



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Efecto del etil-4-bromofenil carbamato administrado por vía oral sobre la mortalidad y alteraciones conductuales en abejas *Apis mellifera*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA:

Angélica Mondragón Estrada

ASESOR: Dr. Fernando Alba Hurtado

COASESOR: Dra. María Guadalupe Prado Ochoa

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2018.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 esta 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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
 SECRETARÍA GENERAL  
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DEPARTAMENTO DE  
 EXÁMENES PROFESIONALES

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
 PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
 Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
 de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

"Efecto del etil-4-bromofenil carbamato administrado por vía oral sobre la mortalidad y alteraciones conductuales en abejas Apis mellifera"

Que presenta la pasante: ANGÉLICA MONDRAGÓN ESTRADA

Con número de cuenta: 31028032-7 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 10 de septiembre de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Gabriel Ruiz Cervantes	
VOCAL	Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez	
SECRETARIO	Dr. Fernando Alba Hurtado	
1er. SUPLENTE	M. en A. Liborio Carrillo Miranda	
2do. SUPLENTE	Dr. Marco Antonio Muñoz Guzmán	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/nrm\*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por abrirme sus puertas para mi formación personal y profesional.

Al Dr. Fernando Alba Hurtado por sus enseñanzas, la confianza, el tiempo y la ayuda en la realización de este trabajo.

A la Dra. María Guadalupe Prado Ochoa, por compartir sus conocimientos y por el apoyo brindado.

A los miembros del jurado: Dr. José Gabriel Ruiz Cervantes, Dr. Tonatiuth Alejandro Cruz Sánchez, Dr. Fernando Alba Hurtado, M. en A. Liborio Carrillo Miranda, y al Dr. Marco Antonio Muñoz Guzmán, por sus observaciones para mejorar este trabajo.

Al Dr. Enrique Ángeles Anguiano y a su equipo de trabajo por el diseño y síntesis del compuesto evaluado en este trabajo.

Al PAPPIT IN222316 por el financiamiento del proyecto.

Al módulo de Apicultura de la FESC por el material biológico utilizado.

Al M. en C. Crisóforo Mercado Márquez por las facilidades prestadas en el Bioterio de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la FESC.

A la M. en C. Sandra Lizbeth Iturbe Requena por brindarme su amistad, por sus consejos, aportaciones y colaboración para la realización de este trabajo.

A mis compañeros del laboratorio M. en C. César Cuenca Verde, MVZ Andrei Hernández Eguía, pMVZ Karen Jacqueline Hernández Vázquez, eMVZ Anahí Villaseñor Rosas y eMVZ Salvador Misael López Juárez por su apoyo y la amistad brindada.

*Dedicada a mis padres  
María del Carmen y Miguel Ángel  
Por el amor y apoyo incondicional en cada uno de mis pasos.*

*A mi hermano y al resto de mi familia  
Por el apoyo que siempre me brindaron y por su cariño.*

*Todos son parte de este logro.*

## ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS.....	III
ABREVIATURAS.....	IV
RESUMEN.....	V
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.Generalidades.....	1
1.1.1. Ecotoxicología.....	1
1.1.2. Problemas de las abejas con insecticidas.....	2
1.2 Generalidades de abejas.....	4
1.2.1 Importancia de las abejas.....	4
1.2.2 Taxonomía.....	5
1.2.3 Hábitat.....	6
1.2.4 Morfología.....	6
1.2.4.1 Cabeza.....	7
1.2.4.2 Tórax.....	8
1.2.4.3 Abdomen.....	9
1.2.5 Comportamiento.....	10
1.2.6 Ciclo de vida.....	10
1.3 Antecedentes de los etil-carbamatos.....	11
1.4 Pruebas de toxicidad.....	13
2. JUSTIFICACIÓN .....	14

3. HIPÓTESIS.....	15
4. OBJETIVOS.....	16
4.1 Objetivo general.....	16
4.2 Objetivo particular.....	16
5. MATERIAL Y MÉTODO.....	17
5.1 Ubicación.....	17
5.2 Material biológico.....	17
5.3 Compuesto a evaluar.....	17
5.4 Prueba de toxicidad oral aguda en abejas <i>Apis mellifera</i> .....	18
5.5 Diseño experimental.....	18
5.6 Parámetros a evaluar.....	19
5.7 Análisis estadístico.....	19
6. RESULTADOS.....	21
7. DISCUSIÓN.....	29
8. CONCLUSIÓN.....	32
9. REFERENCIAS.....	33

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1. Modos específicos de acción relacionados con la actividad insecticida de los plaguicidas.....	3
Cuadro 2. Nombre, estructura y peso molecular del etil-4-bromofenil carbamato.....	17
Cuadro 3. Porcentaje de mortalidad de cada uno de los grupos de abejas a las 4, 24 y 48 horas de iniciada la prueba.....	24
Figura 1. Esquema de una abeja.....	7
Figura 2. Partes de la cabeza de una abeja obrera.....	8
Figura 3. Ciclo de vida de la abeja obrera.....	11
Figura 4. Esquema del diseño experimental.....	20
Figura 5. Porcentaje de mortalidad de abejas alimentadas durante 4, 24 y 48 horas con agua con sucrosa y agua con sucrosa +DMSO.....	21
Figura 6. Porcentaje de mortalidad de abejas a las 4 horas de ser expuestas a diferentes productos utilizados en la prueba.....	22
Figura 7. Porcentaje de mortalidad de abejas a las 24 horas de ser expuestas a diferentes productos utilizados en la prueba.....	23
Figura 8. Porcentaje de mortalidad de abejas a las 48 horas de ser expuestas a diferentes productos utilizados en la prueba.....	23
Figura 9. Consumo de alimento entre el testigo de agua con sucrosa y agua con sucrosa +DMSO a las 4, 24 y 48 horas de iniciada la prueba.....	25
Figura 10. Consumo del tratamiento de abejas <i>Apis mellifera</i> .....	26
Figura 11. Consumo total por abeja durante la prueba con los diferentes productos utilizados.....	27
Figura 12. Abejas tratadas con los diferentes productos.....	28

## ABREVIATURAS

OIE	World Organization for Animal Health
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development
LQM 919	Nombre clave del etil-4-bromofenil carbamato
DMSO	Dimetilsulfóxido

## RESUMEN

La resistencia de la garrapata *Rhipicephalus microplus* en el ganado bovino a ixodicidas comerciales, ha requerido el desarrollo de nuevas alternativas farmacológicas para su control. Los estudios de toxicidad constituyen hoy día una parte muy importante del desarrollo de los nuevos fármacos. Los polinizadores son los modelos biológicos utilizados para evaluar los efectos de los productos químicos en el ambiente. En la FES-Cuautitlán se ha diseñado y sintetizado un nuevo carbamato (etil-4-bromofenil carbamato, identificado como LQM 919) con actividad sobre cepas de garrapatas resistentes a ixodicidas convencionales, sin embargo, no existen estudios sobre su impacto en el ambiente, por lo que, en este estudio se evaluaron los efectos de diferentes dosis de este nuevo carbamato sobre la mortalidad y las alteraciones conductuales de abejas *Apis mellifera*. Se utilizó una prueba de toxicidad oral aguda en abejas *Apis mellifera* recomendada por la OECD (guía 213). Por triplicado, grupos de aproximadamente 20 abejas (60 en total) fueron tratadas con diferentes concentraciones del LQM 919 (0, 0.167, 0.334, 0.668, 1.336, 2.672, 5, 10 y 20 mg/mL), como grupos testigos positivos se utilizaron abejas tratadas con los pesticidas comerciales flumetrina (Baytril®) y propoxur (99% de pureza). Las abejas de los grupos testigo positivo, tuvieron una mortalidad del 69-100% y presentaron alteraciones en la conducta (incapacidad de volar, giros en círculo en el piso, incoordinación, incapacidad de voltearse y extensión de la probóscide). Las abejas de todos los grupos que fueron tratados con LQM 919 presentaron una mortalidad inferior al 5% y no presentaron diferencias ( $p < 0.05$ ) con la mortalidad observada con el grupo de abejas que solo recibieron el vehículo. Nuestros resultados muestran que el carbamato LQM 919 es menos tóxico para las abejas que los pesticidas comerciales flumetrina y propoxur y que por lo tanto, podría ser menor su impacto en el ambiente, si se usara para el control de las garrapatas.

## **1. INTRODUCCIÓN**

Las infestaciones de garrapatas *Rhipicephalus microplus* en el ganado bovino se encuentran ampliamente distribuidas en regiones tropicales y subtropicales de varias partes del mundo, incluyendo México. Una de las estrategias utilizadas para su control es la aplicación de ixodicidas químicos. (Soberanes *et al.*, 2002). Actualmente el principal problema para el control de *R. microplus* es la existencia de cepas resistentes a los ixodicidas comerciales, es por esto que se han evaluado nuevos productos con el fin de encontrar alternativas farmacéuticas (Alonso-Díaz *et al.*, 2006).

El desarrollo de un nuevo ixodicida requiere no solo de la evaluación de su efectividad sobre las garrapatas, sino también de su posible efecto tóxico en los mamíferos sobre los que se piensa utilizar el ixodicida y sobre el potencial poder tóxico en otros organismos presentes en el ecosistema, a lo que se ha llamado poder ecotóxico (Rivera *et al.*, 2006).

En este trabajo se evaluó el efecto sobre abejas de un carbamato que en estudios anteriores ha mostrado una alta efectividad sobre garrapatas *R. microplus*. Se utilizaron abejas por ser uno de los principales modelos biológicos para evaluar los efectos adversos de los productos químicos en el ambiente; ya que tienen una función preponderante en el equilibrio de los ecosistemas (OIE, 2014).

### **1.1 Generalidades**

#### **1.1.1 Ecotoxicología**

El ecosistema se define como el conjunto de las condiciones del ambiente, de los organismos y de sus propias interrelaciones. El medio ambiente engloba a todos los seres vivos del planeta, el aire, el agua y el suelo como lugar donde se desarrolla su ciclo vital, procurando mantener un equilibrio ecológico (Capo, 2007).

En 1974, Truhaut definió a la Ecotoxicología como la rama de la Toxicología dedicada al estudio de los efectos tóxicos causados por los contaminantes naturales

o sintéticos, sobre los constituyentes de los ecosistemas, considerando de forma integral a los animales (incluyendo el hombre), vegetales y microorganismos (Repetto, 1995).

### **1.1.2 Problemas de las abejas con plaguicidas**

Los insecticidas son una clase particular de plaguicidas, diseñados específicamente para matar a las plagas de insectos en cultivos y ganado, o en entornos domésticos. Matan o repelen en dosis lo bastante altas (letales), pero también pueden tener efectos no intencionados (subletales) en insectos que no son su objetivo, entre ellos se encuentran los enemigos naturales de las plagas y los polinizadores (Desneux *et al.*, 2007). A causa de su función y su naturaleza intrínseca, los insecticidas son el grupo de plaguicidas que supone el riesgo más directo para los polinizadores (Reyes *et al.*, 2013).

Los insecticidas pueden inducir efectos subletales, letales y adversos en las abejas melíferas, ya sea por contacto directo durante el tratamiento de la planta, contacto residual con las plantas tratadas o exposición a polen y néctar contaminados. Los efectos subletales se pueden observar a niveles de exposición inferiores a los que provocan la acción insecticida (Belzunces *et al.*, 2012).

Los efectos de los insecticidas se discuten más en términos de mecanismos de acción que en términos de impactos ecotoxicológicos. La atención se centra en los insecticidas neurotóxicos de las familias de organofosforados, carbamatos, piretroides, neonicotinoides y fenilpirazoles. Los modos de acción de los principales grupos de plaguicidas se presentan en el cuadro 1, (Belzunces *et al.*, 2012).

Clase de insecticidas	Objetivo neuronal principal	Modo de acción	Efectos
<b>Neonicotinoides</b>	Receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR)	Agonista	Hiperactivación de las neuronas colinérgicas
<b>Organofosforados</b>	Acetilcolinesterasa (AChE)	Inhibición	Hiperactivación de las neuronas colinérgicas
<b>Carbamatos</b>	Acetilcolinesterasa (AChE)	Inhibición	Hiperactivación de las neuronas colinérgicas
<b>Piretroides</b>	Canal de Na <sup>+</sup> con giro de voltaje	Apertura prolongada de canales de sodio	Aumento de la permeabilidad de la membrana nerviosa
<b>Fenilpirazoles</b>	Ácido gamma-aminobutírico (GABA)	Antagonista	Hiperactivación neural
	Canales de cloruro activados por glutamato	Antagonista	Hiperactivación neural

Cuadro 1. Modos específicos de acción relacionados con la actividad insecticida de los plaguicidas. (Modificado de Belzunces *et al.*, 2012)

Las interacciones moleculares entre los insecticidas y sus objetivos biológicos pueden conducir a efectos que perjudican el comportamiento y la fisiología. La clara distinción entre efectos conductuales y fisiológicos podría ser cuestionable porque los efectos de comportamiento resultantes de una alteración de las funciones cognitivas también podrían considerarse fisiológicos en base a las perturbaciones metabólicas que los indujeron (Belzunces *et al.*, 2012).

Los insecticidas pueden influir en el comportamiento de las abejas en relación con los sentidos olfativos y gustativos, ya sea directamente por inducción

de una atracción o disuasión, o indirectamente por actuar sobre los procesos fisiológicos involucrados en el reconocimiento del olor o en el tratamiento neural de las señales gustativas y olfativas (Belzunces *et al.*, 2012).

Las modificaciones del comportamiento de las abejas provocadas por los insecticidas, pueden considerarse como resultado de una combinación de cambios que ocurren en los niveles neural y fisiológico. A nivel neuronal, parece obvio que los insecticidas neurotóxicos pueden perjudicar el funcionamiento correcto de las células neuronales, con repercusiones en actividades fisiológicas como la secreción, la actividad muscular, las funciones cognitivas, la respiración o la digestión. Sin embargo, la acción de los insecticidas se puede ejercer a través de la perturbación en los programas neuronales que regulan la vida de las abejas (Belzunces *et al.*, 2012)

## **1.2 Generalidades de abejas:**

### **1.2.1 Importancia de las abejas**

Muchos de nuestros alimentos dependen en gran medida de la polinización entomófila, un servicio clave que abejas y otros polinizadores prestan al ecosistema. Sin esta función esencial, llevada a cabo por insectos que transportan con eficacia el polen de una flor a otra, aproximadamente un tercio de los cultivos que consumimos tendrían que ser polinizados por otros medios o producirían una cantidad de alimento significativamente menor (Kremen *et al.*, 2007).

La apicultura en México tiene una gran importancia socioeconómica y ecológica, ya que es considerada como una de las principales actividades pecuarias generadora de divisas. Generalmente esta actividad se asocia únicamente con producción de miel, polen, jalea real, propóleos, sin embargo, las abejas son fundamentales para un equilibrio del medio ambiente ya que al obtener el alimento de las flores fomentan en las plantas la capacidad de fecundarse, actividad llamada polinización cruzada, con ésta, las plantas generan el oxígeno suficiente para la vida y además, aumentan el rendimiento en los cultivos, lo que favorece un incremento

en alimentos de origen vegetal, materia prima textil, e insumos agropecuarios (SAGARPA, 2016).

La FAO considera que de las poco más de 100 especies de cultivos que proporcionan el 90% del suministro de alimentos para 146 países, 71 son polinizadas por abejas (casi toda silvestres), y muchas otras por trips, avispa, moscas, escarabajos, polillas y otros insectos. Una polinización insuficiente se traduce en poca producción de alimento (FAO, 2005).

El contacto con los polinizadores también puede ser una forma de mantener la diversidad genética de los cultivos (FAO, 2005).

La abeja es un insecto social. Los rasgos individuales y la organización social caracterizan la biología de las abejas. La colonia debe ser considerada como un superorganismo con características sociales, una organización compleja, con mecanismos de homeostasis, reproducción y defensa (Vidal-Naquet, 2015). Las colonias están compuestas de entre 20 000 a 50 000 individuos, comprendiendo una reina, varios miles de zánganos (en primavera) y obreras (Jean-Prost, 2007)

.La especie de abeja más utilizada por el ser humano en polinización, aunque no la única, es *Apis mellifera*, principalmente por sus hábitos generalistas de forrajeo y su facilidad de manejo (Nates-Parra, 2005)

### **1.2.2 Taxonomía de las abejas**

Las abejas pertenecen al reino *Animal*, a la clase *Insecta*, al orden *Hymenoptera* y a la familia *Apidae*.

La familia *Apidae* consta de dos *subfamilias*: *Bombinae* y *Apinae*. La *Apinae* se subdivide en las tribus *Meliponini* (abejas sin aguijón) y *Apini* (las abejas melíferas o productoras de miel) (Ros, 2009).

La tribu *Apini* presenta un solo *Género*: el *Apis*, en el cual existen 9 especies:

- *Apis dorsata*.

- *Apis laboriosa*.
- *Apis florea*.
- *Apis andreniformes*.
- *Apis cerana*.
- *Apis koschewnikovi*.
- *Apis negrocinta*.
- *Apis nuluensis*.
- *Apis mellifera* (Jean-Prost, 2007).

### **1.2.3 Hábitat**

Las obreras, la reina y los machos de la colonia viven apretados en racimos unos contra los otros, en una cavidad, árbol hueco, grieta rocosa o colmena. Allí, las obreras construyen con cera tabiques verticales y paralelos, los panales, recubiertos por ambas caras por pequeños alojamientos hexagonales, los alveolos o celdillas. Utilizando la cera que secretan de sus glándulas cereras. En el interior de la vivienda, cada individuo desempeña una tarea que permite al conjunto de la población adaptarse a las condiciones de la estación, prosperar y multiplicarse (Jean-Prost, 2007).

### **1.2.4 Morfología**

El exoesqueleto es la capa externa dura que aloja en su interior los órganos blandos. El exoesqueleto es de naturaleza quitinosa, protege las tres partes en que se divide el cuerpo de la abeja: cabeza, tórax y abdomen (Fig. 2); en las dos primeras formando cajas rígidas y la última en forma extensible.

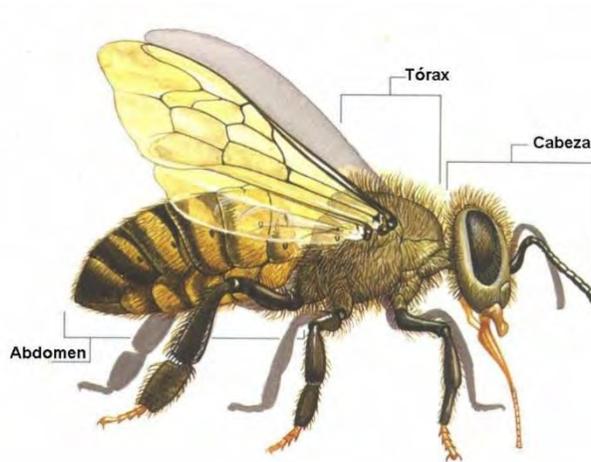


Fig.1: Esquema de una abeja: Cabeza, tórax y abdomen. (Llorente, 2014).

#### 1.2.4.1 Cabeza

En la cabeza poseen dos ojos compuestos, tres ojos simples u ocelos, dos antenas (donde residen entre otras estructuras sensoriales, los sentidos del tacto y del olfato) y los apéndices que rodean la boca (mandíbulas, maxilas y labro, formado por la unión de un segundo par de maxilas) que constituyen un aparato bucal (Fig. 3). Las mandíbulas son usadas para comer polen, trabajar la cera y realizar cualquier labor que requiera estructuras que puedan agarrar algo. Cuando tienen que ingerir líquidos (néctar, agua o miel), forman una estructura no permanente que recibe el nombre de probóscide; esta estructura es un tubo que resulta de juntar las maxilas y el labio (Padilla y Cuesta, 2003)

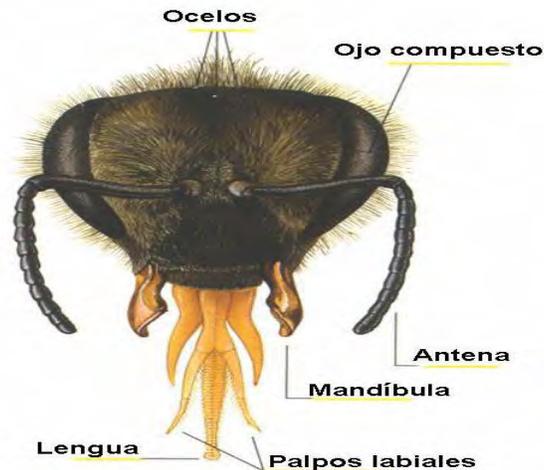


Fig. 2: Partes de la cabeza de una abeja obrera (Llorente).

### 1.2.4.2 Tórax

El tórax soporta las patas y las alas, así como la cabeza y el abdomen, está compuesto por cuatro segmentos (protórax, mesotórax, metatórax y propodeo) íntimamente unidos. Los tres primeros segmentos presentan un par de patas, además el 2° y 3° poseen cada uno un par de alas, siendo las anteriores de mayor tamaño que las posteriores; las dos alas del mismo lado se pueden unir gracias a unos ganchos (hamuli) situados en el borde anterior del ala posterior. Las patas tienen cinco artejos; coxa, trocánter, fémur, tibia y tarso, el tarso a su vez está formado por un artejo grande y cuatro pequeños, finalizando el último en dos uñas y una especie de ventosa (el empodium, empleado para agarrarse a las superficies lisas) cada par de patas presenta una serie de modificaciones.

El primer par está dotado de una escotadura o concavidad y un pequeño lóbulo parecido a un espolón, que se utilizan para la limpieza de las antenas. La tibia del segundo par cuenta con una espina que se emplea para desprender las bolas de polen. El tercer par posee una depresión o foseta (corbícula o cestillo del polen) empleada para el transporte del polen, así mismo hay una fila de pelos (peine del polen); el primer artejo de los tarsos tiene 10 filas de pelos denominados cepillos del polen, empleados para recoger este producto (Padilla y Cuesta, 2003).

### 1.2.4.3 Abdomen

El abdomen contiene las principales vísceras del animal, está constituido por 9 segmentos (realmente son 10, ya que el primero se integra en el tórax), de los que 6 son visibles (del II al VII); los segmentos VIII, IX y X están integrados en el VII y han cambiado su forma. El último visible está provisto de un aguijón.

Cada segmento está formado por una placa dorsal denominada terguito y una ventral que recibe el nombre de esternito, conectadas gracias a membranas intersegmentales. En los esternitos IV, V, VI y VII (segmentos visibles 3 a 6) se localizan dos áreas grandes (denominadas espejos) que se corresponden con las glándulas cereras; la cera se segrega como líquido, pero al contacto con el aire se solidifica formando pequeñas escamas. En el segmento abdominal VII (en la parte dorsal de la membrana que sirve de articulación con el terguito anterior) se sitúa la glándula odorífera o de Nasanoff, que es utilizada para emitir sustancias señalizadoras (Padilla y Cuesta, 2003).

El aparato defensivo consta de tres partes: una vesícula que es el receptáculo del veneno, dos glándulas productoras de este producto y un aguijón. El aguijón de las abejas se encuentra situado en una cámara localizada en el extremo del abdomen, y exteriormente sólo sobresale su extremo filoso (denominado lanceta). La lanceta o aguijón está formada por tres piezas: la superior se denomina estilete y las inferiores lancetas (están provistas de púas; las lancetas de las reinas tienen menos púas y son más pequeñas que las de las obreras), en el centro se origina una cavidad que es el conducto del veneno. (Padilla y Cuesta, 2003).

### **1.2.5 Comportamiento**

Cada colonia de abejas tiene una reina. Su tarea más importante es poner huevos, de los cuales nacen las crías también llamadas larvas. Después de cinco días de vida la reina alcanza la madurez sexual y sale de la colmena para hacer su vuelo de fecundación. Al volar encuentra y se aparea con un promedio de 8 zánganos o hasta llenar la espermateca, regresa a la colmena y a la semana empieza a poner huevos.

Los zánganos son los machos de la colonia. La tarea de los zánganos es fecundar a la reina virgen. Los que la fecundan mueren, esto asegura no caer en una consanguinidad. Están incapacitados para recoger néctar de las flores porque tienen la lengua muy corta y carecen de aguijón (Padilla y Cuesta, 2003)

La abeja obrera, al igual que la reina, es una hembra, que no se ha desarrollado para la reproducción. Ellas son las encargadas de efectuar todos los trabajos dentro y fuera de la colmena, los cuales realizan de acuerdo a la edad y desarrollo glandular. Del día 1 al 3 limpian los panales y dan calor a los huevos y larvas; del 4 al 12 preparan y cuidan la alimentación de las larvas y también producen jalea real; del 13 al 18 producen cera y construyen panales, además de que están capacitadas de ser necesaria la crianza de una nueva reina; del 19 al 20 defienden la colonia no permitiendo la entrada de insectos extraños o abejas de otras colonias; del 21 al 32-42 recolectan en el campo néctar, polen, agua y propoleos para cubrir las necesidades de la colonia (SAGARPA).

La duración de vida de la abeja obrera depende de la cantidad de trabajo que realiza. En época de cosecha, debido al exceso de labores, vive solo unas 6 semanas. Fuera de esta época pueden vivir hasta 6 meses (SAGARPA)

### 1.2.6 Ciclo de vida

Una abeja obrera nace de un huevo fecundado que la reina ha puesto en una celdilla normal con alimento (Ritter, 2001).

El huevo es de forma alargada y ligeramente curvado, siendo en uno de sus extremos algo más grueso; tiene una longitud aproximada de 1.5 a 1.6 mm, un diámetro de 0.5 mm, un peso de 180µg y es de color blanco lechoso (Centro de estudios agropecuarios, 2001).

El primer día, el huevo está en perpendicular al fondo de la celdilla; después empieza a inclinarse hasta que, al tercer día, se tiende sobre el fondo y se rompe (Ravazzi, 2005). Emerge una larva ápoda, sin alas, la cual es alimentada por las nodrizas con abundante jalea real durante los 3 primeros días; luego el régimen alimenticio cambia (Centro de estudios agropecuarios, 2001).

La larva permanece en el fondo de la celda con el cuerpo curvado y poco antes de empupar se mueve y coloca la cabeza dirigida hacia la boca de la celda. Hila un capullo dentro del cual se aísla y al mismo tiempo las obreras cierran la celdilla en forma plana; al transcurrir 21 días desde la puesta, la obrera opercula la celdilla emergiendo de la misma (Fig. 4) (Centro de estudios agropecuarios, 2001).

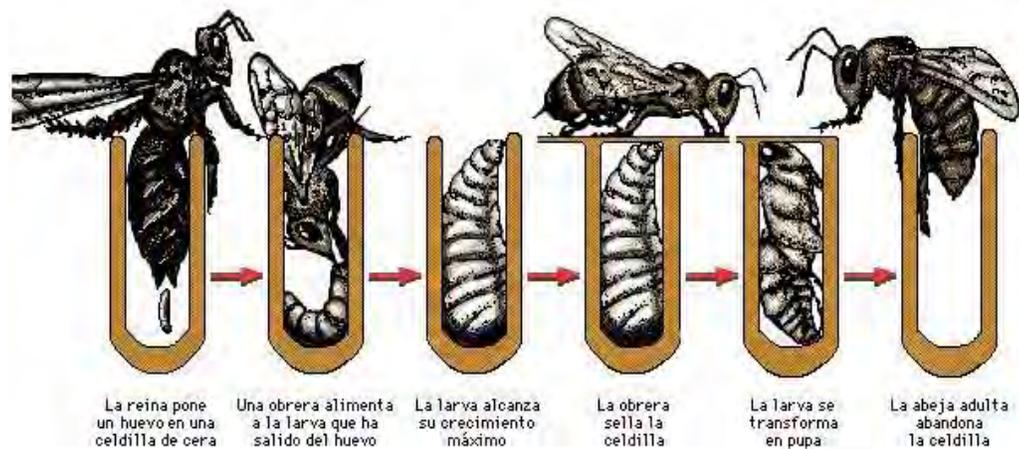


Fig. 3: Ciclo de vida de la abeja obrera (Gérez, 2001).

### 1.3 Antecedentes de los etil-carbamatos

En el Laboratorio de Química Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán se diseñó y sintetizó una serie de nuevos etil-carbamatos con actividad biológica, a los que se estudió su actividad antibiótica sobre *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, *Enterobacter aerogenes* y *Helicobacter pylori* (Bernal, 2000; Reyes González, 2007), su actividad antiparasitaria sobre *Giardia intestinalis* y *Hymenolepis nana* (Jiménez-Cardoso *et al.*, 2004; Bernabe-Pérez, 2007) y su actividad antimicótica contra *Trichophyton mentagrophytes* y *Aspergillus fumigatus* (Reyes-González, 2007). Sin embargo, el principal efecto de estos carbamatos se observó sobre cepas susceptibles y resistentes de la garrapata *R. microplus*.

En estudios tanto *in vivo* como *in vitro* se observó una alta eficacia del carbamato LQM 919 como ixodicida (Iturbe-Requena, 2014; Pérez-González *et al.*, 2013). La inmersión de hembras repletas de *R. microplus* en diferentes concentraciones del etil-4-bromofenil carbamato afecta el ovario de las garrapatas, interfiere en la ovogénesis y causa apoptosis en este órgano, también se ha observado que a diferencia de otros carbamatos, su mecanismo de acción es independiente a la inhibición de la enzima acetil colinesterasa (Prado-Ochoa *et al.*, 2014b). Lo anterior sugiere que este etil-carbamato podría ser utilizado para el control de la garrapata *R. microplus*.

En estudios posteriores se determinó la toxicidad oral aguda y dérmica aguda del etil-4-bromofenil-carbamato en ratas. La dosis letal 50 (DL50) oral fue de 300-2000 mg/kg y la dérmica de >5000mg/kg, aunque se presentaron algunos signos de toxicidad en la exposición oral, en la exposición dérmica no se observaron signos de toxicidad en ninguna de las dosis empleadas. Con lo anterior se demostró que los carbamatos evaluados son de baja toxicidad oral y dérmica (Prado-Ochoa *et al.*, 2014a). También se evaluó la toxicidad subcrónica en ratas, en este estudio se observaron alteraciones en algunos de los parámetros evaluados como el hematocrito, porcentaje de reticulocitos, algunas enzimas hepáticas y creatinina en las ratas expuestas a los carbamatos y se demostró la reversibilidad de estas

alteraciones al suspender la exposición a los productos. Con este estudio fue posible determinar que la dosis sin efectos adversos observables (NOAEL) es de 12.5 mg/kg/día (Prado-Ochoa et al., 2014c).

Finalmente, se evaluó por medio de la prueba de micronúcleos en sangre periférica de rata el daño genético *in vivo* producido por los carbamatos evaluados, además se evaluó el efecto de los carbamatos *in vitro* sobre la cinética de proliferación celular en cultivos de linfocitos humanos. Los resultados de este estudio mostraron el bajo potencial genotóxico de los carbamatos estudiados en algunas dosis empleadas, así como su efecto sobre el ciclo celular (Prado-Ochoa, 2013).

#### **1.4 Pruebas de ecotoxicidad**

Existen diversas pruebas de laboratorio para evaluar los efectos que producen los insecticidas y otros productos químicos en los ecosistemas. Entre estas se encuentra la prueba de toxicidad oral aguda en abejas *Apis mellifera* recomendada por la OECD en su guía 213. En este ensayo las abejas son expuestas a diferentes dosis del producto químico disperso en una solución de sucrosa al 50%. La mortalidad se registra diariamente durante al menos 48 horas, pudiéndose extender hasta 96 horas. Las condiciones que requieren las abejas deben de ser registradas a lo largo de la prueba (OECD, 1998).

## 2. JUSTIFICACIÓN

Las infestaciones de garrapatas *Rhipicephalus microplus* en el ganado bovino se encuentran distribuidas en todo el mundo. Una de las estrategias para el control de la infestación es la aplicación de ixodicidas químicos. (Soberanes *et al.*, 2002). Actualmente el principal problema para el control de *R. microplus* es la existencia de cepas resistentes a los ixodicidas comerciales, por lo que se ha requerido el desarrollo de nuevas alternativas farmacológicas para su control (Pérez-González *et al.*, 2013).

Los estudios de ecotoxicidad son importantes cuando se desarrolla un nuevo fármaco. Los plaguicidas pueden provocar daños colaterales ya que su efecto letal o subletal puede presentarse en organismos no objetivo (como son los polinizadores) a causa de su función. Los insecticidas son el grupo de plaguicidas que supone el riesgo más directo para los polinizadores, principalmente en las abejas *Apis mellifera* (Reyes *et al.*, 2013).

Las abejas son uno de los principales modelos biológicos que se utilizan para evaluar los efectos adversos de los productos químicos en el ambiente; ya que tienen una función preponderante en el equilibrio de los ecosistemas (OIE, 2014). Muchos de nuestros alimentos dependen en gran medida de la polinización, un servicio clave que abejas y otros polinizadores prestan al ecosistema. Sin esta función esencial, aproximadamente un tercio de los cultivos que consumimos tendrían que ser polinizados por otros medios o producirían una cantidad de alimento significativamente menor (Kremen *et al.*, 2007).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto toxicológico del compuesto etil-4-bromofenil carbamato administrado en abejas *Apis mellifera* para que pueda ser utilizado como una alternativa en el control de la garrapata *R. microplus*.

### **3. HIPÓTESIS**

La ingestión del etil-4-bromofenil carbamato aumenta la mortalidad y/o produce alteraciones conductuales en abejas *Apis mellifera*.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de diferentes dosis del etil-4-bromofenil carbamato administrado por vía oral a abejas *Apis mellifera*.

### 4.2 Objetivos particulares

- Comparar la mortalidad producida por la administración oral de diferentes dosis del etil-4-bromofenil carbamato, propoxur y flumetrina en abejas *Apis mellifera*.
- Evaluar las alteraciones conductuales producidas por la administraron las diferentes dosis del etil-4-bromofenil carbamato.
- Registrar a diferentes periodos el consumo de alimento después de la administración oral de diferentes concentraciones de etil-4-bromofenil carbamato y propoxur en abejas *Apis mellifera*.

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 Ubicación

Este trabajo se realizó en el laboratorio 1 “Inmunología y biología molecular de parásitos” y en la Unidad de Aislamiento y Bioterio de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM.

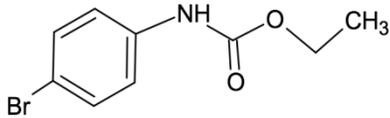
### 5.2 Material biológico

Se utilizaron abejas obreras adultas *Apis mellifera*, de la misma colonia, edad, libres de enfermedades y que no se encontraban bajo ningún tratamiento. Fueron obtenidas de la colmena #6 del apiario parcela 25 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

### 5.3 Compuesto a Evaluar:

Se utilizó el etil 4-bromofenil carbamato, que se diseñó y sintetizó por el grupo de trabajo del Dr. Enrique Ángeles Anguiano del Laboratorio de Química Medicinal de la FESC (Angeles *et al.*, 2000).

Su nombre químico, estructura, peso molecular y clave se presentan en el siguiente cuadro. El compuesto se identificará por su clave.

NOMBRE QUÍMICO	ESTRUCTURA	PESO MOLECULAR (g/mol)	CLAVE
etil 4-bromofenil carbamato		244	LQM 919

Cuadro 2: Nombre, estructura y peso molecular del etil-4-bromofenil carbamato de nueva síntesis utilizados en el proyecto.

#### **5.4 Prueba de toxicidad oral aguda en abejas *Apis mellifera*:**

Esta prueba es recomendada por la OECD en su guía 213, la cual se basa en protocolos de diversas organizaciones internacionales. Es una prueba *in vitro* diseñada para conocer la toxicidad aguda por vía oral de pesticidas y otros químicos en abejas obreras *Apis mellifera* (OECD, 1998). Los pesticidas se pueden probar como ingredientes activos o como productos formulados.

A las abejas se les ofrece en diferentes concentraciones el producto a evaluar disuelto en sucrosa al 50% durante 4 horas. Posteriormente se registra la mortalidad a las 4, 24 y 48 horas, pudiéndose extender la duración de la prueba hasta 96 horas.

#### **5.5 Diseño experimental**

En la Fig. 5 se muestra un esquema del diseño experimental. Se tomó una muestra de abejas obreras de la misma colmena (colmena #6), libres de enfermedades y que no se encontraban bajo ningún tratamiento, del apiario parcela 25 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

. Una vez tomada la muestra las abejas se pasaron a un recipiente de plástico transparente de 1 litro, en grupos de aproximadamente 20 individuos y fueron alojadas en la unidad de aislamiento y bioterio de la Unidad Multidisciplinaria de la FESC durante un día, para adaptarlas a las condiciones experimentales. Se ofreció alimento *ad libitum* que consistió en una solución de sucrosa al 50%. Se mantuvieron con una temperatura de  $26\pm 2^{\circ}$  C y una humedad relativa de 50-70%.

Al día siguiente las abejas fueron privadas de alimento por un periodo de dos horas para ofrecerles 200  $\mu$ L de la mezcla que contenía el LQM 919 disuelto en dimetil-sulfóxido (4%) a diferentes concentraciones (0.167, 0.334, 0.668, 1.336, 2.672, 5, 10 y 20 mg/mL) en una solución de sucrosa al 50%, se utilizaron 3 grupos de abejas por concentración. El tiempo límite para el consumo del tratamiento fue de 4 horas. Una vez consumidas las dosis, las abejas fueron alimentadas por el resto del periodo de la prueba únicamente con solución de sucrosa al 50% *ad libitum*. Como testigo positivo se utilizó flumetrina (Bayticol 3% ®) y propoxur (99%

de pureza) (0.025, 0.06, 0.12, 0.5 y 1 mg/mL). Como testigo negativo se utilizó dimetil-sulfóxido (4%) y solución de sucrosa al 50%.

La duración de la prueba fue de 48 horas después de que la dosis fue consumida y reemplazada por la solución de sucrosa al 50%.

## 5.6 Parámetros a evaluar

**Mortalidad:** Se registró a partir de las 4 horas después de iniciar la prueba, y después a las 24 y 48 horas.

**Consumo de alimento:** Se registró el consumo por grupo a las 4, a las 24 y a las 48 horas de iniciada la prueba.

**Alteraciones conductuales:** Se observó si las abejas presentaban alteraciones como vueltas en círculo, incapacidad de voltearse, e incapacidad de alimentarse.

## 5.7. Análisis estadístico

Los datos de mortalidad y consumo de alimento obtenidos de estas pruebas fueron procesados mediante un análisis de varianza de una vía y para obtener las diferencias se utilizó la prueba de Tukey, con el programa GraphPad Prism® con un nivel de confianza del 95%.

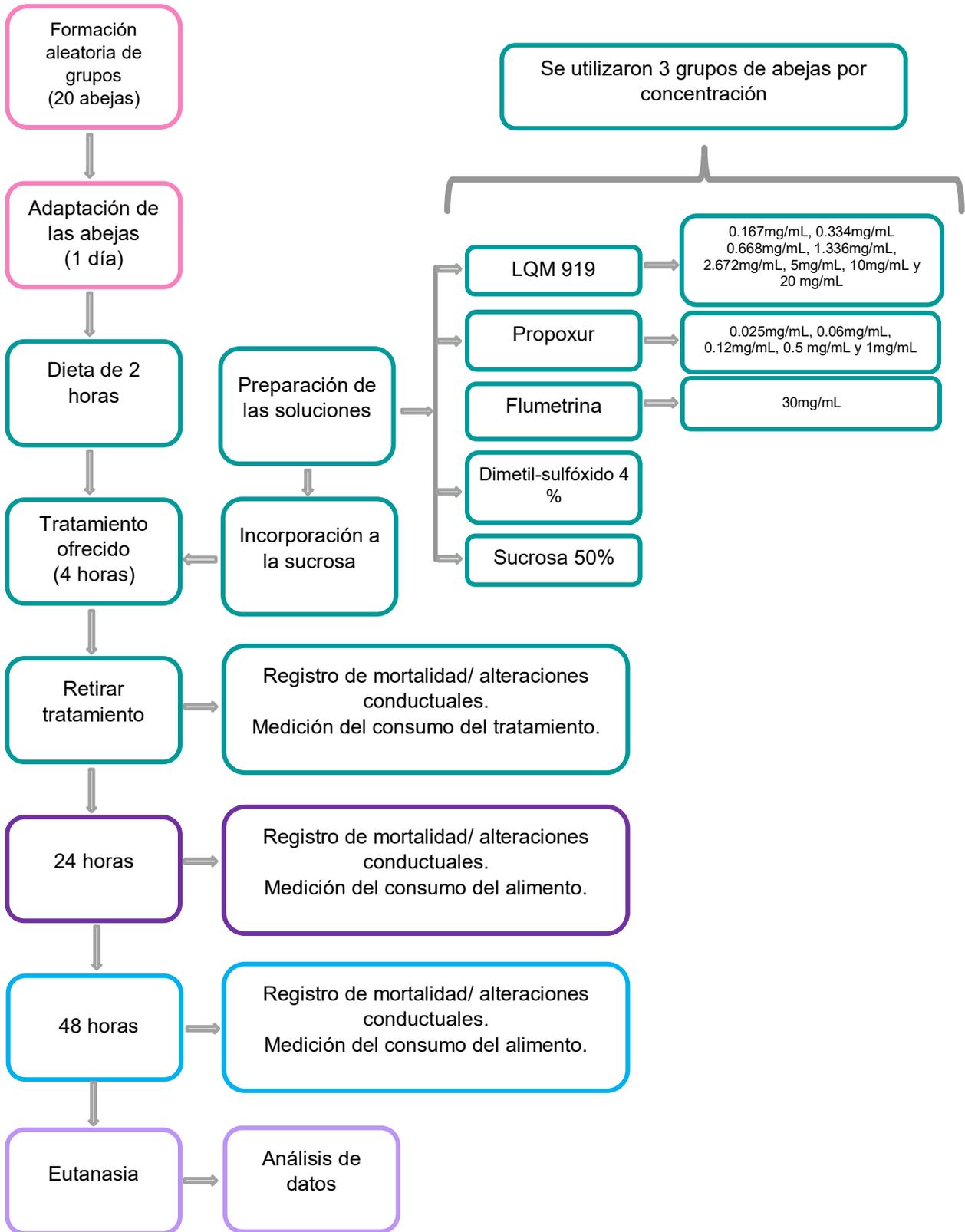


Fig. 4: Esquema del diseño experimental

## 6. RESULTADOS

### Mortalidad de las abejas

En la figura 5 se compara la mortalidad producida en grupos abejas a las que se les administró por vía oral agua con sucrosa contra la mortalidad producida en grupos de abejas a las que se administró agua con sucrosa+ DMSO (ambos grupos se utilizaron como grupos testigos negativos durante el resto del experimento). No se observaron diferencias ( $p>0.05$ ) entre ambos tratamientos. La mortalidad mayor se observó en las abejas del grupo tratado con sucrosa+ DMSO y fue del 3.14%, este valor se encuentra dentro de rango de validez de la prueba de toxicidad oral aguda en abejas (OECD-213) que requiere una mortalidad menor al 10%.

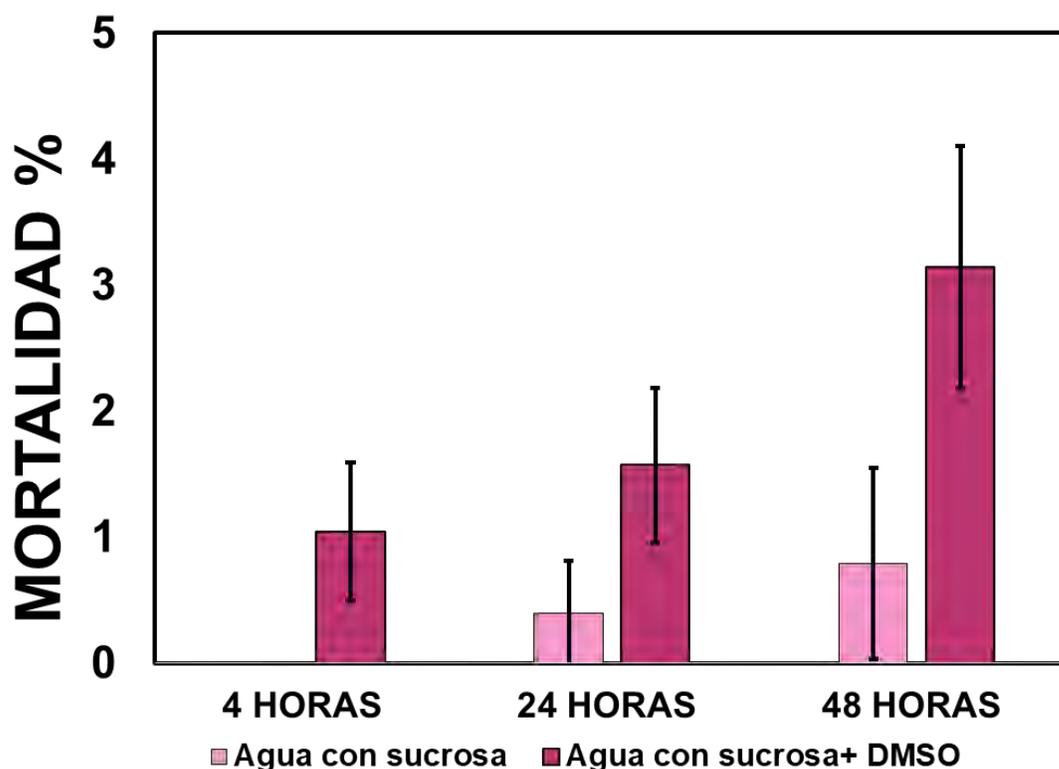


Figura 5. Porcentajes de mortalidad ( $\pm$ de) de abejas *Apis mellifera* alimentadas durante 48 horas con agua con sucrosa y agua con sucrosa+ DMSO.

Los porcentajes de mortalidad de abejas expuestas al LQM 919 durante 4, 24 y 48 horas fueron similares (Figuras 6, 7 y 8). Estos porcentajes fueron comparados con el testigo negativo de agua con sucrosa+ DMSO y los testigos positivos de flumetrina y propoxur a diferentes concentraciones. No se observaron diferencias ( $p>0.05$ ) de mortalidad en las abejas de los grupos testigo negativo y las abejas de los grupos tratados con diferentes concentraciones del LQM 919. La mortalidad de abejas de los grupos testigo negativo y las abejas de los grupos tratados con las diferentes concentraciones del LQM 919 fue menor ( $p<0.001$ ) que la mortalidad observada en todos los grupos testigo positivo. No se observaron diferencias entre los grupos testigos positivos. En el cuadro 3 se muestra la mortalidad a las 4, 24 y 48 horas de que inició la prueba.

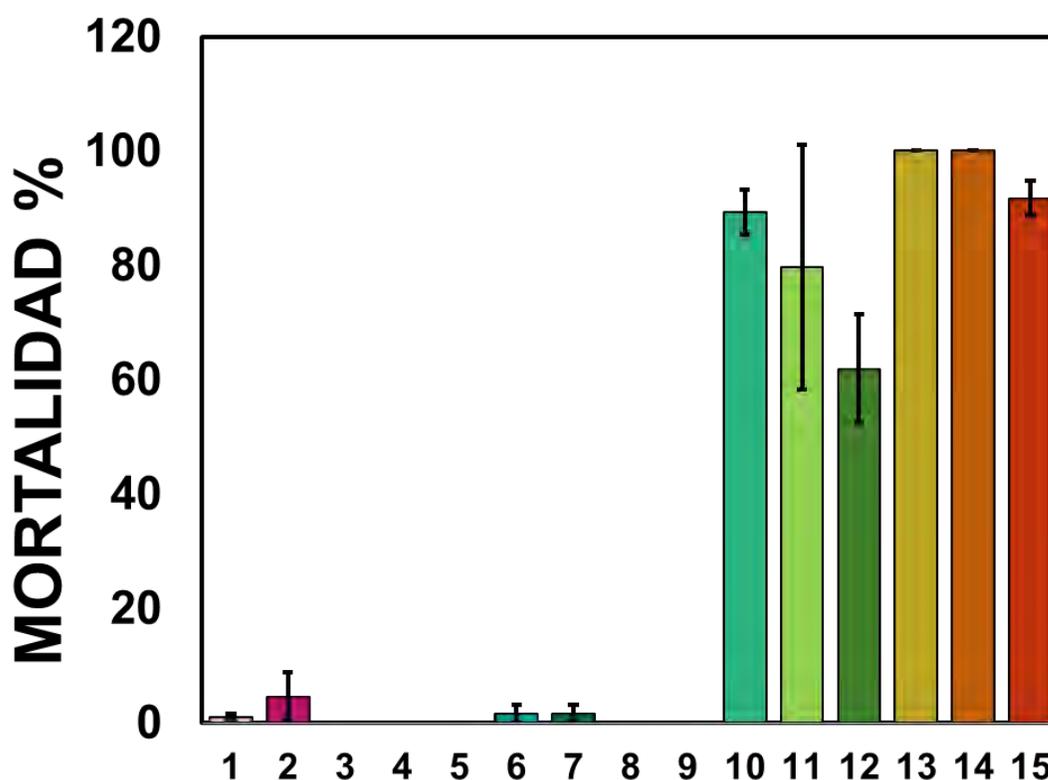


Figura 6. Porcentajes de mortalidad ( $\pm$ de) de abejas *Apis mellifera* a las 4 horas de ser expuestas a los diferentes productos utilizados en la prueba. 1) Agua con sucrosa+ DMSO. 2) LQM 919 0.167mg/mL. 3) LQM 919 0.334mg/mL.

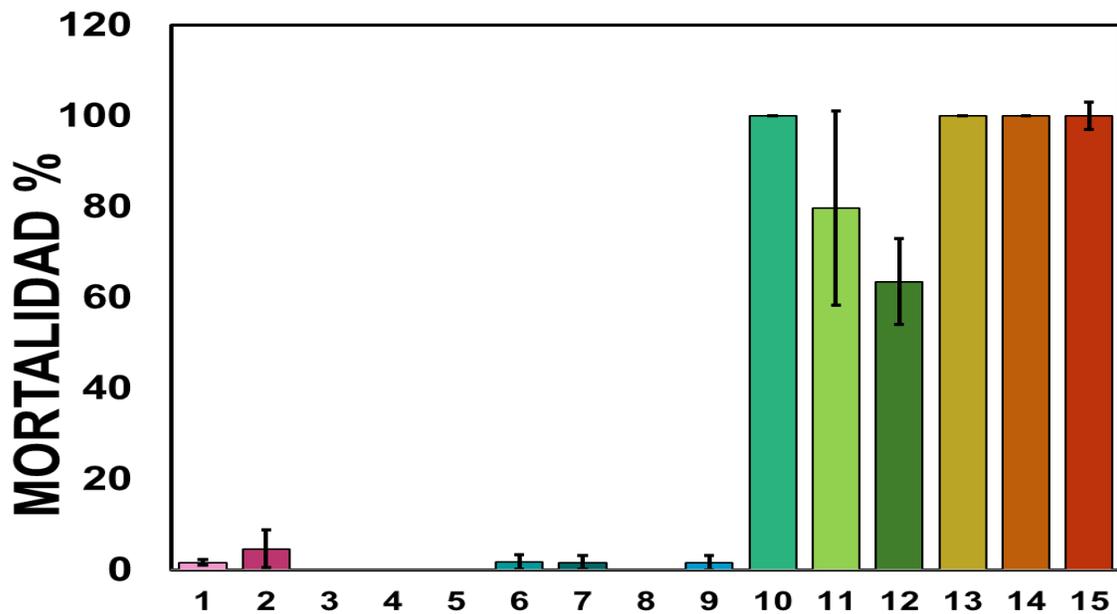


Figura 7. Porcentajes de mortalidad ( $\pm$ de) de abejas *Apis mellifera* a las 24 horas de ser expuestas a los diferentes productos utilizados en la prueba. 1) Agua con sucrosa+DMSO. 2) LQM 919 0.167mg/mL. 3) LQM 919 0.334mg/mL. 4) LQM 919 0.668mg/mL. 5) LQM 919 1.336mg/mL. 6) LQM 919 2.672mg/mL. 7) LQM 919 5mg/mL. 8) LQM 919 10mg/mL. 9) LQM 919 20mg/mL. 10) Flumetrina 30mg/mL. 11) Propoxur 0.025mg/mL. 12) Propoxur 0.06mg/mL. 13) Propoxur 0.12mg/mL. 14) Propoxur 0.5mg/mL 15) Propoxur 1mg/mL

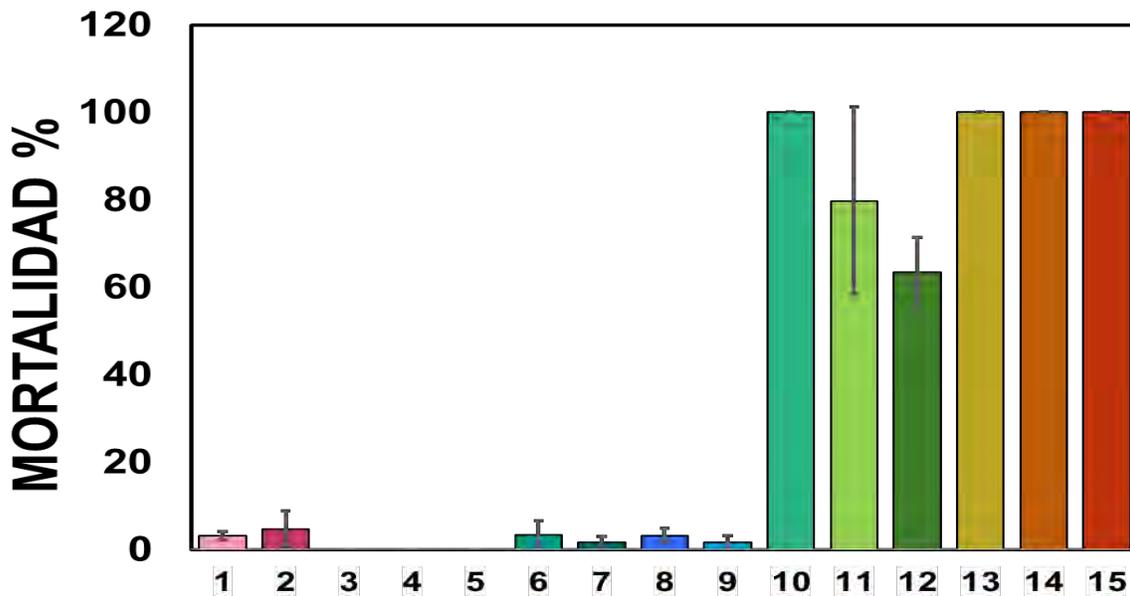


Figura 8. Porcentajes de mortalidad ( $\pm$ de) de abejas *Apis mellifera* a las 48 horas de ser expuestas a los diferentes productos utilizados en la prueba. 1) Agua con sucrosa+ DMSO. 2) LQM 919 0.167mg/mL. 3) LQM 919 0.334mg/mL. 4) LQM 919 0.668mg/mL. 5) LQM 919 1.336mg/mL. 6) LQM 919 2.672mg/mL. 7) LQM 919 5mg/mL. 8) LQM 919 10mg/mL. 9) LQM 919 20mg/mL. 10) Flumetrina 30mg/mL. 11) Propoxur 0.025mg/mL. 12) Propoxur 0.06mg/mL. 13) Propoxur 0.12mg/mL. 14) Propoxur 0.5mg/mL 15) Propoxur 1mg/mL

		<b>MORTALIDAD</b>		
		<b>4 horas</b>	<b>24 horas</b>	<b>48 horas</b>
<b>Agua con sucrosa</b>		0	0.39	0.79
<b>Agua con sucrosa +DMSO</b>		0.79	1.57	3.14
<b>LQM 919</b>	0.334mg/mL	4.61	4.61	4.61
	0.668mg/mL	0	0	0
	1.336mg/mL	0	0	0
	2.762mg/mL	0	0	0
	5mg/mL	1.66	1.66	3.33
	10mg/mL	1.61	1.61	1.61
	20mg/mL	0	0	3.22
<b>Flumetrina 30 mg/mL</b>		89.23	100	100
<b>Propoxur</b>	0.025mg/mL	79.74	79.74	79.74
	0.06mg/mL	61.9	63.5	63.5
	0.12mg/mL	100	100	100
	0.5mg/mL	100	100	100
	1mg/mL	91.66	100	100

Cuadro 3: Porcentaje de mortalidad de cada uno de los grupos de abejas *Apis mellifera* a las 4, 24, y 48 horas de iniciada la prueba.

## Consumo de alimento

En la figura 9 se compara el consumo de alimento por abeja a las 4, 24 y 48 horas entre los grupos de agua con sucrosa y agua con sucrosa +DMSO que se utilizaron como testigo negativo el resto del experimento. No se observaron diferencias ( $p>0.05$ ) entre ambos grupos.

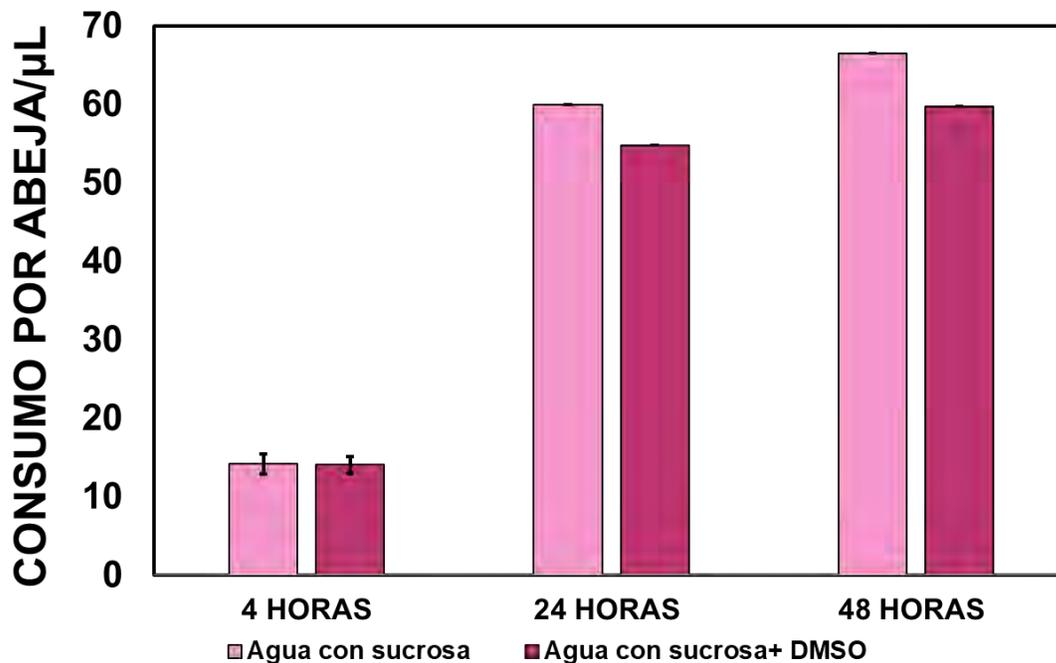


Figura 9. Consumo de alimento ( $\pm ee$ ) entre el testigo de agua con sucrosa y agua con sucrosa+ DMSO a las 4, 24 y 48 horas de la prueba.

En la figura 10 se muestra el consumo por abeja durante las 4 horas de exposición, ya que este es el tiempo límite para el consumo del tratamiento. El consumo del grupo de agua con sucrosa +DMSO no mostró diferencias contra los grupos de LQM 919 a diferentes concentraciones ni contra los grupos testigo positivo ( $p>0.05$ ).

Los grupos de LQM 919 de mayor concentración (5, 10 y 20 mg/mL) presentaron diferencias significativas en el consumo contra los grupos de LQM 919 de menor concentración (0.167, 0.334, 1.336 y 2.672 mg/mL). El consumo entre los grupos testigo positivo no mostró diferencias significativas.

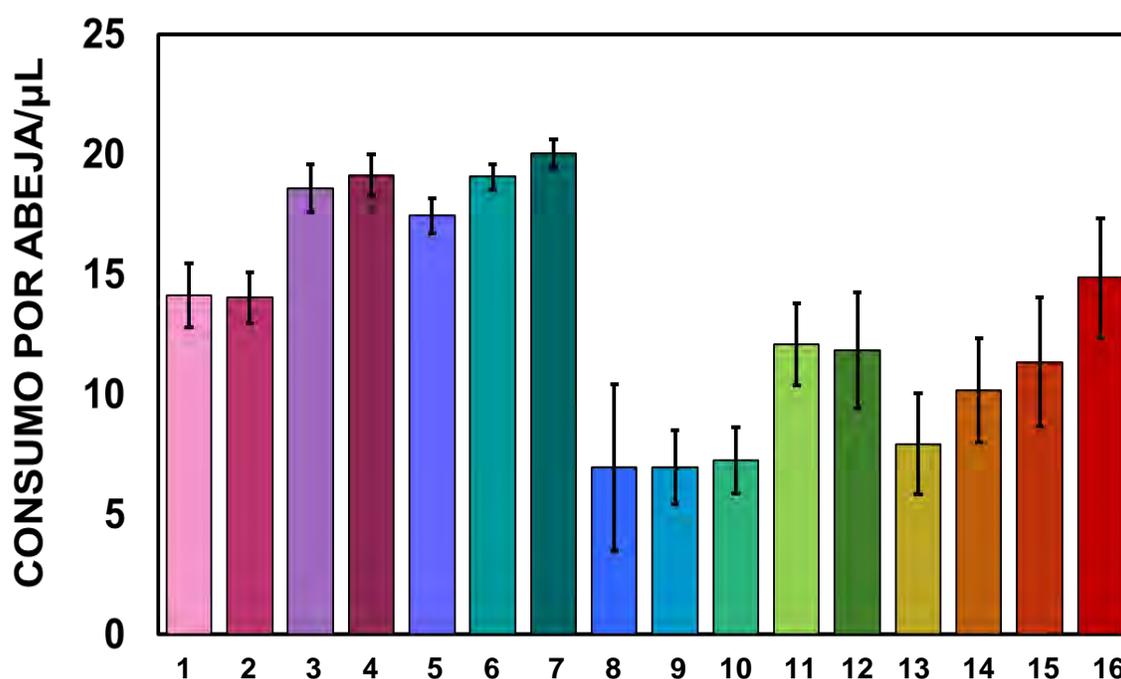


Figura 10. Consumo de tratamiento ( $\pm ee$ ) de abejas *Apis mellifera* 1) Agua con sucrosa+ DMSO. 2) LQM 919 0.167mg/mL. 3) LQM 919 0.334mg/mL. 4) LQM 919 0.668mg/mL. 5) LQM 919 1.336mg/mL. 6) LQM 919 2.672mg/mL. 7) LQM 919 5mg/mL. 8) LQM 919 10mg/mL. 9) LQM 919 20mg/mL. 10) Flumetrina 30mg/mL. 11) Propoxur 0.025mg/mL. 12) Propoxur 0.06mg/mL. 13) Propoxur 0.12mg/mL. 14) Propoxur 0.5mg/mL. 15) Propoxur 1mg/mL

El consumo de alimento total durante las 52 horas de duración de la prueba se muestra en la figura 11. El grupo de agua con sucrosa +DMSO no presento diferencias ( $p>0.05$ ) contra los grupos de LQM 919 a diferentes concentraciones. Los grupos testigo positivo tampoco presentaron diferencias.

Los grupos de LQM 919 de mayor concentración (5, 10 y 20 mg/mL) presentaron diferencias significativas en el consumo contra los grupos de LQM 919 de menor concentración (0.167, 0.334, 1.336 y 2.672 mg/mL). El consumo entre los grupos testigo positivo no mostró diferencias significativas.

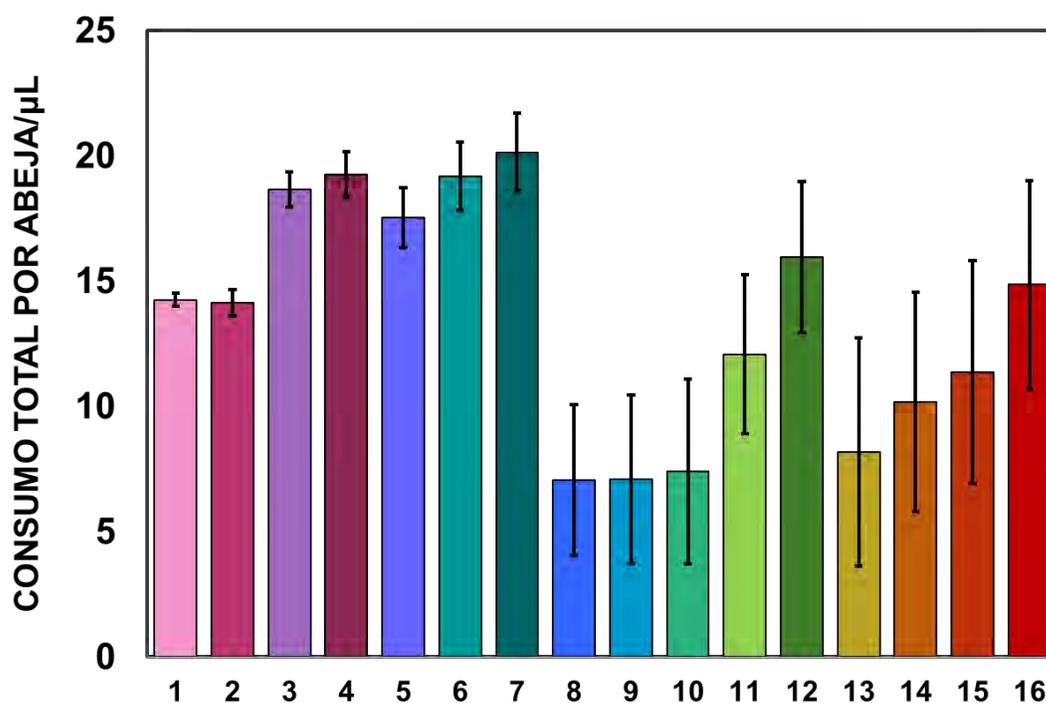


Figura 11. Consumo total por abeja ( $\pm ee$ ) durante la prueba con los diferentes productos utilizados. 1) Agua con sucrosa 2) Agua con sucrosa + DMSO. 3) LQM 919 0.167 mg/mL. 4) LQM 919 0.334 mg/mL. 5) LQM 919 0.668 mg/mL. 6) LQM 919 1.336 mg/mL. 7) LQM 919 2.672 mg/mL. 8) LQM 919 5 mg/mL. 9) LQM 919 10 mg/mL. 10) LQM 919 20 mg/mL. 11) Flumetrina 30 mg/mL. 12) Propoxur 0.025 mg/mL. 13) Propoxur 0.06 mg/mL. 14) Propoxur 0.12 mg/mL. 15) Propoxur 0.5 mg/mL. 16) Propoxur 1 mg/mL.

## Alteraciones conductuales

Las abejas de los grupos testigo positivos murieron después de presentar algunos signos de daño nervioso (Fig. 12), como: incapacidad de volar, giros en círculo en el piso, incoordinación, incapacidad de voltearse y extensión de la probóscide. Las abejas de los grupos que recibieron las diferentes concentraciones de LQM 919 no presentaron alteraciones conductuales aparentes.

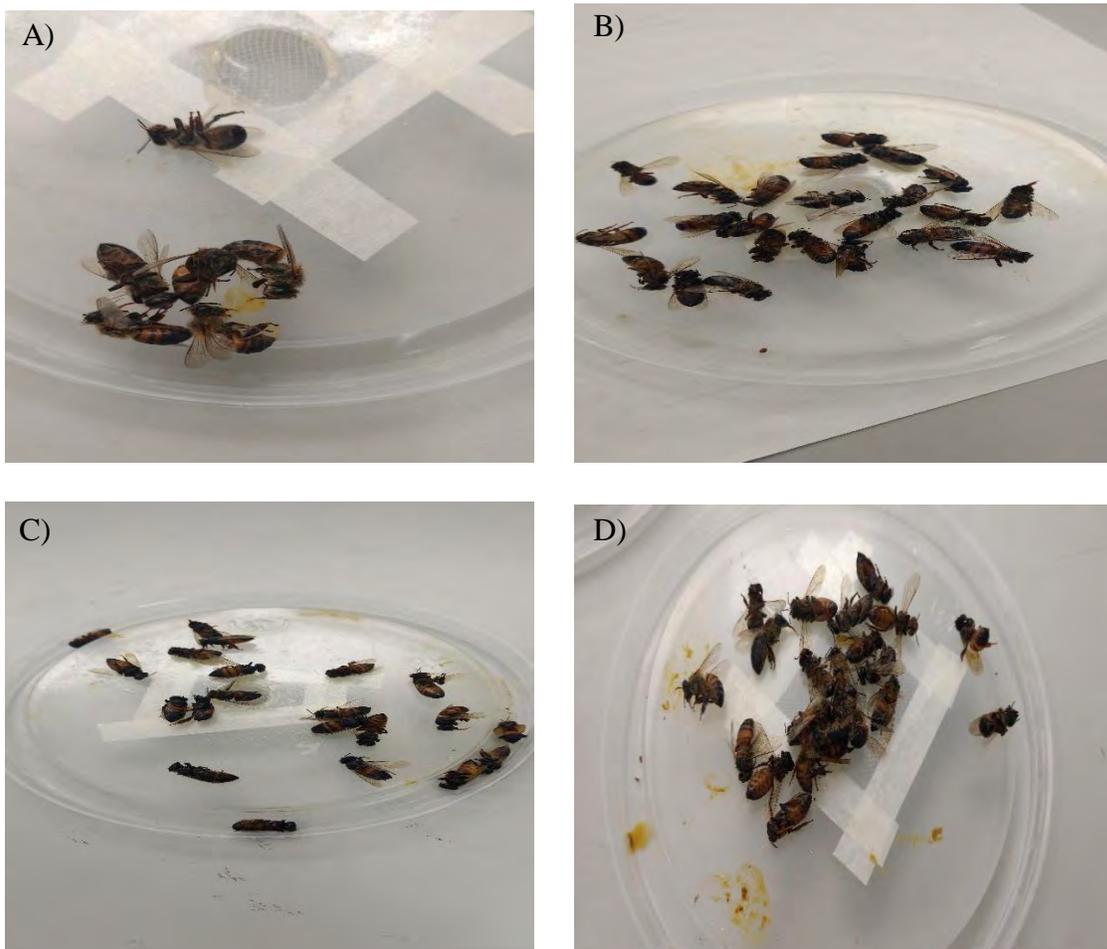


Figura 12. A) Abejas tratadas con LQM 919, B) Abejas tratadas con flumetrina, C) Abejas tratadas con propoxur, D) Abejas tratadas con propoxur

## 7. DISCUSIÓN

Uno de los problemas más graves del uso de pesticidas es su impacto ambiental, ya que en la actualidad la sociedad exige que los productos que se utilizan para el control de plagas se amable con el ambiente (Rivera *et al.*, 2006). El desarrollo de nuevos productos requiere evaluar el efecto sobre su organismo blanco, sobre mamíferos, incluyendo al hombre y su posible impacto ambiental.

En este contexto, se ha demostrado que el LQM 919 disminuye la oviposición e inhibe la eclosión de huevos de la garrapata *R. microplus*, tanto de cepas susceptibles como de cepas resistentes a los ixodicidas convencionales (Pérez-González *et al.*, 2013). También se determinó con la prueba de toxicidad oral aguda y dérmica aguda en ratas su toxicidad para mamíferos. La dosis letal 50 (DL50) oral fue de 300-2000 mg/kg y la dérmica de >5000mg/kg, aunque se presentaron algunos signos de toxicidad en la exposición oral, en la exposición dérmica no se observaron signos de toxicidad en ninguna de las dosis empleadas. Con lo anterior se demostró que los carbamatos evaluados son de baja toxicidad oral y dérmica para mamíferos (Prado-Ochoa *et al.*, 2014a).

Una de las pruebas más aceptadas a nivel internacional para evaluar el impacto ambiental de un pesticida es la prueba de toxicidad oral aguda en abejas, la cual se encuentra normalizada por la OECD en la guía 213. Según esta guía, para que la prueba tenga validez, se debe obtener una mortalidad de menos del 10% de las abejas de los grupos que fueron utilizados como testigo, para descartar la mortalidad producida por un manejo inadecuado de las abejas. La mortalidad que presentaron los grupos testigos fue menor al 3.15%, por lo que podemos concluir que el manejo que se les dio a las abejas y las condiciones en las que se mantuvieron durante la prueba, fueron las adecuados para hacer válido este estudio.

La olfacción y la gustación representan importantes sentidos que condicionan la vida de las abejas tanto a nivel individual como de colonia. Tanto el olfato como la gustación están involucrados en la detección y reconocimiento de olores y sabores necesarios para que la abeja asocie las flores con la producción de néctar, detecte

y visite una fuente de alimento, reconozca individuos extraños a la colmena, reclute forrajeadores, logre comunicación química y asegure la cohesión social de la colonia (Belzunces *et al.*, 2012). El aroma y la palatabilidad del alimento son los principales factores que determinan el consumo de alimento por parte de las abejas. Algunos olores son atractivos para las abejas (como el olor de las flores o el que desprende de la reina), pueden reconocer el tipo de azúcares en las sustancias que ingieren y pueden analizar su concentración, todo esto gracias a los receptores gustativos y a las sensilas que están situados en las antenas (Clément, 2012). En este estudio, encontramos que la adición de DMSO y de las diferentes concentraciones bajas del carbamato LQM 919 (0.167, 0.334, 0.668, 1.336 y 2.662 mg/mL) no alteró el consumo en comparación a cuando solo se usó agua con sucrosa durante las primeras 4 horas del experimento. El consumo de las abejas disminuyó en los grupos tratados con las concentraciones mayores del carbamato LQM 919 (5, 10 y 20 mg/mL) y en los grupos testigo positivos. Lo anterior sugiere que las altas concentraciones del carbamato LQM 919, flumetrina y propoxur modifica el aroma y la palatabilidad del alimento ofrecido y que por lo tanto disminuyera el consumo de alimento. En contraste, el consumo disminuyó en abejas de los grupos tratadas con las concentraciones mayores de LQM 919 (5mg/mL, 10mg/mL y 20mg/mL), con flumetrina y con las diferentes concentraciones de propoxur (0.025mg/mL, 0.06mg/mL, 0.12mg/mL, 0.5mg/mL y 1mg/mL).

La forma más directa de evaluar un pesticida es medir su efecto sobre la mortalidad de los individuos de una especie expuestos a diferentes concentraciones del pesticida. En este trabajo, nosotros observamos que la mortalidad producida por la ingestión de las diferentes concentraciones del carbamato LQM 919 en los tres periodos evaluados, fue menor al 5% y no presento diferencias ( $p < 0.05$ ) con la mortalidad observada en los grupos testigo negativo. En contraste, la ingesta de flumetrina y diferentes concentraciones de propoxur fue muy alta, llegando a ser hasta del 100% en las concentraciones mayores. Lo anterior muestra claramente que el carbamato LQM 919 es menos tóxico para las abejas que la flumetrina y el propoxur.

Los organofosforados y algunos carbamatos, como el carbaril y el propoxur, actúan para inhibir reversiblemente la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en el sistema nervioso de las garrapatas. Los insecticidas inhibidores de la acetilcolinesterasa (carbamatos y organofosforados) actúan sobre el sistema nervioso de los insectos al inhibir la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE), la enzima que inactiva el neurotransmisor acetilcolina en las sinapsis del sistema nervioso central de los insectos. Los piretroides son insecticidas neurotóxicos que ejercen su efecto insecticida al prolongar la fase abierta del canal de sodio (Naumann *et al.*, 1994). En este estudio, las abejas que fueron expuestas a las diferentes concentraciones del carbamato LQM 919 no presentaron signos nerviosos, lo que sugiere un mecanismo de acción diferente a la inhibición de la enzima acetil colinesterasa. Una observación similar fue observada en garrapatas tratadas con LQM 919 en donde también se concluyó que el mecanismo de acción del LQM 919 es independiente a la inhibición de la enzima acetil colinesterasa (Prado-Ochoa *et al.*, 2014b).

La alta efectividad sobre garrapatas *R. microplus* y la baja toxicidad del carbamato LQM 919 en abejas sugiere que estos carbamatos pueden ser utilizados en forma efectiva para el control de garrapatas con un bajo impacto medio ambiental.

## **8. CONCLUSIÓN**

La mortalidad producida en abejas tratadas con cualquiera de las concentraciones utilizadas del etil-4-bromofenil carbamato fue menor al 5% y no presento diferencias ( $p < 0.05$ ) con la mortalidad observada con los testigo negativo.

La mortalidad producida en abejas tratadas con flumetrina y el propoxur fue del 61.9-100% y fue mayor ( $p < 0.05$ ) que la mortalidad observada con los testigo negativo o con los grupos tratados con LQM 919.

No se presentaron alteraciones conductuales a las abejas a las que se les administraron diferentes dosis del etil-4-bromofenil carbamato.

## 9. REFERENCIAS

1. Alonso-Díaz MA, Rodríguez-Vivas RI, Fragoso-Sánchez H, Rosario-Cruz R. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Archivos de Medicina Veterinaria 2006; 38:105-113.
2. Angeles E, Martínez P, Keller J, Martínez R, Rubio M, Ramírez G, Castillo R, López-Castañares R, Jiménez E. Ethyl and methylphenylcarbamates as antihelmintic agents: theoretical study for predicting their biological activity by PM3. J Mol Struct: THEOCHEM 2000; 504:141-170.
3. Belzunces L, Tchamitchian S, Brunet J. Neural effects of insecticides in honey bee. Apidologie 2012; 43:348-370.
4. Bernabe-Pérez, AG. Evaluación antiparasitaria de nueve principios de síntesis derivados del ácido carbámico utilizando como modelo el cestodo *Hymenolepis nana* var. *fraterna* en ratones de la cepa CD1 con infestación inducida (tesis de licenciatura). México (México): UNAM, 2007.
5. Bernal S. Evaluación de algunos productos derivados del ácido carbámico como agentes antimicrobianos (tesis de licenciatura). México (México): UNAM, 2000.
6. Capo M. Principios de Ecotoxicología. Diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente. Madrid: Tebar, 2007.
7. Centro de Estudios Agropecuarios. Apicultura. México: Iberoamérica, 2001.
8. Clément H. Tratado de apicultura. Barcelona: Ediciones Omega, 2012.
9. Desneux N, Decourtye A & Delpuech J-M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review of Entomology 2007; 52: 81-106.
10. FAO, 2005 Italia. Protección a los polinizadores. Recuperado en Noviembre de 2018 de: <http://www.fao.org/ag/esp/revista/pdf/0512-1.pdf>

11. Gérez M, 2001. Ciclo vital de la abeja. Recuperado en Agosto de 2017 de: <http://proyectoabejas.blogspot.mx/>
12. Iturbe-Requena SL. Evaluación de la eficacia *in vivo* de dos carbamatos de nueva síntesis sobre *Rhipicephalus microplus* (Tesis de Maestría en Ciencias). Cuautitlán Izcalli (México): UNAM, 2014.
13. Jean-Prost P. Apicultura: conocimiento de la abeja, manejo de la colmena. 7ª edición. Madrid: Mundi-prensa, 2007.
14. Jiménez-Cardoso E, Flores-Luna A, Pérez-Urizar J. In vitro activity of two phenyl-carbamate derivatives, singly and in combination with albendazole against albendazole-resistant *Giardia intestinalis*. *Acta Tropica* 2004; 92:237-244.
15. Kremen C, Williams NM, Aizen MA, Gemmill-Herren B, LeBuhn G, Minckley R, Packer L, Potts SG, Roulston Ta, Steffan-Dewenter I, Vazquez DP, Winfree R, Adams L, Crone EE, Greenleaf SS, Keitt TH, Klein A-M, Regetz J & Ricketts TH. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters* 2007; 10: 299-314.
16. Llorente J, 2014. Anatomía externa de las abejas. Fundación amigos de las abejas. Guadalajara, España. Recuperado en Agosto de 2017 de: <http://abejas.org/anatomia-externa-de-las-abejas/>
17. Nates-Parra G. Abejas silvestres y polinización. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 2005; 75:7-20.
18. OECD, 1998. Test No. 213: Honeybees, Acute Oral Toxicity Test, OECD Publishing, Paris. Recuperado en Agosto de 2017 de: <http://dx.doi.org/10.1787/9789264070165-en>
19. OIE, 2014. Proteger a las abejas, preservar nuestro futuro. Recuperado en Agosto de 2017 de:

[http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Publications\\_%26\\_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull\\_2014-2-ESP.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull_2014-2-ESP.pdf)

20. Padilla A, Cuesta L. Zoología aplicada. Madrid: Díaz de Santos, 2003.
21. Pérez-González IE, Prado-Ochoa MG, Muñoz-Guzmán MA, Vázquez-Valadez VH, Velázquez-Sánchez AM, Avila-Suárez BL, Cuenca-Verde C, Angeles E, Alba-Hurtado F. Effect of new ethyl and methyl carbamates on *Rhipicephalus microplus* larvae and adult ticks resistant to conventional ixodicides. *Veterinary Parasitology* 2013; 199:235-241.
22. Prado-Ochoa MG, Gutiérrez-Amezquita RA, Abrego-Reyes VH, Velázquez Sánchez AM, Marco-Muñoz MA, Ramirez-Noguera P, Angeles E, Alba-Hurtado F. Assessment of Acute Oral and Dermal Toxicity of 2 Ethyl-Carbamates with Activity against *Rhipicephalus microplus* in Rats. *BioMed Reseach International* 2014; 2014a:1-10.
23. Prado-Ochoa MG, Muñoz-Guzmán MA, Abrego-Reyes VH, Velázquez Sánchez AM, Lara-Rocha M, Cuenca-Verde C, Angeles E, Alba-Hurtado F. Effect of new ethyl and methyl carbamates on biological parameters and reproduction of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Veterinary parasitology* 2013; 194:49-57.
24. Prado-Ochoa MG, Ramirez-Noguera P, Díaz-Torres R, Garrido-Farina GI, Vázquez-Valadez VH, Velázquez-Sanchez AM, Muñoz-Guzman MA, Angeles E, Alba-Hurtado F. The action or two ethyl carbamates on acetylcholinesterase and reproductive organs of *Rhipichephalus microplus*. *Veterinary parasitology* 2014b; 199: 215-224.
25. Prado-Ochoa MG, Vázquez-Valadez VH, Velázquez-Sánchez AM, Muñoz-Guzmán MA, Ramírez-Noguera P, Angeles E, Alba-Hurtado F. Subchronic Toxicity Study in Rats of Two New Ethyl-Carbamates with Ixodidical Activity. *BioMed Reseach International* 2014c:1-12.
26. Ravazzi G. Las abejas. Barcelona, España: De Vecchi, 2005.
27. Repetto M. Toxicología avanzada. España: Ediciones Díaz de Santos, 1995.

28. Reyes T, Simon G, y Johnston Paul, 2013. El declive de las abejas. Nota técnica de la Unidad Científica de Greenpeace. Recuperado en Agosto de 2017 de: [http://www.greenpeace.org/espana/Global/espana/report/Agricultura-ecologica/el\\_declive\\_de\\_las\\_abejas.pdf](http://www.greenpeace.org/espana/Global/espana/report/Agricultura-ecologica/el_declive_de_las_abejas.pdf)
29. Reyes-González R. Evaluación de la actividad antibiótica del compuesto LQM 996 en *Meriones unguiculatus* infectado con *Helicobacter pylori* (tesis de licenciatura). México (México): UNAM, 2007.
30. Ritter W. Enfermedades de las abejas. Zaragoza, España: Acribia, 2001.
31. Rivera H, Macías R, Tinoco M, Gracia M y Ruiz A. Toxicidad aguda en rata y ratón de la casiopenía II. 2° Congreso Nacional de Química Médica, 2006. Facultad de Química, UNAM.
32. Ros P, 2009. Iniciación a la apicultura. Licenciado en Medicina Veterinaria C.I.F.E.A de Lorca. Comunidad Agrónoma de la Región de Murcia. España. Recuperado en Agosto de 2017 de: <https://es.slideshare.net/alexsuarezlastra/iniciacion-a-la-apicultura>
33. SAGARPA, 2016 México. Fideicomiso de Riesgo Compartido. Apicultura, Actividad De Gran Importancia Para La Economía Y El Medio Ambiente En México. Recuperado en Agosto de 2017 de: <https://www.gob.mx/firco/articulos/apicultura-actividad-de-gran-importancia-para-la-economia-y-el-medio-ambiente-en-mexico?idiom=es>
34. SAGARPA. Manual básico de apícola. México. Recuperado en Agosto de 2017 de: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Manuales%20apcolas/Attachments/3/manbasic.pdf>
35. Soberanes C, Santamaría M., Frogoso H., Garcia Z. Primer caso de resistencia al amitraz en la garrapata del ganado *Boophilus microplus* en México. Técnica Pecuaria en México 2000; 40: 81-92.

36. Vidal-Naquet N. Honeybee Veterinary medicine: *Apis mellifera* L. Sheffield, United Kingdom: 5M Publishing, 2015.