clorfenvinfos	Fluvalinato	Clorotalonil	-
Coumafos	Transflutrina	-	-

2.2 Metodología para el análisis de plaguicidas

Para lograr el análisis de los plaguicidas en la miel se hizo necesario establecer una metodología que permitiera el análisis de estas sustancias químicas en la miel.

Considerando los trabajos de Jansson C. (2000), así como Herrera A. y colaboradores (2005), se realizaron ciertas modificaciones a sus procedimientos y se implementó la siguiente metodología, la cual consiste en disolver la muestra de miel en una mezcla de solventes orgánicos, seguido se realiza la extracción que consiste en hacer pasar la muestra por un cartucho retiene los

plaguicidas y separa los azúcares y otras sustancias que no son de interés. Finalizada esta etapa el extracto se inyecta en un equipo cromatográfico que identifica aquellas sustancias presentes en la miel.

2.3 Metodología para el análisis de antibióticos

El uso de antibióticos para el control de enfermedades en las abejas, representa un riesgo de contaminación en la miel por la presencia de residuos de estas sustancias, siempre que no se respeten las épocas adecuadas para la aplicación de estos productos, así como las dosis establecidas. El principal grupo de antibióticos utilizados para el control de enfermedades bacterianas de la cría como el Loque Americana es el de las tetraciclinas, conformado por la oxitetraciclina y la clortetraciclina (Bogdanov S.; 2003).

Para el análisis de antibióticos en miel se utilizó un ensayo inmuno-enzimático conocido como Test de ELISA, de la marca Ridascreen® Tetracycline, R-Biopharm AG, el cual consiste en un Kit para la determinar la presencia o ausencia de tetraciclinas en la miel.

3. Resultados y Discusión

3.1 Análisis de las encuestas

Con base en la información suministrada en las encuestas realizadas a los apicultores se obtuvieron los siguientes resultados, los cuales están clasificados de acuerdo a los factores de contaminación identificados.

3.1.1 Control de plagas en los cuartos de extracción y procesamiento de la miel

El 14,5% de los encuestados aplican insecticidas o raticidas para el control de plagas dentro de los cuartos de extracción, de este porcentaje el 25,0% utiliza Racumin® (principio activo: Cumatetralyl) y el 16,7% Baygon® (principio activo: Ciflutrina), siendo estos los productos más sobresalientes. El 83,1% de los encuestados restantes no emplean ningún insecticida o raticida.

Además se identificó que el 31,3% de los apicultores entrevistados almacenan los panales de cera para su aprovechamiento, de este grupo los productos de mayor uso para proteger la cera del ataque de la polilla son el paradiclorobenceno en un 63,0% y la naftalina en un 14,8% principalmente.

3.1.2 Control de enfermedades

Para el control de la varroa se identificó el uso de Apistan (Fluvalinato) en un 45,5% de los casos y Bayvarol (flumetrina) en un 36,4%. Se identificó el uso de Mavrick (Fluvalinato) en un 3,4% de los casos, a pesar de que este producto posee el mismo principio activo que el Apistan, no es permitido su uso en abejas.

Para el control de la enfermedad causada por Loque 42,2% de los apicultores utilizan Oxitetraciclina, el 57,8% restante no utiliza ningún medicamento para esta enfermedad.

Para la enfermedad causada por Nosema, un 13,3% Fumidil B, un 1,2% utiliza Oxitetraciclina, mientras que el 85,5% de los apicultores no aplica ningún producto.

3.1.3 Cultivos aledaños a los apiarios

Las encuestas realizadas permitieron identificar la vegetación aledaña a los apiarios, así como los cultivos ubicados en las cercanías de las zonas apícolas del país. El cultivo de café representa un 43,8%; otros cultivos en donde se ubican las colmenas son: cítricos 14,6%, laurel 9,4%, maíz 5,2%, caña 3,1% y melón 3,1%.

3.2 Análisis de las muestras

La investigación buscaba establecer una metodología que sirviera para el análisis de sustancias contaminantes en la miel, para poder estar protegidos ante la llegada de miel contaminada de otros países o bien alertar ante una situación de malas prácticas de manejo de estas sustancias en los apiarios del país. Para lograr esto se estableció el método de análisis siguiendo los parámetros establecidos en las Guías para el Monitoreo de Residuos de la Unión Europea, donde menciona que los métodos deben ser probados en cuanto a exactitud, precisión y sensibilidad (Sanco, 2006).

Una vez probados estos parámetros de calidad se procedió al análisis de las muestras de miel recolectadas provenientes de los apicultores nacionales, miel de importación y miel de expendios comerciales, tras realizar los análisis a las muestras se obtuvieron los siguientes resultados:

Cuadro 3. Resultados obtenidos del análisis de residuos de plaguicidas en muestras de miel comercializada en Costa Rica, proveniente de muestras del comercio local.

Código original	Presencia de plaguicidas	otras sustancias encontradas
FIDA Comercial 1 PLAG	no	Cafeína
FIDA Comercial 5 PLAG	no	Cafeína
FIDA Comercial 6 PLAG	no	no
FIDA Comercial 7 PLAG	no	no
FIDA Comercial 8 PLAG	no	Cafeína
FIDA Comercial 10 PLAG	no	Cafeína
FIDA Comercial 11 PLAG	no	no
FIDA Comercial 12 PLAG	no	no
FIDA Comercial 13 PLAG	no	no
FIDA Comercial 15 PLAG	no	Cafeína

Cuadro 4. Resultados obtenidos del análisis de residuos de plaguicidas en muestras de miel comercializada en Costa Rica, proveniente de Apicultores nacionales.

Código original	Presencia de plaguicidas	otras sustancias encontradas
FIDA 2 PLAG	no	no
FIDA 3 PLAG	no	no
FIDA 5 PLAG	no	Cafeína
FIDA 9 PLAG	no	no
FIDA 12 PLAG	no	no
FIDA 16 PLAG	no	Cafeína
FIDA 21 PLAG	no	Cafeína
FIDA 24 PLAG	no	Cafeína
FIDA 26 PLAG	no	Cafeína
FIDA 28 PLAG	no	no
FIDA 29 PLAG	no	no
FIDA 31 PLAG	no	no
FIDA 32 PLAG	no	no
FIDA 34 PLAG	no	no
FIDA 35 PLAG	no	no
FIDA 36 PLAG	no	Cafeína
FIDA 37 PLAG	no	Cafeína
FIDA 42 PLAG	no	Cafeína
FIDA 44 PLAG	no	no
FIDA 41 PLAG	no	Cafeína

Cuadro 5. Resultados obtenidos del análisis de residuos de plaguicidas en muestras de miel comercializada en Costa Rica, proveniente de muestras de importación.

Código original	Presencia de plaguicidas	otras sustancias encontradas
FIDA IMP 1 PLAG	no	no
FIDA IMP 2 PLAG	no	no
FIDA IMP 3 PLAG	no	no
FIDA IMP 4 PLAG	no	Cafeína
FIDA IMP 5 PLAG	no	no
FIDA IMP 6 PLAG	no	Cafeína
FIDA IMP 7 PLAG	no	Cafeína
FIDA IMP 8 PLAG	no	Cafeína
FIDA IMP 12 PLAG	no	no
FIDA IMP 13 PLAG	no	no

Como se muestra en los cuadros anteriores ninguna de las muestras presentan residuos de las sustancias en análisis, por lo que se concluye que este grupo de mieles fueron procesadas de acuerdo a las buenas prácticas de manejo de sustancias tóxicas en los alimentos. A pesar de no

haber encontrado plaguicidas es necesario mantener el monitoreo constante, ya que su presencia en este alimento puede significar un riesgo para la salud de los consumidores y como consecuencia traer pérdidas económicas a los productores por el rechazo de producto en el mercado, así como por sanciones gubernamentales e inclusive el cierre de mercados de exportación.

Un aspecto importante del análisis efectuado es el haber detectado en un 45% de los casos hasta ahora analizados, la presencia del metabolito secundario cafeína en las muestras. De este porcentaje 9 muestras provienen de apicultores nacionales ubicados en cultivos cercanos a zonas cafetaleras principal fuente de este alcaloide, sin embargo según Baumann T. (1998), la cafeína puede estar presente en flores de cítricos, plantaciones que las abejas también visitan y que como se expuso en anteriormente representa un 14,5 % de las zonas donde se ubican las colmenas en Costa Rica. No obstante se requiere hacer más investigación al respecto para poder determinar el origen de esta sustancia en la miel, ya que también se asocia con otras familias botánicas que las abejas visitan (Gargiullo M., *et al*, 2008)

Es importante mencionar que las 42 muestras restantes se encuentran en proceso de análisis en el laboratorio de residuos de Plaguicidas de la Universidad Nacional (LAREP-UNA).

El análisis de antibióticos realizado a las 82 muestras por medio del Test de ELISA, de la marca Ridascreen® Tetracycline, se obtuvieron los siguientes resultados que se resumen a continuación.

Cuadro 6. Resumen del análisis de antibióticos empleando el Test de ELISA.

Muestra	Concentración (mg/Kg)
FIDA 6 Antibióticos	158
FIDA comercial 13 Antibióticos	98
FIDA Importación 7 Antibióticos	56
Límite de detección del método	15
Límite Máximo Bélgica	50

Solamente el 3.7% de las muestras analizadas excedieron los niveles permitidos de oxitetraciclina. Este porcentaje se distribuyó en una muestra por cada grupo estudiado.

Estos resultados evidencian que este grupo de antibióticos puede quedar retenido en la miel, por lo que es una llamada de atención para realizar controles que permitan evaluar la realidad de las mieles que se comercializan en los países del área y así garantizar un producto libre de contaminantes.

4. Conclusiones

En las muestras analizadas se determinó que no existen residuos detectables de los plaguicidas seleccionadas para el estudio, considerando que el equipo utilizado presenta un alto nivel de

sensibilidad debido a su bajo límite de detección, lo que permite cuantificar concentraciones muy bajas de residuos de sustancias químicas que puedan estar presentes en la miel.

El 45% de las muestras hasta la fecha analizadas posee el metabolito secundario Cafeína, por lo que es necesario realizar más investigaciones con el fin de determinar el origen de esta sustancia, ya que no es exclusivo de las plantaciones de café sino que también puede estar presente en flores de cítricos y otras familias botánicas que las abejas visitan.

El 96.3 % de las muestras analizadas (los tres grupos) están libres del antibiótico Oxitetraciclina. El restante 3.7% que si lo contenía representa una llamada de atención considerando que la presencia de niveles excesivos de este antibiótico en la miel es perjudicial para el consumidor.

La estandarización de la metodología desarrollada es un instrumento con el que puede contar el país, como medio de defensa ante la comercialización de mieles que puedan contener residuos de sustancias tóxicas, garantizándole al consumidor la adquisición de un producto de calidad e inocuo a su salud.

5. Recomendaciones

El empleo de acaricidas y antibióticos para el control de plagas y enfermedades en la producción apícola, hace necesario el establecimiento de un programa de monitoreo de estas sustancias a las mieles producidas localmente, con el fin de evitar problemas a la salud de los consumidores, así como sanciones internacionales en caso de exportación de este producto.

Para la aplicación de plaguicidas en los cultivos es necesario coordinar con los encargados de los apiarios y además considerar factores ambientales como la lluvia y el viento, con el fin de minimizar el impacto que se pueda generar en los ecosistemas aledaños.

Las dosis de medicamentos aplicados a las abejas, deben seguirse de acuerdo a las recomendaciones estipulas por las casa comerciales, de lo contrario se estaría ante una posible situación de contaminación de los productos de la colmena.

El empleo de antibióticos para el tratamiento de enfermedades en las colmenas, deben realizarse respetando los períodos recomendados, con el fin de evitar la presencia de residuos en la miel u otros productos de la colmena, así como la resistencia bacteriana que se pueda generar por el abuso de esta sustancias.

Los institutos de formación y apoyo a los apicultores deben advertir el riesgo de utilizar productos en las colmenas diferentes a los permitidos o bien en épocas de producción de miel, ya que esto puede provocar la presencia de residuos contaminantes en los productos de la colmena.

6. Referencias bibliográficas

AL-RIFAI, J; N AKELL (1997) Determination of Pesticide Residues in Imported and Locally Produced Honey in Jordan, *Journal of Apicultural Research* 36 (3/4): 155-161.

BAUMANN, T; J KRETSCHMAR (1999) Caffeine in Citrus Flowers. *Phytochemistry* 52: 19-23.

BLASCO, C; M FERNÁNDEZ; A PENA; C LINO; M SILVEIRA; G FONT; Y PICO (2003) Assesment of Pesticides Residues in Honey Samples from Portugal and Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 8132-8138.

BOGDANOV, S (2003) Current Status of Analytical Methods for the Detection of Residues in Bee Products. *Apiacta* 38: 190-197.

BOGDANOV, S; V KILCHEMANN; A IMDORF (1998) Acaricide Residues in Some Bee Products. *Journal of Apicultural Research* 37(2): 57-67.

BOGDANOV, S; A IMDORF; J D CHARRIÈRE; P FLURI; V KILCHENMANN (2003) The Contaminants of the Bee Colony. *Swiss Bee Research Centre* 1-12.

CALDERÓN, R; L SÁNCHEZ; N FALLAS; A CUBERO; A MUÑOZ (2007) Prevalencia de las principales enfermedades que afectan a las abejas melíferas en Costa Rica. En: *Memorias, IX Congreso Nacional de Apicultura 2007, Costa Rica*, 48-59.

DÜRDANE, K (2004) Impact of Pesticide Use on Bees and Bee products. *Mellifera* 4-7: 57-64.

FERNÁNDEZ, M; Y PICÓ; J MAÑES (2002) Analytical Methods for Pesticide Residues Determination in Bee Products. *Journal of Food Protection* 65(9): 1502-1511

GARGIULLO, M; B MAYNUSON; L KIMBALL (2008) *A Field Guide to Plants of Costa Rica*, publicado por Oxford University Press US, Estados Unidos, 79-82.

HERRERA, A; C PÉREZ; P CONCHELLO; S BAYARRI; R LÁZARO; C YAGÜE; A ARIÑO (2005) Determination of Pesticides and PCBs in Honey by Solid-Phase Extraction Cleanup Followed by Gas Chromatography with Electron-Capture and Nitrogen-Phosphorus Detection, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381: 695-701

JANSSON, C (2000) Multiresidue Method for the Gas Chromatographic Determination of Pesticides in Honey after Solid-Phase Extraction Cleanup. *Journal of AOAC International* 83(3): 714-719.

KOCHANSKY J; K WILZER; M FELDLAUFER (2001) Comparison of the Transfer of Coumaphos from bee wax into Syrup and Honey. *Apidologie* 32: 119-125.

LODESANI M; C COSTA; M BIGLIARTI; R COLOMBO (2003) Acaricide Residues in Bee Wax and Organic Beekeeping. *APIACTA* 38: 31-33.

Norma oficial para miel de abejas, Ley N° 5292 de 9 de agosto de 1973 y la Ley N° 8495, Costa Rica 2006.

Norma Guatemalteca de miel, 2006, Disposiciones para la Emisión de Licencias Sanitarias de Funcionamiento Relacionadas con la Miel de Abejas, Acuerdo Ministerial Número 601-2006.

PIRRO, R; MUTINELLI F (2003) The EU Legislation for Honey Residue Control. APIACTA 38: 15-20.

SANCO (2006) Quality control procedures for pesticide residues analysis document n° sanco/10232/2006 24/march/2006, Guidelines for Residues Monitoring in the European Union.

SZERLETICS T M; M E SZALAI (2003) Honey and Wax Analysis for Acrinathrin Residues, APIACTA 38: 34-39

TSIGOURI A; U MENKISSOGLU-SPIROUDI; A THRASYVOULOU; G DIAMANTIDIS (2003) Fluvalinate Residues in Greek Honey and Beeswax. APIACTA 38: 50-53.

UMAÑA E; C RUEPERT (2005) Proyecto Control Integral de la Calidad de la Miel de Abeja, Propuesta para Financiamiento mediante el Fondo Institucional de desarrollo Académico (FIDA), Heredia, Costa Rica

WALLNER K (1999) Varroacides and their Residues in Bee Products. Apidologie 30: 235-248.

http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm, fecha de acceso: 02 setiembre 2009

IMPORTANCIA DE LA BIODIVERSIDAD APÍCOLA PARA LA SEGURIDAD ALIMENTARIA DE COSTA RICA

Luis A. Sánchez Chaves; Eduardo Herrera González

Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Correo electrónico: lsanchez@una.ac.cr

Introducción:

Las abejas son consideradas como las principales polinizadoras de los bosques tropicales y de los agroecosistemas (Roubik, 1995). Estos insectos alcanzan una alta diversidad a nivel mundial, con alrededor de unas 30000 especies, distribuidas en siete familias: Halictidae, Andrenidae, Colletidae, Megachilidae, Melitidae, Stenotritidae y Apidae (Michener, 2000). La gran mayoría de las especies viven en forma solitaria y poseen una gran variedad de características asociadas, en cuanto a tamaños, morfología, hábitos de nidificación, comportamiento, rangos de vuelo y adaptaciones para visitar numerosos tipos de flores.

Dentro de la Familia Apidae, encontramos a los grupos de abejas sociales, de particular importancia en nuestra región son las abejas nativas sin aguijón o melipónidos (Tribu: Meliponini). Como su nombre lo indica, la principal característica asociada al comportamiento defensivo de estas abejas es que no pican, ya que su aguijón con el transcurso de la evolución se convirtió en una estructura vestigial muy reducida, la cual se considera como no funcional, por lo tanto, no es utilizada para picar. Estas abejas habitan en las regiones tropicales de todo el mundo, se considera que existen alrededor de unas 400 especies y el tamaño de los nidos varía según la especie desde unos cientos, hasta nidos con más de 60000 individuos. Esta gran biomasa y su alta necesidad alimenticia, al ser colmenas permanentes, les confiere una gran importancia en sus índices de visitación a una gran cantidad de recursos florísticos en nuestros bosques, por este motivo, han sido señaladas como uno de los grupos de polinizadores más importantes de los bosques tropicales (Roubik, 1989).

Algunas de las especies de abejas sin aguijón han sido manejadas racionalmente desde tiempos prehispanicos, la crianza y manejo de estas abejas se denomina meliponicultura. Consiste en mantener diferentes especies de estas abejas en troncos huecos o cajas modernas. Estas cajas o colmenas se diseñan de acuerdo a las necesidades de cada especie, con el propósito de facilitar el manejo, la multiplicación y la extracción de miel. En Centroamérica, la meliponicultura se desarrolló a gran escala por la civilización Maya, unos 300 años antes de Cristo, especialmente con la abeja llamada jicote gato o jicote estrella (*Melipona beecheii*). En varias regiones, incluyendo Costa Rica, la meliponicultura se continua practicando como una actividad económica a nivel familiar, incluyendo otras especies, como por ejemplo: la Mariola (*Tetragonisca angustula*) (Arce, et al, 2000).



Figura 1. Jicote gato (*Melipona beecheii*) especie importante para la meliponicultura y polinizador específico de las plantas conocidas como lengua de vaca (Melastomataceas).

La crianza y manejo de las abejas melíferas (*Apis mellifera*) se denomina apicultura, esta es una actividad ancestral que se encuentra diseminada por casi todo el mundo y tiene una gran importancia económica para el hombre. De la apicultura se obtienen gran cantidad de beneficios: producción de miel, polen, propóleo, jalea real, cera (de la que se comercializan gran cantidad de subproductos), veneno, etc. Sin embargo, el principal beneficio que brindan las abejas melíferas es su invaluable aporte en los servicios de polinización. Sin duda alguna, estas abejas cumplen un papel muy importante en la naturaleza, al igual que las abejas sin aguijón, son consideradas como uno de los polinizadores principales de muchas plantas silvestres y cultivadas. Especialmente en nuestra región, estas abejas han conformado un híbrido multirracial denominado abejas africanizadas, que se caracterizan por su alta tasa de enjambrazón y desplazamiento, y requieren visitar un gran número de recursos florales de nuestros ecosistemas para satisfacer sus necesidades alimenticias. Hay datos muy interesantes, por ejemplo (Free, 1993), menciona que el potencial de polinización de una colmena de abejas melíferas es muy alta, ya que las abejas pueden realizar alrededor de 4 millones de viajes por año y durante cada viaje pueden visitar alrededor de 100 flores. De esta forma, los servicios de polinización que brindan las abejas son invaluable. Se calcula que ellas efectúan el 80% de la polinización de los cultivos, además se ha estimado que cerca del 30% del alimento consumido por los humanos es derivado de cultivos polinizados por abejas (Slaa, *et al* 2006). Por ejemplo, en Estados Unidos se calcula que unos 90 cultivos dependen de las abejas para su polinización, además si valoramos la producción de frutas, semillas u hortalizas por la acción polinizadora de las abejas melíferas, se puede decir que este valor es de 150 veces mayor que el valor de la producción de toda la miel y cera juntas. El valor económico de las abejas melíferas como polinizadores de cultivos agrícolas se ha estimado para Estados Unidos en \$1.6 a \$5.7 billones de dólares (Southwich and Southwich, 1992). Un dato reciente, para el 2005, indica que el valor de la polinización a nivel mundial alcanza un valor estimado cercano a los US \$217 billones de dólares (Science News, 2005).

Flora melífera: recurso indispensable para las abejas

La abundancia de especies de abejas en el trópico no es casual, hay una íntima relación con la exuberante vegetación de esta área geográfica. Los árboles melíferos, en especial aquellos que tienen floraciones masivas, brindan el mayor aporte en biomasa de polen y néctar, tanto para abejas silvestres como para las abejas domesticadas por el hombre. Además, brindan los espacios físicos para la nidificación y el establecimiento de las colonias silvestres, de igual manera que para muchas especies solitarias. Sin duda, la deforestación y los problemas asociados con la alteración del hábitat para aumentar el área de las zonas urbanas y agrícolas, están incidiendo negativamente sobre nuestros bosques naturales. Estos impactos también han repercutido sobre las poblaciones de abejas, fomentando un desequilibrio ecológico muy peligroso. En este sentido, es imperativo investigar cuales son estos árboles que las abejas utilizan como fuente primaria de alimento, para qué, a partir de esta información, se estimule su conservación y se fomente su siembra en programas de reforestación. De este modo, también estaríamos ayudando al sostenimiento de las poblaciones de abejas nativas, así como a la apicultura y meliponicultura de la región. Inclusive, los programas intensivos de polinización de cultivos deben de procurar mantener una flora circundante adecuada, para mantener las colmenas en buen estado, con suficiente alimento en los períodos inter-polinización (Sánchez y van Veen, 2009). Otros factores que están causando un efecto negativo sobre las poblaciones de abejas, son la introducción y establecimiento de poblaciones de abejas no nativas, que compiten y pueden desplazar las especies locales causando un desequilibrio grave en el ecosistema. También el peligro que estas especies invasoras puedan traer nuevas plagas y enfermedades que redunden en una disminución de las poblaciones nativas.

Papel de la diversidad de plantas en la conservación de abejas

Florez (2001), menciona que en cultivo del café se han reportado incrementos en la producción hasta de un 50% en cafetales que son visitados por abejas, que comúnmente representan más del 95% de sus visitantes florales. Este autor encontró que la abundancia de abejas sin aguijón se concentró en el área de borde el cafetal que colindaba a un bosque ripario, mientras que *Apis mellifera*, no mostró diferencias entre los sitios cerca y lejos del bosque, sugiriendo la influencia y diferencias en la capacidad y rango de vuelo de estos dos grupos de abejas. También menciona el autor, que los cafetales tradicionales (con altos manejos de sombra y plantas tipo cerco), pueden tener niveles de diversidad similares a los bosques y que la razón de esta mayor biodiversidad puede originarse en el manejo poco o no intensivo (menor uso de agroquímicos) y del incremento de nichos que resultan del aumento en la diversidad vegetal. Recomienda que los sistemas agroforestales pueden brindar una alternativa de cultivo que disminuya el impacto de muchos sistemas de monocultivo y sus prácticas agrícolas. De esta forma, los sistemas agroforestales podrían servir como islas de refugio y conservación, no solo de abejas sino de muchas otras especies de animales, y ayudar a formar corredores de dispersión que interconecten fragmentos de bosques o sistemas agroforestales entre si. Todos estos casos pueden ser mecanismos que promueven mayor conservación de la biodiversidad de lo que representan los sistemas de monocultivo.

En una revisión realizada por Justice *et al*, (2008) se mencionan los trabajos de Klein *et al*, (2003) y Ricketts *et al*, (2004) en donde muestran resultados concordantes que indican que la formación de frutos de café declinan en relación con la distancia al bosque (datos comparativos para la región de Sulawesi, Indonesia y San Isidro del General de Costa Rica) y expresan que esta situación se debe a la reducción en la abundancia y en la diversidad de abejas en los lugares alejados en relación al bosque. En ambos lugares las abejas sin aguijón fueron destacadas polinizadores del café cerca del hábitat nativo. Klein *et al*, (2003) demostraron que la diversidad de abejas, no así la abundancia, limitaron la polinización del café, mientras que Ricketts *et al*, (2004) determinaron que tanto la diversidad como la abundancia fueron primordiales para la polinización.



Figura 2. En el cultivo de café (*Coffea arabica*) se ha demostrado que el aporte de abejas provenientes de bosque cercanos inciden en forma positiva en su polinización y su producción.

Estos resultados evidencian la importancia, para el manejo de cultivos, de mantener fragmentos de bosque, relictos o franjas de corredores biológicos que permitan que las abejas se establezcan y puedan visitar los campos de cultivo y ejercer su importante papel polinizador. Justice *et al* (2003) brindan unas recomendaciones de manejo, que se presentan a continuación, para administrar la tierra e incrementar las poblaciones de polinizadores nativos, especialmente abejas.

Recomendaciones:

- Mantener los sitios de anidamiento (incluyendo árboles muertos y troncos en pasturas y cultivos).
- Plantar un componente diverso de plantas nativas que florezcan durante todo el año (que se constituyan en un soporte vital para los polinizadores).
- Conservar los fragmentos de vegetación nativa y protegerlos de disturbios, como el pastoreo de ganado por ejemplo, para ayudar así a incrementar los servicios de polinización mediante incremento de la biodiversidad.
- Educar a la gente para prevenir la destrucción de nidos de abejas sin aguijón (especialmente de aquellas que erróneamente se consideran plagas y que defienden sus nidos arrollándose en el pelo de las personas).
- Promover un uso inteligente de los agroquímicos (utilización de mecanismos de control alternativo de plagas que sustituyan los agroquímicos; Cuando es necesario, adaptar las aplicaciones químicas, tanto al sitio como a las necesidades especio-temporales de la

fauna polinizadora local, al igual que reducir las aplicaciones cerca de los fragmentos boscosos o cerca de los sitios probables de anidamiento.

- Incentivar a las personas para manejar racionalmente las abejas sin aguijón (manejo accesible, baja tecnología y poca inversión relativa comparada con el manejo de *Apis*).

Recapitulando, las abejas sin aguijón son insectos inofensivos muy útiles e importantes para las plantas y los humanos. Estas abejas, pueden polinizar las flores de los árboles desde el 40% al 70 % de las especies silvestres y cultivadas. De esta forma, si tenemos más abejas existe mayor posibilidad de frutos en los bosques y/o en los Sistemas Agroforestales.

Por otra parte, el manejo de las abejas nativas para producción de miel es un elemento importante en la seguridad alimentaria de las familias campesinas locales debido a su mayor valor comercial y su utilización como medicamento natural.

Además de estas recomendaciones para abejas nativas silvestres, es importante mencionar el gran valor polinizador que tienen las abejas melíferas africanizadas en nuestra región. El mantenimiento de fragmentos de bosque también va a favorecer la acción polinizadora de estas abejas en los campos de cultivos por que se incrementan los posibles lugares para nidificar y hay mas recursos alimenticios disponibles. Además, el incorporar apiarios manejados para la producción o dirigidos directamente para aumentar el efecto polinizador sobre ciertos cultos tienen una incidencia relevante en la seguridad alimentaria local.

Metodología

- Para el presente taller vamos a discutir aspectos relevantes sobre la biodiversidad de abejas en nuestro país y su relación con la seguridad alimentaria.

- 1) Para cumplir con este objetivo, vamos a observar y tratar de caracterizar diferentes tipos de abejas en una muestra entomológica. Vamos a distinguir diferencias anatómicas y en especial las diferentes formas de aparatos bucales y su adaptación a tipos específicos de flores. Para eso en una estación utilizaremos un estereoscopio para aumentar el tamaño y observar esas características y discutir sobre su adaptación a las flores.
- 2) En otra estación vamos a revisar algunas láminas fijas con polen de plantas alimenticias para las abejas al microscopio. Se van a observar las diferentes característica especiales que tienen los granos de polen y que sirven para diferenciarlo por especie. Además, se va a hacer énfasis en las plantas que se consideren importantes por zona geográfica, dependiendo de la procedencia de los apicultores, Se va a pedir que hagan una lista sobre las plantas de invierno y las de verano y su relación con el mantenimiento, crecimiento y cosecha de miel y polen de las colmenas en el país.
- 3) En otra estación se va a observar un nido de abejas sin aguijón, se van a tratar de diferenciar las partes principales: potes o depósitos de miel y polen, involucro, panales

horizontales de cría, etc. A los participantes se les va a solicitar hacer un listado de las especies que conocen en su zona de procedencia, ubicando y anotando el nombre común de las especies en hojas que se les van a entregar para dicho propósito.

Conclusión:

La conservación integral de medio ambiente es un factor esencial para la seguridad alimentaria en nuestros países. De esta forma, se debe practicar una agricultura en armonía con el ambiente y se debe tener en cuenta que muchos cultivos requieren de abejas para satisfacer sus necesidades de polinización y por ende su reproducción. En este sentido, hay que promover el estudio de las abejas en nuestros ecosistemas, conocer donde habitan, que plantas utilizan para satisfacer sus necesidades de néctar y polen, cual es su potencial para visitar y polinizar cultivos. Además, se debe promover la recuperación de hábitats para fomentar la proliferación de abejas en áreas cultivadas, integrando corredores biológicos o fragmentos de bosque a las tierras sembradas para garantizar poblaciones adecuadas de abejas y polinizadores en general, que cumplan efectivamente su papel en los agro-ecosistemas, y así cumplir con su vital papel en la seguridad alimentaria de nuestro país.

Referencias bibliográficas

ARCE, GA; L A SÁNCHEZ; J SLAA; P E SÁNCHEZ; A ORTIZ; J VAN VEEN; M J SOMMEIJER (2001) Árboles Melíferos Nativos de Mesoamérica. PRAM-CINAT-UNA. 206 p.

FLOREZ, J (2001) Biodiversidad funcional en cafetales: El rol de la diversidad vegetal en la conservación de abejas y el papel de estas en la producción de café. Tesis. Centro Agronómico Tropical de investigación y Enseñanza (CATIE). 87 p.

JUSTICE, B; T M SHIH; L N BILLADELLO (2008) Polinización biótica y cambios en el uso de la tierra en paisajes dominados por humanos. En: Harvey, C. A. y Sáenz J. C. Evaluación y conservación de biodiversidad en paisajes fragmentados de Mesoamérica. Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), San José, Costa Rica. pp 105-135.

KLEIN, A; I STEFFAN-DEWENTER; T TSCHARNTKE (2003) Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Science* 270: 955-961.

MICHENER, C D (2000) *Bees of the World*. John Hopkins University Press. Baltimore. U.S.A. 952 p.

RICKETTS, T H; G C DAILY; P EHRLICH; C D MICHENER (2004) Economic value of tropical forest to coffee production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:12579-12582.

ROUBIK, D W (1989) *Ecology and Natural History of Tropical Bees*. Cambridge University Press. New York, USA. 514 p.

ROUBIK, D W (1995) *Pollination of Cultivated Plants in the Tropics*. FAO. Roma, Italia. 196 p.

SÁNCHEZ L A; J VAN VEEN (2009) Polinización de cultivos en sistemas controlados de invernadero. Curso dirigido a funcionarios del MAG. Programa de Educación Continua. Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT). Lagunilla, Heredia. 23 p.

SCIENCE NEWS (2005) <http://www.sciencedaily.com/releases/2008/09/080915122725.htm>

SLAA J E; L A SÁNCHEZ; K S MALAGODI-BRAGA; HOFSTEDE F E (2006) Stingless Bees in Applied Pollination: practice and perspectives. *Apidologie* 37: 293-315.

SOUTHWICK, E E; L SOUTHWICK (1992) Estimating the economic value of honeybees (Hymenoptera; Apidae) as agricultural pollinators in the United States. *Journal of Economic Entomology* 85: 621-633.

PRODUCCIÓN DE REINAS MADRES PURAS DE ORIGEN EUROPEO COMO “PIE DE CRÍA” PARA LOS APICULTORES DE COSTA RICA

José Fernando Ramírez Arias; Johan W. Van Veen

Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
Correo electrónico: jramirez@una.ac.cr

Introducción

La producción de reinas en Costa Rica, tiene un antes y un después, a partir de 1983, año en que se detectan los primeros enjambres de abejas africanizadas.

Antes de este año, las abejas del país eran de origen europeo y la gran mayoría de apicultores dejaban a la colmena la tarea de iniciar, desarrollar y fecundar a su futura reina. Lo más que hacían era manejar las condiciones biológicas para favorecer y facilitar el proceso, mediante la adición de cría en sus primeras fases de desarrollo, proveniente de alguna de sus colmenas más productivas (huevos o larvas recién nacidas). Esto garantizaba que la futura reina se desarrollara a partir de una larva, con la edad y los genes adecuados para obtener una reina de buena calidad. En caso de que la colmena, estuviera baja de población la reforzaban con panales de cría operculada, próxima a emerger, para garantizar tanto las abejas nodrizas (productoras de jalea real) para alimentar a las futuras reinas, como la cría cuando esta iniciaba la postura de huevos.

A mediados de la década de los setentas, la Misión Técnica Alemana, sentaba las bases para la apicultura actual, ya que capacitó a varios técnicos en las diversas áreas de la apicultura moderna, como el manejo de colmenas, plantas melíferas, productos de la colmena, sanidad apícola; y sentaba las bases para la crianza de reinas seleccionadas y mejoradas, pues era inminente el arribo de las abejas africanizadas.

Después de 1983, con la llegada y dispersión de las abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* L.), la mayoría de apicultores abandonaron la actividad apícola, pues las características biológicas, en especial el comportamiento altamente defensivo de estas abejas, no les permitió adaptarse a este nuevo tipo de abejas. Los que permanecieron en ella, debieron realizar cambios drásticos en las técnicas y equipos utilizados para su manejo, con la consiguiente disminución en la producción de miel y el aumento de los costos para producirla.

En la década de los noventas (siglo pasado), una nueva generación de apicultores se sumó a los pocos que se adaptaron a las abejas africanizadas. Estos iniciaron la ubicación de los apiarios en lugares aptos para este tipo de abeja, colocando las colmenas sobre soportes individuales; y su trabajo de campo se basa en la utilización de vestimenta protectora apropiada y el uso adecuado del humo. En otras palabras, se inició una nueva etapa de la apicultura, con abejas africanizadas y apicultores utilizando nuevas técnicas de manejo, lo que redundó en la recuperación parcial de los volúmenes de producción.

Además esta situación generó la necesidad de reinas fecundadas, (jóvenes), genéticamente seleccionadas, para ser utilizadas en el cambio periódico (anual) de las reinas en las colonias productoras.

En esta nueva apicultura, con abejas africanizadas, la producción de una reina de buena calidad es de particular importancia. Además de las características físicas externas que se asocian a esa calidad (tamaño, color, peso, etc), las reinas deben provenir de colonias con baja defensividad, baja tendencia a enjambrar, emigrar o evadir. Las reinas deben tener también la capacidad de mantener una alta tasa de postura de huevos fértiles durante varios meses (al menos 12), en especial antes y durante los flujos fuertes de néctar, lo cual se relaciona con colonias bien pobladas y productivas, que almacenan grandes cantidades de miel.

Importancia de la producción de reinas de origen europeo en Costa Rica

Justificación

En los países afectados por el proceso de africanización, como Costa Rica, se ha intentado resolver el problema mediante el cambio periódico de reinas, utilizando abejas reinas de origen europeo, fecundadas naturalmente con zánganos africanizados silvestres, que los apicultores conocen como híbrido F1, las cuales originan colonias productivas y de fácil manejo.

También se producen reinas vírgenes a partir de madres F1, que igual se fecundan libremente con zánganos africanizados, y los apicultores los catalogan como F2, que originan colmenas un poco más defensivas que las F1 pero resultan más prolíficas, más sanas, por lo tanto más productivas.

El objetivo de estas prácticas es minimizar las características indeseables de las abejas africanizadas, como su comportamiento altamente defensivo, alta tasa de enjambrazón y evasión. El problema principal al producir estos híbridos es el mantenimiento del pie de cría "puro" de origen europeo, el cual debe importarse de Estados Unidos u otras regiones de clima templado, lo que resulta un procedimiento de alto valor económico y de gran riesgo sanitario. Además, no hay garantía de la calidad genética de estas abejas reinas importadas, ya que se adquieren como pie de cría, reinas que están destinadas a la producción comercial (productos de la colmena y polinización).

Se considera que el mantenimiento del pie de cría de origen europeo por medio de inseminación instrumental es costoso, por lo tanto se recomienda la fecundación natural de reinas controlando la proporción de zánganos silvestres e incrementando los provenientes de colonias manejadas en el área de fecundación. En Venezuela, se demostró que 90 colonias aportando zánganos europeos pueden controlar hasta el 90% de los cruzamientos. Sin embargo, ambos valores pueden variar dependiendo de la densidad de enjambres silvestres aportando zánganos africanizados.

Se puede concluir que mediante la combinación de métodos de selección y de saturación de zánganos, se puede mantener e incluso mejorar características deseables de abejas europeas y/o africanizadas, bajo condiciones de fecundación natural. Otros estudios realizados en Chiapas, México y en Guatemala, demostraron que se pueden obtener porcentajes de control de los cruzamientos superiores a 70%, al utilizar esta técnica de manipulación de las poblaciones de zánganos.

Ventajas de las abejas africanizadas sobre las europeas

El manejo de colonias con niveles bajos o intermedios de africanización, poseen un comportamiento defensivo intermedio o semejante a sus padres africanizados, pero producciones

de miel mayores a las abejas europeas, por lo que son una alternativa viable en condiciones de apicultura comercial.

Paralelo al desarrollo de estas posibles soluciones al problema de africanización, los apicultores brasileños se adaptaron a las abejas africanizadas e implementaron el uso de nuevas técnicas de manejo y equipo, así como programas de selección, que les ha permitido aumentar la producción de miel disminuyendo su defensividad.

En la actualidad la apicultura brasileña utiliza solamente abejas africanizadas, las cuales presentan muchas ventajas productivas si se comparan con las abejas europeas. Estas abejas comienzan a pecorear muy temprano y terminan más tarde; además de que los vuelos de forrajeo los inician a una temprana edad y su conducta de pecoreo las hace más aptas para su explotación en áreas tropicales. También recolectan mayores cantidades de polen y propóleo.

Reproductivamente, las abejas africanizadas desarrollan más rápido su población y no reducen mucho su producción de cría en épocas de escasez. Además, por ser más defensivas repelen mejor a sus enemigos naturales y ladrones de miel.

Las abejas africanizadas también presentan una mejor conducta higienista, por lo tanto son mejores en la remoción de la cría enferma y/o muerta. Por esta razón son más resistentes a las enfermedades de la cría (loque europea y loque americana), y presentan cierto grado de tolerancia al ácaro *Varroa destructor*.

Se sugiere que los productores de reinas del sur de Estados Unidos podrían reducir significativamente el impacto de la africanización en esta región y continuar utilizando la actual tecnología y equipo, controlando la fecundación natural de sus reinas por medio de la tecnología de saturación de áreas de fecundación, con zánganos de origen europeo y poblando sus núcleos con este mismo tipo de abejas. Esta estrategia supone que los apicultores y productores de reinas deben y pueden tolerar cierto grado de africanización en sus abejas, lo que les permite continuar la producción comercial de reinas sin mayores cambios y con costos de producción razonables.

En la explotación de las abejas africanizadas, la producción y fecundación de reinas de buena calidad y el mejoramiento genético de las mismas, seguirá jugando un papel de gran importancia en el éxito de la actividad apícola, permitiendo elevar los rendimientos por colmena.

Programa de producción de reinas “puras” de origen europeo, para utilizar como pie de cría por los productores de reinas nacionales, manejado por el CINAT con la colaboración de la Cámara Nacional de Fomento de la Apicultura.

Objetivos

Producir reinas de origen europeo fecundadas naturalmente, con zánganos de origen europeo “puros”, para ser utilizadas como madres de las reinas para la producción (productos de la colmena) y polinización de cultivos, en el momento que los criadores de reinas las necesitan.

Justificación

La producción de estas reinas madres en una región aislada de Costa Rica, tiene como finalidad evitar los inconvenientes presentados, durante la importación de estas reinas, de países como Estados Unidos o Nueva Zelanda entre los que destacan:

- Riesgo de enfermedades (Síndrome del Despoblamiento de la Colmena, el ácaro australiano, abejas agresivas, pequeño escarabajo, etc)
- Dificultades de importación
- Mortalidad alta debido a que viajan hasta 8 días, período que depende de la casa productora en el exterior)
- Valor elevado y se pagan en dólares
- Reinas con su ciclo de postura alterado, pues provienen de regiones de clima templado (4 estaciones climáticas) y llega a Costa Rica, con clima tropical y dos estaciones climáticas, por lo tanto están desfasadas. Esto provoca un alto porcentaje de cambio de reinas, durante los primeros meses de introducidas en núcleos, poblados con abejas africanizadas

Metodología

Se seleccionó una finca ubicada en Sacramento, Barba, Heredia a una altitud de 2300 msnm, para colocar 15 cajas núcleos, poblados con tres panales estándar cubiertos de abejas: dos con cría operculada y uno con reservas (miel y polen), mas el alimentador tipo Doolittle. A 200 metros de los núcleos se colocó un apiario de 25 colmenas, el cual se estimuló para producir y mantener una población de zánganos de origen europeo, durante el periodo de fecundación de las reinas. Las reinas de estas colmenas provienen de reinas madres importadas, en diferente periodo a las reinas madres utilizadas para producir las reinas vírgenes fecundadas en el área.

Este lugar se seleccionó considerando el aislamiento por altitud, ya que los enjambres o colonias silvestres de abejas africanizadas, evitan lugares con clima fresco y escasez de néctar. Además, al estimular la producción de zánganos en el apiario cercano, se satura el área con el tipo de machos con que se desea fecundar a las reinas.

Las reinas fecundadas fueron producidas en el apiario productor de reinas del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), localizado en Atenas, y se introducen en los núcleos de fecundación dos días antes de su emergencia. Las colmenas productoras de zánganos y los núcleos fueron alimentados y revisados semanalmente, valorando su estado general y sanitario.

Evaluación de las reinas fecundadas

Durante las revisiones semanales, se valoraba la conformación física de la reina (tamaño, color, actividad) y se confirmaba la fecundación de la misma, con el inicio de la postura de huevos. Si había iniciado la postura de huevos, se dejaba aproximadamente, tres semanas para valorar la viabilidad de la cría (uniformidad de la postura), comportamiento defensivo y coloración de las

abejas descendientes de la reina. Luego de este proceso, las reinas se venden a los productores, luego de pedido previo, en jaulas Benton.

Las reinas obtenidas en este criadero, se caracterizan por ser:

- Vigorosas y sanas
- Producida cuando se necesita, sin los inconveniente de importación (largo viaje, almacenamiento inadecuado, etc)
- Muy alto grado de pureza, hasta un 75% - 100% de genes europeos
- Fecundación y postura comprobada
- En fase de postura adecuada biológicamente

Las reinas fecundadas en este apiario aislado, serán evaluadas en las colmenas del CINAT, respecto a producción, sanidad, enjambrazón y comportamiento defensivo.

El éxito logrado hasta el momento motiva a la importación de reinas puras de origen europeo, para fortalecer la variabilidad genética del criadero; con el fin de producir todas las reinas madres que los criadores de reinas y apicultores de Costa Rica.

Las reinas madres fecundadas seleccionadas, se garantizan por:

- Excelente conformación física y tamaño
- Sanidad y resistencia o tolerancia a enfermedades y plagas
- Alta productividad (postura de huevos y cantidad de cría) que se traduce en mayor producción de la colmena
- Baja defensividad, para un mejor manejo y ubicación del apiario
- Baja tasa de enjambrazón y/o evasión

Referencias bibliográficas

DE JONG, D (1984) Africanized bees now preferred by Brazilian beekeepers. American Bee Journal 124 (2): 116-118.

DE JONG, D (1996) Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success. Bee World 77(2): 67-70.

GUZMAN-NOVOA, E; PAGE R E; PRIETO-MERLOS D (1997) Comparison of three queen finding methods in european and africanized honey *bee* (*Apis mellifera* L) colonies. American Bee Journal 137(9): 665-666.

HELLMICH, R L (1988) Influencing matings of honey bee queen with selected drones in Africanized areas. *En: Needham, G.R.; Page, R.E.; Delfinado-Baker, M.; Bowman, C.E. (ed.) Africanized honey bees and bee mites. Ellis Horwood Limited; Chichester, England, pp. 204-208.*

HELLMICH, R L; RINDERER E T (1991) Beekeeping in Venezuela. *En: Spivak, M.; Fletcher, D.J.C. and Breed, M.D. (ed.) The "African" honey bee. Westview Press; Boulder, Colorado, USA, pp. 399-411.*

HELLMICH, R L; IBARRA J; MEJIA M; RINDERER T E; GUTIERREZ N A (1993) Evaluating mating control of honey bee queens in a africanized area of Guatemala. *American bee Journal 133(3): 207-211.*

LOPER, G M; FIERRO M M (1991) Use of drone trapping and drone releases to influence matings of European queens in an africanized honey bee area (Hymenoptera:Apidae). *Journal of Apicultural Research 30(3/4): 119-124.*

RINDERER, T E (1988) Evolutionary aspects of the Africanization of honey-bee populations in the Americas. *En: Needdham, G. et al., (eds). Africanized honey bees and bee mites. Chichester, England, Ellis Horwood Limited, pp.13-28.*

SPIVAK, M (1991) The africanization process in Costa Rica. *En: Spivak, M.; Fletcher, D.J.C. and Breed, M.D. (ed.) The "African" honey bee. Westview Press; Boulder, Colorado, USA, pp. 137-155.*

SHIMANUKI, H; KNOX D A; DE JONG D (1991) Bee Diseases, Parasites, and Pests. *En: Spivak, M.; Fletcher, D.J.C. and Breed, M.D. (ed.) The "African" honey bee. Westview Press; Boulder, Colorado, USA, pp. 283-296.*

VILLAVICENCIO, R; SALAS R (1993) Evaluación de razas puras del híbrido en la primera generación y la retrocruza en la segunda generación de abejas africanizadas y europeas. *Ceiba 34(1): 81-89.*

WIESE, H (1985) *Nova Apicultura*. 6ª ed. Livraria e editora Agropecuária Ltda. Porto Alegre, Brasil. 493 p.