

A ESTREPTOMICINA NO COMBATE À CRIA PÚTRIDA EUROPÉIA DE *Apis mellifera* L. *

ERICO AMARAL e R. VENCOVSKY

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Universidade de S. Paulo — Piracicaba

INTRODUÇÃO

A cria pútrida européia é uma doença causada por bactérias que atacam, principalmente, as larvas de abelhas antes que atinjam a fase pupal, causando-lhes geralmente a morte. AMARAL (1959) chamou a atenção dos nossos apicultores para a existência de tal doença no Brasil e os prejuízos que a mesma acarreta.

Diversos medicamentos vêm sendo preconizados por um bom número de pesquisadores no sentido de prevenir ou de combater essa doença, ocupando um papel de realce, o emprêgo de antibióticos, notadamente da estreptomicina, no contrôle dessa doença.

O presente experimento teve por finalidade verificar, nas nossas condições, a ação da estreptomicina no combate à cria pútrida européia.

KATZNELSON e outros (1952) tentaram os antibióticos seguintes, no combate à essa doença : estreptomicina, cloromicetina, aureomicina e terramicina. Dêstes, foi a estreptomicina a única que conseguiu eliminar a doença em tôdas as colméias em que participou. FARRAR (1956) também aconselha êsse antibiótico no combate à essa doença. Êle considera que três apli-

* Trabalho apresentado na XIII Reunião Anual da S. B. P. C. (9 a 15 de julho de 1961).

cações de 0,6 gramas de estreptomicina dissolvidas em cêrca de 4 litros de xarope de açúcar são, geralmente, suficientes para eliminar as mais severas infecções, por um tempo bastante longo. MOFFET (1953) considera o uso da estreptomicina bastante eficaz, não só no tratamento preventivo como no curativo da cria pútrida européia. COCHNAVER (1953) obteve melhores resultados aplicando 0,5 gramas desse antibiótico dissolvidas em cêrca de um litro de xarope de açúcar, em vez de 4 litros dessa solução.

A técnica usada neste experimento difere das empregadas por STURTEVANT (1920) e por outros pesquisadores que fizeram o controle da extensão da doença pelo número de cria morta encontrada nos favos. Julgaram os autores deste trabalho que uma melhor caracterização da gravidade da doença seria dada pelas larvas que conseguiam sobreviver e não por aquelas mortas encontradas nos favos. Essas seriam possíveis de serem retiradas pelas abelhas adultas da colônia, o que aliás, acontece comumente.

MATERIAL E MÉTODOS

As colônias de abelhas usadas neste experimento estão localizadas no Apiário da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

Entraram neste trabalho 16 colônias relativamente atacadas pela cria pútrida européia. Essas foram divididas em 4 grupos de 4 colônias, a saber: testemunhas e as tratadas com xarope de açúcar e estreptomicina, na forma de alimentação, pulverização e de alimentação conjugada à pulverização. A alimentação foi feita individualmente por meio de alimentadores do tipo "quadro" ou de Doolittle e a pulverização foi executada com um pulverizador manual. Procurou-se colocar o quadro com xarope no ninho, nas proximidades dos favos contendo cria. A pulverização foi executada apenas nos favos com cria, abrangendo suas abelhas aderentes. Cada uma das colônias tratadas recebeu 3 aplicações de xarope com estreptomicina, no prazo de 7 dias. As alimentadas receberam individualmente, em cada aplicação, 1 kg de xarope de açúcar de 50% de concentração com 0,6 gr de dihidro-estreptomicina. As 4 colônias do grupo das pulverizadas receberam em cada aplicação, 1 kg de xa-

rope de idêntica concentração que a anterior, com 0,6 gr de dihidro-estreptomicina. Finalmente, as colônias do último grupo receberam os tratamentos anteriores mas de uma forma conjugada.

Com a finalidade de se obter uma amostra do número de sobreviventes em cada uma das 16 colméias, foi incrustado num dos seus favos contendo ovos, um círculo de arame de 7 cm de diâmetro, previamente aquecido. A contagem do número de cria sobrevivente era feita posteriormente, isto é, quando esta havia atingido o estado pupal e, portanto, já livre do ataque da doença.

O experimento foi dividido em duas fases, sendo aplicada estreptomicina apenas na primeira. Foram realizadas duas observações em tôdas as colônias quanto à existência da moléstia; a primeira para se verificar o efeito do antibiótico e a segunda, 30 dias após o seu emprêgo visando determinar se aquele efeito foi ou não persistente.

As colméias foram distribuídas ao acaso para cada tratamento, tendo a análise da variância, sido conseqüentemente, do tipo inteiramente casualizado.

Os dados obtidos em cada uma das fases, depois de transformados em porcentagens de sobrevivência, foram analisados isoladamente e em conjunto, resultando, como é óbvio, 3 análises de variância. A primeira análise de variância dá o resultado do efeito do antibiótico no momento em que é usado, a segunda testa o seu valor residual e a terceira nos dá uma informação do efeito geral do tratamento e possibilita verificar a existência ou não de uma interação "tratamento x fases".

A fim de se evitar a possível assimetria da sua distribuição, as porcentagens, antes de analisadas, foram transformadas para ângulos = arco sen. $\sqrt{\frac{\%}{100}}$

RESULTADOS

Os resultados obtidos sobre o emprêgo da estreptomicina no combate à cria pútrida européia de *Apis mellifera* L. podem ser vistos nos 4 quadros seguintes :

Quadro I — Colônias testemunhas

N.o	1a. fase			2a. fase		
	Larvinhas n.o	Pupas n.o	Observação	Larvinhas n.o	Pupas n.o	Observação
40	103	75	doente	71	44	doente
2	120	66	doente	58	5	doente
44	44	8	doente	76	45	doente
66	47	11	doente	48	—	doente

Quadro II — Colônias alimentadas c/ estreptomina

N o	1a. fase			2a. fase		
	Larvinhas n.o	Pupas n.o	Observação	Larvinhas n.o	Pupas n.o	Observação
20	30	30	s/ doença	97	95	s/ doença
74	109	109	s/ doença	30	—	s/ doença
23	65	65	s/ doença	123	84	doente
22	88	88	s/ doença	89	89	s/ doença

Quadro III — Colônias pulverizadas c/ estreptomina

N o	1a. fase			2a. fase		
	Larvinhas n.o	Pupas n.o	Observação	Larvinhas n.o	Pupas n.o	Observação
32	37	22	doente	96	67	doente
67	119	117	s/ doença	92	46	s/ doença
18	90	88	doente	108	41	doente
57	75	75	doente	79	66	doente

Quadro IV — Colônias alimentadas e pulverizadas com estreptomina

N.o	1a. fase			2a. fase		
	Larvinhas n.o	Pupas n.o	Observação	Larvinhas n.o	Pupas n.o	Observação
6	48	40	s/ doença	59	50	s/ doença
1	68	67	s/ doença	103	92	s/ doença
71	113	111	s/ doença	74	72	s/ doença
29	78	78	s/ doença	81	26	doente

ANALISE ESTATÍSTICA

Dos dados citados puderam ser calculadas as porcentagens de sobrevivência, dadas nas tabelas n. I e II.

TABELA N. I

Primeira fase — Porcentagem de larvas sobreviventes 7 dias depois da última aplicação do antibiótico

Testemunhas	Alimentadas	Pulverizadas	Alimentadas + Pulverizadas
72,8	100,0	59,5	83,3
55,0	100,0	98,3	98,5
18,2	100,0	97,8	98,2
23,4	100,0	100,0	100,0

TABELA N. II

Segunda fase — Porcentagem de larvas sobreviventes 30 dias depois da última aplicação do antibiótico

Testemunhas	Alimentadas	Pulverizadas	Alimentadas + Pulverizadas
62,0	97,9	69,8	84,7
8,6	68,3	50,0	89,3
59,2	100,0	38,0	97,3
—	—	83,5	32,1

Das análises da variância feitas resultaram as tabelas dadas a seguir :

TABELA N. III
primeira fase

F. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	D. P.	Teta
Test. vs. Trat.	1	5.286,96	5.286,96	72,71	5,66 ***
Ent. Trat.	2	406,12	203,06	14,25	1,11
(Tratamentos)	(3)	(5.693,08)	—	—	—
Resíduo	12	1.979,01	164,92	12,84	—
Total	15	7.672,09	—	—	—

C. V. = 17,9%

Porcentagem média de sobrevivência

Testemunhas	41,6
Alimentadas	100,00
Pulverizadas	94,3
Alimentadas + Pulverizadas	97,2

TABELA N. IV

segunda fase

F. V.	G.L.	S. Q.	Q. M.	D. P.	Teta
Tratamentos	3	2.226,90	742,30	27,24	1,55
Resíduo	10	3.072,14	307,21	17,53	—
Total	13	5.299,04	—	—	—

C. V. = 30,5%

Porcentagem média de sobrevivência

Testemunhas	40,9
Alimentadas	94,0
Pulverizadas	61,2
Alimentadas + Pulverizadas	79,7

TABELA N. V

Análise conjunta (Primeira + Segunda fase)

F. V.	G.L.	S. Q.	Q. M.	D. P.	Teta
Fases	1	1.486,78	1.486,78	38,56	2,60
Test. vs. Trat.	1	5.736,98	5.736,98	75,74	5,11 **
Entre Trat.	2	1.524,48	762,24	27,61	1,86
(Tratamentos)	(3)	(7.261,46)	—	—	—
Fas. x Trat.	3	658,52	219,51	14,82	0,98
Dentro	22	5.051,15	229,60	15,15	—
Total	29	14.457,91	—	—	—

C. V. = 23,3%

Porcentagem média geral de sobrevivência
(Primeira + Segunda fase)

Testemunhas	41,3
Alimentadas	98,9
Pulverizadas	80,5
Alimentadas + Pulverizadas	90,2

RESUMO E CONCLUSÕES

A finalidade deste trabalho foi verificar a ação da estreptomicina por meio de observações e da análise estatística dos dados numéricos, referentes a 16 colônias atacadas pela cria pútrida européia. Dessas colônias, 12 subdivididas em grupos de 4, receberam individualmente 1 kg de xarope de açúcar (50% de concentração) e 0,6 gramas de dihidro estreptomicina (3 aplicações) nas formas de alimentação, pulverização e de alimentação e pulverização conjuntamente. As outras 4 colônias formaram o grupo das testemunhas. As coletas de dados, que permitiram calcular as porcentagens de sobrevivência das larvas em duas fases em que o experimento foi dividido, possibilitaram a execução de análises estatísticas.

Das observações acerca da sanidade da cria e das análises estatísticas foram tiradas as seguintes conclusões :

a) As 4 colônias do grupo das testemunhas continuaram doentes nas duas observações executadas.

b) Das colônias tratadas individualmente com 0,6 gramas de estreptomicina dissolvidas em 1 kg de xarope de açúcar (50% de concentração), em 3 aplicações feitas no prazo de 7 dias, fornecidas às colônias de abelhas por meio de alimentadores individuais, apenas uma (N. 23) apresentou-se moderadamente doente na segunda fase. Contudo esta colônia, após receber mais uma série de 3 aplicações de idêntico tratamento, não demonstrou sintoma algum de doença.

c) Das 4 colônias pulverizadas com 0,6 gramas de estreptomicina dissolvidas em 1 kg de xarope de açúcar (50% de concentração), 3 continuaram doente no término do experimento, muito embora, na primeira fase, durante a aplicação do antibiótico, houvesse apresentado uma ótima porcentagem de sobrevivência larval (94,1%).

d) Das 4 colônias que receberam 3 aplicações de 0,6 gramas de estreptomicina dissolvidas em xarope de açúcar (50% de concentração), conjuntamente nas formas de alimentação e pulverização, apenas uma (n. 29) apresentou-se doente no final do experimento. Acresce notar que durante a 1ª. fase, isto é, quando o antibiótico acabou de ser empregado, a doença não foi notada, resultando, aliás para essa colônia, nessa fase, 100% de sobrevivência de cria.

e) As observações feitas com a finalidade de se verificar o efeito residual do antibiótico se resumiu a apenas uma para

cada colônia, 30 dias após o seu emprêgo. Isso foi feito porque foi julgada a possibilidade de infestações estranhas da doença nas citadas colônias, a partir daquele prazo.

f) Pôde-se concluir dos resultados das análises que houve um efeito significativamente benéfico do antibiótico. Na primeira fase do experimento (Tabelas I e III), a média de % de sobrevivência das testemunhas (41,6%) e a dos tratamentos (98,1%) comparadas, mostram isso claramente, ($t = 5,66^{***}$) Não houve por sua vez diferença significativa entre as 3 maneiras de aplicação do antibiótico ($t = 1,11$) podendo-se pois considerar que qualquer um dos métodos de aplicação é bom.

g) Na 2a. fase do experimento (Tabelas II e IV) observando-se as médias, parece haver, também, nítida vantagem dos tratamentos sobre a testemunha; o C. V. = 30,5%, no entanto, nos mostra que esse experimento não tem sensibilidade, não se podendo pois dizer que não houve diferença entre os tratamentos ($t = 1,55$).

h) A análise conjunta das duas fases (Tabela V), nos mostrou que o efeito benéfico do antibiótico se estendeu para até um mês depois de sua aplicação, pois a média de porcentagem de sobrevivência das colméias tratadas (91,1%) foi nitidamente superior à das testemunhas (41,3%) ($t = 5,11^{**}$). Da reunião das duas fases pôde-se também concluir que qualquer tipo de aplicação do antibiótico no presente caso, deu bons resultados ($t = 1,86$). Além disso, pode-se dizer que o efeito dos tratamentos foi o mesmo, tanto na 1a. como na 2a. fase, pois não se observou significância da interação "tratamento x fases". O coeficiente de variação da análise conjunta foi = 23,3%, sendo, portanto sua sensibilidade regular.

SUMMARY

Treating european foulbrood with streptomycin

An experiment was undertaken in order to have additional information about the effect of the antibiotic streptomycin in the treatment of the european foulbrood. Sixteen diseased colonies were available for this experiment. They were divided so that each set of four would receive streptomycin and 50 per cent sugar syrup by feeding, spraying, and feeding and spraying at the same time. Four colonies were considered as checks. The colonies were treated three times with the solution

of 0,6 grams streptomycin and 1 kg of sugar syrup. Each colony of the first group received as feeding 0,6 grams of streptomycin although identical amount of antibiotic was used by spraying in the four colonies of the second group which the brood combs received it. Each colony of the last group received 0,6 grams as feeding and 0,15 grams as spraying in each application. All colonies received streptomycin in a period of one week.

Statistical analyses of the alive brood bees (pupae) showed to be significative the effect of streptomycin in the control of the european foulbrood in spite of the type of treatment used in comparison with the check colonies. However the disease did not desapare in 5 colonies belonging to the group of the 12 treated with antibiotic.

BIBLIOGRAFIA

- AMARAL, ERICO, 1959 — A podridão européia da cria de abelhas no Brasil. Suplemento de "O Estado de S. Paulo", 215.
- FARRAR, C. L., 1956 — Treating bee diseases. **Gleaning in Bee Culture** 84 (4): 207-211.
- MOFFET, J. O., 1953 — The use of antibiotics to help control european foulbrood. **American Bee Journal** 93 (8): 324-325.
- KATZNELSON, H. ARNOTT, J. H. & S. E. BLAND, 1952 — Preliminary report on the treatment of european foulbrood of honeybees with antibiotics. **Sci. Agr.** 32: 180-184.
- GOCHNAVER, T. A., 1953 — European foulbrood disease in Minnesota. **American Bee Journal** 93 (8): 326-327.
- STURTEVANT, A. P., 1920 — A study of the behaviour of bees in colonies affected by european foulbrood. U. S. Dept. Agr. Bul. 804, 28 p.