

53 2e1



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

EVALUACION DE DIFERENTES DOSIS DE
TRICLORFON PARA EL CONTROL DE LA
ACARIOSIS "Acarapis woodi" EN ABEJAS

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE;

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

OSCAR MONTOYA HERNANDEZ

ASESOR: M.V.Z. JOSE ROJO LOPEZ
CO-ASESOR: M.V.Z. MIGUEL A. CARMONA M.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1980

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE.

	Pag.
RESUMEN.	1
INTRODUCCION.	2
OBJETIVOS.	34
MATERIAL Y METODOS.	25
RESULTADOS.	36
CUADROS Y GRAFICAS.	37
DISCUSION.	42
CONCLUSIONES.	44
BIBLIOGRAFIA.	45

RESUMEN

En la actualidad, ningún producto utilizado para el control de la Acariosis ha dado resultados del 100%, lo que permite la prevalencia de la enfermedad, aunado a las costumbres de manejo de los apicultores y al comportamiento social de este insecto.

Se efectuó en el presente estudio una evaluación de diferentes dosis de Triclorfón para el control de la Acariosis.

Las abejas provenían de clima templado, de raza Lingustica, y manejadas en un microclima controlado. Se utilizaron 330 abejas, las cuales, por muestreo, se les diagnosticó el grado de Acariosis previo al tratamiento, resultando una infestación no mayor del 15%.

Se estableció la DL50% (2.98 μg . por abeja) con el fin de obtener el rango mínimo (0.2 μg .) y el máximo (10 μg .) para la dosificación final.

Los resultados obtenidos después de la dosificación con Triclorfón indican que no hay efecto en contra del ácaro (Acarapis woodi) o la reducción de su infestación; encontrándose que este producto es altamente tóxico.

INTRODUCCION

La importancia de la apicultura a nivel nacional radica en el mejoramiento de la alimentación de la población humana, además de incrementar los rendimientos en los cultivos agrícolas, debido a la efectiva polinización que realizan las abejas. México posee 2 millones y medio de colmenas aproximadamente, de las cuales son rústicas -500,000- y modernas -2,000,000- (la producción anual de miel de abeja es de 60 millones de Kg.) (13)

Se estima que México contribuye con el 7% del total de la producción de miel en el mundo, siendo el cuarto país productor superado por China, Estados Unidos y la Unión Soviética. La producción por colmena es de menos de 30 Kg. México se ha ubicado como el principal país exportador de miel en el mundo, lo que significa un ingreso mayor de 40 millones de dólares al año. (13)

Pero la actividad apícola no está exenta de problemas y entre esos problemas están las enfermedades que pueden tener diferente etiología como :

- Bacterianas
- Virales
- Parasitarias
- Fungóticas.

De las parasitarias tenemos:

- Acariosis
- Flagelosis
- Bregarinosis
- Nosemiasis
- Varroctosis. (2,9,14,19).

De entre ellas, la que nos ocupa es la Acariosis.

La Acariosis ocupa un lugar preponderante por el grado de incidencia, lo difícil del tratamiento y las pérdidas que ocasiona. (14).

Este padecimiento es producido por un agente llamado Acarapis woodi (foto N. 1) que habita en los conductos respiratorios (tráqueas) principalmente (foto N. 2) en el primer par que se localiza en el tórax de la abeja adulta, la que llega a perder la aptitud de volar por falta de oxígeno a los músculos de las alas y presentan signos de alteraciones digestivas entre otros daños. (7).

El parásito vive y se reproduce exclusivamente en los conductos respiratorios y se le encuentra en todas sus etapas de desarrollo. (foto N. 3) (18).

La Acariosis, Acariasis o Enfermedad de la Isla de Wight, fue identificada por vez primera en abejas procedentes de la Isla de Wight en el Canal de la Mancha. (14).

En México, el primer reporte confirmado se registro en agosto de 1980. (23).

La enfermedad constituye un problema muy severo, debido a que las abejas se ven limitadas físicamente para desarrollar sus actividades en la colmena; situación que se acentua en los meses fríos y se piensa es debido a que las abejas disminuyen las salidas de la colmena y tienden a reunirse lo mas cerca unas a otras para mantener la temperatura del núcleo y de esta forma acrecentar las esperanzas de sobrevivir hasta la nueva estación primaveral, siempre y cuando tengan buenas reservas de alimento.

foto N. 1



"Acarapis woodi" Adulto

4x.

foto N. 2



Segmento de Tráquea Torácica In Situ

4K.

foto N. 3



Larva (izo) y Adulto (der) Afuera de un Segmento de
Tráquea muy Dañado

10x.

Hemos de notar que este amontonamiento favorece el contagio.

(9).

La Acariosis se propaga de una a otra abeja por contagio. Solo contraen la enfermedad las abejas jóvenes (de 1 a 7 días de edad), ya que de las tráqueas de las abejas más ancianas, los ácaros pueden salir pero no entrar, debido a que los pelos que protegen los espiráculos respiratorios se vuelven duros y no permiten la entrada, caso contrario en las abejas jóvenes que tienen los pelos protectores muy blandos aún y no dificultan la entrada de los ácaros. La enfermedad se transmite de colmena a colmena y de uno a otro apiario de diferentes maneras: por el pillaje, con los enjambres silvestres; de la fusión de núcleos, por medio de zánganos que entran en todas las colmenas o de las abejas que se arrastran de una colmena a otra; con la compra de colmenas rústicas procedentes de localidades infestadas y por la introducción de reinas y sus acompañantes también ya infestadas. (6).

Los altos niveles de infestación se hacen más aparentes después de periodos largos de confinamiento de las abejas dentro de su colmena, lo cual ocurre luego de la época de lluvias, viento, frío, pobre floración, etc., debido a que el contacto de las abejas es más estrecho y a que su longevidad permite que se desarrollen más ácaros en sus tráqueas. (14).

Acarapis woodi, es un parásito microscópico de la clase de los
arácnidos y del orden de los ácaros. Al igual que la mayoría de
los ácaros tiene cuatro pares de patas. Su tamaño es variable, la
hembra mide de 120 a 150 micras de largo por 60 a 80 de ancho; el
macho es mas pequeño y mide de 80 a 100 micras de largo por 40 a
60 de ancho. (14). (foto N.4)

El ácaro es atraído por la corriente de aire caliente espirado
por la abeja (anemotaxia positiva) y por la vibración de los
músculos (vibrotaxia), encuentra el camino para entrar por una de
las dos primeras aberturas estigmáticas o espiráculos. (14).

La abeja transmisora siempre es mayor a los 14 días de edad.

Las infestaciones pueden ser unilaterales o bilaterales. Por
lo común el parásito macho no migra; esta tarea parece
corresponderle a la hembra fecundada (12).

Tanto las ninfas como los adultos se alimentan de hemolinfa,
misma que succionan de las paredes de las tráqueas, las cuales
perforan con la ayuda de sus ganchos mandibulares. (14).
(foto N. 5).

Parece ser que los periodos preferidos para la difusión del
ácaro son Primavera y Otoño. (6).

La longevidad de los parásitos en hospedadores adecuados,
incluso inhabituales (prepupas) pueden ascender a 30 días; a
veces incluso puede superar los 40 días. Es posible pensar que la
vida de Acarapis woodi fuese más larga aún, dado que la
longevidad de las abejas facilita la existencia de aquel,
proporcionandole condiciones óptimas. La sobrevivencia de los

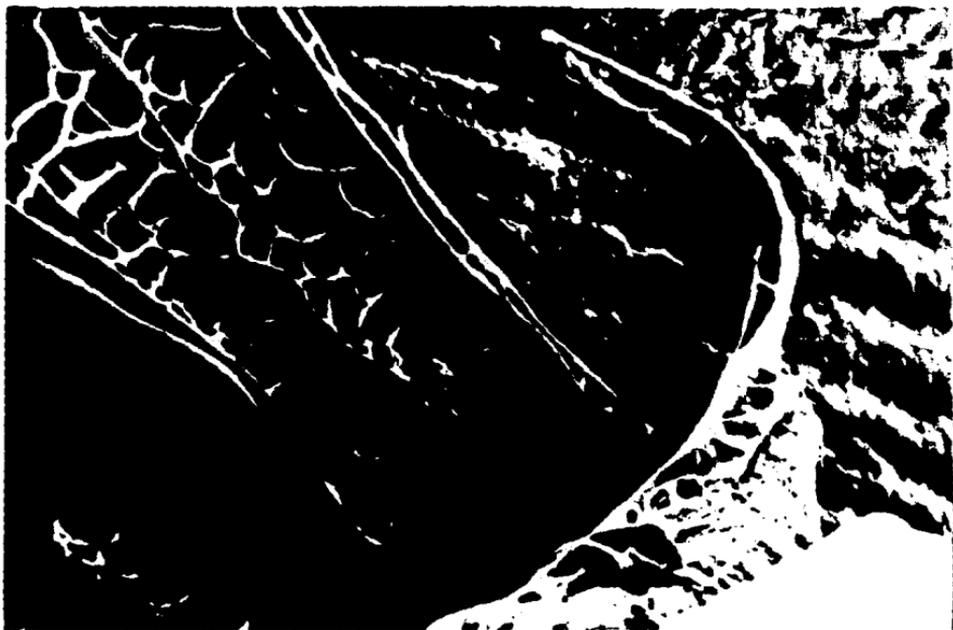
foto N. 4



Acarapis woodi en la Luz de un Segmento Traqueal

3000x.

Foto N. 5



Aspecto Interno del Tejido Traqueal

3000x.

ácaros después de la muerte de la abeja, varía en las distintas estaciones del año: 15 horas en primavera y 26 a 28 horas en verano; 30 a 40 horas en otoño y 120 o más horas en invierno a 0°C. (12).

La enfermedad se difunde más rápidamente y presenta formas más graves entre las abejas jóvenes, cuanto más infestados estuvieran los portadores viejos y, por consiguiente, fuese mayor el número de individuos de *Acarapis* en movimiento. La contaminación es normalmente rápida (de varias horas a dos o tres días). En las abejas de 1 a 7 días de edad, la edad no parece influir particularmente en la receptividad; sin embargo, los individuos de un día muestran mayor vulnerabilidad. (12).

Los parásitos adultos, junto con sus larvas y huevos se encuentran en los sacos de aire torácicos, aún cuando la tráquea está casi vacía e incluso en los estados tempranos de contaminación. La *Acariosis* se manifiesta en ciclos periódicos con momentos máximos y otros de recesión, vinculados a varios factores que se superponen, se correlacionan e incluso se conjugan. La contaminación se manifestara en forma violenta cuando dentro de la colmena interactúan la temperatura baja y la humedad relativamente alta. Por otro lado, las observaciones de laboratorio demuestran que los ácaros toleran temperaturas bajas mejor que las abejas; son menos sensibles a las variaciones térmicas y se ambientan bien en elevada humedad. (12).

Si la infestación es muy grande, los ácaros pueden llegar a taponar la tráquea y destruirla; se calcula que puede haber de 50 a 60 ácaros en sus diferentes estados de desarrollo. (17).

(foto N. 6 y 6a).

CICLO BIOLÓGICO

Su ciclo biológico es directo, endoparásito obligado y tiene una reproducción monogenética. El macho y la hembra copulan dentro de la tráquea y los huevecillos que pone la hembra son de forma arriñonada, siendo del tamaño de la misma. (foto N. 7).

A los tres o seis días nace de él una larva con seis patas y pasadas dos semanas, luego de haber sufrido cuatro mudas, se transforma en ácaro adulto. Su ciclo de desarrollo es de 20-21 días aproximadamente. (17).

El ciclo biológico completo se desarrolla dentro de la tráquea; la hembra puede poner entre 5 y 7 huevos ⁽²¹⁾ (y aun más) y los alojara en la tráquea de la abeja para dar origen a la siguiente generación. (14).

foto N. 6

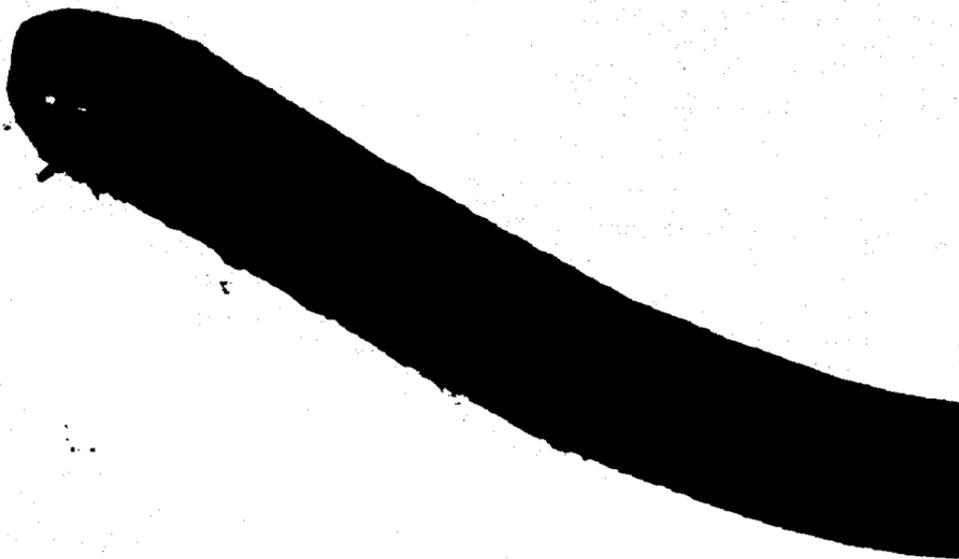


Aspecto de una Tráquea Sana (extremo sup. der)

Aspecto de una Tráquea Severamente Afectada.

4x.

foto N. 6a.



Obsérvase el Grado de Obstrucción y los Diferentes
Estados de Desarrollo de los Parásitos

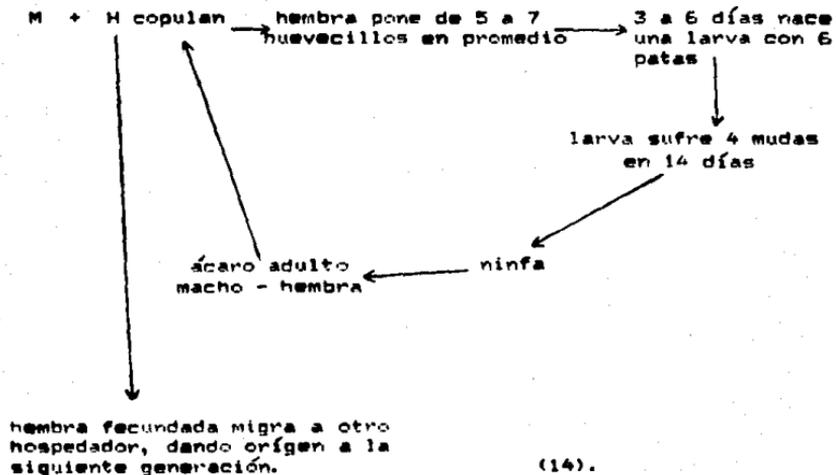
10x.



Obsérvese el Diferente Estado de Desarrollo de los Huevecillos, su Forma y su Tamaño en Relación con la Hembra Adulta (extremo sup. der.)

10x.

CICLO BIOLÓGICO



DIAGNOSTICO DE LA ACARIOSIS

En el diagnóstico de la Acariosis es necesaria la ayuda del laboratorio, en donde se hace disección de las tráqueas de las abejas y la observación directa al microscopio. (14).

ACCIONES PATOGENAS Y SIGNOS PRODUCIDOS POR EL ACARO

Al momento de entrar a la (s) tráquea (s) el parásito produce una acción patógena irritativa por la sola presencia del mismo; una acción traumática cada que el ácaro pica la tráquea para alimentarse y a la vez una acción expoliatriz hematófaga (y posiblemente inoculatríz) al succionar la hemolinfa; una acción mecánica por la gran cantidad de parásitos que obstruyen el flujo de gases y una acción tóxica debido a las deyecciones, restos de mudas y ácaros muertos. Todo esto se traduce en : tensión constante, alteraciones fisiológicas graves como desajustes sanguíneos, bloqueo rectal y por consiguiente intoxicación de la abeja; trastornos nerviosos, disnea progresiva con la consecuente falla en el intercambio gaseoso que afecta a los músculos de las alas causando una pérdida parcial o total del vuelo y además da el aspecto de tener las alas dislocadas.

Se suma a estas alteraciones la pigmentación de las tráqueas debido a que las deyecciones del ácaro se oxidan al contacto con el aire, produciendo el pigmento melanina, signo que nos confirma la presencia del mismo. (foto N.8) (1).

foto N. 8



Obsérvense las pequeñas manchas (extremo inf. izq.)
que nos Confirman la Presencia del Acaro

10x.

Tratamientos utilizados a la fecha para el control
de la Acariosis.

ACIDO FORMICO.

En la India se ha probado con bastante éxito el uso de este producto al 85% de concentración. Se empapa un trapo con 30c.c. (ml) y se mete por la piquera. El tratamiento se repite por dos ocasiones mas con intervalos de 7 días entre una y otra aplicación (14).

CARTON SULFURADO.

(Empapado en solución de flor de azufre y salitre de sulfuro carbónico, después de que ha absorbido el líquido el cartón, se deja secar.) Iniciar el tratamiento a finales de otoño, antes de que las abejas esten aglomeradas. Se llena completamente el depósito del ahumador con el cartón embebido en azufre, y se trata con dos o tres bocanadas de humo los cuadros de la colmena, fumigando desde el techo o desde la piquera, cerrando luego herméticamente todas las aberturas. Repetir el tratamiento varios días con una interrupción de 5 días después de cada semana. (8).

FUMIGACIONES CON TIRAS FOLBEX (CLOROBENZILATO).

Son tiras de papel fumigante listas para su uso. Son de papel grueso de 10 cm. de largo por 2 cm. de ancho. Se quita uno o dos bastidores y se mete uno vacío con la tira pegada o colgada en el y se enciende; una vez bien encendida se apaga y se deja humear.

Se tapan todas las entradas y a la media hora se abre la piquera. Hay que realizar las fumigaciones una vez por semana.

Entre sus ventajas estan el hecho de ser el producto más ampliamente aplicado a nivel mundial, no provoca pillaje y ocasiona una ligera intoxicación a las abejas y sus crías. Entre sus desventajas estan el que es demasiado caro y su aplicación requiere de mucho tiempo, mano de obra y es poco práctica e incomoda. (17).

FOLBEX VA (BROMOBENZILATO).

Tiras fumigantes--se utiliza igual que el Folbex simple, con la ventaja de que el tratamiento se reduce a tres veces. Las ventajas y desventajas de este producto son similares al Clorobenzilato. (14).

LIQUIDO DE FROW.

Es un líquido volátil, inflamable y venenoso que debe utilizarse con mucha precaución y tiene la siguiente composición: aceite de safrol, una parte; nitrobencina, dos partes; y nafta o gasolina, dos partes. La dosis a emplear puede variar desde 20 gotas, puestas encima de la colmena en días alternados, a 40-60 gotas. La cantidad a usar dependerá de la temperatura, cuanto mayor sea la temperatura, mayor será la cantidad a utilizar.

Medida la dosis, el producto se derrama en una almohadilla y se coloca debajo o encima de los cuadros. Cuando la dosis es pequeña, se repiten las aplicaciones en días alternados. No debe olvidarse que si la dosis es demasiado fuerte, matará a los ácaros pero también a las abejas. (20).

MENTOL SINTETICO O NATURAL.

Los cristales de este producto se pueden administrar solos o diluidos en alcohol etílico. Solos se ponen 30 g. dentro de una bolsa de nylon a la que se pincha con un clavo delgado, esto permite la evaporación paulatina del mentol, impidiendo al mismo tiempo que las abejas lo saquen del piso de la colmena a donde se introduce por la piqueta. La bolsa deberá reemplazarse cada vez que el producto se haya evaporado y deberá mantenerse este procedimiento durante un par de meses antes de la floración principal. La otra forma es diluyendo 400 g. de cristales de mentol en un litro de alcohol etílico al 70%. Se remoja un trapo u otro material absorbente con aproximadamente 80c.c. (ml.) de la dilución y se introduce al piso de la colmena. El tratamiento se deberá repetir por cuatro ocasiones cada dos semanas. Las ventajas son: mantiene los niveles de la enfermedad por debajo del 15% y es fácil de aplicar; las desventajas residen en que es costoso y de que causa mucha tensión en las colonias. (14).

SALICILATO DE METILO.

Se ponen a evaporar 100 g. de este producto en un frasco de boca ancha, cubierto con una estopa, suspendido entre dos cuadros de la colmena enferma. Se debe de cerrar la piqueta por un rato. Este tratamiento no perjudica a la larva, pero estimula el sequeo. (A).

SALICILATO DE METILO + NITROBENCENO.

Administrar 10-20 ml. por tratamiento. Empapar un trapo con la dosis indicada que será de acuerdo con la fortaleza de la colonia; y se introduce al piso del cajón por la piquera. Las abejas aspirarán los vapores por varios días ya que su liberación es generalmente lenta. Se requieren de 3 a 4 tratamientos con intervalos de 14 días. (14).

Evaluando diferentes acaricidas (Folbex, Acarol, Mentol puro al 90%, 70% y 50%; Vick VapoRub y Control) Sánchez y Carmona demostraron que no existen diferencias significativas con respecto al testigo y que además los residuos tóxicos que dejan en la miel pueden ser nocivos para la salud. (21).

Acarapis woodi tiene un depredador, el Cheyletes gammasus y puede pensarse en combatir la Acariosis por este método biológico (15).

Esta situación incita a buscar nuevas alternativas para controlar o erradicar la enfermedad, ya que los productos farmacéuticos actualmente de venta en el mercado, no son del todo eficientes, y representan mucha tensión para las abejas al momento de la aplicación y en su mayoría se tienen que repetir por lo menos de tres a cinco veces cada determinado tiempo.

Por todo lo anterior, este trabajo pretende denotar la posible utilidad del Triclorfón (Neguvón) como un recurso en el tratamiento de la Acariosis.

Metrifonat, Neguvón (Triclorfón)

La sustancia activa del Triclorfón es: el éster dimetílico del ácido 2,2,2-tricloro-1-hidroxi-etil)-fosfónico.

Fórmula empírica: C H Cl O P .Peso molecular: 257.5
4 8 3 4

Es un polvo blanco, cristalino, de débil olor particular, soluble en agua, éter; fácilmente soluble en cloroformo y muy fácilmente soluble en etanol.

La acción biológica de los ésteres fosfóricos y su toxicidad en parásitos y animales de sangre caliente, se determina ampliamente por su tendencia a bloquear enzimas de importancia vital, de manera que estas se apartan de sus funciones naturales y fallan en el mantenimiento de procesos elementales en las células. Entre los sistemas de enzimas desempeña un papel especial la acetil-colinesterasa. La neurohormona acetilcolina es liberada en la sinapsis neuromuscular, tan pronto parte un impulso del cerebro, transmitiéndolo al órgano sensorio. Inmediatamente después de su liberación la acetilcolina es nuevamente desdoblada por la enzima colinesterasa, de forma que su efecto estimulante es limitado a una fracción de segundo.

EFFECTOS SOBRE EL PARASITO.

Los ésteres fosfóricos como el Neguvón, suprimen el efecto de la colinesterasa, causando un efecto acumulativo de acetilcolina en los ganglios y terminaciones nerviosas, originando una sobreexcitación del sistema nervioso colinérgico.

EFECTOS SOBRE EL HOSPEDADOR.

En animales de sangre caliente, este proceso puede conducir, según las condiciones dadas, a una hipersensibilidad, temblor muscular, salivación, diarrea, sudor, segregación y contracción bronquiales y como resultantes edema pulmonar y muerte. La toxicidad selectiva de algunas combinaciones de ésteres fosfóricos, en las que se activa un preparado en el parásito, mientras que en el animal de sangre caliente experimenta una desintegración rápida a una combinación ya no tóxica, tiene diferentes causas. Por una parte, puede consistir en la capacidad de penetración variada del preparado, y por otra en la diferente velocidad de desintegración en animales de sangre caliente y en parásitos. Después de la aplicación oral de Neguvón pasa rápidamente a la circulación sanguínea y actúa contra las diferentes especies de parásitos. Es importante tomar en cuenta que las soluciones deben prepararse inmediatamente antes de usarse y de preferencia en soluciones tibias a no más de 40° C.

(5).

Objetivos.

- 1) Evaluar la efectividad del Triclorfon como tratamiento de la Acanicosis en Abejas.
- 2) Determinar la DL50% para las Abejas procedentes de Clima Templado en México.

MATERIAL Y METODOS.

El presente trabajo se desarrolló utilizando abejas infestadas por Acariosis, de un apiario localizado en San Juan Teoloyucan, Estado de México; (clima templado, 2400 metros sobre el nivel del mar, y una precipitación anual de 700 mm. correspondiente al C.W., según Köpen) las cuales se mantuvieron en cajas de contención en un microclima controlado entre 22 y 25°C y una humedad relativa entre 55 y 60 % .

Para evaluar el tiempo de vida en cautiverio y buscando la mejor forma de alimentación de las abejas, se utilizó un tipo de cajas de contención y una técnica de administración del alimento diseñada con el propósito de que cada abeja recibiera la dosis indicada; obteniendo las siguientes características el modelo a continuación:

Las cajas utilizadas fueron de plástico transparente de 12.8 x 5.6 x 5.2 cm., se les hizo una abertura en la tapa sustituyéndose por una malla delgada para permitir la ventilación y una mejor observación. Para la alimentación se utilizó una ficha (en buenas condiciones) a la que se le adaptó una base de cartón grueso (papel belomoy) y dos tiras del mismo material en la parte superior para evitar que las abejas entraran al alimento y se batieran con él, de esta forma se podían tener volúmenes conocidos máximos de 3 ml. de alimento (mezcla) o menores para poder dosificar en el mismo el medicamento a emplear siendo más que suficiente para alimentarlas durante 24 hrs. o mas.

Material Biológico: 330 abejas (Italianas)

Material de Laboratorio: Neguvón en polvo al 96%;
presentación: sobre de 15 g., de un laboratorio comercial.

Microscopio Electrónico JSM - 255 II Scanning.

Microscopio Estereoscópico.

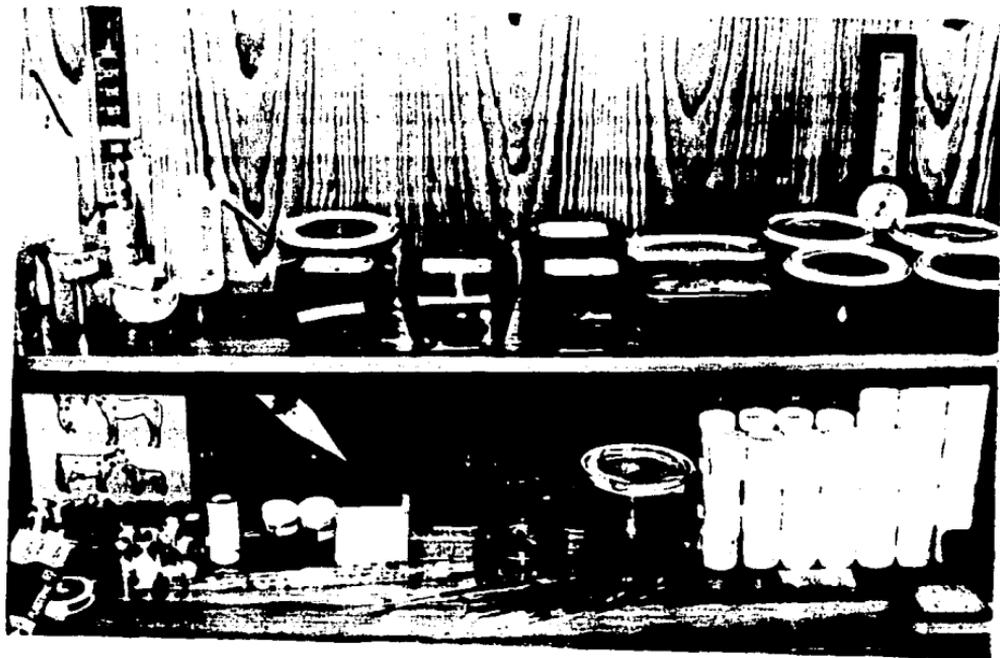
Microscopio Óptico.

Cajas de Contención de las siguientes medidas:

cajas de 12.8 x 5.6 x 5.2 cm.

(ver foto N. 9).

foto N. 9



Material de Laboratorio

Modelo Experimental

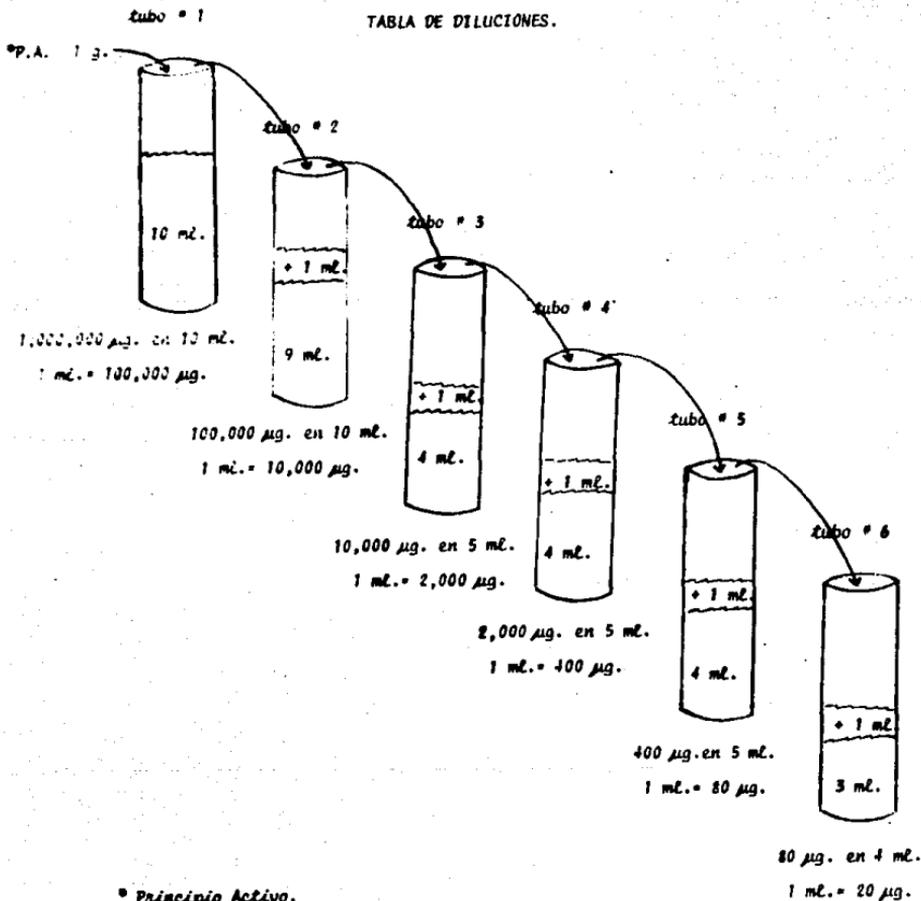
Para determinar la DL50% de Triclorofón en abejas y de tener preestablecidas las dosis a administrar a cada grupo, se procedió a preparar las diluciones como se indica a continuación:

- a) diluir 1.04 g. del polvo que contiene el sobre comercial en 10 ml. de agua, en un tubo de ensaye (solución madre con 100,000 µg./ml.)
- b) pasar 1 ml. al tubo N. 2 con 9 ml. de agua, para formar una dilución con 10,000 µg./ml.
- c) pasar 1 ml. del tubo N.2 al tubo N.3 que contiene 4 ml. de agua, para formar una dilución con 2,000 µg./ml.
- d) pasar 1 ml. del tubo N.3 al tubo N.4 que contiene 4 ml. de agua, para formar una dilución con 400 µg./ml.
- e) pasar 1 ml. del tubo N.4 al tubo N.5 que contiene 4 ml. de agua, para formar una dilución con 80 µg./ml.
- f) pasar 1 ml. del tubo N.5 al tubo N.6 que contiene 3 ml. de agua, para formar una dilución con 20 µg./ml.

(ver tabla de diluciones).

Una vez terminadas las diluciones se procedió a calcular el volumen máximo de miel y dilución (mezcla) a administrar a los grupos; basado en la capacidad promedio del buche melario de la abeja (20-40 mg.) (10).; resultando 1 ml. de mezcla para cada grupo. (ver cuadro "a").

TABLA DE DILUCIONES.



CUADRO "a"

N. caja	dosís p/abeja en µg.	dosís p/20 abejas en µg.	vol. de sol.	+ vol. de miel
1	10	10x20=200	.5 ml.tubo 4	.5 ml.
2	8	8x20=160	.4 ml.tubo 4	.6 ml.
3	6	6x20=120	.3 ml.tubo 4	.7 ml.
4	4	4x20= 80	.2 ml.tubo 4	.8 ml.
5	2	2x20= 40	.5 ml.tubo 5	.5 ml.
6	1	1x20= 20	.25 ml.tubo 5	.75 ml.
7	0.8	.8x20= 16	.2 ml.tubo 5	.8 ml.
8	0.6	.6x20= 12	.15 ml.tubo 5	.85 ml.
9	0.4	.4x20= 8	.4 ml.tubo 6	.6 ml.
10	0.2	.2x20= 4	.2 ml.tubo 6	.8 ml.
11	Testigo ---	-----	-----	1 ml.

Administración del Tratamiento.

- a) Se formaron de 6 colmenas al azar, 11 grupos de 30 abejas por bastidor, infestadas por Acariosis.
- b) Se retiraron 10 abejas de cada grupo, seleccionadas al azar para determinar la incidencia y grado de infestación con la ayuda del laboratorio.
- c) Las 20 abejas restantes de cada grupo, se aislaron en cajas de contención y se les brindó un microclima controlado durante 24 horas con una temperatura de 22 a 25°C., y una Humedad Relativa entre 55 y 65 %
- d) Los 11 grupos se mantuvieron brevemente sin alimento durante 5 horas para asegurar el consumo del producto.
- e) Se administró el principio activo; una dilución combinada con miel tibia en un volumen total de 1 ml. para cada grupo, en un comedero diseñado para este caso (ver foto N. 10); al grupo testigo sólo se le administró miel.
- f) Tres horas después de administrado el tratamiento, se retiraron los comederos y se pusieron otros con miel no medicada para evitar la muerte por inanición.
- g) En virtud de la acción del producto y de la capacidad del ácaro de emigrar o salirse de la tráquea, pasadas 24 horas de iniciado el mismo, se procedió a la disección de las tráqueas en las abejas vivas y muertas de los 11 grupos para ver los efectos del producto sobre los ácaros.

foto N. 10



Comedero Artificial

Análisis Estadístico.

a.- Para determinar la DL50% de Neguvón que debe emplearse en las abejas, se utilizó el Método de Reed-Muench Modificado (3).

$$FC = \frac{DL50\% - DLi50\%}{DLs50\% - DLi50\%}$$

Donde: FC= Factor de Ajuste.
DL50%= Dosis Letal 50%
DLi50%= Dosis Letal inferior al 50%
DLs50%= Dosis Letal superior al 50%

Por lo tanto:

$$\ln DL50\% = \ln DLs50\% - FC(\ln \text{ de dilución})$$

Donde Ln = Logaritmo Natural con base 2.7183

De tal manera que:

$$DL50\% = \text{Anti Ln DL50\%}$$

Así fue estimado primeramente el Factor de Ajuste

$$FC = \frac{50 - 16}{95.8 - 16} = \frac{34}{79.8} = 0.426 \quad (\text{ver cuadros 1 y 3})$$

Luego:

$$\ln DL50\% = 1.3862 - 0.426(0.6931) = 1.09$$

$$\text{y } DL50\% = \text{Anti Ln de } 1.09 = 2.98 \mu\text{g.}$$

continua.....

b.- Para el Análisis Estadístico que nos permita conocer si las diferencias observadas entre el grupo tratado y el grupo testigo (ver cuadros 2 y 4) se utilizó la prueba de la Suma de los Rangos (16) bajo la hipótesis nula de :

$$H_0 : \xi_1 \geq \xi_2$$

Donde:

ξ_1 = Mediana del Grupo Tratado.

ξ_2 = Mediana del Grupo Testigo.

(ver ejemplo).

(ver grafica 1).

Ejemplo.

(16).

Prueba de la Suma de los Rangos.

$H_0: \xi_1 = \xi_2$

$\xi_1 =$ mediana 1

$\xi_2 =$ mediana 2

T	86	66	26	22	20

NT	37	34	27	10	2

T = Tratadas

NT = No Tratadas

2, 10, 20, 22, 26,
27, 34, 37, 56, 86.

Sustituir por sus rangos o posiciones en la lista:

1, 2, 3, 4, 5, R = 31
6, 7, 8, 9, 10.
 - - -

$n_1 = 5$

$n_2 = 5$

$H_0: Me_1 \geq Me_2$

$H_1: Me_1 < Me_2$

Como $R = 31 (5, 5) = P(.048) 19-36$

y el rango de tablas (16). es de 19 - 36. Se aceptó H_0 .

RESULTADOS

Al obtener la DL50%, se estableció el rango máximo de 4 $\mu\text{g.}$ con el porcentaje de mortalidad observada del 95.8% y la dosis letal proxima inferior al 50% de 2 $\mu\text{g.}$ con el 16% de mortalidad (ver cuadro 1). Obteniendose 2.98 $\mu\text{g.}$ como la DL50% de Triclorfón (ver grafica 1).

En la determinación del grado de infestación de los once grupos, se encontró que la incidencia fue mayor en la categoría nula con 37 abejas y siguiendole la ligera con 34 abejas (ver cuadro 2) lo que indica que su grado de infestación era menor del 15 %.

En las diferentes dosis administradas a las cajas de prueba con el fin de obtener el grado de efectividad del producto y la relación a su toxicidad, se encontró que a dosis de 2 a 4 $\mu\text{g.}$, el porcentaje de mortalidad de las abejas varia del 0 al 95 % (ver cuadro 3); y al proceder en la disección de abejas vivas y muertas de los once grupos, se observó que los ácaros no presentaban evidencia de haber sido afectados por el producto, como se vera en el cuadro 4 en el que aparece un aumento en las categorías severa y semisevera del 9.09% y 10% respectivamente (estas con el tratamiento) a diferencia de las no tratadas que fueron del 1.81% y 9.09% respectivamente.

CUADRO N. 1

* Determinación de los Rangos en %
para obtener la DL 50%

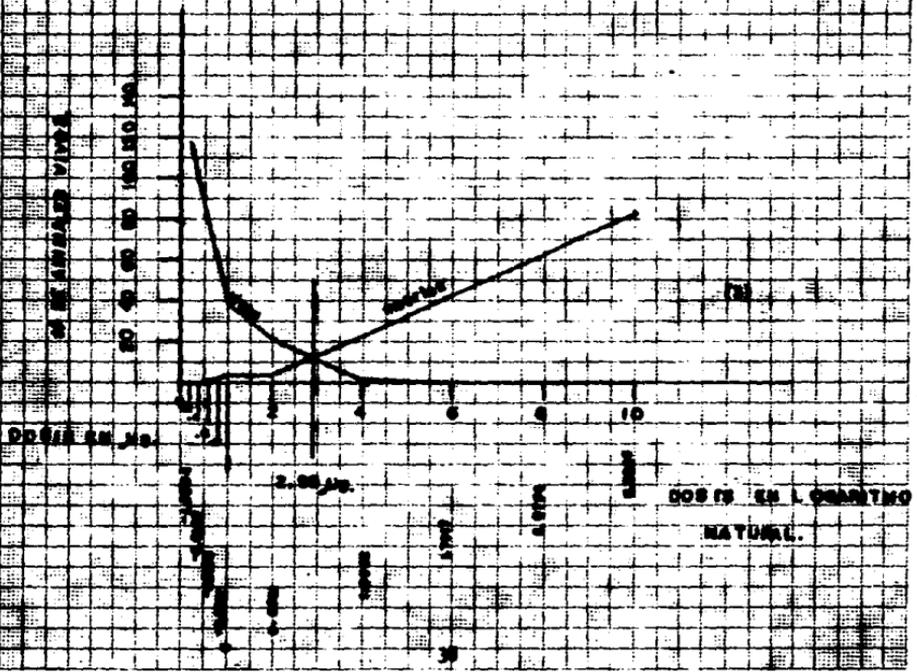
Dosis en µg.	No. caja	Vivos	Muertos	V + M	% de mortalidad
10	1	0	83	83	100
8	2	0	63	63	100
6	3	0	43	43	100
4	4	1	23	24	95.8
2	5	21	4	25	16
1	6	39	4	43	9.3
.8	7	58	2	60	3.3
.6	8	77	1	78	1.3
.4	9	97	0	97	0
.2	10	117	0	117	0
Testigo	11	137	0	137	0

Rangos mínimo y máximo para obtener la DL50%.

(3).

* Bajo el Metodo de Reed-Muench Modificado.

GRÁFICA 3



CUADRO N. 2

Determinación del Grado de Infestación *

	No. de caja											Total %	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	**	
Nula	6	5	1	2	5	4	2	2	4	5	1	37	33.63
Ligera	3	4	0	5	3	3	3	3	3	5	2	34	30.90
Regular	0	1	4	2	2	2	4	4	2	0	6	27	24.54
Semisevera	1	0	5	1	0	1	0	1	0	0	1	10	9.09
Severa	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2	1.81
	Total											110	99.97%

Categorías de Clasificación.

Nula	0 % infestación.
Ligera	hasta 15 % infestación
Regular	hasta 50 % infestación.
Semisevera	hasta 75 % infestación.
Severa	hasta 100 % infestación.

* (Diseción de 10 abejas por caja, antes del tratamiento).

** Grupo testigo.

CUADRO N. 3

Dosificación por caja y su respuesta al tratamiento
(Después de 24 horas).

Dosis en µg.	No. de caja.	No. de Vivas.	No. de Muertas.	% Mortalidad
10	1	0	20	100
8	2	0	20	100
6	3	0	20	100
4	4	1	19	95
2	5	20	0	0
1	6	18	2	10
.8	7	19	1	5
.6	8	19	1	5
.4	9	20	0	0
.2	10	20	0	0
---- Testigo	11	20	0	0

CUADRO N. 4

Resultados de la disección y observación al microscopio de las traqueas de las abejas sometidas a tratamiento.

	No. de caja											Total %	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11*		
Nula	12	10	2	8	7	12	1	5	4	15	10	86	39.09
Ligera	4	8	3	3	7	4	9	11	5	3	9	66	30.00
Regular	2	0	3	5	3	0	4	3	4	1	1	26	11.81
Semisevera	1	0	5	4	2	2	1	1	6	0	0	22	10.00
Severa	1	2	7	0	1	2	5	0	1	1	0	20	9.09
	Total											220	99.99%

Categorías de Clasificación.

- Nula 0 % infestación.
- Ligera hasta 15% infestación.
- Regular hasta 50% infestación.
- Semisevera hasta 75% infestación.
- Severa hasta 100% infestación.

* Grupo testigo.

DISCUSION

El trabajo mas reciente sobre Triclorfón utilizado en abejas, se refiere solamente a medir los niveles de la DL50%, pero no como tratamiento para alguna enfermedad. Este estudio fue realizado por Batista et. al. (1975) los que obtuvieron como DL50% 2.39 µg. de Triclorfón por abeja, en las condiciones del Brasil. (4)

Ahora bien, la DL50% obtenida en esta investigación fue de 2.98 µg. por abeja bajo las condiciones climaticas manejadas en laboratorio.

El sistema establecido para el cautiverio fue resultando conforme avanzaba el experimento, esto es: una de las primeras técnicas utilizó una caja de cartón "para leche", resultando inapropiado debido a que no se conservaba una temperatura adecuada, guardaba malos olores, dificultaba el manejo, observación y alimentación de las abejas. A diferencia del metodo utilizado en la presente.

Por otra parte, la forma de alimentación manejada en un principio (algodón pendiente) ocasionaba que las abejas se atoraran, el alimento goteara y el no poder controlar la cantidad del mismo en su consumo; diseñandose finalmente la "técnica de la ficha".

Como se ha visto, el uso del Triclorfón no tiene efectos satisfactorios sobre los ácaros, ya que aún a dosis letales 100% en las abejas, se encontraron ácaros y sus huevecillos vivos, que se confirmaba mediante la observación directa del movimiento de los adultos y a la coloración presentada tanto de los huevecillos como de los adultos siendo un color blanco transparente a diferencia de los ya muertos que presentaban una coloración amarillenta y sus tejidos evidenciaban cierto grado de degeneración, dependiendo del tiempo que tuvieran de muertos. Esta forma de diagnóstico se logró gracias a disecciones preliminares al experimento final de 2430 abejas, así como para dominar la técnica de disección y conocer el comportamiento de los ácaros en las tráqueas. De tal manera, se llegó a determinar cuando un ácaro y/o huevecillo estaban muertos.

Hay que considerar que el ácaro puede tener periodos de ayuno y/o detectar la presencia del producto en la hemolinfa de la abeja, siendo probable el alimentarse de los detritus celulares de las tráqueas o de la misma mucosa, situación que se interpreta al observar las fotografías de microscopía electrónica en las cuales la mucosa se hallaba parcialmente destruida y que también pudo deberse al procesamiento de la muestra.

Conclusiones.

- a) En la evaluación de diferentes dosis de Triclorfón para el control de la Acariosis en abejas en los niveles estudiados en el presente experimento, no da evidencia de que funcione para el tratamiento de la enfermedad.
- b) Por lo anterior, no es recomendable el uso de Triclorfón para controlar la Acariosis en abejas, debido a su alta toxicidad y a la posible acumulación de residuos en la miel
- c) Se determino la DL50% de 2.98 µg. de Triclorfón por abeja.
- d) Las observaciones realizadas en la presente investigación mediante microscopía directa y microscopía electrónica, permiten abundar en el conocimiento de la biología del ácaro, lo cual da pauta para que otros investigadores incidan en el problema.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Alemany J. M. 1979. La Colmena Moderna-Cría Rentable de las Abejas. Editorial De Vecchi, S.A. Barcelona, España.
- 2.- Bailey L. Patología de las Abejas. Editorial Acribia. España.
- 3.- Bancroft H. 1979. Introducción a la Bioestadística. 10a. Ed. Eudeba Manuales.
- 4.- Batista G.C. DE., Amaral, A. y Pasarella Neto, A. 1975. Toxicidade de alguns inseticidas e acaricida para operarias hibridas de Apis mellifera ligustica L. e Apis mellifera adansonii L. (Hymenoptera, Apidae) Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. 4(1):73-77.
- 5.- Bayer Laboratorios. sin fecha. Manual Técnico de Neguvón. México.
- 6.- Biri M. J.M. Alemany A. 1983. Cría Moderna de las Abejas. Manual Práctico. Editorial De Vecchi, S.A. Barcelona, Esp.
- 7.- Borchert A. 1975. Parasitología Veterinaria. Editorial Acribia.
- 8.- Bortolini C. A. 1983. Cría Rentable de las Abejas. Manual del Apicultor Moderno. Editorial De Vecchi, S.A. Barcelona, Esp.
- 9.- Butler C.G., A.G. Harrison, A. Hobden y F.A. Richard 1970. Cría de Abejas, su Miel y sus Enfermedades. Editorial Acribia. España.

- 10.- Curso Regional en Patología Apícola. Marzo 7-18 de 1988.
Anatomía y Fisiología de la Abeja Melífera. Centro Nacional
 de Parasitología Animal, Cuernavaca, Mor., México.
- 11.- De la Jara A. Fernando D.B.P. sin fecha. Efectos Fisiológicos
y Toxicológicos de Plaguicidas Organofosforados en
Mamíferos. Boletín Técnico.
- 12.- Giordani; 1977. XXVI Congreso Internacional de Apicultura,
Adelaide Australia. 13-19 Octubre 1977. Editorial Apimondia.
 Bucarest, Rumania.
- 13.- Guzmán, N. E. (1986). Apicultura y Abejas Africanas. Editorial
Quetzalcóatl.
- 14.- Guzmán N. E. 1988. Enfermedades de las Abejas Melíferas.
 Manual Elaborado para el Programa de Manejo y Control de la
 Abeja Africanizada del Convenio entre el Banco
 Interamericano de Desarrollo (B.I.D.) y el Organismo
 Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria, (O I R S A).
- 15.- Hernández M. G. 1983. Tesis. Diagnóstico, Tratamiento y
Profilaxis de la Acariosis woodi R. de la Abeja Melífera en
las Principales Zonas Apícolas de México. Universidad
Veracruzana. México.
- 16.- Hoel P. 1974. Estadística Elemental. 2a. Impresión. Editorial
C.E.C.S.A.
- 17.- López M.M. 1980. Tratado sobre las Abejas. Ed. Albatros
Buenos Aires.
- 18.- Montes C., M.U. y Guiróz R., H. VIII Reunión Anual 1987.
Efectos del Salicilato de Metilo y Nitrobenceno en la

Infestación por Acarapis woodi en Abejas. Institución:
Departamento de Parasitología F.M.V.2. U.N.A.M. A.M.P.V.
A.C.

- 19.- Persano, A. L. Apicultura Práctica. Editorial Hemisferio
Sur, Argentina.
- 20.- Root I. 1976. ABC y XYZ de la Apicultura. Librería
Hachette.
- 21.- Sánchez U.M. y M.A. Carmona M. 1985. Informe Técnico Aphis
USDA. U.S.A. Proyecto Aphis. Región Latinoamericana. México.
- 22.- Sumano y Ocampo. 1987. Farmacología Veterinaria. Editorial
Mc. Graw Hill.
- 23.- Zozaya R.A., Guzmán N.E. y Tanus S.E. 1982. Efectos de la
Quimioterapia en el Nivel de Infestación y Producción de
Miel de Colonias de Abejas con Acariosis. Reunión de
Investigación Pecuaria en México, 1983. Dirección General de
Ganadería. S.A.R.H.