

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Evaluación de Dos Métodos de Bioensayos para Determinar la Toxicidad de Plaguicidas en
Apis mellifera (Apidae: Hymenoptera)

Por:

ÁLVARO GONZÁLEZ HERNANDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Evaluación de Dos Métodos de Bioensayos para Determinar la Toxicidad de Plaguicidas en
Apis mellifera (Apidae: Hymenoptera)

Por:

ÁLVARO GONZÁLEZ HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

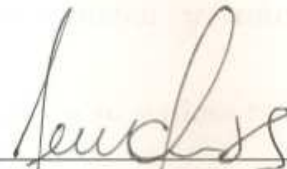
Aprobada por:



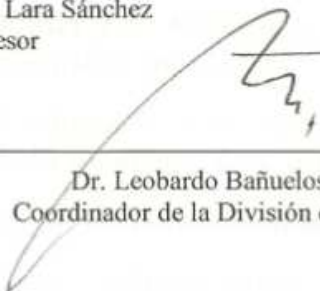
Dr. Ernesto Cerna Chávez
Asesor Principal



Ing. Edgar Daniel Lara Sánchez
Coasesor



Dr. Jerónimo Landeros Flores
Coasesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2012

AGRADECIMIENTOS

A dios Jesucristo todo poderoso, por su divina protección a lo largo de mi vida y por a verme dado la oportunidad de formarme profesionalmente.

A mis padres: Alfredo González Ávila y Aurelia Hernández Campos, por sus sabios consejos y su apoyo incondicional en mi vida.

A mis hermanos Marta González Hernández, Pedro González Hernández y Alfredo González Hernández por todo su cariño, afecto y aprecio.

Gracias a mi "Alma Terra Mater" por abrirme sus puertas y brindarme lo necesario a lo largo de la carrera.

A mi amigo Martin Hernández Salinas por su amistad y a todos mis compañeros de la generación CXIV.

Al H. jurado examinador por colaborar en el presente trabajo, así como a su tiempo invertido, accesibilidad y apoyo que me dieron en todo momento.

Al Dr. Ernesto Cerna Chávez, por su dedicación en la realización de este trabajo, así como su amistad brindada.

Al Dr. Jerónimo Landeros Flores, por sus consejos y amistad brindados.

Al M.C. Jorge Corrales Reynaga, por sus consejos y su valioso tiempo en tutorías.

Al Ing. Edgar Daniel por brindarme su amistad y apoyo en la elaboración del presente trabajo.

Al Ing. Miguel Machuca y a su esposa la MC. Areli por su gran amistad y consejos en mi estancia en la universidad.

Al Ing. Eleazar, por su amistad brindada y su apoyo recibido.

A mi amigo Fernando Campos González

Con agradecimiento especial a mi tía Oguilva González Ávila (D.E.P.), por su gran motivación y cariño.

DEDICATORIAS

A mis padres: Alfredo González Ávila y Aurelia Hernández campos, por su cariño incondicional y admiración que les tengo, por ser mi inspiración.

A mi hermana y hermanos: Marta González Hernández, Pedro González Hernández y Alfredo González Hernández, que siempre han creído en mí, los quiero y admiro mucho.

A mis abuelos: Santos González Tapia, Placida Ávila Barrera, Sixto Hernández Zamora (D.E.P.) y Nicasia Campos Aguilar.

A mis familiares que cada uno ha contribuido de uno u otra forma en mi formación profesional.

A las familias: González rojas (Mis tíos: Gregorio y Susana. Mis primos: Briz, Emanuel y Gaby) Espinoza Hernández (mis tíos: Roberto y Ángeles. Mis primos: Jonathan y Roberto), Sánchez González (mis tíos: Arnulfo y Carmela mis primos: Arnulfo, Manuel y David), Iturbide Hernández (mis tíos: María y Rodrigo. Mi primo: Marbin), Alvarado lima (don justo y doña Justina. Sus hijos: Orlando y Esmeralda).

A mis primas Bibiana Quiroz, Elizabeth Ávila, Ruth Gonzalez.

Mis sobrinos: Ali y Orlando Alvarado.

A mis tíos (as): Luis Hernández, Nina Campos, tía Luisa Ávila y su esposo, tía Irma Ávila y su esposo, tío Eduardo Ávila y su esposa.

A mis compañeros y compañeras de generación, en especial a Mariano Hernández, Martin Hernández, Ángel López, Luis Hernández, E. Antonio Chi, Florencio Rodríguez, Jorge Amaro, Wilfredo Flores, Félix Pérez, Teresa Cifuentes.

A mis amigos (gas): Alicia Ávila, Ana Espinoza, Fabiola Zavala, Lesly González, Topacio Ibarra, Lorena Pedraza, Valeria, Ruth Pacheco, Adriana Cardona., Ethel, Zunun, Gema,

Marlen, Martin Hernández, Fernando y Alejandro Campos, Daniel Lara, Miguel Machuca y su esposa Areli, Víctor Rodríguez, Mario y Rodrigo Barreto, Germán, Miguel Arroyo, Jonadad Madrigal, Oscar Sánchez. Samuel Oivera., Erick Méndez, Chema, Francisco Clavería, Tomas Flores, Fernando S., Gerardo González, José Espitia, Joaquín C., Eusebio y Julio Iturbide.

Y muy especialmente para una maravillosa persona, con mucho cariño y afecto dedicado a mi Tía Oguilva González Ávila (D.E.P.), que donde quiera que se encuentre se que está muy orgullosa.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIAS.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	IV
ÍNDICE DE CUADROS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
RESUMEN.....	IX
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	3
HIPOTESIS.....	3
REVISION DE LITERATURA.....	4
Descripción de la Abeja (<i>Apis mellifera</i>).....	4
Origen.....	5
Distribución.....	6
Introducción de <i>A. mellifera</i> a América y a México.....	6
Clasificación taxonómica de la abeja europea (<i>Apis mellifera</i>).....	7
Anatomía y Fisiología de la Abeja <i>Apis mellifera</i>	8
Morfología externa de las abejas.....	8
Cabeza.....	8
Tórax.....	9
Abdomen.....	10
Morfología interna de las abejas.....	10
Sistema glandular.....	10
Glándulas de la mandíbula superior.....	11
Glándulas de los jugos alimenticios.....	11
Glándulas olorosas (glándulas de Nasanoff).....	12

Glándulas endocrinas	12
Glándulas cereras	13
Sistema respiratorio	13
Aparato circulatorio.....	14
Sistema excretor	14
Sistema nervioso.....	15
Los órganos de la reproducción del macho	15
Órganos reproductores de la reina.....	16
Aparato vulnerador	17
Biología y Hábitos	17
Abeja reina	17
Abejas obreras	18
Abejas zánganos	19
Desarrollo de la cría	19
Estadios	20
Importancia de sus Productos	21
Importancia como productor de miel	21
Importancia como medicinal	21
Importancia de sus Subproductos (polen, cera, jalea real y entomofagia)	22
El polen.....	22
La cera	23
El propóleo	23
Jalea real	23
Entomofagia	24
Importancia como polinizador.....	24
Efecto de los pesticidas sobre polinizadores	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
Ubicación donde se llevo a cabo el experimento	28
Obtención del material biológico	28

Plaguicidas utilizados	29
Método de bioensayo.....	29
Método de bioensayo de película residual (OECD, 1998).....	29
Método de bioensayo de dieta envenenada (OECD, 1998).....	31
Análisis estadístico	33
RESULTADOS Y DISCUSION.....	34
Resultados del método de bioensayo de película residual	34
Concentración letal.....	34
Resultados del método de bioensayo de dieta envenenada	37
Concentración letal.....	37
Líneas de regresión dosis mortalidad	40
CONCLUSION	45
BIBLIOGRAFÍA.....	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
Cuadro 1.- Duración del ciclo biológico de <i>Apis mellifera</i>	20
Cuadro 2.- Productos y concentraciones evaluadas en los tratamientos, en el experimento de <i>Apis mellifera</i> con los dos diferentes plaguicidas.....	32
Cuadro 3.- CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 3 horas de exposición.....	35
Cuadro 4.- CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 6 horas de exposición.....	35
Cuadro 5.- CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 12 horas de exposición.....	36
Cuadro 6.- CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 24 horas de exposición.....	36
Cuadro 7.- CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 3 horas de ingestión del alimento.....	37
Cuadro 8.- CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 6 horas de ingestión del alimento.....	38
Cuadro 9.- CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 12 horas de ingestión del alimento.....	39
Cuadro 10.- CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 24 horas de ingestión del alimento.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1.- Líneas de respuesta dosis mortalidad por el método de película residual del producto Abamectina evaluado contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 6, 12 y 24 horas de exposición.....	41
Figura 2.- Líneas de respuesta dosis mortalidad por el método de película residual del producto Imidacloprid evaluado contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 3, 6, 12 y 24 horas de exposición.....	42
Figura 3.- Líneas de respuesta dosis mortalidad por el método de dieta envenenada del producto Abamectina evaluado contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 3, 6, 12 y 24 horas de exposición.....	43
Figura 4.- Líneas de respuesta dosis mortalidad por el método de dieta envenenada del producto Imidacloprid evaluado contra abejas obreras adultas (<i>Apis mellifera</i>) a 3, 6, 12 y 24 horas de exposición.....	44

RESUMEN

Entre la infinidad de insectos que participan en la polinización, la abeja melífera (*Apis mellifera*) es por mucho la especie más eficaz. Este predominio se acentúa en el caso de las plantas de interés agrícola. El porcentaje de la polinización por abejas alcanza entre el 90-95% de todas las visitas de insectos. Es por ello que se puede considerar a esta especie como una profesional de la polinización, aportando un gran beneficio mediante la polinización, la cual puede hacer incrementar la producción hasta en un 60%.

Sin embargo, la continua extensión de las áreas urbanas, la deforestación, la contaminación ambiental y sobre todo el uso indiscriminado de productos de síntesis química utilizados para la lucha contra las plagas de los cultivos, han provocado la disminución de abejas melíferas y menor rendimiento de trabajo polinizante en los cultivos tanto al aire libre como en invernaderos.

Por lo tanto es muy importante conocer el papel de los plaguicidas y su interacción en base a efectos letales, subletales y compatibilidad con esta especie. Una técnica utilizada para conocer el comportamiento de los plaguicidas contra las abejas es a través de CL_{50} . En este caso se evaluaron dos plaguicidas que convencionalmente aplican los productores (Abamectina e Imidacloprid), los métodos de bioensayo que se realizaron fue el de película residual, en el cual consistió en aplicar una capa de producto a los frascos que contenían las abejas obreras adultas. El segundo método de bioensayo fue el de dieta envenenada, en cual consistió en tratar con los diferentes productos el alimento de las abejas. Para esto se utilizaron diferentes concentraciones (Abamectina: 0.05, 0.1, 1.0, 3.0, 5.0 y 10 ppm; mientras que para el Imidacloprid: 0.05, 0.1, 1.0, 5.0, 10 y 20 ppm). El método de película residual presento los valores más altos de CL_{50} . El método que presento los valores más bajos de CL_{50} fue el de dieta envenenada. El producto que presento los valores más altos de CL_{50} fue el imidacloprid; por lo tanto se le puede considerar menos toxico para las abejas. Por lo anterior podemos mencionar que el producto más toxico para las abejas fue la Abamectina.

Palabras clave: Abeja mellifera, película residual, dieta envenenada, Imidacloprid y Abamectina

INTRODUCCION

Las abejas son elementos esenciales de la agricultura moderna, debido a que su tarea polinizadora es necesaria para la producción de al menos una tercera parte de los alimentos que se producen a nivel mundial. En México la gran diversidad de especies y el cambio de los agricultores de producir a campo abierto por una agricultura protegida e intensiva; Ha colocado a las especies de abejas polinizadoras como una parte fundamental en el esquema de manejo de los cultivos. Sin embargo, dentro del manejo de cultivo está la aplicación de pesticidas para el control de plagas y enfermedades. La exposición a pesticidas en abejas viene produciendo efectos negativos a nivel individual de las abejas y sus colonias; Desde hace aproximadamente un siglo, cuando aparecieron los primeros acaricidas e insecticidas, han venido afectado considerablemente a las abejas polinizadoras; El esfuerzo por desarrollar insecticidas con un menor impacto sobre esta especie de insecto ha fructificado con la aparición en el mercado de productos altamente específicos y de acción rápida, matando a la mayor parte de las plagas, siendo más benévolos hacia las abejas; sin embargo son pocos los ingredientes activos que presentan esta peculiaridad, siendo la mayoría de las moléculas muy agresivas contra las abejas, afectándolas en sus procesos antes de que puedan completar muchos vuelos de recolección y polinización (Mussen y Brandi, 2010).

Lo anterior ha desarrollado que muchos investigadores estén trabajando en el estudio del impacto de los plaguicidas sobre esta especie, Al respecto, para el estudio de la toxicidad de los plaguicidas en abejas melíferas, existen dos métodos muy utilizados; El primer caso es el método de bioensayo de tipo oral, que es un método de laboratorio diseñado para determinar la toxicidad oral aguda en abejas obreras adultas (Harrison, 1993). La peculiaridad de este método es que se puede utilizar en programas de seguimiento para evaluar los riesgos de los plaguicidas para las abejas, basados en una progresión secuencial desde los bioensayos de toxicidad en laboratorio hasta en campo (EPPO/Council of Europe, 1993).

El segundo caso, es el bioensayo por contacto, que es un método de bioensayo de laboratorio, diseñado para evaluar la toxicidad aguda por contacto de plaguicidas y otros productos químicos en abejas obreras adultas. Se basa principalmente en la Organización Europea de Protección Vegetal y del Mediterráneo (EPPO) Guía para la evaluación de los efectos secundarios de los productos fitosanitarios sobre las abejas melíferas (*Apis mellifera*) (EPPO, 1992)

Estas metodologías son de gran utilidad, ya que el registro y la autorización para las formulaciones se requiere el conocimiento del impacto de la sustancia activa, para ello se realizan en primer lugar, bioensayos de toxicidad en abejas a nivel laboratorio. Los valores de CL_{50} para toxicidad oral o por contacto son indicadores del impacto potencial sobre las abejas (Cluzeau, 2002). Por lo tanto, los ensayos de toxicidad son fundamentales para determinar la toxicidad de una sustancia que permiten conocer las CL_{50} , el índice de calidad ambiental y el límite de impregnación biológica (Menéndez, 2009).

OBJETIVOS

- Determinar el método de bioensayo más eficiente
- Determinar la toxicidad de cuatro plaguicidas en *Apis mellifera*

HIPOTESIS

1. Al menos uno de los métodos presenta buen ajuste de acuerdo al análisis probitt.
2. Al menos uno de los insecticidas evaluados presentara compatibilidad o menor toxicidad en contra de *Apis mellifera*.

REVISION DE LITERATURA

Descripción de la Abeja (*Apis mellifera*)

El género *Apis* posee cuatro especies importantes para la producción de miel y cera que son: *Apis dorsata*, *Apis florea*, *Apis cerana* y *Apis mellifera* (L) (Salamanca *et al.*, 2001).

La abeja melífera, o abeja de miel, es uno de los insectos más importantes para el medio ambiente y el ser humano. Ello se debe no solo a su producción de miel, cera o jalea real, sino también por su papel fundamental en la polinización en la mayoría de los cultivos de frutas, hortalizas y vegetales, así como plantas cultivadas que impiden la erosión del suelo. La comunidad de las abejas melíferas está compuesta por la reina, el zángano y las obreras, todas ellas con diferentes funciones. La reina es la madre de todos los miembros de la colonia, siendo capaz de producir 1,500 huevos diarios y de determinar el sexo de su descendencia. Se alimenta casi exclusivamente de jalea real, producida por las abejas obreras, suele vivir hasta 3 años. Por su parte, la misión del zángano consiste en aparearse con las nuevas reinas, que tiene lugar en el vuelo a cielo abierto, tras lo cual muere. Los zánganos son mayoritarios en las colonias durante la primavera y verano; en otoño son expulsados por las obreras, dejándolos morir. En cuanto a las obreras, aunque viven solo

unas 6 semanas, son las encargadas de recolectar el polen, que sirve de fuente de energía para el desarrollo de toda la comunidad, mantener el panal y defenderlo de los depredadores. Una colmena típica cuenta con un número de obreras que oscila entre 8,000 y 15,000, las cuales desempeñan tareas diferentes según su edad (Eroski, 2006).

Esta especie de abejas es de origen Europeo, siendo la predilecta por ser la más eficiente, domesticada y resistente; dicha especie se ha adaptado desde climas templados a subtropicales (Sekita, 2001).

Origen

Se estima que las abejas se originaron de avispas cazadoras durante el periodo Cretáceo (entre 17 y 146 millones de años atrás). La abeja *Apis Mellifera* es la más desarrollada en la apicultura, probablemente originaria de África o Europa y fue introducida en América durante la colonización europea. También habita en Australia, Nueva Zelanda, Japón y China. Como su adaptación fue diferente en cada zona, se generaron distintas subespecies, comúnmente llamadas razas, las que presentan ventajas y desventajas para la apicultura (Mendizábal, 2000). Las abejas datan del Mioceno hace 10 a 12 millones de años; mucho antes de la aparición del hombre las abejas estaban extendidas sin separación de desiertos o mares como actualmente se encuentra distribuida la tierra, se tiene razones para pensar que el género *Apis* es originario de Asia (Afganistán), y que se fue expandida por África y Europa (Rodríguez, 1998).

Distribución

Hay abejas melíferas en todas partes del mundo excepto en las regiones polares. Pero esto no fue siempre así. Hasta el siglo XVI solo se encontraban en Europa, donde se habían desarrollado, y estaban distribuidas al azar, mucho tiempo antes de que aparecieran los seres humanos sobre la tierra. Las tribus primitivas aprendieron la forma de conseguir la miel robándola del nido de las abejas en arboles huecos o grietas en las rocas. Esto se demuestra en una pintura de una cueva rocosa en las montañas del oeste de España que data de tiempos Mesolíticos, probablemente alrededor del año 7000 a.c. (Del Pozo y Schopflocher, 2002).

Introducción de *A. mellifera* a América y a México

La introducción de la abeja europea a México no fue directa. La evidencia indica que las abejas de la raza *Apis mellifera* fueron introducidas primero en Florida a finales del siglo VIII (Cuando esta península era posesión española), para obtener alguna ganancia económica de este sitio, cuya contribución al imperio era mínima. En virtud de que el experimento inicial no tuvo éxito. En 1764 se llevaron a Cuba algunas de las colonias de Florida, donde la actividad cobro gran importancia y se disperso rápidamente. Es muy probable que haya sido entonces cuando se introdujo en la Nueva España (Desde Cuba) aunque no existe ningún documento que precise la fecha exacta de su importación, algunas evidencias indirectas (por ejemplo, Clavijero, en historia de México, relata la presencia de esta abeja en el país) sugieren que sucedió a finales de 1760 o a principios de 1770, solo en la región central (Correa, 2004).

Clasificación taxonómica de la abeja europea (*Apis mellifera*)

Las abejas melíferas aparecieron en la tierra hace aproximadamente 60 millones de años en el periodo terciario y representa una gran importancia en la existencia del hombre, en especial a lo concerniente a la polinización de frutos comestibles. La abeja mellifera pertenece según Persano (2002)

Phyllum: Artropoda

Clase: Insecta

Orden: Hymenoptera

Familia: Apidae

Subfamilia: Apoidea

Género: *Apis*

Especie: *mellifera*

Anatomía y Fisiología de la Abeja *Apis mellifera*

Ritter (2001) menciona, que la morfología externa e interna de la abeja melífera corresponde esencialmente con la de los demás insectos, aunque se diferencia por determinadas particularidades. Lo mismo puede decirse de las funciones vitales.

Morfología externa de las abejas

Ritter (2001) menciona, que el cuerpo de la abeja melífera se divide en cabeza, tórax y abdomen; partes que estando unidas, se mueven entre sí. La envoltura externa del cuerpo está compuesta por quitina, haciendo las veces de esqueleto externo.

El cuerpo de las abejas consta de cabeza, tórax y abdomen (Persano, 2002). Además en la cabeza están los órganos de los sentidos; en el tórax, los apéndices para el movimiento y en el abdomen los órganos encargados de la digestión.

Cabeza

La cabeza es de forma triangular en la reina y en la obrera; mientras que en el zángano es redonda. Consta de 6 segmentos que primitivamente estuvieron separados, pero que en la actualidad están fusionados. Cada una de las placas y escleritos que forman la cabeza tienen un nombre específico: la parte superior de la cara, entre los ojos compuestos, se llama frente y en ella se ubican los tres ojos simples u ocelos, la parte situada a ambos lados, por debajo y detrás de los ojos, es la gena; debajo de las antenas, entre la frente y el labro, la parte bien delimitada por surcos en forma de “U”, se llama clipeo; de esta se

encuentra suspendido el labro, y sirve también de sostén a importantes músculos de los órganos de la succión. El labro es algo así como la tapa de la boca y forma parte del aparato bucal. La parte posterior de la cabeza se denomina occipucio; tiene una perforación llamada foramen y se comunica con la cavidad torácica por intermedio de la nuca membranosa. La parte inferior del *occipucio* tiene forma de la ‘U’ invertida y se llama probóscide. Allí se sitúan las piezas bucales. La cabeza de la abeja es de tipo hipognato, pues el eje cefálico forma un Angulo recto con el eje del cuerpo (Persano, 2002).

Tórax

Ritter (2001) señala, que el tórax de las abejas consta de 4 segmentos, que están soldados a una solida capa de quitina. Que en el tórax se asientan todos los órganos del movimiento de las abejas, o sea los tres pares de patas y los dos pares de alas. El mismo autor menciona que para la limpieza del cuerpo, en los últimos tramos de las extremidades de las patas (tarsos) existen pelos de distinta longitud colocados a manera de cepillo y que son de especial importancia a la peculiar estructura de las patas anteriores, dispuestas para que con ellas puedan las abejas limpiarse las antenas, una parte de de las patas traseras está particularmente conformada y dotada de pelos, de manera que pueda formar un espacio cerrado: el setillo para el polen, en el que las obreras transportan polen o propóleos. Ambos pares de alas se articulan entre las placas abdominales y dorsales. Los movimientos de vuelo los realizan varios cordones musculares que llenan casi toda la caja torácica.

Abdomen

El abdomen se compone de 9 segmentos, el primero de los cuales se encuentra sobre el tórax y recibe el nombre de propodeo; solo son visibles 6 segmentos, pues los otros sufrieron transformaciones al servir de apoyo e inserción del aguijón y de los órganos genitales (zángano); en el zángano se ven 7 segmentos. Los segmentos abdominales poseen solo 2 placas cada uno: las dorsales, llamadas tergitos y las ventrales, llamadas esternitos; vale decir que no existen pleuras. Los tergitos se enciman unos a otros, manteniéndose unidos por medio de membranas intersegmentales, lo que les permite libertad de movimiento. En su parte interior, poseen repliegues en los bordes en los cuales se insertan los músculos. Cada tergito contiene un par de espiráculos. Los tergitos se enciman con los esternitos de la misma manera que los tergitos entre sí, este sistema de placas superpuestas unidas por membranas flexibles, permite al insecto una gran variedad de movimientos. Por medio de los músculos abdominales el cuerpo de la abeja puede alargarse o acortarse, expandirse o contraerse, como también curvarse en cualquier dirección (Persano, 2002).

Morfología interna de las abejas

Sistema glandular

Ritter (2001) menciona, que las abejas cuentan con varios sistemas de glándulas, que sirven solo al individuo o bien a la comunidad. Las glándulas solo pueden desarrollarse correctamente si las abejas recibieron suficiente alimento de buena calidad durante la recría. Más tarde, el funcionamiento de estos órganos también puede verse alterado con una

alimentación deficiente, ya que entonces se consume el tejido graso que participa en la elaboración de secreciones.

Glándulas de la mandíbula superior

Las glándulas de la mandíbula superior tienen en la reina una función completamente distinta de la que desempeñan en las obreras en la reina producen la llamada sustancia real, de gran importancia para el mantenimiento conjunto de la colmena. Las obreras utilizan una secreción de composición parecida como medio de solución para la cera, polen y propóleos (Ritter, 2001).

Glándulas de los jugos alimenticios

Estas glándulas son pares y están colocadas a ambos lados de la cabeza, en las obreras jóvenes, aparecen máximamente desarrolladas en la época de cuidado de la cría. Las glándulas segregan sustancias proteicas, grasas y minerales, así como enzimas y vitaminas. Estos valiosos componentes se incorporan al alimento rico en hidratos de carbono, constituyendo un alimento que se administra en variable concentración a la cría abierta, y también a la reina y a los zánganos. Más tarde involuciona estas glándulas, pasando a producir solo enzimas. En las obreras viejas, estas glándulas pueden regenerarse en caso necesario, aunque sin alcanzar los niveles de producción anteriores. Las glándulas productoras de jugos nutricionales solo se desarrollan correctamente cuando las abejas disponen de suficientes sustancias proteicas (Ritter, 2001).

Glándulas olorosas (glándulas de Nasanoff)

Persano (2002) afirma, que la glándula odorífera o de Nasanoff, se ubica en la parte dorsal del abdomen, o sea en la cara anterior del VII tergito abdominal. En descanso esta cubierta por el tergito anterior, y solo cuando la abeja dilata el abdomen y adopta la posición característica de ‘llamada’, es decir cuando evagina la glándula, esta se ve en forma de una raya blanca, denominada surco o canal odorífero. La sustancia liberada actúa a manera de transmisor químico, y la abeja la utiliza tanto para la marcación de fuentes de alimento como para identificar los individuos de una misma colonia.

Glándulas endocrinas

Ritter (2001) menciona, que las glándulas endocrinas carecen de conductos excretores, vertiendo su secreción directamente en la hemolinfa. Estas secreciones, son las llamadas hormonas, que gobiernan los procesos metabólicos, el comportamiento, la muda y el desarrollo de las crías.

Persano (2002) dice, que los insectos poseen genes, que son los responsables del crecimiento y de las características de la larva, la pupa y el insecto adulto. Una hormona denominada neotenina regula la actividad de varios genes, accionándolos en el momento oportuno. Otra hormona, la ecdisona, promueve las mudas, iniciando de esta forma una nueva fase de desarrollo y crecimiento. La hormona neotenina se produce durante el estado larval. Cuando su concentración cae por debajo de determinado nivel, comienza la pupación y por último, cuando cesa de producirse, se desata la acción de los genes del imago. La hormona neotenina la producen los cuerpos alados (Corpora alata). Si se extirpan

los cuerpos alados se inicia inmediatamente la pupación. Dichas glándulas persisten en el insecto adulto cumpliendo otras funciones, como el control general del metabolismo del insecto.

Glándulas cereras

En la cara anterior de los esternitos de los segmentos IV al VII se encuentran las glándulas cereras, que en total, forman cuatro pares: uno por cada segmento. En cada esternito hay dos zonas de forma ovalada y color claro denominadas ‘‘espejos de cera’’, que tienen poros visibles únicamente al microscopio, por los cuales sale la secreción grasosa de las glándulas ubicadas en la parte interna de cada esternito, cabe mencionar; que en la epidermis, las escamas tienen la forma de un pentágono irregular y son muy pequeñas: se necesitan cerca de 2,000 para completar un gramo. Solamente la obrera posee glándulas cereras, las cuales comienzan a funcionar a partir de los 12 días de edad (Persano, 2002).

Sistema respiratorio

Dade (1962) reporta, que los insectos no poseen órganos respiratorios centralizados como pulmones en los humanos. El aire penetra desde el exterior directamente a los tejidos y entra en el cuerpo por los orificios de las paredes del mismo, pasando a través de un sistema de bombas y tubos ramificados. Los tubos principales reciben el nombre de tráqueas, por que se mantienen abiertos por espaciamientos espiralados de cutícula que facilitan la circulación del aire. Los troncos longitudinales se expanden en grandes sacos aéreos, en especial en el abdomen, donde son realmente muy grandes. Las comisuras laterales también son gruesas, al igual que unas ramas principales. Existen sacos similares

en el extremo final del tórax y un saco alrededor del cerebro. Los sacos traqueales actúan a la manera de fuelles, que se contraen bajo la repesión de la sangre que los rodea cuando el abdomen se retrae y comprime y, en cambio, se expanden cuando está extendido y dilatado. Las rápidas y rítmicas pulsaciones del abdomen de la abeja son movimientos respiratorios.

Aparato circulatorio

Dadant (1980) menciona, que el sistema circulatorio de la abeja se compone de dos diafragmas, uno dorsal y el otro ventral, ubicados en el interior del abdomen, el corazón y órganos accesorios que ayudan a la circulación. El diafragma dorsal consiste en una membrana muy delgada y transparente que separa al corazón del resto de los órganos de la cavidad abdominal; está ligado a los apotemas de los tergitos y esternitos, pero entre dichos puntos los bordes son libres. Desde los puntos de inserción se irradian fibras musculares. Tanto el diafragma dorsal como el ventral son los responsables de mantener la circulación dentro del abdomen y de llevar sangre desde el tórax al abdomen. El corazón es un órgano alargado, situado entre el diafragma dorsal y el techo del abdomen.

Sistema excretor

Los tubos de Malpighi son alrededor de 100 tubitos que se unen en el intestino delgado formando el principal órgano de excreción de la abeja. En su parte distal están obturados y sus paredes se componen de una simple capa celular; a través de las mismas los

desechos nitrogenados son absorbidos de la sangre y vertidos al intestino medio (Hayward, 1961).

Sistema nervioso

El sistema nervioso de la abeja está formado por el cerebro (que envía nervios a los ojos simples y a los compuestos, a las antenas, al labio y al cibario), un ganglio subesofágico pegado al cerebro por debajo del esófago (que envía nervios a las mandíbulas y a la probóscide) y por una cadena nerviosa central compuesta por dos pares de ganglios, uno por cada segmento, y unidos entre sí por una comisura y las cadenas posteriores por dos conectivos (López et al., 1980). También nos dice que en cada segmento estos ganglios se unen formando una masa bilobada, de modo que desaparecen las comisuras y los conectivos toman la apariencia de un cordón. Los nervios del primer ganglio torácico van hacia las patas delanteras; los nervios del segundo ganglio torácico se dirigen hacia los músculos alares y al segundo y tercer par de patas. En el abdomen existen otros cinco ganglios que regulan las funciones de los órganos de la respiración y también las digestivas.

Los órganos de la reproducción del macho

Estos órganos consisten en un par de testículos, dos conductos deferentes, dos vesículas seminales, un par de glándulas mucosas, un conducto eyaculador y el endofalo o pene. Los testículos son pequeñas glándulas, de 5 a 6 mm de largo y 1.6 mm de ancho, de forma triangular, ligeramente achatadas y de color amarillento (Medici, 1964). Este mismo autor nos habla de la disposición del aparato copulador explica que el acoplamiento no puede llevarse a cabo dentro de la colmena. En el momento de la copula, que tiene lugar al

aire libre durante el vuelo, se produce la eversión del endofalo, mediante una violenta contracción del abdomen del zángano, producida por sus poderosos músculos abdominales, estando las tráqueas llenas de aire. Casi simultáneamente a la eversión, las vesículas seminales se contraen, forzando el semen hacia el conducto eyaculador y el bulbo, seguido por la sustancia viscosa de las glándulas mucosas.

Órganos reproductores de la reina

El aparato genital de la hembra consta de dos ovarios piriformes, situados del 2° y 3° anillos abdominales, cada lado del buche y unidos en la parte superior. Los ovarios se componen de numerosos tubos llamados ovariolas, en número de 160 más o menos, que siguen la dirección del eje de estos órganos y en los cuales se producen los óvulos. Las ovariolas terminan en finas puntas que se insertan cerca de la cara ventral del corazón. Se integran con varios tipos de células: las ovulares, las foliculares y las células madres, que son las que originan los óvulos, los ovarios desembocan en oviductos que se unen en un tubo común denominado oviducto medio, en cuya base se comunica la espermateca, que es una bolsa esférica donde se almacenan los espermatozoides, luego continua en la vagina. Que se ensancha posteriormente y forma la bolsa copulatoria; esta se abre al exterior por debajo de la base del aguijón. (López *et al.*, 1980). También señala, que los órganos reproductores de la reina se hallan del todo desarrollados, mientras que los de la obrera, de idéntica conformación, están completamente atrofiados.

Aparato vulnerador

Dade (1962) dice, que está constituido por un conjunto de tres pares de placas articuladas juntas, para formar un sistema de palancas que mueven las lancetas y las demás partes accesorias; las placas están asociadas por músculos, de manera tal que su funcionamiento permite que las lancetas se claven en la victima y bombeen veneno en el cuerpo. Las placas situadas a ambos lados del bulbo y el estilete del aguijón, reciben el nombre de oblongus; las restantes son cuadradas, triangulares y son móviles. Todas ellas están accionadas por un conjunto de músculos. El aguijón propiamente dicho está compuesto de tres partes: el estilete y dos lancetas, ambas con extremos muy puntiagudos.

Biología y Hábitos

La siguiente descripción general, diferencia cada una de las castas en una colonia de abejas, tomando énfasis en las abejas africanizadas, las cuales son más comunes en nuestro medio:

Abeja reina

La reina o abeja madre, es la única hembra con órganos reproductivos perfectamente desarrollados, las principales funciones son la producción de huevos (fértiles e infértiles) y la segregación de sustancias químicas (feromonas), las cuales regulan el comportamiento de todos los individuos de la colonia. La reina virgen sale de su colmena para ser fecundada en el aire por los zánganos. Este vuelo se conoce como el vuelo nupcial

o vuelo de fecundación; durante el vuelo nupcial la reina es copulada por 10 o más zánganos, garantizándole espermatozoides para el resto de toda su vida útil. En este acto la reina recibe entre 87 y 200 millones de espermatozoides, pero sólo entre 5,3 y 5,7 millones de ellos alcanzan la espermateca. Una reina africanizada tiene una postura promedio de 3.000 huevos por día (Mantilla, 1997), aunque esta cantidad puede variar entre 2000 y 5000 huevos diarios dependiendo del origen o de la raza de la reina en iguales condiciones. (Vásquez y Tello, 1995). Morfológicamente, la reina tiene el cuerpo más alargado para permitir el desarrollo de los ovarios, las patas también son mayores y tiene el aguijón más largo que el de las obreras pero sólo lo usa para atacar a otra reina y muy rara vez a una obrera. Dentro de la colonia, la reina se localiza cerca del área de cría con postura más reciente. Por muy grande que sea un enjambre, resulta inútil a menos que tenga una reina fértil (Mace, 1991).

Abejas obreras

Silva *et al.* (2006) afirman, que las abejas obreras, son hembras que no están en su totalidad sexualmente desarrolladas (infértiles) y son las encargadas de realizar todas las funciones especializadas en la colmena de acuerdo a su edad y a las necesidades fisiológicas de la misma. De manera general, sus funciones se dividen en tres, que es la secreción, colecta y limpieza; Siendo sus principales actividades la producción de alimento, jalea real, cera y feromonas para la orientación de las otras abejas obreras. Así mismo, podemos mencionar que, las abejas obreras cumplen diversas funciones en la colmena, pudiéndose encontrar hasta más de ochenta mil en una colonia en plena temporada, siendo el elemento productor y directivo de la colmena (Salas, 2000)

Abejas zánganos

Las abejas zánganos son producto de los huevos no fecundados (individuos haploides) y su única función en la colmena es fecundar a la reina. Su cuerpo es de mayor tamaño que el de la abeja obrera y más ancho que el de la reina; tienen muy desarrollada su visión, sus ojos poseen 8,600 facetas, a diferencia de las obreras que solo tienen 6,900. De igual forma, su olfato se encuentra más desarrollado dado que tienen 30,000 órganos olfatorios mientras que las obreras solo 3,000 (Vásquez y Tello 1995). Este mismo autor dice que el aparato reproductivo está diseñado para acoplarse al aparato reproductor de la hembra en el vuelo y permitir la eyaculación dentro de los ovarios de la reina. Luego de fecundarla, éste muere dado que sus órganos genitales son desprendidos después del vuelo nupcial. Puesto que el aguijón es una estructura modificada de los órganos genitales de las hembras, los zánganos no tienen aguijón por consiguiente no pueden aguijonear; tampoco tienen ninguna de las estructuras necesarias para coleccionar polen y néctar. En los periodos de escasez de alimento, los zánganos son expulsados de la colonia por las obreras dado que consumen las reservas de alimentos en grandes cantidades, ocasionándoles la muerte por hambre.

Desarrollo de la cría

Una abeja obrera nace de un huevo fecundado que la reina ha puesto en una celdilla normal con alimento. El desarrollo se inicia como una larva redonda, que es abundantemente alimentada por las abejas durante los primeros cuatro días y medio. Al cabo de nueve u ocho días, se tapa la celdilla. El tabique es poroso y permeable al aire; lo construyen las obreras con cera (Salas, 2000).

Estadios

La reina es la única abeja que pone huevos fecundados (origen de las hembras). La reina también pone huevos no fecundados (origen de los machos). Este mismo autor dice que a veces ante la falta de una reina y la imposibilidad de crear otra, algunas obreras ponen huevos, no fecundados que darán origen a zánganos. También habla sobre el huevo que deposita la reina se transforma en larva y posteriormente en ninfa, cuando concluye esta etapa, nace la abeja alada (Mendizábal, 2005; Ritter 2001).

Cuadro 1.- Duración del ciclo biológico de *Apis mellifera*.

Etapa	Actividad en esa etapa	Estado de la celda	Duración de la etapa para...		
			Reina*	Obrera*	Zángano*
Huevo	Incubación del huevo	Abierta	3	3	3
Larva	Alimentación y crecimiento de la larva.	Abierta	5	6	6.5
	Ilado de capullo	Cerrándose	1	1.5	1.5
Ninfa	Reposo y Ninfosis. Proceso de metamorfosis.	Cerrada	7	10.5	13
TOTAL			16	21	24
Variación del tiempo total de gestación			15 a 16	21 a 22	24 a 25

* Datos expresados en días

Los plazos de desarrollo citados aquí para las diversas clases de abejas son solo valores medios. Sobre todo la fase de pupa puede variar mucho. Si la temperatura de incubación desciende solo 2 °C por debajo de la temperatura normal de incubación de unos

34 °C, la fase de pupa puede durar cuatro días más. Con temperaturas altas se acelera el desarrollo discretamente (Ritter, 2001).

Importancia de sus Productos

Importancia como productor de miel

Ulloa *et al.* (2010) citan, que la miel es la sustancia natural dulce producida por la abeja *Apis mellifera* o por diferentes subespecies, a partir del néctar de las flores y de otras secreciones extra florales que las abejas colectan, transportan, transforman, combinan con otras sustancias, deshidratan, concentran y almacenan en panales. Constituye uno de los alimentos más primitivos que el hombre aprovechó para nutrirse. Su composición es compleja y los carbohidratos representan la mayor proporción, dentro de los que destacan la fructosa y glucosa, pero contiene una gran variedad de sustancias menores dentro de los que destacan las enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, antioxidantes, vitaminas y minerales.

Importancia como medicinal

Ulloa *et al.* (2010) citan, que el uso de la miel como un agente terapéutico ha continuado dentro de la medicina popular hasta nuestros días. En la India, la miel de loto se usa para tratar enfermedades de los ojos. Otros ejemplos de los actuales usos de la miel en la medicina tradicional son: Como terapia para piernas ulcerosas infectadas, dolor de oídos, tratamiento tópico de la rubeola y sarampión, úlceras gástricas y dolor de garganta.

También se ha demostrado que la miel sirve como una fuente natural de antioxidantes, los cuales son efectivos para reducir el riesgo de enfermedades del corazón, sistema inmune, cataratas y diferentes procesos inflamatorios.

Lopez (2004) dice, que el propóleo potencializa los antibióticos, inhibe la aglutinación eritrocítica, es útil en quemaduras, heridas, afecciones de las encías, gripe y hemorroides, sumamente activo sobre el agente etológico *Paenibacillus larvae*, de la loque americana (enfermedad que afecta a la cría de las abejas). Sus ácidos fenólicos tienen propiedades antidiabéticas e inhiben selectivamente las células tumorales del melanoma.

Importancia de sus subproductos (polen, cera, jalea real y entomofagia)

Gris (2004) afirma, que la miel no es el único producto que las abejas proporcionan al hombre, también es posible obtener jalea real, propóleo, cera, polen, abejas reinas, núcleos de abejas, veneno, extracto de larva y larvas para alimentos, que ofrecen al apicultor un valor agregado y proporcionan otras alternativas de ingreso.

El polen

Es un producto elaborado que las abejas recogen en la época de floración y lo llevan a la colmena; en cambio la cera es procesada por las propias abejas. Ambos poseen un valor económico potencial.

La cera

Es un producto que principalmente se utiliza para la formación de panales, tanto para nuevas colmenas, como para el reemplazo de cera en colmenas afectadas por infecciones bacterianas o micóticas.

El propóleo

López (2004) comenta, que el propóleo es una mezcla de resinas (De diferentes plantas, cortezas, hojas, flores y frutas), cera natural producida por las abejas melíferas y, en ocasiones, granos de polen recolectados por estas. Es usado por las abejas para sellar, cubrir y proteger el interior de la colmena de posibles depredadores, a manera de una delgada capa de barniz sobre la superficie de los panales. Este mismo autor afirma que en norte america se utiliza principalmente como suplemento natural y de medicina complementaria. En tabletas puede ser combinado con gran variedad de ingredientes como polen y jalea real; en tinturas; puede ser extraído con alcohol al 70 porciento; como aditivo, en lociones para la piel, cremas de belleza, jabones, champues, lapices laviales, goma de mascar, cremas dentales y enjuagues bucales.

Jalea real

Se le ha atribuido, durante años, una amplia variedad de propiedades terapéuticas y cosméticas que carecen del respaldo de estudios médicos. Pese a ello, ha adquirido renombre por sus propiedades afrodisiacas, relacionadas con la exhaustiva capacidad

reproductiva de la abeja reina. También contiene testosterona (hormona masculina y propiedades para eliminar algunos tipos de células tumorales).

Entomofagia

En cuanto a la, la cultura japonesa incorpora en su dieta a las abejas; se venden enlatadas, fritas, ahumadas, garapiñadas, en salsa de soya, como frituras ligeras para botana, o bien, congeladas para prepararse al gusto.

Importancia Como Polinizador

Los primeros registros que ponen de manifiesto la importancia de las abejas melíferas para el ser humano, son frescos mesolíticos que datan aproximadamente 15,000 años en una caverna en Altamira, España y en Lascaux, Francia; y otros que datan de aproximadamente 6,000 años en una cueva en Valencia (Bicorp), España y de la misma antigüedad en una cueva en Tandjesburg, África del Sur. La importancia de la polinización como tal fue plasmada en roca hace unos 5,000-6,000 años, en Egipto. Ya en esa época se observan imágenes en relieve de individuos sacudiendo racimos de flores macho sobre racimos de flores hembra de la palmera datilera (*Phoenix dactylifera* (L.)). Sin embargo, hoy en día, aunque contamos con grandes avances tecnológicos, la literatura científica hace referencia a la polinización como el factor agronómico olvidado (Sanford, 1992).

Las relaciones ecológicas entre las plantas entomófilas (Polinizadas por insectos) y las abejas datan hace unos 80 millones de años (Ortega, 1982). Esta relación benéfica para ambas partes consiste en que las plantas suministran a las abejas el néctar y el polen que necesitan para su alimentación y éstas a cambio proporcionan la polinización cruzada a las plantas que pecorean.

La polinización es uno de los procesos ecológicos fundamentales para mantener la viabilidad y diversidad de las angiospermas y es una interacción ecológica que tiene importantes consecuencias para los servicios de los ecosistemas y para la producción de plantas cultivadas. Cerca de 35% de la producción global de alimentos de origen vegetal proviene de plantas que dependen de polinizadores y un tercio de la dieta de los seres humanos está constituida por verduras, legumbres y frutas polinizadas por insectos, de los cuales más del 90% son abejas (Klein *et al.*, 2007).

La diversidad y la abundancia de polinizadores, en especial de abejas, está relacionada con aumentos en el amarre de semillas y frutos de muchas especies vegetales (Ricketts *et al.*, 2004).

Gardiazabal (1998) señala, que aunque en un huerto los árboles sean de un mismo cultivar, al colocar colmenas de abejas durante el período de floración producen más que sin ellas y que el éxito de una buena polinización está dado por una adecuada cantidad de colmenas de abejas por hectárea.

Efecto de los Pesticidas sobre Polinizadores

Sin embargo, que no quepa la más mínima duda de que la abeja melífera es el agente polinizador más cosmopolita y el más utilizado en aquellos cultivos que requieren o se benefician de insectos para el cuaje de semilla, vegetal o fruta. Por último, el número de polinizadores que se observan en un predio de siembra ha venido disminuyendo con los años como resultado del uso de plaguicidas y de la modificación y destrucción del hábitat natural (Kevan y Phillips, 2001). Esto ha hecho a la abeja melífera, un elemento aún más primordial en la ecuación de servicios de polinización, sobre todo en ambientes de agricultura intensiva.

A pesar, que los agentes polinizadores no son el blanco de los diferentes tratamientos agroquímicos usados en la protección de los cultivos, son ampliamente afectados por los pesticidas (Devillers *et al.*, 2002a). Estos reducen las poblaciones de abejas por dos vías: Primero, muchos pesticidas necesarios en los cultivos son altamente tóxicos para estos organismos; y segundo, el uso de herbicidas puede reducir la oferta floral por unidad de área para el pecoreo de las abejas. La actividad tóxica de los pesticidas puede darse por ingesta de néctar o polen contaminado; y/o envenenamiento por contacto, cuando vuelan a través de una nube de pesticida, o al caminan sobre partes tratadas de una planta (Devillers *et al.*, 2002a).

Las colonias en las colmenas pueden ser afectadas directamente por los pesticidas, pero con mayor frecuencia sólo las abejas pecoreadoras mueren en campo o sus funciones fisiológicas se ven afectadas. Sin embargo, si las abejas pecoreadoras mueren, la colonia en

su totalidad es afectada, ya que son las responsables de mantener el ingreso de alimento a la colmena (Kevan, 1999).

La toxicidad de un pesticida específico es resultado de sus propiedades fisicoquímicas, del método de formulación y de la habilidad inherente de las abejas para tratar con el material internamente. Así, los insecticidas organofosforados y carbámicos actúan sobre el sistema nervioso de las abejas provocando problemas de regurgitación, abdomen distendido, comportamientos agresivos, movimientos erráticos, inhabilidad para volar, desorientación, letargo, parálisis, morbilidad y muerte. Los piretroides, por su parte, inducen movimientos erráticos, inhabilidad para volar, estupefacción seguido muy a menudo, por parálisis, morbilidad y muerte. Los compuestos organoclorados, actúan como agentes neuroactivos sobre la transmisión de los impulsos nerviosos induciendo movimientos erráticos, actividad anormal y temblores (Devillers, 2002b). Por otra parte, los insecticidas reguladores del crecimiento (IGRs) del tipo benzoilurea (Inhibidores de la síntesis de quitina) son considerados relativamente seguros para las abejas. Sin embargo, a altas dosis estos compuestos pueden ser también perjudiciales para abejas adultas de las especies *Apis cerana* y *Apis mellifera* (Gupta y Chandel, 1995).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación donde se llevo a cabo el experimento

El presente trabajo se realizo en el Laboratorio de Toxicología la del Departamento de Parasitología que se encuentra dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, durante los meses de junio y julio del año 2012.

Obtención del material biológico

Para la realización del los bioensayos se adquirieron 4 núcleos de *Apis mellifera* en la empresa Apícola Monte Alto, ubicada en el municipio de Xicotepec, Estado de Puebla. Los núcleos fueron adquiridos en el mes de marzo, dichos núcleos pasaron a cámaras de cría comerciales, de 10 bastidores y fueron alimentadas una vez a la semana con una preparación de un jarabe de 50% agua y 50% azúcar de caña, para el incremento de la población. Las colmenas se establecieron en terrenos de la UAAAN, que se localizaban entre las coordenadas geográficas 25° 22' de latitud norte y 101° 02' longitud oeste y a una altitud de 1742 msnm., con una temperatura media anual de 19.8°C.

Plaguicidas utilizados

Los plaguicidas evaluados fueron seleccionados de acuerdo a visitas previas a los productores dueños de invernaderos, quienes mencionaron cuales productos eran los más utilizados. Una vez obtenida esta información se procedió a seleccionar los productos Agrimec 1.8 CE[®] (Abamectina) y Picador 70.0 PH[®] (Imidacloprid).

Método de bioensayo

Los métodos de bioensayo utilizados en el desarrollo del presente trabajo, fue el de película residual (OECD, 1998), y el método de bioensayo de dieta envenenado (OECD, 1998). Utilizando diferentes concentraciones para cada uno de los métodos.

Método de bioensayo de película residual (OECD, 1998)

Para la realización del bioensayo por película residual, primero se ubicaron las concentraciones que se obtuvieron mediante un estudio previo denominado ventana biológica, que nos ayudo a partir de una concentración adecuada. Para la obtención de las soluciones a diferentes concentraciones, se partió de una solución de 1000 ppm (Cuadro 2), que fue diluida en agua para obtener las concentraciones deseadas. Dichas diluciones se hicieron justo en el momento de realizar el bioensayo.

Cada tratamiento consto de tres repeticiones y un testigo. El recipiente utilizado fue un frasco de plástico transparente con una capacidad de un litro; con 6 concentraciones más un testigo, dando un total de 21 unidades experimentales para cada plaguicida a evaluar.

El bioensayo se realizo con abejas obreras adultas realizándose la técnica conocida como película residual, que consistió en agregar 10 ml de la concentración deseada del plaguicida a cada frasco, para obtener una buena distribución, el frasco se rodaba para que la concentración cubriera toda la superficie de este.

Una vez que se logro la cobertura y se logro retirar el exceso de humedad del frasco se introdujeron en cada uno 20 abejas obreras adultas. Posteriormente los frascos tratados fueron tapados con la misma tapa pero que estos tenían una abertura de 5 cm de diámetro tapadas con tela organza, para facilitar el intercambio de aire dentro del frasco. El tratamiento del testigo solamente fue tratado con agua.

Las observaciones de mortalidad se realizaron a las 3, 6, 12 y 24 horas. Se considero como individuo muerto aquel que no presentara movilidad alguna. Utilizando solamente el movimiento del frasco para incitar el movimiento de los insectos. Con los datos obtenidos se determino los porcentajes de mortalidad de cada concentración, para posteriormente determinar los valores de CL_{50} mediante el análisis probitt.

Método de bioensayo de dieta envenenada (OECD, 1998).

Para la realización del bioensayo por película residual, primero se ubicaron las concentraciones donde se obtuvo mediante a un estudio previo denominado ventana biológica, que nos ayudo a partir de una concentración adecuada. Para la obtención de las soluciones a diferentes concentraciones se partió de una solución de 1000 ppm (Cuadro 2), que fue diluida en la dieta de la abeja, la cual consistió en preparar un litro de solución al 50% de fructosa para obtener las concentraciones deseadas. Dichas diluciones se hicieron justo en el momento de realizar el bioensayo.

Cada tratamiento consto de tres repeticiones y un testigo. El recipiente utilizado fue un frasco de plástico transparente con una capacidad de un litro; con 6 concentraciones más un testigo, dando un total de 21 unidades experimentales para cada plaguicida a evaluar.

El bioensayo se realizo con abejas obreras adultas realizándose la técnica conocida como dieta envenenada, que consistió en colocar discos de papel filtro de 4 cm de diámetro con 3 ml de la concentración deseada de la dieta de la abeja a cada frasco, una vez que se tenía en cada uno de los frascos las diferentes concentraciones se introdujeron en cada uno de ellos 20 abejas obreras adultas. Posteriormente los frascos con las dietas tratadas fueron tapados.

Posteriormente los frascos tratados fueron tapados con la misma tapa pero que estos tenían una abertura de 5 cm de diámetro tapadas con tela organza, para facilitar el intercambio de aire dentro del frasco. El tratamiento del testigo solamente fue alimentado con dieta sin plaguicida.

Las observaciones de mortalidad se realizaron a las 3, 6, 12 y 24 horas. Se considero como individuo muerto aquel que no presentara movilidad alguna. Utilizando solamente el movimiento del frasco para incitar el movimiento de los insectos. Con los datos obtenidos se determino los porcentajes de mortalidad de cada concentración, para posteriormente determinar los valores de CL₅₀ mediante el análisis probitt.

Cuadro 2.- Productos y concentraciones evaluadas en los tratamientos, en el experimento de *Apis mellifera* con los dos diferentes plaguicidas.

Producto	
Abamectina*	Imidacloprid*
.05	.05
.1	.1
1	1
3	5
5	10
10	20

Datos expresados en ppm.*

Análisis estadístico

Con los resultados de los bioensayos se realizaron los análisis probitt, donde se obtuvo la ecuación de predicción, CL_{50} , CL_{95} , línea de respuesta Dosis-Mortalidad y límites fiduciales que se graficaron en papel logaritmo-probitt; se estimó además el valor de chi-cuadrada (X^2) y el coeficiente de determinación (R^2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se describen los resultados obtenidos de los bioensayos realizados. Presentando la siguiente secuencia: 1) resultados del método de bioensayo de película residual, donde se muestran los valores de CL_{50} , CL_{95} y Límites fiduciales; además se muestra las líneas de regresión dosis-mortalidad y tendencia. 2) resultados del método de bioensayo de dieta envenenada que presenta la misma secuencia que la anterior.

Resultados del método de bioensayo de película residual

Concentración letal

Con respecto a la concentración letal media (CL_{50}) en el método de película residual para los diferentes insecticidas a las 3 horas, podemos observar (cuadro 3) que el producto abamectina presento un valor de CL_{50} de 231.58 ppm., mientras que el producto imidacloprid fue de 164.60 ppm. Estos resultados nos indican que a pesar que el producto abamectina trabaja en concentraciones muy pequeñas para obtener altas mortalidades, podemos mencionar que su modo de acción es lento motivo por el cual presenta valores altos para matar un 50% de la población. Al respecto Clark (1990) menciona que las abamectinas a nivel de campo empiezan a mostrar todo su potencial de control después de las 48 horas.

Cuadro 3.- CL₅₀, CL₉₅ y limites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 3 horas de exposición.

Plaguicida	#	CL ₅₀	limites fiduciales		CL ₉₅
			inferior	superior	
Abamectina	420	231.78	53.40	3313	15939
Imidacloprid	420	164.60	60.11	2497	10137

#: Número de individuos de prueba

Para la concentración letal media (CL₅₀) en el método de película residual, obtenida a las 6 horas de exposición, en el cuadro 4, podemos observar que el producto abamectina presento una CL₅₀ de 2.807 ppm y el producto imidacloprid de 51.98 ppm.

Cuadro 4.- CL₅₀, CL₉₅ y limites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 6 horas de exposición.

Plaguicida	#	CL ₅₀	limites fiduciales		CL ₉₅
			inferior	superior	
Abamectina	420	2.807	1.689	4.868	47.56
Imidacloprid	420	51.98	28.87	145.64	4152

#: Número de individuos de prueba

En relación a la concentración letal media (CL₅₀) en el método de película residual, a las 12 horas de exposición podemos observar (cuadro 5), que el producto abamectina obtuvo una CL₅₀ de 0.760 ppm, mientras que el producto imidacloprid obtuvo una CL₅₀ de 9.02 ppm.

Cuadro 5.- CL₅₀, CL₉₅ y limites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 12 horas de exposición.

Plaguicida	#	CL ₅₀	Limites fiduciales		CL ₉₅
			inferior	superior	
Abamectina	420	0.76	0.43	1.250	11.00
Imidacloprid	420	9.02	6.75	12.70	346.36

#: Número de individuos de prueba

Finalmente la concentración letal media (CL₅₀) en el método de película residual a 24 horas de exposición, en el cuadro 6 podemos observar que el producto abamectina obtuvo una CL₅₀ de 0.088 ppm, mientras que el producto imidacloprid fue de 1.73 ppm.

Cuadro 6.- CL₅₀, CL₉₅ y limites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 24 horas de exposición.

Plaguicida	#	CL ₅₀	Limites fiduciales		CL ₉₅
			Inferior	superior	
Abamectina	420	0.088	0.0079	0.261	6.07
Imidacloprid	420	1.730	0.4600	3.160	209

#: Número de individuos de prueba

Al respecto podemos mencionar que la mortalidad de *Apis mellifera* mostro una respuesta uniforme a partir de las 6 horas de exposición, podemos observar también que el producto abamectina muestra los valores más bajos de CL₅₀. Al comparar nuestros

resultados con otras investigaciones, podemos mencionar que nuestra CL_{50} en abamectina obtenida en nuestro experimento fue de 0.0020, siendo inferior a la obtenida por Khans y Dethe (2005) que fue de 0.0035 ppm. Por otro lado, para el insecticida imidacloprid nuestros resultados fueron similares a los reportados por estos mismos autores (Khans y Dethe, 2005) con 0.0035ppm. De este modo podemos mencionar que los resultados obtenidos en nuestra investigación muestran una alta susceptibilidad de *A. meliphera* a estos dos insecticidas.

Resultados del método de bioensayo de dieta envenenada

Concentración letal

Con respecto a la concentración letal media (CL_{50}) en el método de dieta envenenada para los insecticidas abamectina e imidacloprid a las 3 horas de exposición, podemos observar (cuadro 7) que el producto abamectina presento un valor de CL_{50} de 2.239 ppm, mientras que el producto imidacloprid fue de 47.16 ppm.

Cuadro 7.- CL_{50} , CL_{95} y límites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 3 horas de ingestión del alimento.

Plaguicida	#	CL_{50}	Límites fiduciales		CL_{95}
			Inferior	superior	
Abamectina	420	2.239	0.01993	10.6755	68071
Imidacloprid	420	47.16	29.7400	152.810	365.88

#: Número de individuos de prueba

Para la concentración letal media (CL_{50}) en el método de dieta envenenada, obtenida a las 6 horas (cuadro 8), podemos observar que el producto abamectina presentó una CL_{50} de 1.120 ppm, mientras que el producto imidacloprid de 19.56 ppm.

Cuadro 8.- CL_{50} , CL_{95} y límites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 6 horas de ingestión del alimento.

Plaguicida	#	CL_{50}	Límites fiduciales		CL_{95}
			Inferior	superior	
Abamectina	42	1.120	0.019	6.141	14691
Imidacloprid	420	19.56	15.49	29.33	162.61

#: Número de individuos de prueba

En relación a la concentración letal media (CL_{50}) en el método de dieta envenenada, a las 12 horas de alimentación, podemos observar (cuadro 9), que el producto abamectina obtuvo una CL_{50} de 0.030 ppm, mientras que el producto imidacloprid obtuvo una CL_{50} de 0.300 ppm.

Cuadro 9.- CL₅₀, CL₉₅ y limites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 12 horas de ingestión del alimento.

Plaguicida	#	CL ₅₀	Limites fiduciales		CL ₉₅
			Inferior	superior	
Abamectina	420	0.030	0.004	3.68	403.54
Imidacloprid	420	0.300	0.012	1.09	92.66

#: Número de individuos de prueba

Finalmente la concentración letal media (CL₅₀) en el método de dieta envenenada a 24 horas de ingestión de alimento, en el (cuadro 10) podemos observar que el producto abamectina obtuvo una CL₅₀ de 0.007 ppm, mientras que el producto imidacloprid fue de 0.10 ppm.

Cuadro 10.- CL₅₀, CL₉₅ y limites fiduciales de los productos evaluados contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 24 horas de ingestión del alimento.

Plaguicida	#	CL ₅₀	Limites fiduciales		CL ₉₅
			Inferior	superior	
Abamectina	420	0.007	0.000493	1.223	2.65
Imidacloprid	420	0.100	0.006010	2.290	39.28

#: Número de individuos de prueba

En cuanto a los resultados obtenidos de CL_{50} por dieta envenenada, podemos mencionar que a las 24 horas en el tratamiento de abamectina de nuestro experimento fue de 0.007 ppm, en comparación con los obtenidos por Yangyan-xia *et al.*, (2008) que fueron de 0.668 ppm, siendo inferiores los resultados de nuestra investigación. Al respecto del producto imidacloprid nuestros resultados obtenidos fueron de 0.100 ppm, del mismo modo inferiores en comparación a los obtenidos por este mismo autor Yangyan-xia *et al.*, (2008) que fueron de 0.380 ppm.

Líneas de Regresión Dosis Mortalidad

En la figura 1 se exponen las líneas de respuesta dosis-mortalidad, en referencia a la recta correspondiente para el producto Abamectina, bajo la metodología de película residual, podemos mencionar que se obtuvo una CL_{50} de 2.80 ppm (6 h), 0.76 ppm (12 h) y de 0.88 ppm (24 h) respectivamente; así mismo se obtuvo una CL_{95} de 47.5 ppm (6 h), 11 ppm (12 h) y 6.0 ppm (24 h). por lo anterior se concluye que en base a la respuesta de las líneas dosis-mortalidad de abejas obreras adultas, donde las líneas de 12 y 24 horas de exposición presentan una tendencia homogénea de la población; mientras que la línea de 6 horas tiene una tendencia heterogénea.

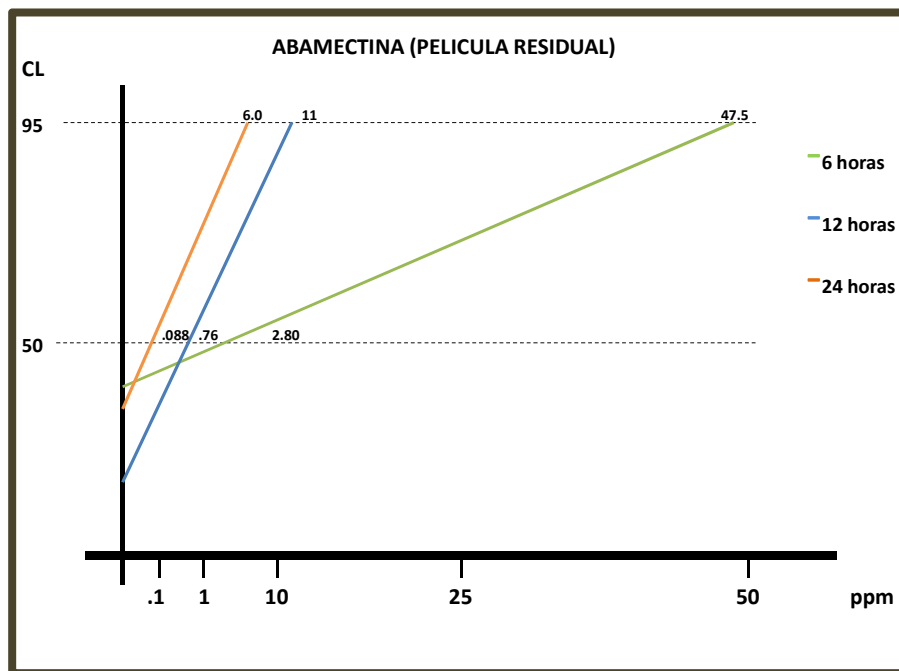


Figura 1.- Líneas de respuesta dosis mortalidad por el método de película residual del producto Abamectina evaluado contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 6, 12 y 24 horas de exposición.

En la figura 2 se exponen las líneas de respuesta dosis-mortalidad, en referencia a la recta correspondiente para el producto imidacloprid, bajo la metodología de película residual, podemos mencionar que se obtuvo una CL50 de 164.6 ppm (3 h), 51.98 ppm (6 h), 9.2 ppm (12 h) y de 1.7 ppm (24 h) respectivamente; así mismo se obtuvo una CL 95 de 10137ppm (3 h), 4151 ppm (6 h), 346.3 ppm (12 h) y 290 ppm (24 h). Por lo anterior se concluye que en base a la respuesta de las líneas dosis-mortalidad de abejas obreras adultas, donde las líneas de 12 y 24 horas de exposición presentan una tendencia homogénea de la población; mientras que las líneas de 3 y 6 horas tienen una tendencia heterogénea.

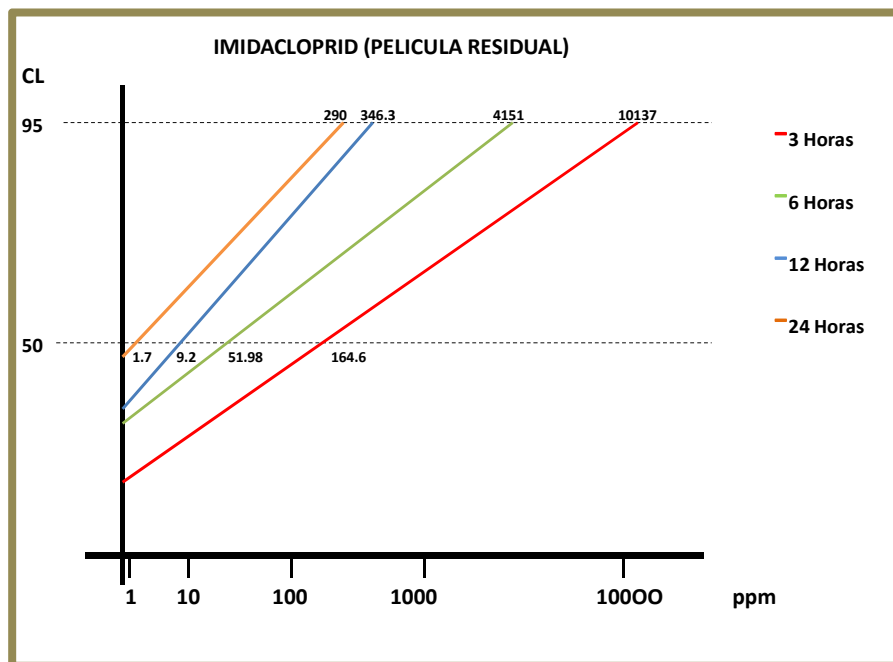


Figura 2.- Líneas de respuesta dosis mortalidad por el método de película residual del producto Imidacloprid evaluado contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 3, 6, 12 y 24 horas de exposición.

En la figura 3 se exponen las líneas de respuesta dosis-mortalidad, en referencia a la recta correspondiente para el producto Abamectina, bajo la metodología de dieta envenenada, podemos mencionar que se obtuvo una CL50 de 2.23 ppm (3 h), 1.120 ppm (6 h), 0.030 ppm (12 h) y de 0.007 ppm (24 h) respectivamente; así mismo se obtuvo una CL 95 de 68071 ppm (3 h), 14691 ppm (6 h), 403.5 ppm (12 h) y 2.65 ppm (24 h). Por lo anterior se concluye que en base a la respuesta de las líneas dosis-mortalidad de abejas obreras adultas de suministro de alimento envenenado, las 4 líneas de 3, 6, 12 y 24 horas presentan una tendencia heterogénea.

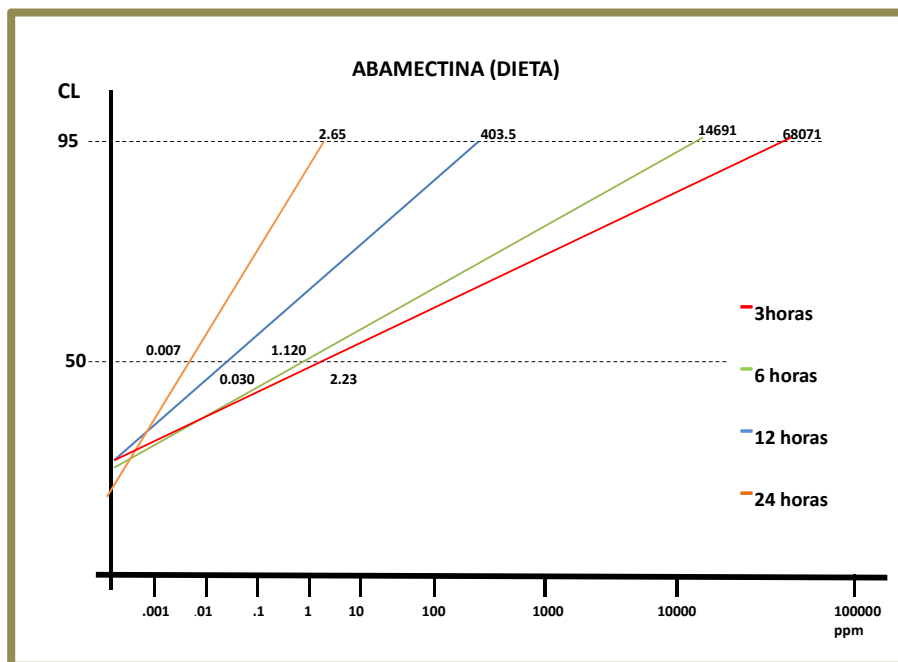


Figura 3.- Líneas de respuesta dosis mortalidad por el método de dieta envenenada del producto Abamectina evaluado contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 3, 6, 12 y 24 horas de exposición.

En la figura 4 se exponen las líneas de respuesta dosis-mortalidad, en referencia a la recta correspondiente para el producto imidacloprid, bajo la metodología de dieta envenenada, podemos mencionar que se obtuvo una CL50 de 47.1 ppm (3 h), 19.5 ppm (6 h), 0.30 ppm (12 h) y de 0.01 ppm (24 h) respectivamente; así mismo se obtuvo una CL 95 de 365.8 ppm (3 h), 162.6 ppm (6 h), 92.6 ppm (12 h) y 39.2 ppm (24 h). Por lo anterior se concluye que en base a la respuesta de las líneas dosis-mortalidad de abejas obreras adultas, de suministro de alimento envenenado, las 4 líneas de 3, 6, 12 y 24 horas presentan una tendencia heterogénea.

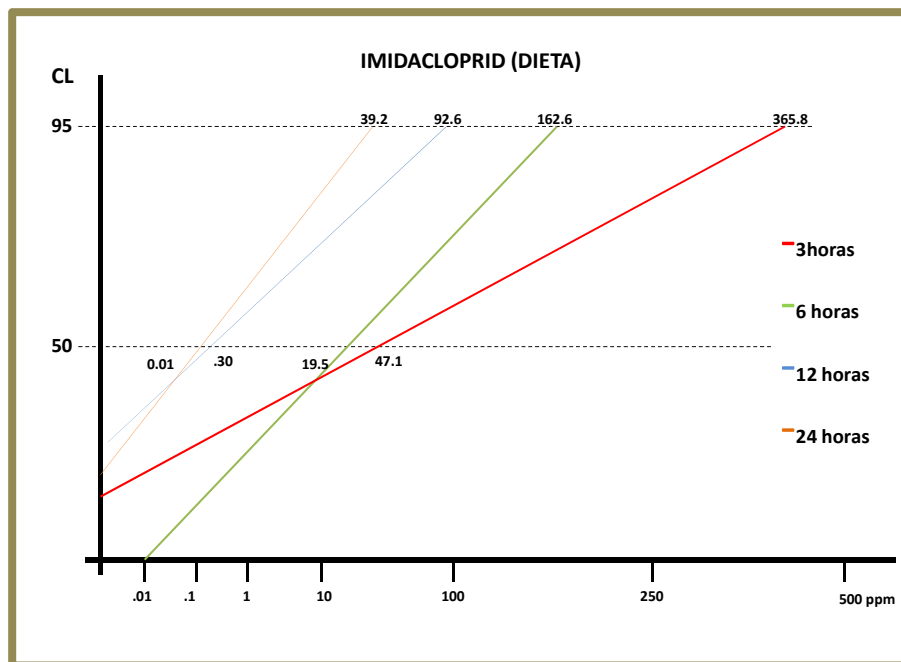


Figura 4.- Líneas de respuesta dosis mortalidad por el método de dieta envenenada del producto Imidacloprid evaluado contra abejas obreras adultas (*Apis mellifera*) a 3, 6, 12 y 24 horas de exposición.

Por lo anterior podemos mencionar en base a la respuesta de las líneas dosis-mortalidad de abejas obreras adultas, el método de película residual presenta una respuesta homogénea, mientras que el método de dieta envenenada presenta una respuesta heterogénea. Esto posiblemente se deba a que el área de contacto entre el organismo y el toxico es más grande en la película residual; teniendo por esto una respuesta más uniforme (Lagunés y Villanueva, 1994). Por otro lado la respuesta heterogénea en el método de dieta envenenada posiblemente se deba al número de visitas de las abejas al comer, por lo que abejas que no visitaron el alimento no sufrieron ningún daño.

CONCLUSION

En base a las condiciones en las que se desarrollo el presente experimento podemos concluir:

1. El método de película residual presento los valores más altos de CL₅₀ en todas las tomas de datos.
2. El método que presento los valores más bajos de CL₅₀ fue el de dieta envenenada.
3. El producto que presento los valores más altos de CL₅₀ fue el imidacloprid; por lo tanto se le puede considerar menos toxico para las abejas. Sin embargo se debe de tener especial cuidado en su manejo ya que se reporta como un insecticida muy letal cuando las abejas lo transportan a la colmena.
4. Por lo anterior el producto más toxico para las abejas fue la Abamectina.
5. Ambos productos son moderadamente tóxicos para las abejas en función a las CL₅₀ reportada y comparada con la CL₅₀ de otros autores para insectos plaga.

BIBLIOGRAFÍA

Clark, J.M., J.G. Scott, F. Campos y J. R. Bloom., 1990. Resistance to abermectins. Annual review of entomology. 40: 1-30.

Cluzeau, S., 2002. Risk assessment of plant protection products on honey bee. Regulatory aspects. En: Devillers, J.; Pham-Delegue, M.H. (Eds), Honey Bees: Estimating the Environmental Impact of Chemicals. Chemicals, Taylor and Francis, London, UK, pp 42-55.

Correa, 2004. Revista: Imagen Veterinaria, vol. 4 "Abejas", Historia de la Apicultura en México, Ciudad universitaria, CP 04510, Delegación Coyoacán, México, D. F., P. 5 y 49.

Dadant., 1980. La colmena y la abeja melífera. Editorial Hmisferio Sur, Montevideo.

Dade, H. A., 1962. Anatomy and dissection of the honeybee. Bee Research Association Ltd., Ketnt, Inglaterra.

Del Pozo E. y Schopfloch R. 2002, Cría de Abejas, Editorial Albatros SACL pág12.

Devillers, J.; Pham-Delegue, M.H.; Decourty, A.; Budzinski, H.; Cluzeau, S.; Maurin, G., 2002a. Structure-toxicity modeling of pesticides to honey bees. SAR and QSAR in Environmental Research 13, 641-648.

- Devillers, J., 2002b. Acute toxicity of pesticides to honey bees. En: Devillers, J.; Pham-Delegue, M.H. (Eds), Honey Bees: Estimating the Environmental Impact of Chemicals. Ed. Taylor and Francis, London, UK, pp 42-55.
- Eduardo Del Pozo y Roberto Schopflocher. 2002, Cría de Abejas – Editorial Albatros SACL 20– pág12.
- Eroski, 2006(en línea). Abejas: algo más que miel. Revista consumer. Es, (http://www.consumer.es/accesible/es/medio_ambiente/naturaleza/2006/25/15564.php)(Consulta 30 de Septiembre del 2006).
- EPPO/Council of Europe., 1993. Decision-Making Scheme for the Environmental Risk Assessment of Plant Protection Products - Honeybees. EPPO bulletin, vol. 23, No.1, 151-165. March 1993.
- EPPO., 1992. Guideline on Test Methods for Evaluation the Side-Effects of Plant Protection Products on Honeybees (No. 170). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 22, 203-215.
- Gardiazabal I., F. 1998. Floración en paltos. Memorias del Seminario Internacional de Paltos. Viña del Mar, Chile. pp. 51-72.
- Gris A., 2004. Revista: Imagen Veterinaria, vol. 4 ‘‘Abejas’’, Historia de la Apicultura en México, sección ‘‘Alternativas de Polen y Cera’’, Ciudad universitaria, CP 04510, Delegación Coyoacán, México, D. F., P. 31, 32 y 36.
- Gupta, P.R.; Chandel, R.S., 1995. Effects of diflubenzuron and penfluron on workers of *Apis cerana indica* F y *Apis mellifera* L. Apidologie 26, 3-10.

- Hayward, K. J., 19719. Guia para el entomologo principiante. U. N. T., fundación e Instituto Miguel Lillo, miscelánea Nro. 37, 2ª. Ed., Tucuman.
- Harrison, E.G., 1993. Proceedings of the Fifth International Symposium on the Hazards of Pesticides to Bees, October 26-28, 1993, Plant Protection Service, Wageningen, The Netherlands. Report IUBBS, 14pp + Appendices 180pp.
- Kevan, P.G., 1999. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 74, 373-393.
- Kevan, P. G. y T. P. Phillips., 2001. The economic impacts of pollinator declines: an approach to assessing the consequences. *Conservation Ecology* 5(1): 8. [online] URL: <http://www.consecol.org/vol5/iss1/art8>
- Khans y Dethe., 2005. Toxicity of New Pesticides to Honey bees, Department of entomology, Mahatma Phule Krishi Vidyapeeth, Rahuri-413 722 Dist. Ahmednagar, India.
- Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke, T., 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society (B)* 274:303-313.
- Lagunes T. A. y J. J. Villanueva., 1994. Toxicologia y manejo de insecticidas. Colegio de postgraduados en ciencias agrícolas. Mexico. 265p.
- Lopez M., M. B. Gerardi y M. A. Lopez Magaldi, 1980. Tratado sobre las abejas. Albatros, Buenos Aires.
- López, 2004. Revista: Imagen Veterinaria, vol. 4 ‘‘Abejas’’, Historia de la Apicultura en México, sección ‘‘composición, propiedades y usos de la jalea real’’ Ciudad universitaria, CP 04510, Delegación Coyoacán, México, D. F., P. 41 y 47

- Mantilla C., 1997. Principios de Apicultura africanizada. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Primera edición. Medellín, Colombia.
- Mace H., 1991. Manual Completo De Apicultura. Primera edición. México, Edit. Continental, 289 Pág.
- Medici, M., 1964. Tratado de apicultura práctica. Edición del Autor, Buenos Aires.
- Mendizabal, 2000. Abejas, Manuales esenciales – Editorial Albatros SACL - pág12.
- Mendizábal M., 2005. Abejas, editorial Albatros, primera edición, impreso en grafica MPS S. R. L. Santiago del estero 338. Lanus Oeste, Buenos Aires, Argentina, p. 32 y 33.
- Menendez F., 2009. Manual Para la Formacion del Especialista, editorial Lex Anova, general Salchaga NO. 3, 47008 Valladolid, España, 10 ma. Edición, p. 298.
- Mussen E. y Brandi G., 2010. Interacciones Abejas-Pesticidas. (1) Dr. Eric C. Mussen, Extension Apiculturist, UC Davis, Gene Brandi, Commercial Beekeeper, Los Banos, CA. U.C Apiaries Newsletter, University of California Department of Entomology, p. 1 Busqueda realizada, 25 de Septiembre, 2012
http://www.apiservices.com/articulos/pesticides_mussen.pdf
- Ortega J.L., 1982. Flora de interés apícola y polinización de cultivos, edit. Mundi-prensa, vol. 1, Barcelona, España, p. 56

Persano L. A., 2002. Apicultura Práctica, edit. AGT EDITOR. S.A. Progreso no. 202-colonia Escandón C.P. 11800 México D.F., 5^{ta} Reimpresión, págs.: 131, 142, 143, 144, 151, 152, 154, 156, 157, 167, 168, 170, 172.

Ritter, 2001. Enfermedades de las bajas, editorial: ACRIBIA, S. A. Royo, 23-50006 Zaragoza (España) págs. VII, 1, 2, 3, 4, 12.

Ricketts TH, Daily GC, Ehrlich PR, Michener CD., 2004. Economic Value of Tropical Forest to Coffee Production. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(34):12579- 12582.

Rodríguez, 1998. Cría Rentable de abejas reinas y producción de jalea real – Ediciones continente – pág. 8.

Sanford, M., 1992. Beekeeping: Watermelon Pollination. Publication # RF-AA091, Florida Cooperative Extension Service.

<http://edis.ifas.ufl.edu> (consulta: 19 de septiembre del 2012).

Salas, R., 2000. Manual de apicultura para el manejo de abejas africanizadas. Programa para el desarrollo de la pequeña y mediana industria apícola en Honduras. Honduras. EAP-Zamorano. 65 Pág.

Salamanca G., G., F. Londoño M., F Rivera P. y M. Zapata O., 2001 (en línea) Análisis morfométrico de la abeja *Apis mellifera* (L) en algunas zonas apícolas. (<http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/anatomía/análisis%20morfometrico%20aphis.PDF>) (Consulta 18 de Agosto del 2012).

Sekita. N., 2001. Managing *Osmia Cornifrons* to Pollinate Apples in Aomori Prefecture, Japan. ISHS. 8th Pollination Symp. Acta Hort. 56. Kuroishi, Japan. P. 303.

Silva G. D., Arcos-D A.L. y Gómez-D., 2006. Guía Ambiental Apícola. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá D. C., Colombia. P. 22, 23,24.

Ulloa *et al.*, 2010 (en línea). Revista Fuente Año 2, No. 4, Septiembre, 2010. P. 11, 12.

(<http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/01-04/2.pdf>) (Consulta: 17 de septiembre del 2012)

Vásquez R. y Tello J., 1995. Producción Apícola. Corporación Colombiana de Investigaciones Agropecuarias – ICA, Instituto Colombiano Agropecuario – ICA, Universidad Nacional de Colombia, Plan Nacional de Rehabilitación – PNR. Primera edición. Bogotá D.C., Colombia. pp.127

Yang yan-xia, Jin Shao-qiang, LI Shao-nan, Wei Fang-lin, Zhu Guo-nian, 2008. Oral toxicity and risk of five insecticides for bees (Instituto de Pesticidas y Toxicología Ambiental, Universidad de Zhejiang, Hangzhou 310029, China).