



Title: INFLUENCE OF ROYAL JELLY COMPONENTS ON THE DEVELOPMENT OF *Melissococcus plutonius*

Authors: PONCE-DE LEÓN-DOOR, Adrián, ROMO-CHACÓN, Alejandro, PEREZ-ORDOÑEZ, Gerardo and ACOSTA-MUÑIZ, Carlos Horacio

Editorial label ECORFAN: 607-8695
BCIERMMI Control Number: 2022-01
BCIERMMI Classification (2022): 261022-0001

Pages: 14
RNA: 03-2010-032610115700-14

ECORFAN-México, S.C.
143 – 50 Itzopan Street
La Florida, Ecatepec Municipality
Mexico State, 55120 Zipcode
Phone: +52 1 55 6159 2296
Skype: ecorfan-mexico.s.c.
E-mail: contacto@ecorfan.org
Facebook: ECORFAN-México S. C.
Twitter: @EcorfanC

www.ecorfan.org

Holdings		
Mexico	Colombia	Guatemala
Bolivia	Cameroon	Democratic
Spain	El Salvador	Republic
Ecuador	Taiwan	of Congo
Peru	Paraguay	Nicaragua

Contenido

- Introducción
- Objetivo
- Metodología
- Resultados
- Conclusiones
- Referencias



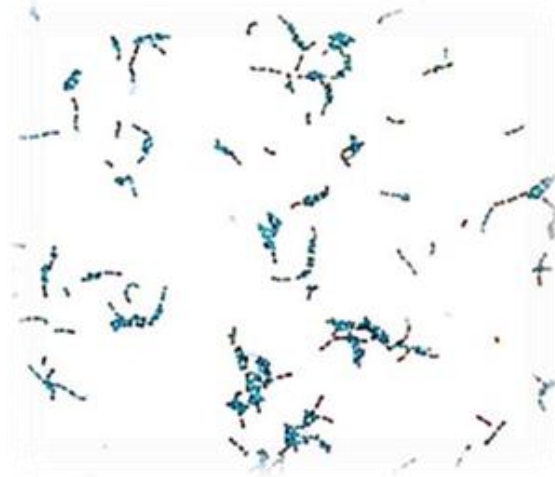
Introducción

Loque Europea



Distribuido mundialmente → Reino Unido y Suiza

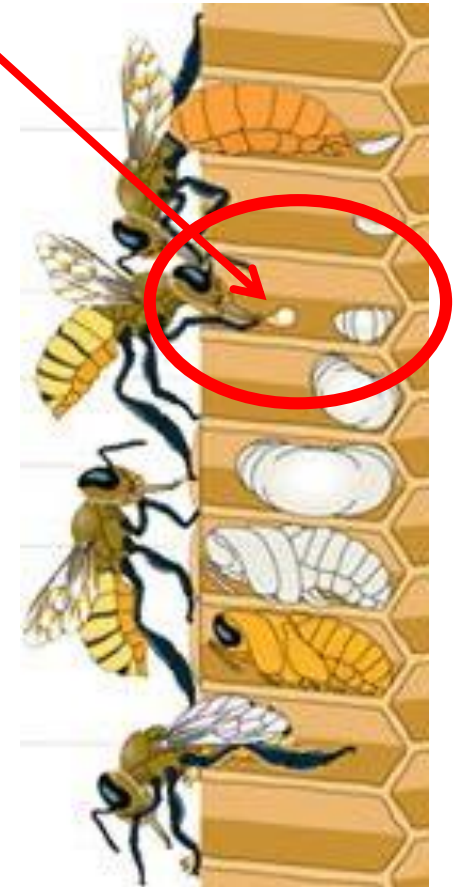
Infección intestinal



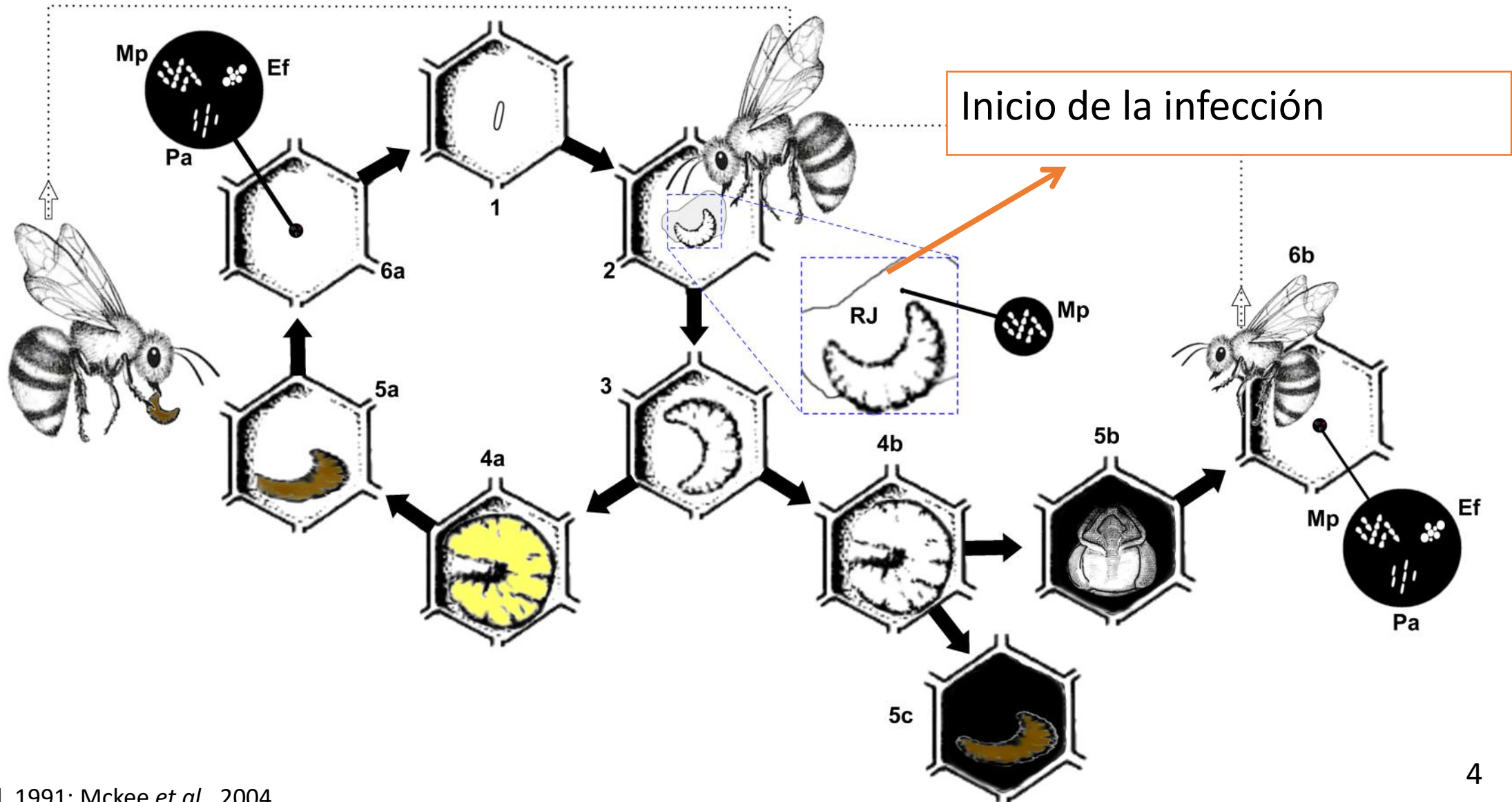
Melissococcus plutonius

Jalea real (JR)

<48 h



Introducción



Introducción

Jalea Real



Mezcla de secreciones de las glándulas hipofaríngea y mandibular de las abejas obreras jóvenes

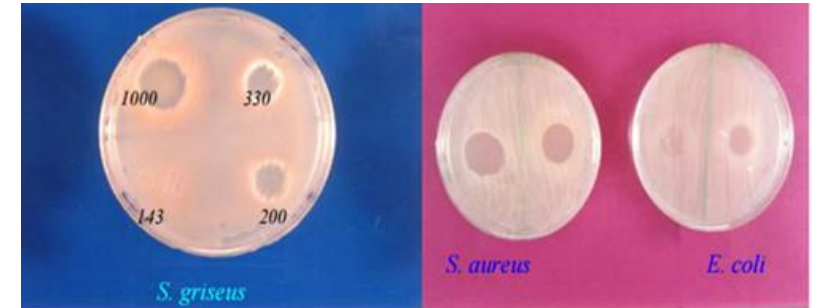
Propiedades

- Antimicrobianas
- Antiinflamatorias
- Antivirales
- Antitumorales
- Antioxidantes
- Inmunomoduladoras
- Neuroprotectoras
- Antienvjecimiento

Cambios

- Variaciones estacionales
- Origen geográfico
- Raza de abeja
- Tiempo en el que se cosecha
- Floración disponible

Componentes



- **Proteínas antimicrobianas**
Proteínas mayores de la jalea real (MRJP)
- **Ácidos orgánicos**
10-hydroxy-2-decenoic (10-HDA)

Objetivo

Caracterizar jaleas reales de diferentes orígenes e identificar si la variación en sus componentes influye en el grado de virulencia de *M. plutonius* de CC12.

Metodología

Jaleas Reales utilizadas

Cuauhtémoc (Cosechada)

(Cuauhtémoc, Chihuahua, México)

China (Certificada)

(Sunrise Nutrachen Group)

Querétaro

(Apícola la Esperanza, México)

Chihuahua

(Miel Norteña S de RL de CV, México)

Análisis

Análisis Proximal. Se realizó a los métodos publicados por AOAC (1995)

Humedad, cenizas, grasa, proteínas, sólidos solubles, acidez y pH.

Contenido De Minerales. Espectrometría de absorción atómica.

K, Ca, Mg, Na, Cu, Mn y P

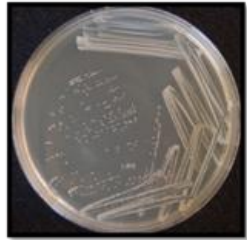
Perfil De Ácidos Orgánicos. Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC; Wang *et al.*, 2007).

Estándar de 10-HDA

Perfil De Proteínas. Electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes - LC-MS-MS (SDS-PAGE; Laemmli, 1970)

Metodología

Virulencia y sobrevivencia de *M. plutonius* en Distintas Jaleas Reales
Infecciones *in vitro* de larvas



Cultivo de *M. plutonius*



Mezcla con la dieta



3.55×10^6
Bacterias/Larva



Mortalidad

6 Días

35 °C

HR 95% K_2SO_4



Cuauhtémoc

China

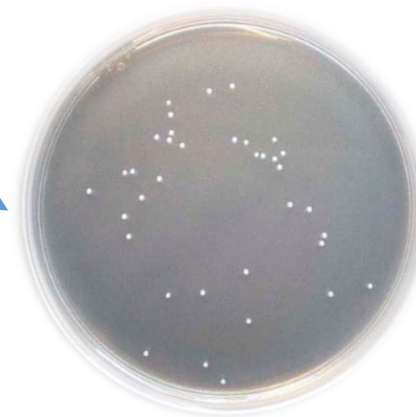
Querétaro

Chihuahua

JR con bacteria

MXC054 del
CC12

JR sin bacteria



Recuento en placa

0, 1, 3 y 6 dpi

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos se trataron con un **Análisis de Varianza** y una separación de medias por el método de **Tukey** con $\alpha < 0.05$.

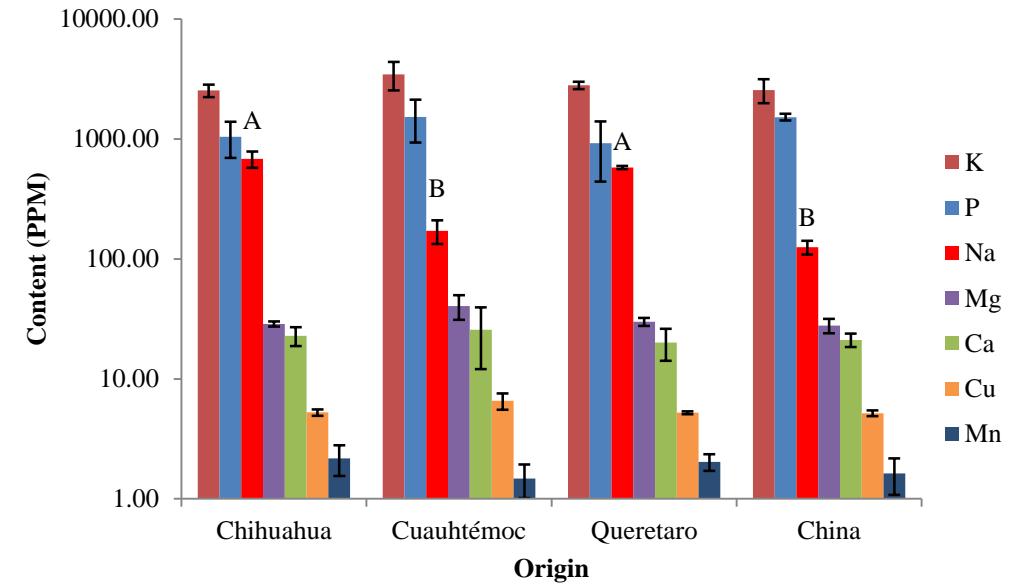
La mortalidad larval se analizó mediante la **prueba exacta de Fisher** ($\alpha < 0.05$).

Resultados

Análisis Proximal

Parameter	Cauhtémoc	Querétaro	China	Chihuahua	Reference
Moisture ¹	71.90 ± 1.72 ^a	70.90 ± 0.32 ^a	66.90 ± 0.64 ^b	70.20 ± 0.20 ^{ab}	60 - 70
Ash ¹	0.65 ± 0.02 ^b	1.04 ± 0.19 ^{ab}	1.08 ± 0.00 ^a	1.04 ± 0.04 ^{ab}	0.8 - 3
Protein ¹	12.95 ± 0.16 ^c	15.69 ± 0.01 ^a	13.94 ± 0.06 ^b	13.90 ± 0.05 ^b	9 - 18
Lipids ¹	3.08 ± 0.13 ^a	2.02 ± 0.28 ^a	2.19 ± 0.61 ^a	3.49 ± 0.82 ^a	2 - 8
Carbohydrates ¹	11.42 ± 2.03 ^{ab}	10.35 ± 0.81 ^b	16.21 ± 0.23 ^a	11.37 ± 0.93 ^{ab}	
Soluble solids ¹	28.73 ± 2.09 ^a	30.83 ± 2.21 ^a	34.68 ± 0.44 ^a	33.78 ± 0.87 ^a	34 - 38
Acidity ²	52.88 ± 07.89 ^a	24.24 ± 0.33 ^b	34.14 ± 0.11 ^b	23.68 ± 0.86 ^b	30 - 60
pH	3.83	4.05	3.85	4.13	3.4 - 4.5

Means ± SD, 1 g/100g (Wet basis), 2 meq/kg. Means that do not share a letter are significantly different (Tukey, 95% confidence).



Origen geográfico

Variaciones estacionales

Raza de abeja

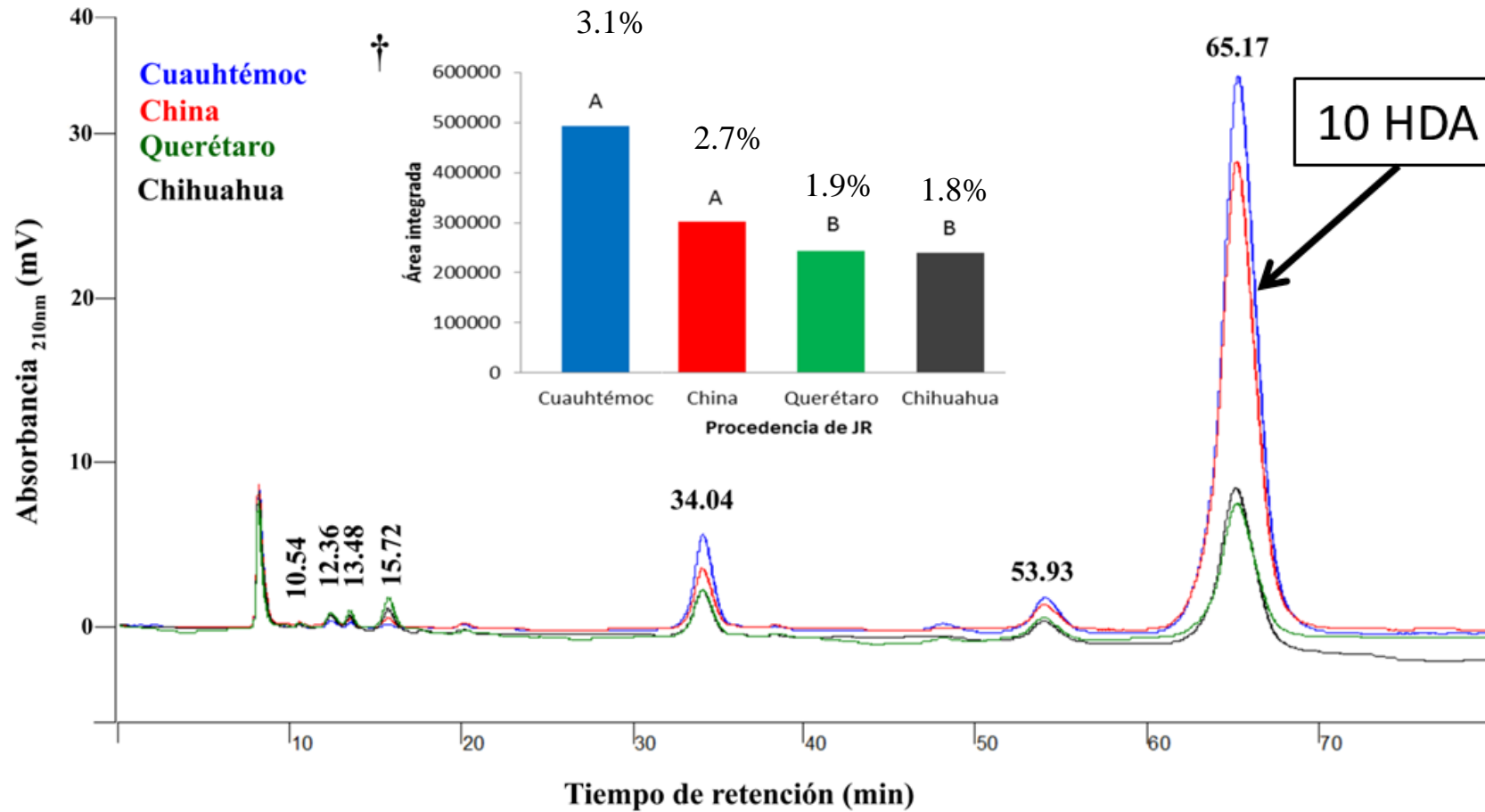
Tiempo de cosecha

Fuente de polen

Tiempo de almacenamiento

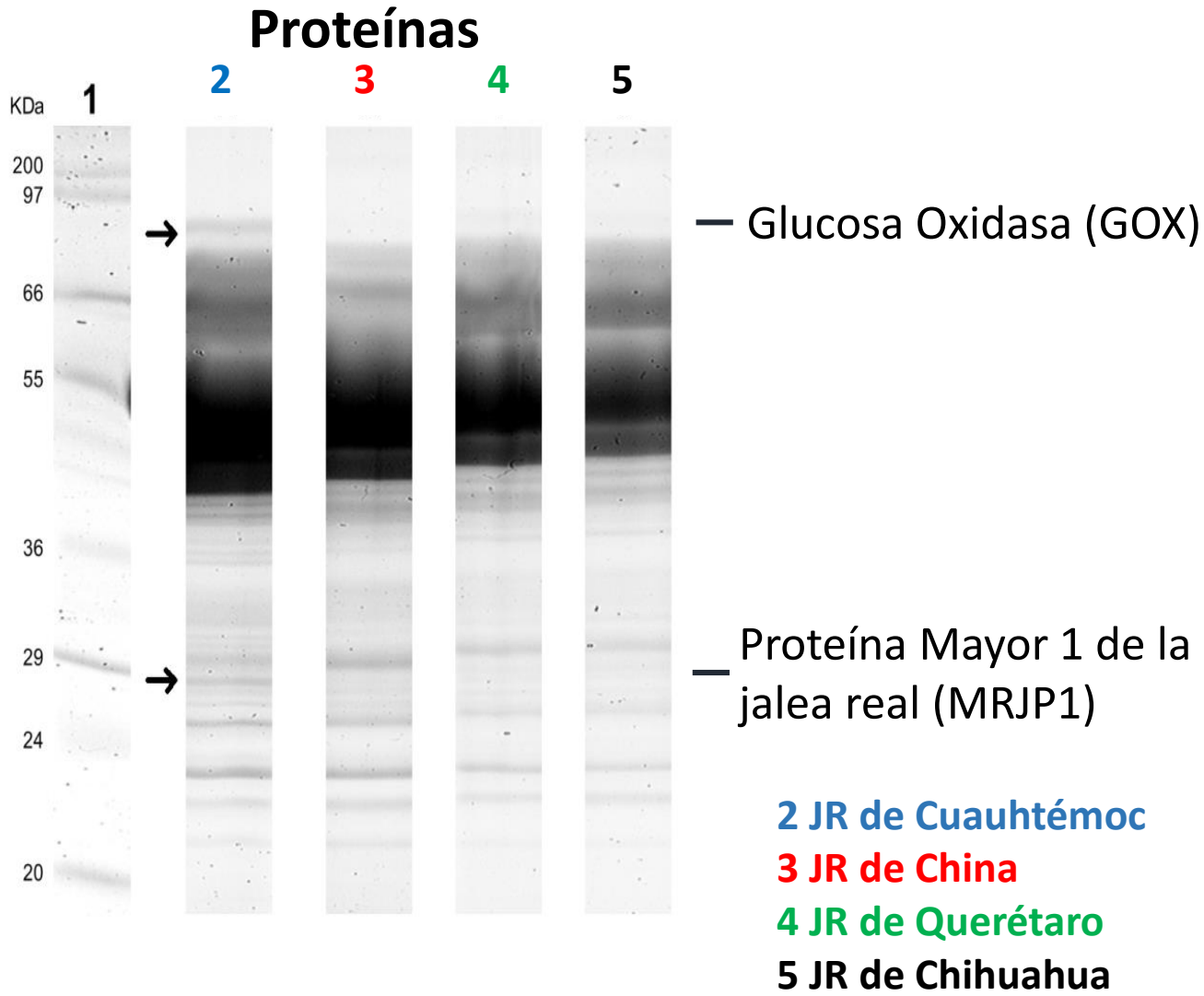
Resultados

Ácidos Orgánicos



Paenibacillus larvae

Resultados

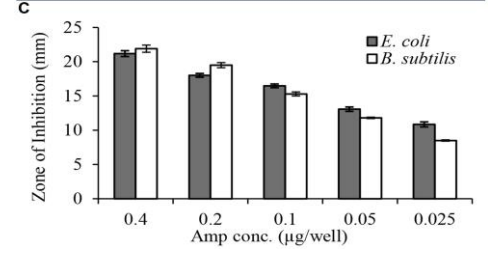
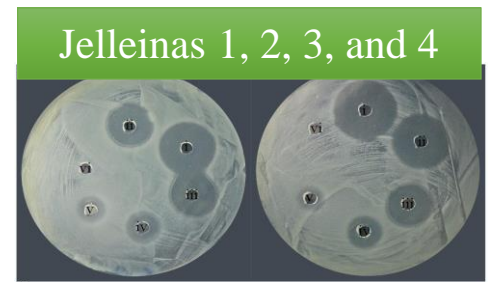


< Plaguicidas



Peróxido de Hidrogeno
Actividad antibacteriana

> Enfermedades

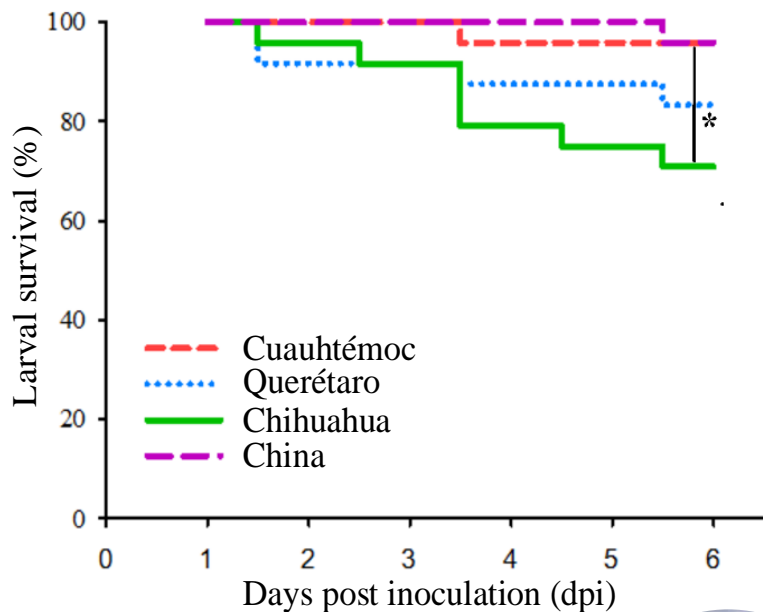


Inhiben a:

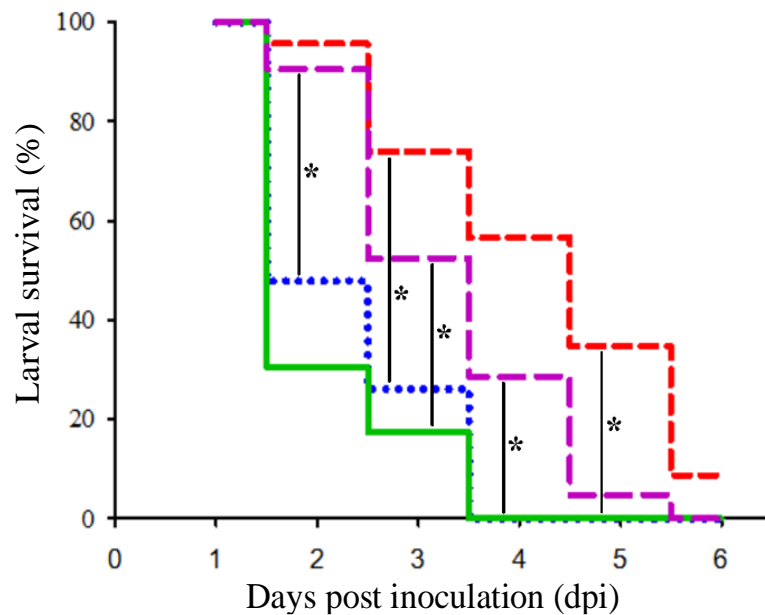
- Bacterias Gram+ y Gram-
- Levaduras, hongos

Resultados

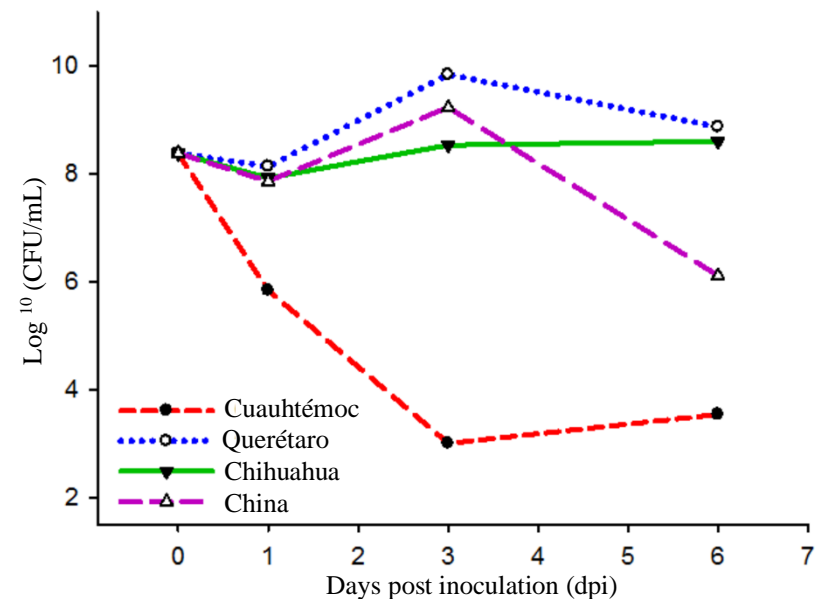
Alimentación inocua



Alimentación con bacteria



Sobrevivencia de la bacteria



Testigo



Larva muerta

Origen Tiempo de almacenamiento:

- Acides y pH
- Contenido de Sodio
- 10-HDA
- Glucosa Oxidasa
- MRJP1

Conclusiones

- La variación en el contenido de proteínas, ácidos orgánicos y minerales en la jalea real puede afectar la virulencia de *M. plutonius*.
- La proteína principal 1 de la jalea real (MRJP1), la glucosa oxidasa (GOX), el ácido 10-hidroxi-2-decenoico (10-HDA) y el contenido de Sodio (Na) podrían ser los responsables de la variación en la virulencia de *M. plutonius*

Conclusiones

- Estos parámetros de en la Jalea real, pueden ser utilizados como referencia para determinar la susceptibilidad de las colonias de abejas en determinadas regiones y épocas del año.
- Los compuestos aquí presentados pueden ser utilizados como una alternativa terapéutica natural sustentable para el tratamiento de la EFB

Referencias

- Alaux, C., Brunet, J. L., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., . . . Le Conte, Y. (2010). Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental microbiology*, 12(3), 774-782. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x>
- Antinelli, J.-F., Zeggane, S., Davico, R., Rognone, C., Faucon, J.-P., y Lizzani, L. (2003). Evaluation of (E)-10-hydroxydec-2-enoic acid as a freshness parameter for royal jelly. *Food chemistry*, 80(1), 85-89. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00243-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00243-1)
- AOAC. (1995). Official methods of analysis of AOAC International. Arlington, Va.: AOAC Intl. pv (loose-leaf). <http://www.aocofficialmethod.org/>
- Arai, R., Tominaga, K., Wu, M., Okura, M., Ito, K., Okamura, N., . . . Yoshiyama, M. (2012). Diversity of *Melissococcus plutonius* from honeybee larvae in Japan and experimental reproduction of European foulbrood with cultured atypical isolates. *PLoS One*, 7(3), e33708. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033708>
- Bailey, L., & Ball, B. (1991). 4. BACTERIA Honey bee pathology (Second ed., pp. 35-52): Academic Press.
- Brudzynski, K., and Sjaarda, C. (2015). Honey glycoproteins containing antimicrobial peptides, Jelleins of the Major Royal Jelly Protein 1, are responsible for the cell wall lytic and bactericidal activities of honey. *PLoS One*, 10(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120238>
- de León-Door, A. P., Romo-Chacón, A., Rios-Velasco, C., Zamudio-Flores, P. B., de Jesús Ornelas-Paz, J., y Acosta-Muñiz, C. H. (2018). Prevalence, typing and phylogenetic analysis of *Melissococcus plutonius* strains from bee colonies of the State of Chihuahua, Mexico. *Journal of invertebrate pathology*, 159, 71-77. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.10.006>
- Fontana, R., Mendes, M. A., De Souza, B. M., Konno, K., César, L. M. M., Malaspina, O., y Palma, M. S. (2004). Jelleines: a family of antimicrobial peptides from the Royal Jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Peptides*, 25(6), 919-928. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2004.03.016>
- Forsgren, E., Budge, G. E., Charrière, J.-D., y Hornitzky, M. A. (2013). Standard methods for European foulbrood research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-14. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.12>
- Laemmli, U. (1970). SDS-page Laemmli method. *Nature*, 227, 680-685.
- M Alreshoodi, F., & Sultanbawa, Y. (2015). Antimicrobial activity of royal jelly. *Anti-Infective Agents*, 13(1), 50-59. <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/aia/2015/00000013/00000001/art00008>
- McKee, B. A., David Goodman, R., & Alan Hornitzky, M. (2004). The transmission of European foulbrood (*Melissococcus plutonius*) to artificially reared honey bee larvae (*Apis mellifera*). *Journal of Apicultural Research*, 43(3), 93-100. doi:<https://doi.org/10.1080/00218839.2004.11101117>
- Nafea, E. A. A., y EL Mohandes, S. S. (2011). DETERMINATION AND IDENTIFICATION OF ORGANIC ACIDS IN THREE TYPES OF ROYAL JELLY J. *Plant Prot. and Path.*, Mansoura Univ., 2(10), 873-881. DOI: <https://doi.org/10.21608/JPPP.2011.86618>
- Nakamura, K., Yamazaki, Y., Shiraishi, A., Kobayashi, S., Harada, M., Yoshiyama, M., . . . Takamatsu, D. (2016). Virulence Differences among *Melissococcus plutonius* Strains with Different Genetic Backgrounds in *Apis mellifera* Larvae under an Improved Experimental Condition. *Scientific reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep33329>
- Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Caboni, M. F., Bogdanov, S., y Almeida-Muradian, L. (2009). Quality and standardisation of royal jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1(1), 1-6. <https://doi.org/10.3896/ibra.4.01.1.04>
- Sano, O., Kunikata, T., Kohno, K., Iwaki, K., Ikeda, M., y Kurimoto, M. (2004). Characterization of royal jelly proteins in both Africanized and European honeybees (*Apis mellifera*) by two-dimensional gel electrophoresis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(1), 15-20. <https://doi.org/10.1021/jf030340e>
- Šedivá, M., Laho, M., Kohútová, L., Mojžišová, A., Majtán, J., y Klaudiny, J. (2018). 10-HDA, A Major Fatty Acid of Royal Jelly, Exhibits pH Dependent Growth-Inhibitory Activity Against Different Strains of *Paenibacillus larvae*. *Molecules*, 23(12), 3236. <https://doi.org/10.3390/molecules23123236>
- Vezetu, T. V., Bobiş, O., Moritz, R. F., y Buttstedt, A. (2017). Food to some, poison to others-honeybee royal jelly and its growth inhibiting effect on European Foulbrood bacteria. *MicrobiologyOpen*, 6(1). <https://doi.org/10.1002/mbo3.397>
- Wang, P., Zhou, R., Cheng, J., y Bi, S. (2007). LC determination of trace short-chain organic acids in wheat root exudates under aluminum stress. *Chromatographia*, 66(11-12), 867-872. <https://doi.org/10.1365/s10337-007-0418-0>
- Wei, W.-T., Hu, Y.-Q., Zheng, H.-Q., Cao, L.-F., Hu, F.-L., y Hepburn, H. R. (2013). Geographical influences on content of 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid in royal jelly in China. *Journal of economic entomology*, 106(5), 1958-1963. <https://doi.org/10.1603/EC13035>
- Wongchai, V., y Ratanavalachai, T. (2002). Seasonal variation of chemical composition of royal jelly produced in Thailand. *Thammasat Int. J. Sc. Tech*, 5, 1-8. <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/SciTechAsia/article/view/41796>
- Wu, L.-M., Xue, X.-F., Zhang, J.-Z., Fen, F., Zhou, J.-H., y Zhao, J. (2010). Nutritional assessment of three kinds of royal jelly protein. *Nat. Prod. Res. Dev*, 22, 1093-1097. <http://www.trcw.ac.cn/EN/Y2010/V23/I6/1093>



ECORFAN®

© ECORFAN-Mexico, S.C.

No part of this document covered by the Federal Copyright Law may be reproduced, transmitted or used in any form or medium, whether graphic, electronic or mechanical, including but not limited to the following: Citations in articles and comments Bibliographical, compilation of radio or electronic journalistic data. For the effects of articles 13, 162,163 fraction I, 164 fraction I, 168, 169,209 fraction III and other relative of the Federal Law of Copyright. Violations: Be forced to prosecute under Mexican copyright law. The use of general descriptive names, registered names, trademarks, in this publication do not imply, uniformly in the absence of a specific statement, that such names are exempt from the relevant protector in laws and regulations of Mexico and therefore free for General use of the international scientific community. BCIERMMI is part of the media of ECORFAN-Mexico, S.C., E: 94-443.F: 008- (www.ecorfan.org/booklets)