

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Detección de nosema en las abejas melíferas (*Apis mellifera L.*) de la Comarca
Lagunera

Por:

ELIEL MARCIAL SALVADORES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Torreón, Coahuila, México
Febrero, 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Detección de nosema en las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) de la Comarca Lagunera.

Por:

ELIEL MARCIAL SALVADORES

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada por:


DR. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO
Presidente


ING. RUBI MUÑOZ SOTO
Vocal


M.C. FRANCISCA SÁNCHEZ BERNAL
Vocal


ING. JUAN MANUEL NAVA SANTOS
Vocal Suplente


M.E. JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ
Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila, México
FEBRERO 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

**Detección de nosema en las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) de la Comarca
Lagunera.**

Por:

ELIEL MARCIAL SALVADORES

TESIS

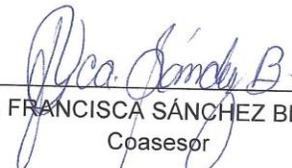
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


DR. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO
Asesor Principal


ING. RUBI MUÑOZ SOTO
Coasesor


M.C. FRANCISCA SÁNCHEZ BERNAL
Coasesor


ING. JUAN MANUEL NAVA SANTOS
Coasesor


M.E. JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ
Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila, México
FEBRERO 2019



AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Terra Mater por recibirme con las puertas abiertas y cobijarme durante cuatro años y medio, por hacer de mí una mejor persona y enseñarme a luchar por un mejor futuro. Gracias infinitas.

Al Dr. José Luis Reyes Carrillo gracias por el tiempo que dedica a esta hermosa profesión, en la cual, por su dedicación, por sus esfuerzos, por su compromiso pero sobre todo por su paciencia ha sido es y será un pilar fundamental para mi desarrollo como persona y ahora como profesional, con el cual por sus consejos, enseñanza y sabiduría sé cómo afrontar de la mejor manera los problemas y obstáculos que a diario se me van presentando y le agradezco por todo el apoyo que me brindó para llevar a cabo esta investigación y por todos los conocimientos que nos transmitió especialmente en el uso y manejo de las abejas y de esta manera aportar un granito de arena en esta labor social tan noble que realiza como es la apiterapia. Gracias.

A todos los profesores que a lo largo de estos años fueron parte de mi formación les agradezco sinceramente, su esfuerzo por encaminarnos a todos por el buen sendero, por enseñarnos cada detalle, sin importar cuán pequeño fuera, porque bien sabían que hoy nosotros seríamos el fruto de su esfuerzo, personas preparadas, y con deseos de seguir siempre hacia adelante, llenos de valentía y optimismo, con educación, un conocimiento adquirido y transmitido, ellos, que son como nuestros segundos padres transmitieron sus conocimientos y valores, nosotros como sus hijos adquirimos los mismos. Gracias.

A los apicultores que nos dieron la oportunidad de tomar muestras en sus apiarios. Gracias.

A la M. C Azucena Vargas Valero Quien me apoyó y sacó de dudas al realizar esta investigación y para la toma de muestras. Gracias.

A mis amigos: Cristian Uziel Hernández Salinas, Bernardo Hernández Jiménez, Sergio González Lira, Ricardo Martínez Gallegos, Jesús Mijares Barbosa, Gustavo Ángel Patiño Espinoza, Abimael Ramírez, Hernán, Eddy García, ya que en medio de todas

las dificultades que he pasado me he sentido acompañado con todos ustedes. Me han demostrado en todo momento cuánto valoran nuestra amistad. Muchísimas gracias de corazón.

DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios por darme esta oportunidad de cumplir con una de mis grandes metas, por ser mi motor y darme toda la fuerza, el valor y la perseverancia para salir adelante ante cualquier circunstancia.

A mi Sra. madre Sara Salvadores Santiago y mi Sr. padre Gabriel Marcial Jerónimo, por todo el apoyo incondicional que me brindaron más en los momentos difíciles y por todas las alegrías, gracias por todos los valores que me han inculcado, por cuidarme y dar todo por mí. Mil gracias queridos Padres por sus innumerables consejos, por ser tan repetitivos conmigo, por darme la contraria en muchas cosas que yo creía eran buenas para mí y resultaron ser malas, ahora entiendo el porqué de ser tan pacientes y les agradezco infinitamente, mis logros, mis triunfos mi camino al éxito se lo debo a ustedes. Gracias

A mis hermanas Lucia y Carina que siempre me han apoyado para salir adelante, y que ha sido muy importante. Agradezco la confianza que me han brindado, por acompañarme en mis logros y tropiezos sin pedir nada cambio y el esfuerzo que han realizado durante toda mi vida para que por fin llegara este momento gracias a Dios y a ustedes, ahora soy lo que soy y sé que puedo continuar por la vida.

A mis sobrinos Jordi Guzmán Marcial y Abisaí Guzmán Marcial por ese amor incondicional que siempre he sentido de su parte.

A mis tíos y mis primos que siempre han estado al pendiente de mi a pesar de la distancia, gracias por el apoyo he logrado cumplir con una de mis metas.

A mi abuelita Paula Santiago Gonzales por todos los consejos y experiencia que de alguna manera me ha impulsado a luchar y tener un gran futuro.

Resumen

- Las abejas melíferas son los polinizadores más importantes de frutos, vegetales, flores y cultivos de importancia comercial. La mayor parte de la producción agrícola mundial depende de la polinización de las abejas. Las abejas melíferas han estado muriendo casi de manera inexplicable, lo que ha puesto en alerta al mundo. Esto debido a que la colonia de abejas melíferas es susceptible a la acción de diversos agentes nosògenos, entendidos estos como aquellos capaces de producir daño o perjuicio en el organismo de la abeja al no reconocerlos como propios, causándole deterioro de la salud y consecuentemente, una disminución de la producción. Sin embargo, para que cualquier agente llegue a desarrollar un proceso patológico, es necesario que concurren una serie de factores que predispongan o condicionen a las colonias. Las razones de esta mortandad pueden deberse a varios factores entre los cuales, podemos nombrar: 1) enfermedades parasitarias 2) uso de pesticidas y 3) amplias extensiones de monocultivos.
- La continua modificación del medio ambiente por la acción humana ha incrementado la aparición de agentes nocivos nuevos que repercuten negativamente en la salud de la colonia llegando a ocasionar muchas veces una grave amenaza para la supervivencia de la misma. Los principales agentes que afectan a las abejas melíferas y recientemente se han relacionado con el síndrome de despoblamiento de las colmenas o *Colony Collapse Disorder* (CCD) se pueden clasificar en agentes nosogénos abióticos o patógenos de origen parasitario e infeccioso, dentro del primer grupo destacan los ácaros y

dentro del origen infeccioso, los microsporidios Género *Nosema* La nosemosis es una de las principales enfermedades que se presentan en las abejas melíferas el agente causal es un microsporidio parásito intracelular que incluye dos especies: *Nosema apis* y *Nosema ceranae*, se considera como la enfermedad apícola más diseminada en el mundo, se encuentra en todos los países donde se desarrolla la apicultura, además de ser una enfermedad infectocontagiosa, es de curso crónico, ya que conduce al debilitamiento de la colonia e incluso a su extinción, localizándose en las células epiteliales del ventrículo. *N. apis* no representa un problema en climas tropicales y subtropicales, pero si en climas templados. La incidencia a *N. apis* en las colonias aumenta en primavera y al final del periodo de lluvias, En condiciones adecuadas se produce una disminución del nivel de infestación en verano (En temporada cálida las abejas realizan sus vuelos libremente defecando fuera de la colmena, por lo tanto los panales se mantienen limpios y disminuye la cantidad de esporas y también la posibilidad de contagio entre ellas), pero la capacidad de resistencia de las esporas (un año en los depósitos fecales) mantienen la presencia de un nivel mínimo a lo largo de todo el año. El presente estudio tuvo como objetivo la detección de nosema en las abejas melíferas de la comarca lagunera, lo cual se realizó en 11 Apiarios que abarcó municipios de Torreón y Matamoros, Coahuila y Gómez Palacio, Durango, se tomaron muestras en colmenas seleccionadas al azar en cada apiario, y de las muestras de abejas obreras adultas que se obtuvieron se maceraron los abdómenes de 10 individuos en 5 ml de agua con un mortero. Se colocaron tres gotas del macerado en un portaobjeto bajo un cubreobjetos y se examinaron a 400 x en

un microscopio ya que las esporas miden aproximadamente de $5-7\mu m$ de largo y $3-4\mu m$ de ancho, son completamente ovales y poseen un contorno oscuro, habitualmente no son necesarios los colorantes y si se requiere pueden contarse en un hemocitómetro. Existe la presencia de *nosema* en la Comarca Lagunera y de acuerdo al de nivel de infestación se puede concluir que la infestación es de leve a muy leve.

- **Palabras claves:** Nosemosis, Apicultura, Abejas melíferas, Miel, Enfermedades

Abstract

Honey bees are the most important pollinators of fruits, vegetables, flowers and crops of commercial importance. The majority of world agricultural production depends on the pollination of bees. Honey bees have been dying almost inexplicably, which has put the world on alert. The colony of honey bees is susceptible to the action of various nosogenic agents, understood as those capable of producing damage or prejudice in the organism of the bee by not recognizing them as their own, causing deterioration of health and consequently, a decrease in production. However, for any agent to develop a pathological process, it is necessary that a series of predisposing factors or conditions concur to the colonies. The reasons for this mortality can be due to several factors, we can name: 1) parasitic diseases 2) use of pesticides and 3) large extensions of monocultures. The continuous modification of the environment by human action has increased the appearance of new harmful agents that have a negative impact on the health of the colony, often causing a serious threat to the survival of the same. The main agents that affect honey bees and have recently been related to the colony Collapse Disorder (CCD) syndrome can be classified as abiotic nosogens or pathogens of parasitic and infectious origin, within the first group the most important ones are mites and within the infectious origin, Microsporidia Genus *Nosema*. Nosemosis is one of the main diseases that occur in honey bees. The causative agent is a microsporidium that includes two species: *Nosema apis* and *Nosema ceranae*. It is considered to be the most widespread apicultural disease in the world, it is found in all the countries where there is beekeeping. In addition to being an infectious disease, it is of chronic course, leads to weakening of the colony and even its extinction, being located in the epithelial cells of the ventricle. *N. apis* does not represent a problem in tropical and subtropical climates, but in temperate climates. The incidence of *N. apis* in the colonies increases in spring and at the end of the rainy season. In suitable conditions there is a decrease in the level of infestation in summer (In warm season bees make their flights freely defecating outside the hive, therefore the combs will be kept clean and will reduce the number of spores and also the possibility of infection between them), but the resistance capacity of spores (one year in fecal deposits) maintains the presence of a minimum

level throughout the year. The objective of this study was the detection of *nosema* in honey bees in the Lagunera region, which was carried out in 11 apiaries that included municipalities of Torreón and Matamoros, Coahuila and, Gómez Palacio, Durango, samples were taken in selected hives at random in each apiary, each hive was randomly selected, and from the samples of adult worker bees that were obtained, the abdomens of 10 individuals were macerated in 5 ml of water with a mortar. Three drops of the macerate were placed on a slide under a coverslip and examined at 400 X under a microscope since the spores measure approximately 5-7 μm long and 3-4 μm wide, are completely oval and have a dark outline, dyes are usually not necessary and if required can be counted in a hemocytometer. There is the presence of *nosema* in the Comarca Lagunera and according to the level of infestation, it can be concluded that the infestation is from mild to very mild.

Keywords: Nosemosis, Beekeeping, Honey bees, Honey, Diseases

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIA	III
Resumen.....	IV
Abstract.....	VII
Índice de cuadros	XI
Índice de figuras	XII
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura.....	3
2.1. Características de la abeja <i>Apis mellifera</i>	3
2.2. Biología de las abejas.....	4
2.2.1 importancia.....	4
2.3. Enfermedades que afectan a las abejas.....	6
2.4. Nosemosis.....	8
2.4.1. Antecedentes históricos	9
2.4.2. Clasificación Taxonómica.....	9
2.4.3. Epidemiología de la nosemosis.....	10
2.4.4. Epizootiología	10
2.4.5. Sintomatología	11
2.4.6. Morfología del parásito	13
2.4.7. Factores de transmisión de la enfermedad.....	14
2.4.8. Ciclo de vida	15
2.4.9. Infección y Desarrollo en <i>A. mellifera</i>	16
2.4.10. Detección de <i>Nosema spp.</i>	18
2.4.11. Tratamiento y control de la nosemosis.....	19
III. Materiales y métodos.....	21
3.1. Ubicación de la zona de estudio.....	21
3.1.1. Vegetación.....	21
3.1.2. Material biológico	21
3.1.3. Técnicas de muestreo.....	21
3.2. Colecta de muestras para el análisis	22
3.3. Recepción de muestras para el análisis.....	22

3.3.1. Laboratorio de análisis	22
3.4. Material y equipo.....	22
3.4.1. Implementos de laboratorios y equipo que fueron utilizados son:	22
3.5. Nosemosis	23
3. Resultados y Discusión.....	25
4. Conclusiones.....	28
5. Referencia.....	29

Índice de cuadros

Cuadro 1. Ciclo biològico de la abeja 1	6
Cuadro 2. Clasificaciòn Taxonòmica. 1	9
Cuadro 3. Referencia de ifestaciòn 1	24
Cuadro 4. Infestaciòn en la Comarca L. 1	25

Índice de figuras

Figura 1. Las tres formas de individuos de una colmena de abejas. Arriba: Insectos perfectos vistos desde arriba. Abajo: Cabeza de cada uno de estos insectos vistos de frente.	3
Figura 2. Estructura interna del esporo de resistencia de <i>Nosema apis</i>	13

I. Introducción

Asociamos inmediatamente la palabra abeja a un insecto marrón, con bandas oscuras en el abdomen, que produce miel y se defiende utilizando un aguijón, tal definición se apega perfectamente a una sola especie: la llamada abeja melífera (*Apis mellifera*) que, con sus diversas razas, es la abeja más utilizada por nuestros productores de miel, polen, propóleo, jalea real, y que también destaca por sus inapreciables servicios en la polinización de cultivos (Denisse, 2010). La cría de la abeja está distribuida en Europa, Asia y África, con origen África, antes de que apareciera el hombre *Homo sapiens*. La relación del hombre con las abejas se remonta aproximadamente hasta los tiempos mesolíticos, el hombre empezó como un ladrón de los nidos silvestres y así poder disfrutar e intenta conocer el mundo de las abejas (Dewey, 2010).

La abeja *Apis mellifera* la especie con mayor distribución en el mundo. Las abejas desarrollan una actividad fundamental para la alimentación del ser humano y los animales: la polinización, sin esta labor bajaría considerablemente la productividad de las cosechas y la flora silvestre, además aporta dos productos importantes para la humanidad: la cera y la miel. México es el cuarto productor de miel a nivel mundial, después de estados unidos, china y argentina, y de los primeros exportadores también, la abeja poliniza y mejora la productividad de los cultivos agrícolas (Labougle y Zozaya, 1986). Discutir si las abejas son domesticas o salvajes es un gran tema. Con el paso del tiempo los seres humanos han aprendido a manejarlas tanto a ellas como a sus productos, aunque naturalmente las abejas son silvestres y no depende del hombre, se ha aprendido a reproducirlas y manejarlas por lo que podrían considerarse una especie salvaje que ha sido domesticada (Wiese, 1985).

Las abejas melíferas están propensas a sufrir el efecto de diversas parasitosis que afectan en el desarrollo y la producción de las colonias, en la mayoría de los casos, las pérdidas económicas suelen ser considerables, ya que los daños provocados por dichas parasitosis van desde una reducción en la producción de miel, hasta la pérdida total de la colonia (Fuentealba y Eladio, 2005). Entre las principales parasitosis que

afectan a las abejas melíferas destaca la varroasis, causada por el ácaro *V. destructor*, considerado como el principal problema sanitario al que se enfrenta la apicultura a nivel mundial. Y de las principales parasitosis asociadas a *V. destructor* se encuentra la nosemosis, una parasitosis del tracto digestivo de las abejas adultas causada por el protozooario *N. apis*, cuyos efectos son considerados de poca importancia en países que cuentan con climas tropicales o subtropicales, sin embargo en la actualidad se ha observado que el número de esporas de *N. Apis* se incrementa al aumentar los niveles de infestación de *V. destructor*, debido a que este provoca una reducción en la hemolinfa de la abeja infestada favoreciendo la multiplicación de esporas de *N.apis* (Martínez Puc *et al.*, 2011).

La nosemosis es causada por el microsporidio *Nosema* spp que parasita el intestino medio de abejas melíferas adultas, es mortal en su forma aguda y ello ocasiona pérdidas económicas muy importantes al productor apícola. El conocimiento de la infección por *N. spp* en abejas melíferas puede ayudar a prevenir la propagación o controlar la infección entre colonias (Hlgset *al*, 2010). El principal objetivo de esta investigación fue la detección de nosema en las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) de la Comarca Lagunera.

II. Revisión de literatura.

2.1. Características de la abeja *Apis mellifera*

Las abejas son insectos sociales de la especie *Apis mellifera* perteneciente al orden Himenóptera, viven en familias o colonias de unos 20,000 a 50,000 individuos, comprendiendo una reina, varios miles de zánganos (en primavera) y obreras (Figura 1) (Jean-Prost, 2007). Son los polinizadores de cultivos más importantes, *Apis mellifera* poliniza el 77% de las plantas responsables de producir recursos alimenticios que sustentan a la población humana global (Maggi et al., 2016).

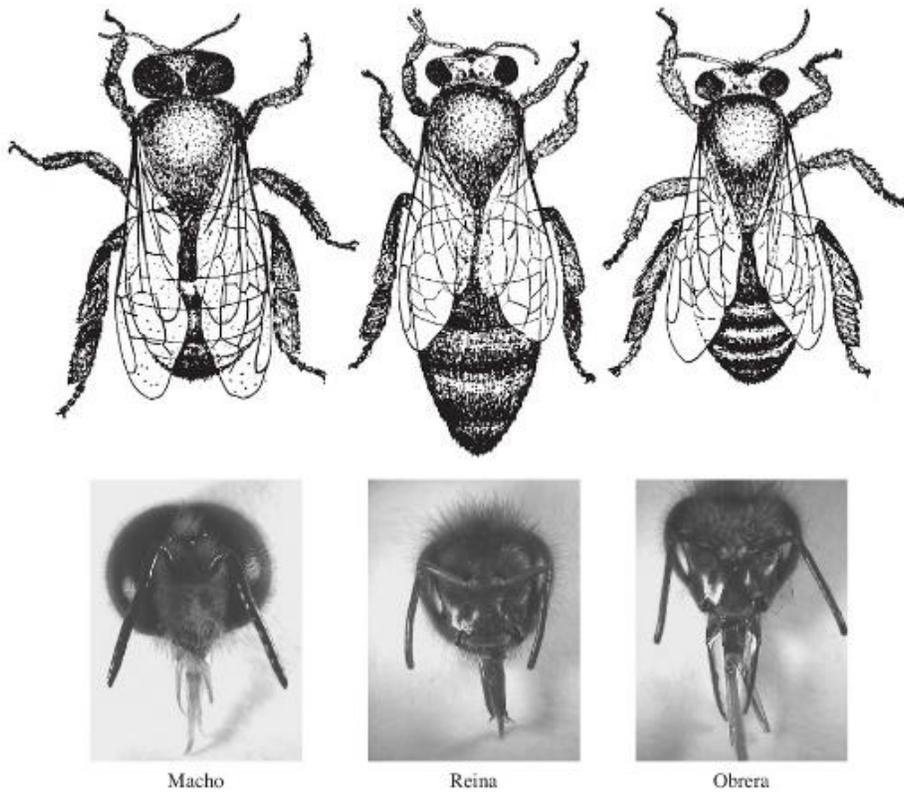


Figura 1. Las tres formas de individuos de una colmena de abejas. Arriba: Insectos perfectos vistos desde arriba. Abajo: Cabeza de cada uno de estos insectos vistos de frente.

2.2. Biología de las abejas.

La abeja melífera aparece sobre la faz de la tierra mucho antes que el ser humano, y en cada ambiente fue y está siendo moldeada mediante selección natural por factores como: clima, comunidad api-botánica, enfermedades, competencia por otras especies, parásitos y depredadores (Calatayud, 2015). *Apis mellifera* habita toda Europa al norte y oeste de los Alpes extendiéndose hasta Rusia central. *Apis mellifera* es originaria del viejo mundo, pero fue traída al continente americano por los colonizadores europeos en el siglo XVII (Guzmán-Novoa *et al*, 2011).

Es una abeja que tiende a ser oscura, con probosis corta y abdomen ancho. De comportamiento volátil, un tanto defensiva. La abeja de la miel *Apis mellifera* L. es un insecto que pertenece a la familia *Apidae* y al género *Apis*; este género comprende 4 especies todas ellas sociales; *Apis mellifera* L. es la abeja doméstica y se encuentra en zonas tropicales de Europa (zona mediterránea) y África, de la que se extendió al resto del mundo (Asia y América)(Ruz Luque *et al* 2014)La abeja es un insecto que durante su ciclo de vida sufre una metamorfosis completa, lo que significa que su cuerpo sufre cambios en su desarrollo y para ello pasa por cuatro estados distintos que son : Huevo, Larva, Pupa y Adulto (Piqueras y Ros, 2009).

2.2.1 importancia

La polinización es la mayor contribución de las abejas a la ecología global y la economía humana. Su importancia es mucho mayor que la producción de miel y otros como el propóleo y la cera. La crianza y multiplicación de abejas contribuye singularmente con la diversidad biológica y la producción de alimentos. En los bosques tropicales alrededor del 70 % de los arboles son monoicos y por lo mismo dependen en gran manera de polinizadores, donde el 40-50% son abejas (Calatayud y Simon, 2001)

Organización de la colonia.

Las abejas melíferas o abejas de la miel son unos insectos pertenecientes a la orden himenóptera y a la familia *apidae*, que engloba unas 40,000 especies de abejas y abejorros, incluyendo abejas sociales, pero también abejas solitarias y parasitas. Dentro de esta familia se encuentra el género *Apis*, que engloba nueve especies de abejas

melíferas sociales (Manresa, 2005). La abeja de miel *Apis mellifera* es la principal especie polinizadora empleada por el hombre para aumentar la productividad de los cultivos, y además desempeña una importante función en el mantenimiento de la biodiversidad en todo el mundo, en las últimas décadas se ha apreciado un incremento de la mortalidad de las colonias de abejas en numerosas regiones, lo que ha llevado a generar una gran alarma debido a sus potenciales repercusiones económicas y medioambientales (Gupta, 2014).

Viven formando una comunidad de 30,000 a 70,000 individuos, en cada casta tiene a su cargo distintas funciones que hacen posible la supervivencia de toda la colonia. La Reina: es la madre de la familia y su misión es poner huevos. Las Obreras: son hembras que no se fecundan, realizan trabajos como alimentar a la cría y a la reina, limpiar y defender la colonia o ir por el alimento a las flores y plantas ya sea néctar, secreciones dulces o polen. Los zánganos: son los machos de la colonia, nacen en primavera y desaparecen al llegar los primeros fríos del otoño. Su función es fecundar a las reinas. Tanto la reina como las obreras y los zánganos, dependen unos de los otros, y no pueden vivir individualmente por si solos (Güemes-Ricalde *et al*, 2003).

La colmena es el hogar de las abejas, existen dos tipos. Vulgar: es una habitación rustica en troncos huecos de árboles, magueyes, ollas, cajas de madera etc. Moderna: es el hogar que se le crea en el apiario, donde tienen muchas comodidades gracias al apicultor, llena todos los requisitos de calor, aire, limpieza, además de que las abejas están protegidas de sus enemigos: insectos, vientos fuertes y sol (Romero, 2012). El apicultor es quien le brinda apoyo, reforzando el enjambre, introduciendo hojas de cera estampada para la construcción de sus panales, alimentándolas, introduce reinas vírgenes o fecundadas, extrae la cosecha de miel y la cera (Labougle y Zozaya, 1985).

La colmena consta de las siguientes partes: Techos –Cubre la colmena y la protege de la luz solar directa y la lluvia, está cubierto con lámina galvanizada., tapa- Sirve para cerrar la colmena. Debe ser resistente para las revisiones que se realizan, bastidores o panales- son cuadros que cuelgan de un rebaje hecho en la parte alta e interna de las paredes de la cámara de cría y las alzas, dentro de los bastidores se le colocan alambres con los cuales se sostienen las láminas de cera que sirven de guía para las abejas que

construyen sus celdas a ambos lados de ellas., Cámara de cría- es la caja más alta y se pone en la base, tiene varios bastidores donde los panales centrales son de cría y los laterales son de miel y polen. Alzas- son las cajas más delgadas con panales que se colocan sobre la cámara de cría para que las abejas las llenen con miel. Piso- llamado también fondo de la colmena es donde se asienta la cámara de cría, su parte libre es conocida como piquera y es por donde las abejas entran y salen de la colmena (Polaino *et al.*, 2006).

La abeja conforma una organización social equilibrada. Durante los últimos setenta millones de años ha ido evolucionando hasta convertirse en un insecto altamente especializado en la recolección de néctar, polen y propóleos, así también en lo que concierne al desarrollo de la colonia, su ciclo biológico y a la facultad de multiplicarse. Como ya se mencionó antes se compone la colonia de una reina que es la encargada de la postura de huevos y de dar cohesión a la familia. Las obreras (alrededor de 60,000) son las responsables de todas las tareas a realizarse en el interior y exterior de la colmena: nodrizas, sanitarias, cereras, guardianas y pecoreadoras. Finalmente están los zánganos, cuya función principal es fecundar a la reina. Todos poseen un ciclo biológico con los siguientes estadios: Huevo, Larva, Ninfa y Adulto. Esta metamorfosis es la misma para todos con una variación en el lapso de desarrollo de cada uno de ellos, tal como se ejemplifica en la tabla siguiente (Massaccesi, 2002).

Cuadro 1. Ciclo biológico de la abeja 1

	Huevo	Larva	Operculado	Adulto
Reina	3 días	5 días	8º día	15º día
Obrera	3 días	5 días	8º día	21º día
Zángano	3 días	6 días	9º día	24º día

2.3. Enfermedades que afectan a las abejas.

México tiene un inventario apícola superior a 1.9 millones de colmenas, que mantienen a la apicultura como la tercera actividad generadora de divisas del sector ganadero, aunque ha sufrido amenazas debido a la presencia de enfermedades (Ulloa *et al.*, 2010). El aumento de la mortalidad de las abejas es atribuible a múltiples factores de estrés, que varían en función de la zona geográfica, las características locales o las condiciones

climáticas; considerando que entre estos factores figuran el grave impacto de las especies exóticas invasoras, como el ácaro *Varroa destructor*, el pequeño escarabajo de la colmena, la avispa asiática y la loque americana, así como patógenos animales como la nosemosis, los efectos de ciertas sustancias activas presentes en los productos fitosanitarios y otros biocidas (Puerta *et al*, 2001).

Son varias las enfermedades que pueden sufrir las abejas como resultado de la acción de diferentes agentes patógenos. Por lo general para el control de las enfermedades, es fundamental un adecuado manejo de las colmenas y un control periódico para evitar cualquier situación que desencadene o favorezca el desarrollo del agente patógeno (Bruno, 2011). Las abejas por instinto y en forma natural combaten eficazmente algunas enfermedades, pues durante siglos han generado resistencias que les permiten vivir en las condiciones más adversas. Las nuevas plagas/enfermedades, como el ácaro y nosema, son los más peligrosos y difíciles de controlar (Neira, 2006). La mayoría de las enfermedades son contagiosas y pueden ser diseminadas por:

- Enjambres
- Los zánganos- son móviles entre colonias
- Por el Apicultor – el mayor factor con colmenas de apicultores
- Unión de colmenas
- Inspección de colmenas con la misma palanca, ropa, etc.
- Malas prácticas con pesticidas – por esto las enfermedades y parásitos son resistentes.
- Suministrar a las colmenas alimentos de mala calidad: Ácidos, fermentados, con impurezas que puedan provocar diarrea en las abejas
- Suministrar alimentación estimulante demasiado temprano en primavera cuando las condiciones meteorológicas no son del todo estables puede predisponer a contraer la enfermedad. Las poblaciones que hayan sido forzadas a base de estímulos tempranos, a desarrollar el nido de crías prematuramente, están dispuestas a padecer nosemosis en esta época si se presentasen condiciones de tiempo frío, húmedo y lluviosos ya que entonces las abejas agotan rápidamente sus reservas fisiológicas debido a la falta de polen fresco recolectado.

- El transporte de abejas a nuevas ubicaciones también puede agravar la infección debido al encierro y al aplastamiento que sufren las abejas durante el mismo.

En apicultura las enfermedades que se pueden presentar se dividen en dos estados: Enfermedades de la cría y enfermedades que afectan la vida de la abeja adulta (Alins, 1989)

2.4. Nosemosis.

La nosemosis que se presenta en abejas adultas, es ocasionada por dos especies de microsporidios llamados *Nosema apis* Zander y *Nosema ceranae* que afectan el intestino y ventrículo de las abejas, debilitan el organismo y acortan su periodo de vida (Pérez, 2016).

Los microsporidios poseen una serie de características que los hacen únicos: Carecen de algunos orgánulos típicos de eucariotas como el aparato de Golgi, los peroxisomas o las mitocondrias. Estas últimas parecen haber quedado reducidas a pequeños orgánulos denominados mitosomas (Williams *et al.*, 2002)

Sus ribosomas recuerdan a los observados en procariontes, coeficientes de sedimentación de 70S, en lugar de 80s característico del resto de eucariotas, compuestos por una subunidad mayor de 50s y otra menor de 40s (Cury *et al.*, 1980).

Presentan genomas muy reducidos y compactos (Keeling *et al.*, 2005), lo que posiblemente obedece a que su estilo de vida parasitario les permitió prescindir de un número de los genes implicados en la síntesis de metabolitos, en favor de aquellos encargados de codificar proteínas que facilitan la obtención de nutrientes a partir del hospedador (Katinha *et al.*, 2001).

En el intestino de un himenóptero pueden habitar hasta 50 millones de esporas de *Nosema*, es un problema serio en lugares donde las bajas temperaturas impiden a las abejas salir de la colmena para eliminar sus desechos (Fries *et al.*, 2013). Esta patología está ampliamente distribuida en todo el mundo, ocasionando debilitamiento del sistema inmune de las abejas, que predispone el ingreso de enfermedades virales que se relaciona con la actual desaparición de abejas a nivel mundial, denominado desorden del

colapso de las colonias, Investigadores de algunos países culpan a *N.apis* en unión con *N. ceranae*, de la mortandad y despoblamiento de las colonias de abejas y también indican que nosemosis puede ser un problema que restrinja el crecimiento de las poblaciones de abeja (Calderón y Sánchez, 2011).

2.4.1. Antecedentes históricos

Las investigaciones sobre la enfermedad se inician cuando en el año 1919 G.F.White, indaga sobre el comportamiento de las abejas con nosemosis; observando que las colmenas seriamente atacadas no conseguían fortalecerse y se volvían cada vez más débiles y terminaban por sucumbir. En México, la primera evidencia de la presencia de nosemosis fue en el año 1965 en el distrito federal. De forma posterior en el año 1982, se encontró 80% de infección en 10 municipios de la zona centro de Jalisco. Para el año 1983 se determinó que *N. Apis* estaba en 3.2% de las muestras de apiarios comerciales de Yucatán; en ese tiempo no se consideró un problema para la apicultura de México (Tapia-González *et al.*, 2017).

2.4.2. Clasificación Taxonómica

Nosema apis es un endoparásito protozoario de distribución cosmopolita que se ubica en el aparato digestivo de las Reinas, Zánganos y obreras adultas, desarrollándose en el interior de las células epiteliales del tracto digestivo (Martínez-Torres, 1988).

La clasificación taxonómica de nosema está dada por (Hinrichsen Sariago, 1983):

Cuadro 2. Clasificación Taxonómica. 1

Clase: Esporoza
Subclase: Cnidosporidia
Orden: Microsporidae
Familia: Nosematidae
Género: <i>Nosema</i>
Especie: <i>apis</i>

2.4.3. Epidemiología de la nosemosis

El contagio de las abejas adultas se produce a través de las esporas que expulsan con las heces las abejas infectadas. La nosemosis se transmite de unas abejas a otras de forma horizontal (Higeset *al.*, 2009) a través de varias vías de infección, de las cuales las más comunes son por la ingesta de esporas en el alimento o con el agua, cuando las obreras limpian los panales de heces infectadas, o mediante trofalaxia entre abejas u entre colonias; aunque la acumulación de miel y las abejas muertas infectadas también pueden ayudar en la transmisión de la enfermedad. Probablemente, la contaminación fecal de la cera, concretamente en los panales utilizados para la cría, es la principal fuente de infección de *N. Apis*. Tanto *N. Apis* como *N. ceranae* son capaces de infectar a las tres castas de abejas adultas de la colonia (obreras, reinas y zánganos) (Paxtonet *al.*, 2007).

Las abejas melíferas son organismos sociales pero una de las desventajas de esta vida en sociedad es que resultan blanco fácil de distintos patógenos debido a la enorme capacidad de transmisión entre integrantes de la colmena, por tal motivo han desarrollado mecanismos de defensa tanto a nivel individual como a nivel colonial (Evans,2006).

2.4.4. Epizootiología

Enfermedad contagiosa de tipo parasitaria. Es la más difundida a nivel mundial y una de las más preocupantes de la invernada ya que puede destruir una colmena y dejarla inservible para el inicio de la temporada. En primavera al empezar la cría, hay una multiplicación del agente causal que por diversas condiciones produce un estado de equilibrio entre el huésped y el parásito (Huanget *al.*, 2012).

La enfermedad se encuentra latente durante todo el año dentro de las colmenas y se hace aparente después de largos periodos de confinamiento de las abejas dentro de su colmena (lluvias, frío, etc.)(Mendozaet *al.*, 2013): entre más largo sea el periodo de encierro, mas grave es la manifestación de la nosemosis porque los niveles de infección

se elevan considerablemente debido al estrecho contacto entre las abejas y porque el encierro obliga a las abejas enfermas a defecar en los panales en vez de hacerlo en el exterior de la colmena. Es por eso que la enfermedad puede ser grave en los países con inviernos muy fríos y prolongados. Los apiarios ubicados en lugares húmedos, fríos, o con mucha sombra, suelen tener niveles de infección mas altas que los situados en lugares secos y soleados(Guzmán y Correa, 2012).

La temperatura tiene una acción determinante sobre el desarrollo del parásito siendo 30 a 34 grados Celsius la óptima para la multiplicación, cesando esta a los 38 y no esporulando por debajo de los 10 (Prasad *et al.*, 2000).

2.4.5.Sintomatología

Esta enfermedad parasita no presenta síntomas específicos por lo que se puede confundir con otras enfermedades o trastornos alimenticios, por ello es necesario recurrir a análisis de laboratorio donde se observará mediante el microscopio la presencia de esporos de este parásito con el contenido abdominal de las abejas (Higes, 2007).

Es causada por el microsporidio *Nosema sp.*, el cual afecta el tracto digestivo de las abejas adultas (Neumann y Carrek, 2010)., el mecanismo de transmisión de *Nosema spp* es por medio de la ingestión de agua o alimentos contaminados con esporas y su localización es en las células epiteliales del ventrículo o intestino medio (Chenet *al.*, 2009).Los síntomas se resumen en una agitación anormal de la colonia durante el invierno, falta de dinamismo en primavera, acortamiento de la vida de las abejas afectadas, abejas con abdomen distendido, constipación o diarrea y una debilidad general que les impide volar(Plischuk y Lange, 2010). Una fuerte infección por nosemosis provoca disminución o no producción de jalea real, reducción en la postura de huevos y esto claramente disminuye la población de la colmena y después la perdida (Castro *et al.*,2016).

El principal efecto directo del parasito es la destrucción celular de las paredes del estómago, que llega a ocasionar trastornos del metabolismo de la digestión y de la nutrición, los cuales deriva en síntomas como los siguientes (Winkler, 2013).

- * Incapacidad para el vuelo, temblores de alas, muerte prematura, por falta de asimilación de alimento.
- * Por desnutrición se presenta desarrollo deficiente de las glándulas hipofaríngeas responsables de la jalea real.
- * Despoblación lenta de la colonia, a veces rápida o bruscamente dependiendo del nivel de infestación.
- * Parálisis por falta de fuerza para mover sus alas y volar.
- * La destrucción progresiva de las células por acción del *Nosema* altera el proceso normal de secreción de enzimas del intestino medio que son necesarias para la digestión de los alimentos que las abejas consumen y de los que obtienen los principios nutritivos indispensables para su normal desarrollo, por lo que no solo se ve afectada la digestión de los alimentos si no también la absorción de las sustancias nutritivas producto de ello, la acción negativa del parasito sobre la digestión del polen se manifiesta por un debilitamiento general de las abejas ya que no pueden tomar las reservas de grasas y proteínas del mismo, lo cual provoca un envejecimiento prematuro de las mismas por consumo de sus propias reservas corporales; la alteración del funcionamiento de ciertas glándulas y también la nutrición de las abejas recién nacidas y de la cría.
- * Las abejas enfermas viven la mitad del tiempo que los individuos no afectados. La carencia proteica adicional (falta de polen en la colonia o por la acción de otras enfermedades) acorta aún más su vida. Se observa por esta causa una falta de reemplazo de las abejas viejas, muchas de ellas mueren a la salida de la invernada, produciendo un desequilibrio en la población, la colonia se debilita y por consiguiente no se desarrolla. Es una enfermedad de las abejas adultas, obreras, zánganos y reinas, este microorganismo vive como parásito en las células epiteliales que recubren el interior del intestino medio de las abejas donde cumple su ciclo biológico de vida. En el transcurso de la fase el agente causal produce esporas, muy resistentes, y estas se diseminan con la materia fecal de las abejas

adultas contaminadas, cuando se acumulan en el interior de la colmena, el peligro de contagio es muy alto ya que las abejas más jóvenes que se dedican a la limpieza de las celdas se contaminan y lo transmiten así a los otros individuos de la misma. Cuando la infección alcanza su nivel máximo, el organismo de una abeja puede albergar de 30 a 50 millones de esporas.

2.4.6. Morfología del parásito

Es un organismo parásito intestinal unicelular e intracelular obligado. Presenta formas esporulares de resistencia llamados esporos que miden entre 3,5 micras de ancho por 6 micras de largo (De la Sota y Bacci 2004), Estos esporos presentan forma ovalada en cuyo interior se aloja la forma vegetativa del parásito que posee dos núcleos y un filamento polar (Figura 2). El filamento se encuentra enroscado y es 70 veces más largo que el espora. El espora posee un micrópilo en uno de sus polos para permitir la salida de la forma vegetativa a través del filamento polar (Mitchell, 2016).

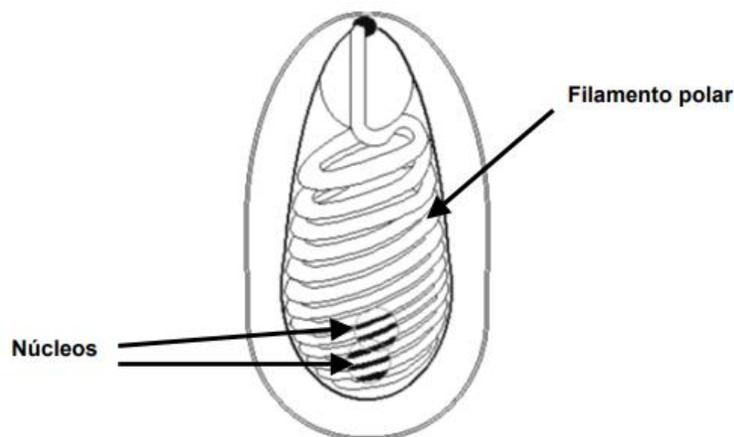


Figura 2. Estructura interna del espora de resistencia de *Nosema apis*

Aunque son parásitos intracelulares obligados tienen una forma de resistencia (figura 3). Esta presenta una doble pared formada por una cubierta externa, la exospora, de naturaleza fundamentalmente proteica (Bigliardi *et al.*, 1996) y por una cubierta interna, la

endospora, cuyo componente principal es la quitina, que le confiere gran resistencia en el medio extracelular (Huger, 1960).

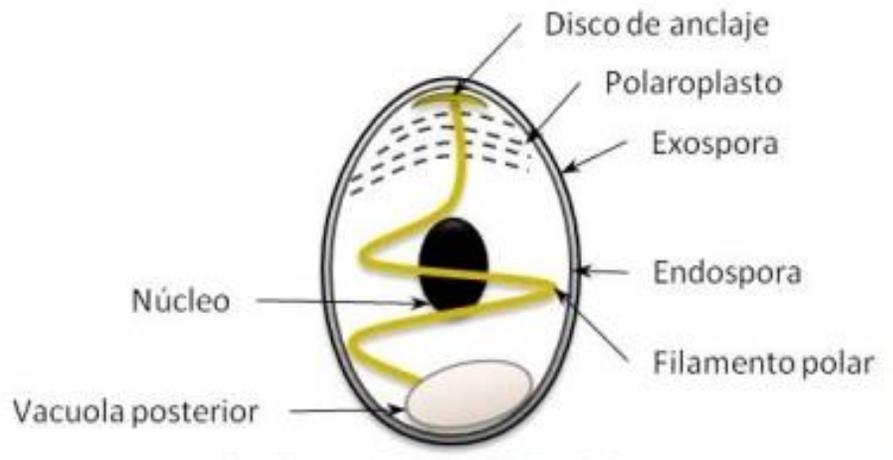


Figura 3 Esquema de la espora de un microsporidio

2.4.7. Factores de transmisión de la enfermedad

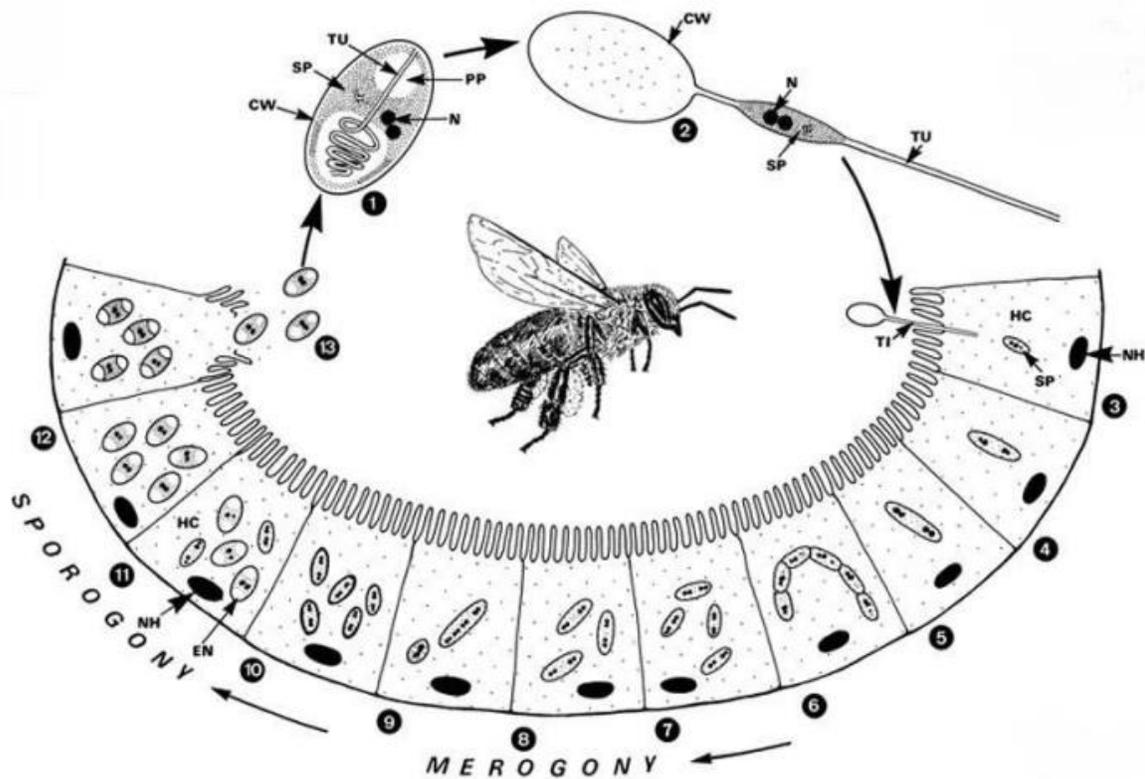
Una de las condiciones que favorecen la propagación y transmisión de la nosemosis, es el uso de equipo contaminado en las colmenas, de igual manera, la adquisición de reinas de un criadero enfermo. La miel no se encuentra como fuente de contaminación, debido a que la deposición de excretas sobre los paneles, raramente se da cuando las celdillas de los mismos son llenadas y selladas durante la época de cosecha de miel (Molina, 1990).

Aunque existen factores que favorecen el desarrollo de la enfermedad, tales como el desarrollo temprano de la cría en la primavera, con pocas posibilidades de salir al exterior de la colmena por razones climáticas; ciertas prácticas apícolas, como el no cambiar de reinas (la Sota, 2006). De igual forma, la dispersión puede suceder a través

de la cera contaminada, ya que los esporos pueden permanecer en la cera de un año para otro y causar el desarrollo de la enfermedad en la siguiente estación; fuentes de agua y sitios donde se depositan las heces (Moreno, 2004).

2.4.8.Ciclo de vida

El ciclo de vida es de aproximadamente de 7 días, y sus etapas iniciales están constituidas por el espora que sirve para la diseminación de la enfermedad (DeLa Sota y Bacci, 2005). indican que la infestación comienza en la parte posterior del ventrículo y de allí se disemina a la parte anterior, una vez dentro de la célula el parasito aumenta de tamaño iniciando la división celular y pasando por diferentes fases, finalizando con una enorme cantidad de nuevos esporos, completándose el desarrollo entre 48 y 60 h bajo condiciones óptimas. (Gutiérrez *et al.*, 2011)



Ciclo de vida de *Nosema apis*

2.4.9. Infección y Desarrollo en *A. mellifera*

El ciclo biológico de los microsporidios en *A. mellifera* por *Nosema spp.* Comienza con la ingesta de esporas infectivas a través del alimento (Bailey, 1981) o agua contaminada (L'Arrivee, 1963), o bien por las tareas de limpieza (Fries, 1989) o trofalaxia de la colonia, una vez en el intestino de la abeja, las esporas germinan (Figura 4) e infectan de forma específica las células epiteliales del ventrículo de la abeja, de las que aprovechan su elevada actividad metabólica (Liu, 1984).

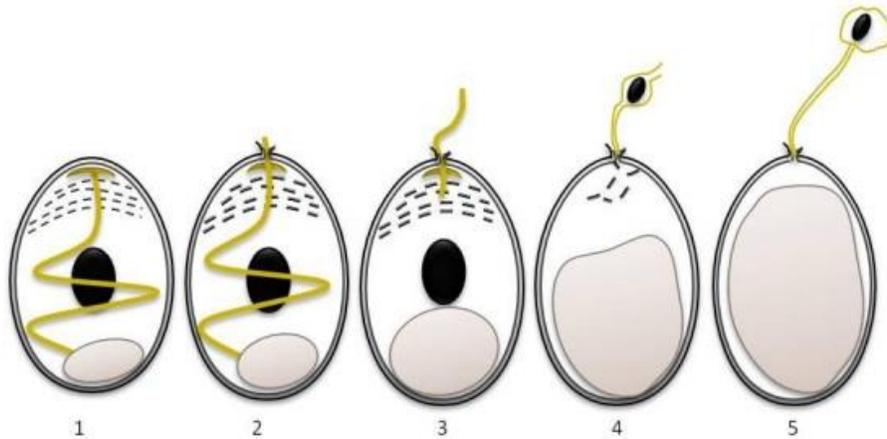


Figura 4. Germinación de la espora de un microsporidio.

La germinación tiene lugar debido a un aumento en la presión osmótica en el interior de la espora (Kudo, 1918), que conduce a la entrada de agua en su interior y termina con la extrusión del filamento polar: En la espora latente (1) el polaroplasto y vacuola posterior se hinchan y como resultado la parte anterior de la espora se rompe (2), por donde será liberado el filamento polar (3) (Williams, 2009). Este forma un canal a través del cual el esporoplasma es forzado a salir (4). Tras su emergencia, el esporoplasma queda rodeado por una nueva membrana (5). Si la germinación tiene lugar en la proximidad de la célula hospedadora, el filamento polar se ancla a ella y actúa como puente a través del cual transfiere el esporoplasma a su interior (Xu y Weiss, 2005).

En el interior de la célula hospedadora (fase intracelular) se pueden distinguir dos etapas: la merogonia (o etapa proliferativa), en la que se produce la división masiva del parasito, y la esporogonia, durante la que se generan nuevas esporas, a lo largo de las cuales se pueden distinguir los estadios celulares de meronte, esporonte, esporoblasto y espora madura (Figura 5) Las especies del genero *Nosema* permanecen binucleadas durante todo su ciclo de vida y se desarrollan en contacto directo con el citoplasma de su hospedador. En el ciclo se suceden los estadios de meronte (II), plasmodios multinucleados (III), esporonte (IV), esporoblastos (v) y esporas inmaduras o primarias (VI) o esporas maduras (I). GI: Germinación intracelular de una espora primaria (Wittner y Wiess, 1999).

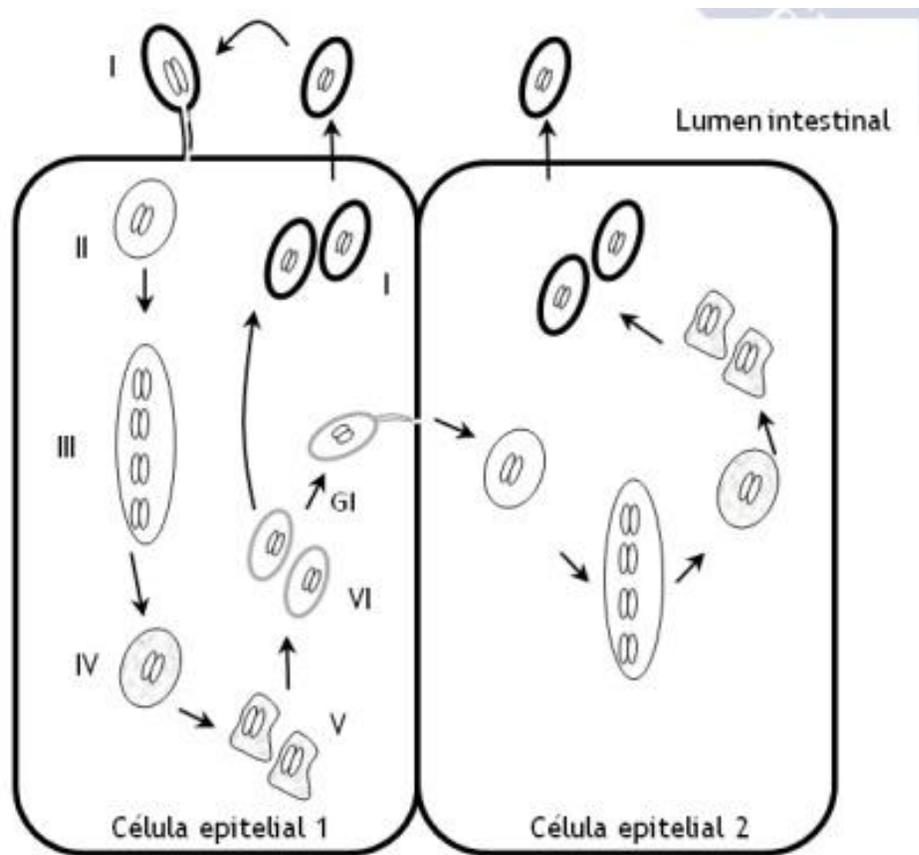


Figura 5 Esquema del ciclo biológico de *Nosema spp.*

2.4.10. Detección de *Nosema spp*

Las esporas de *Nosema* existen, en pequeña cantidad, en muchas colmenas normales. las esporas están presentes en la mayoría de colmenas “sanas” y esperan a una debilidad extrema de la colmena para desarrollarse (Plischuket *al.*,2008).Es posible que la enfermedad se intensifique en primavera en la mayoría de las colmenas y los apicultores deben aceptarlo, además estar preparados con diferentes tipos de métodos y optar las practicas conocidas que ayudarán a disminuir los efectos de la enfermedad en las abejas (Doull, 1972).

2.4.11. Tratamiento y control de la nosemosis.

Es posible prevenir la aparición de la enfermedad o lograr mantener niveles de infección de *Nosema apis* por debajo de los límites que llegan a afectar el correcto desarrollo de las colonias, se han probado fármacos para el tratamiento, pero pocas han dado resultado, la mejor opción es el uso de la fumagilina, sin embargo, este medicamento afecta a la salud humana por su residualidad en la miel, por lo que ha sido prohibido el uso de los mismos (Mendoza *et al.*, 2012).

La Fumagilina es un antibiótico que se obtiene del Hongo *Aspergillus fumigatus* es un producto que se vende comercialmente como la Fumidil B o como Nosema X, es 100 % eficaz contra la forma vegetativa de Nosema, pero no destruye las esporas del parásito, por eso la infección no puede ser eliminada completamente. Entre las medidas de prevención se recomiendan las siguientes (Sota, 2006):

- Renovar Material anualmente: esterilizar el material al inicio de cada temporada, reemplazar los panales de cría frecuentemente.
- Controlar la temperatura y la humedad: evitar la sombra en forma permanente, evitar formar núcleos al final de temporada, evitar la inundación y condensación de agua dentro de las colmenas.
- Manejo nutricional: asegurar la disponibilidad de polen a fin de lograr la acumulación de reservas proteicas para el invierno.
- Ingreso a la invernada: procurar salir del otoño con un excelente sanitario y en lo posible con reinas nuevas.
- Renovar los cuadros viejos, si fuera posible: Cambiar el 33% de los cuadros de la cámara de cría por año para disminuir la contaminación interna.
- Evitar la sombra permanente y poca ventilación en los apiarios.
- Dejar abundante reservas proteicas y energéticas para la invernada (polen y miel).
- Invernar solamente colmenas fuertes, sanas y con reinas nuevas y eficientes.
- No manipular innecesariamente las colmenas y menos durante el invierno.
- Dejar suficiente espacio interno a la colonia

- Evitar la suplementación con jarabes y de tener que hacerlo, preferir los más espesos posibles
- No efectuar tratamientos preventivos con antibióticos, mejor de ningún tipo.
- Si las colmenas están en zona de grandes forestaciones de eucalipto, suplementar con polen multifloral y trasladar las colmenas al final de la cosecha de verano, a un lugar de floración variada. El polen de algunas especies de eucalipto es deficiente en el aminoácido Isoleucina, lo que debilita y disminuye la longevidad de la abeja, dejándola expuesta a contraer otras enfermedades. Reproducir las colmenas que muestren resistencia a la enfermedad.

III. Materiales y métodos.

3.1. Ubicación de la zona de estudio.

La zona de estudio comprendió la Comarca Lagunera, de Coahuila y Durango, su ubicación geográfica es 25° 45' 01.764" Norte y 103° 17' 33.392" Oeste. Según la clasificación de Köppen, el clima es seco desértico o estepario cálido con lluvias en el verano e inviernos frescos, la precipitación pluvial es de 258 mm y la temperatura media anual es de 22.1 °C, con rangos de 38.5 °C como media máxima y 16.1 °C como media mínima, la evaporación anual media es de aproximadamente 2396 mm, las heladas ocurren de noviembre a marzo y raras veces en octubre y abril; mientras que las granizadas ocurren entre mayo y junio (Salazar *et al.*, 2010).

Cabe mencionar que los climas que predominan en la región son los tipos: árido, semiárido, caliente y desértico, con temperaturas promedio que oscilan entre una media de 22° C, una máxima de 33° C y una mínima de 9° C, con una precipitación pluvial de 514 mm, aunque el promedio de lluvias es de 224 mm por año.

3.1.1. Vegetación

La vegetación está compuesta por variedades de mezquite, pinabete, huizache, palmas y gobernadora. Mientras que la fauna está formada por lagartija, víbora, coyote, liebre, así como diversas especies de aves.

3.1.2. Material biológico

El material utilizado fueron 72 muestras de abejas de 11 apiarios diferentes de la región lagunera en la cual las colmenas se escogieron al azar para tomar cada muestra.

3.1.3. Técnicas de muestreo

La presente investigación se llevó a cabo en 11 apiarios de la Comarca Lagunera durante el periodo Mayo- junio, con el propósito de la detección de nosema en las abejas melíferas, las muestras colectadas fueron 72 que se seleccionaron al azar.

3.2. Colecta de muestras para el análisis

Las muestras se colectaron en frascos de 150 ml con alcohol al 70%, en los cuales se tomaron 50 abejas como mínimo, posteriormente se etiquetó con los siguientes datos; nombre del productor, nombre del apiario, localización, localidad, comunidad o ejido, municipio y estado, fecha de colecta, numero de colmena muestreada, auxiliándose de un pedazo de cartoncillo.

3.3. Recepción de muestras para el análisis.

Al recibir las muestras en el laboratorio se revisó que los especímenes se encontraran en buen estado y con los datos de colecta completos, fue conveniente hacer un cambio de alcohol al 70% para una mejor conservación de las abejas, se procedió a registrar las muestras, asignándoles datos como: Fecha de captura, localidad, análisis, emisión de resultados, nombre del colector y observaciones.

3.3.1. Laboratorio de análisis

El lugar donde se llevaron a cabo los análisis para determinar la nosemosis fue en el laboratorio de biología de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Unidad Laguna.

3.4. Material y equipo

Los materiales utilizados se dividen en implementos de laboratorio y equipos.

3.4.1. Implementos de laboratorios y equipo que fueron utilizados son:

Estereoscopio, microscopio, bisturí, portaobjetos de 22 x 40 mm, micrómetro ocular de escala 1/100, cajas Petri, papel sécate, vaso precipitado de 500 ml, mortero, agua destilada, pinza punta fina, pipeta de 0,5 ml, Lápiz, cuaderno.

3.5. Nosemosis

De cada muestra obtenida se sacaron 12 abejas del frasco, posteriormente con las pinzas de disección de punta fina se fueron separando el abdomen y tórax de cada abeja, los cuales se fueron depositando en un mortero de porcelana previamente lavado y enjuagado con agua destilada de acuerdo la técnica de cornejo y Rossi 1975. Una vez obtenidos los 12 abdomenes y colocados en el mortero se procedió a realizar el macerado con el pistilo, agregando 7 ml de agua destilada. Posteriormente el macerado se filtró (es un colador de malla metálica) de 1mm por 1mm.

El filtrado obtenido del macerado se guardó en un frasco de 40 ml. Se realizó el mismo procedimiento para las muestras restantes.

Para la identificación de las esporas se utilizó la cámara de Neubauer y un cubreobjetos, la observación se realizó directamente en la cámara,

Previo a la identificación se limpió la cámara, se enjuagó con agua destilada y se secó.

Se homogeneó el filtro que se obtuvo del macerado; con la pipeta de 0.5 ml se tomó un poco del filtro y se colocó una gota sobre los retículos de la cámara y se colocó un portaobjetos.

Todas las muestras se observaron al microscopio óptico a 10 x y posteriormente a 40 x para la identificación de esporas.

Para la cuantificación se procedió a contar la cuadrícula de la cámara de Neubauer de la siguiente forma:

Es necesario comentar que cada retícula, es un cuadrante de 1mm², en el cual se halla dividido en 16 cuadros más pequeños. Según Cornejo y Rossi se cuentan las esporas que se observan en 40 cuadrillos de los más pequeños, los cuales corresponden a 2 (172) cuadrados de los grandes. Se recomienda no hacer menos de 3 recuentos para sacar el

promedio y disminuir el error. El resultado se multiplicará por 10 000 y esta será la cantidad de esporas por mm² obtenidos. No se cuentan las esporas encontrados en la línea inferior e izquierda de los cuadros ni los que están que separan los recuadros.

Cuadro 3. Referencia de infestación¹

Valoración en grado de infección	No de esporas/ mm ³	Nivel de infestación
1	10 000 a 100 000	Muy leve
2	100 000 a 600 000	Leve
3	600 000 a 800 000	Medio
4	800 000 a 1 000 000	Grave
5	Superior a 1 000 000	Muy grave

3. Resultados y Discusión

De acuerdo al análisis que se realizó en el laboratorio, se identificaron 72 muestras obtenidas en la comarca lagunera, empleando el método de microscopio para determinar la presencia de nosemosis los resultados fueron los siguientes:

Cuadro 4. Infestación en la Comarca L. 1

Numero de colmena	Apiario	Apicultor	No de esporas	Núm. De esporas/mm ³	Nivel de infestación
71	La torreña	José Cabrera	44	440000	Leve
29	La torreña	José Cabrera	23	230000	Leve
34	La torreña	José Cabrera	61	610000	Medio
7	La torreña	José Cabrera	25	250000	Leve
25	La torreña	José Cabrera	41	410000	Leve
21	La torreña	José Cabrera	83	830000	Grave
30	La torreña	José Cabrera	16	160000	Leve
Núcleo 6	La torreña	Fernando Morales	138	1380000	Muy grave
Núcleo 7	La torreña	Fernando Morales	101	1010000	Muy grave
8	La torreña	Fernando Morales	32	320000	Leve
9	La torreña	Fernando Morales	41	410000	Leve
1	La torreña	Fernando Morales	33	330000	Leve
10	La torreña	Fernando Morales	51	510000	Leve
3	La torreña	Fernando Morales	39	390000	Leve
12	La torreña	Fernando Morales	31	310000	Leve
3	La torreña	Fernando Morales	65	650000	Medio
Núcleo 11	La torreña	Fernando Morales	65	650000	Medio
4	La torreña	Fernando Morales	91	910000	Grave
Núcleo 2	La torreña	Fernando Morales	33	330000	Leve
5	La torreña	Fernando Morales	44	440000	Leve
4	La torreña	Fernando Morales	49	490000	Leve
13	La torreña	Fernando Morales	13	130000	Leve
2	La torreña	Fernando Morales	29	290000	Leve
5	La torreña	Fernando Morales	63	630000	Medio
24	La crisis	Eliseo Romero	9	90000	muy leve
34	El crisis	Eliseo Romero	10	100000	Leve
97	La crisis	Eliseo Romero	6	60000	Muy Leve
0	La crisis	Eliseo Romero	8	80000	Muy leve
12	La crisis	Eliseo Romero	10	100000	Leve
69	La crisis	Eliseo Romero	4	40000	Muy leve
81	La crisis	Eliseo Romero	19	190000	Leve

40	Rancho Alegre	Eliseo Romero	5	50000	Muy leve
91	Rancho Alegre	Eliseo Romero	6	60000	Muy leve
1	Rancho Alegre	Eliseo Romero	5	50000	Muy leve
58	Rancho Alegre	Eliseo Romero	4	40000	Muy leve
70	Rancho Alegre	Eliseo Romero	9	90000	Muy leve
80	Rancho Alegre	Eliseo Romero	6	60000	Muy leve
12	Rancho Alegre	Eliseo Romero	8	80000	Muy leve
92	Rancho Alegre	Eliseo Romero	8	80000	Muy leve
99	Rancho Alegre	Eliseo Romero	6	60000	Muy leve
22	La Partida	Guadalupe Reyes	51	510000	Leve
89	La Partida	Guadalupe Reyes	55	550000	Leve
55	La Partida	Guadalupe Reyes	59	590000	Leve
3	La Partida	Guadalupe Reyes	19	190000	Leve
43	La Partida	Guadalupe Reyes	24	240000	Leve
14	La Partida	Guadalupe Reyes	12	120000	Leve
5	La Partida	Guadalupe Reyes	8	80000	Muy leve
6	La Partida	Guadalupe Reyes	13	130000	Leve
7	La Partida	Guadalupe Reyes	16	160000	Leve
2	La Partida	Guadalupe Reyes	11	110000	Leve
81	La Partida	Guadalupe Reyes	12	120000	Leve
7	Tierra Blanca	José Luis Reyes	31	310000	Leve
45	Tierra Blanca	José Luis Reyes	21	210000	Leve
18	Tierra Blanca	José Luis Reyes	27	270000	Leve
10	Tierra Blanca	José Luis Reyes	11	110000	Leve
91	Tierra Blanca	José Luis Reyes	7	70000	Muy leve
14	Tierra Blanca	José Luis Reyes	13	130000	Leve
1	Tierra Blanca 2	José Luis Reyes	18	180000	Leve
.00	Tierra Blanca 2	José Luis Reyes	16	160000	Leve

90	Tierra Blanca 2	José Luis Reyes	8	80000	Muy leve
.004	Tierra Blanca 2	José Luis Reyes	8	80000	Muy leve
.006	Tierra Blanca 3	José Luis Reyes	15	150000	Leve
39	Tierra Blanca 3	José Luis Reyes	11	110000	Leve
37	Tierra Blanca 3	José Luis Reyes	7	70000	Muy leve
8	Tierra Blanca 4	José Luis Reyes	13	130000	Leve
81	Tierra Blanca 4	José Luis Reyes	5	50000	Muy leve
92	Tierra Blanca 4	José Luis Reyes	6	60000	Muy leve
19	Zapopan 1	José Luis Reyes	7	70000	Muy leve
68	Zapopan 2	José Luis Reyes	15	150000	Leve
20	Zapopan 2	José Luis Reyes	7	70000	Muy leve
12	Zapopan 2	José Luis Reyes	9	90000	Muy leve
.06	Zapopan 2	José Luis Reyes	11	110000	Leve

En base a los resultados obtenidos después de los análisis de laboratorio realizados se pudo determinar que el nivel de infestación de nosemosis en la comarca lagunera fue leve y muy leve en los casos encontrados.

De esta manera es importante mencionar que para poder evitar esta enfermedad es indispensable renovar los materiales que se ocupan para las colmenas, además de controlar la humedad y evitar la sombra en forma permanente, y cuidando que no se inunde la colmena y la condensación de agua dentro de esta (Sota, 2006).

4. Conclusiones

De acuerdo a la metodología empleada y a los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

- 1. Existe la presencia de nosema en la Comarca Lagunera
- 2. De acuerdo al de nivel de infestación se puede concluir que la infestación es leve

5. Referencia

- Alins, E. 1989. Enfermedades y enemigos de las abejas. Ed. Sintet, SA Barcelona.
- Bailey, L., 1981. Honey bee pathology. Academic Press Inc. (London) Ltd.
- Bruno, S. B. 2011. Enfermedades de las abejas: Nociones prácticas. editorial páginas
- Bigliardi, E., Selmi, M.G., Lupetti, P., Corona, S., Gatti, S., Scaglia, M., Sacchi, L., 1996. Microsporidian spore wall: ultrastructural findings on *Encephalitozoon hellem* exospore. *J. Eukaryot. Microbiol.* 43, 181–186.
- Calderon, R. A. y L. A. Sanchez. 2011. Diagnóstico de enfermedades en colmenas de abejas africanizadas en costa rica: Prevalencia y distribución de septiembre a noviembre del 2007. *Agronomía Costarricense: Revista de Ciencias Agrícolas* 35(2): 49-60.
- Calatayud, F. (2015). Historia de la Apicultura: Evolución y conceptos básicos. Obtenido de ww.apiads.es/index.php/apitemas/apihistoria-y-otros/21-historia-de-la-apiculturaevolucion-y-conceptos-basicos
- Calatayud, F. y E. Simón. 2001. Importancia de las abejas de miel y otros insectos como agentes polinizadores de las plantas cultivadas y silvestres de la comunidad valenciana. Unión de Llauradors-Coordinadora de Organizaciones de Agricultores y Ganaderos.
- Castro, P. N., M. Cambarieri, S. D. Abate, P. V. Britos y H. L. Vivas. 2016. Identificación automática de nosemosis en imágenes microscópicas. In: VIII Congreso Argentino de AgrolInformática (CAI-2016)-JAIIO 45 (Tres de Febrero, 2016).
- Chen, Y. P., J. D. Evans, C. Murphy, R. Gutell, M. Zuker, D. Gundensen-Rindal y J. S. Pettis. 2009. Morphological, molecular, and phylogenetic characterization of *nosema ceranae*, a microsporidian parasite isolated from the european honey bee, *apis mellifera* 1. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 56(2): 142-147.
- Cornejo LG, Rosi CO (1975) Enfermedades de las abejas: su profilaxis y prevención. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires
- Curgy, J.J., Vavra, J., Vivares, C., 1980. Presence of ribosomal RNAs with prokaryotic properties in Microsporidia, eukaryotic organisms. *Biol. Cell.* 38, 49–51.
- De la Sota, M. y M. Bacci. 2004. Enfermedades de las abejas. Manual de procedimientos. Trámites en apicultura. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad

- Agroalimentaria (SENASA). Dirección Nacional de Sanidad Animal. Buenos Aires.
- De la Sota, M., & Bacci, M. (2005). SENASA. Enfermedades de las abejas. Manual de procedimientos. Dirección Nacional de Sanidad Animal, 3, 18-29.
- Denisse, S. 2010. Norma oficial mexicana nom-059-semarnat-2010: Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo. México, D. F.
- Dewey, M. 2010. Manual práctico de apicultura. México: Sagarpa.
- Doull, K. 1972. Nosemosis de las abejas melíferas en Australia del Sur. In: 1er Congreso Australiano de Apicultura. Bucarest, Rumania. Apimondia. p 119-124.
- Evans J. 2006. Beepath: An ordered quantitative-PCR array for exploring honey immunity and disease. *Journal of Invertebrate Pathology*.94: 135-139
- Fries, I., 1989. Observations on the development and transmission of *Nosema apis* Z. In the ventriculus of the honeybee - *International Bee Research Association*. *J. Apic. Res.* 28, 107– 117.
- FRIES I, Marie-Pierre C, Yan-Ping C, Doublet V, Genersch E, Gisder S, Higes M, McMahon PD, Martín-Hernández R, Natsopoulou M, Paxton JR, Tanner G, Webster CT, Williams GR. Standard methods for *Nosema* research. *Journal of Apicultural Research*. 2013. 53(1):1-28. doi 10.3896/IBRA.1.52.1.14.
- Fuentealba, V. y V. Eladio. 2005. Presencia y niveles de infección de los protozoos *Nosema apis* y *Malpighamoeba mellificae* Prell en apiarios asociados a Apicoop Ltda. En la X región de Chile, Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias.
- Güemes Ricalde, F. J., C. Echazarreta González, R. Villanueva, J. M. Pat Fernández y R. Gómez Álvarez. 2003. La apicultura en la península de Yucatán. Actividad de subsistencia en un entorno globalizado. *Revista Mexicana del Caribe* 8(16).
- Gutiérrez, C. G., E. L. V. Montoya, J. R. C. Báez y E. N. Pérez. 2011. Morfología, ciclo de vida y comportamiento de la mosca de los estigmas del maíz *Euxesta stigmatias* (Loew) (Diptera: Ulidiidae) en Sinaloa. *Southwestern Entomologist* 36(1): 111-113.
- Gupta, R. 2014. Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security [internet]. Gupta R, Reybroeck W, van Veen JW, Gupta A, editors. *Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security*. Dordrecht: Springer Netherlands.

- Guzmán Novoa, E. y A. Correa Benítez. 2012. Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas.
- Guzmán-Novoa, E., A. C. Benítez, L. G. E. Montaña y G. G. Novoa. 2011. Colonization, impact and control of africanized honey bees in Mexico. *Veterinaria México* 42(2): 149-178.
- Higes, M., R. Martín-Hernández, P. García-Palencia, P. Marín y A. Meana. 2009. Horizontal transmission of *Nosema ceranae* (microsporidia) from worker honeybees to queens (*Apis mellifera*). *Environmental microbiology reports* 1(6): 495-498.
- Higes, M., F. Esperón y J. Sánchez-Vizcaíno. 2007. First report of black queen-cell virus detection in honey bees (*Apis mellifera*) in Spain. *Spanish journal of agricultural research* 5(3): 322-325.
- Higes, M., R. Martín-Hernández y A. Meana. 2010. *Nosema ceranae* in Europe: An emergent type of Nosemosis. *Apidologie* 41(3): 375-392.
- Hinrichsen Sariego, H. 1983. Distribución y grado de infección de *Nosema apis* Zander, en apiarios de la décima región, Universidad Austral de Chile, Valdivia (Chile). Facultad de Ciencias Agrarias.
- Huang, Q., P. Kryger, Y. Le Conte y R. F. Moritz. 2012. Survival and immune response of drones of a Nosemosis tolerant honey bee strain towards *N. ceranae* infections. *Journal of invertebrate pathology* 109(3): 297-302.
- Huger, A., 1960. Electron microscope study on the cytology of a microsporidian spore by means of ultrathin sectioning. *J. Insect Pathol.* 2, 84-105.
- Jean-Prost, P. 2007. *Apicultura: Conocimiento de la abeja. Manejo de la colmena.* Mundi-Prensa Libros.
- L'Arrivee, J.C.M., 1963. The Effects of Sampling Sites on *Nosema* Determination. *J. Insect Pathol.* 5, 355-394
- Labougle, J. y J. Zozaya. 1986. La apicultura en México. *Ciencia y desarrollo* 12(69): 17-36.
- Labougle, R. y J. Zozaya. 1985. La apicultura en México ciencia y tecnol. Conacyt, México 17-36.
- la Sota, D., M. Daniel, M. I. S. Bacci y M. Daniel. Manual de procedimientos. Manual de procedimientos: Enfermedades de las abejas. Trámites en apicultura. 2006

- Liu, T.P., 1984. Ultrastructure of the midgut of the worker honey bee *Apis mellifera* heavily infected with *Nosema apis*. *J. Invertebr. Pathol.* 44, 282–291
- Katinka, M.D., Duprat, S., Cornillot, E., Méténier, G., Thomarat, F., Prensier, G., Barbe, V., Peyretilade, E., Brottier, P., Wincker, P., Delbac, F., El Alaoui, H., Peyret, P., Saurin, W., Gouy, M., Weissenbach, J., Vivarès, C.P., 2001. Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *Encephalitozoon cuniculi*. *Nature* 414, 450–453
- Keeling, P.J., Fast, N.M., Law, J.S., Williams, B.A.P., Slamovits, C.H., 2005. Comparative genomics of microsporidia, in: *Folia Parasitologica*. pp. 8–14.
- Kudo, R., 1918. Experiments on the extrusion of polar filaments of cnidosporidian spores. *J. Parasitol.* 4, 141–147.
- Maggi, M., Antunez K., Invernizzi, C., Aldea, P., Vargas, M., Negri, P. Eguaras, M., (2016). Honeybee Health in south america, *Apidologie* 47(6), 835-854, doi:10.1007/s 13592-016-0445-7.
- Manresa, A. 2005. Clasificación de mieles de abeja uniflorales mediante propiedades químicas, físicas y sensoriales, PhD Thesis. La Habana University, Cuba.
- Martínez Puc, J. F., L. A. Medina Medina y G. A. Catzín Ventura. 2011. Frecuencia de varroa destructor, nosema apis y acarapis woodi en colonias manejadas y enjambres silvestres de abejas (*apis mellifera*) en mérida, yucatán, méxico. *Revista mexicana de ciencias pecuarias* 2(1): 25-38.
- Martínez-Torres, I. De j.(uees, san salvador (el salvador). Corporativo: Universidad evangélica de el salvador, san salvador (el salvador). Título: Determinación de la presencia del protozoo " *Nosema apis* Z." En centros experimentales del ministerio de agricultura y ganadería de el salvador.. Grado acad.: Tesis (ingeniero agrónomo zootecnista). P. Imprenta: San Salvador (El Salvador). Nov 1988.. 42 p.
- Massaccesi, C. A. 2002. Apicultura en la patagonia andina. *Lago puelo* 2-63.
- Mendoza, Y., J. Harriet, J. Campa, H. Katz, G. Ramallo, S. Díaz-Cetti y C. Invernizzi. 2013. Control de nosema ceranae en colonias de abejas (*apis mellifera*) en forestaciones de eucalyptus grandis. *Agrociencia Uruguay* 17(1): 108-113.
- Mendoza, Y., J. Díaz, G. Ramallo y C. Invernizzi. 2012. Incidencia de nosema ceranae durante el invierno en colonias de abejas melíferas retiradas de una forestación de eucalyptus grandis. *Veterinaria* 48(185): 13-19.

- Mitchell, D. 2016. Ratios of colony mass to thermal conductance of tree and man-made nest enclosures of *Apis mellifera*: Implications for survival, clustering, humidity regulation and *Varroa destructor*. *International journal of biometeorology* 60(5): 629-638.
- Moreno, A. 2004. Manual control de enfermedades apícolas (descripción, diagnóstico y tratamiento). Red Nacional Apícola, Programa Prorubro, Programa de Apoyo a la Microempresa Rural de América Latina y el Caribe 19-25.
- Molina A., Guzmán E. et al. (1990). Enfermedades y Plagas de la Abeja Melífera occidental. Secretaria de Agricultura y Recursos Humanos. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). San Salvador, El Salvador, 1990.
- Neumann, P. y N. L. Carreck. 2010. Honey bee colony losses. Taylor & Francis.
- Neira, M. 2006. Sanidad apícola, principales enfermedades y enemigos de las abejas en Chile [tesis licenciatura]. Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile.
- Paxton, R. J., J. Klee, S. Korpela y I. Fries. 2007. *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie* 38(6): 558-565.
- Pérez, J. C. F. 2016. Apicultura en España: Biología, patología y tratamientos. Panorama actual del medicamento *Revista* 40(395): 717-723.
- Plischuk, S., R. Martín-Hernández, C. Lange y M. Higes. 2008. Detección de *Nosema ceranae* (microsporidia) en *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) de la región pampeana. In: VII Congreso Argentino de Entomología. Córdoba, Argentina
- Plischuk, S. y C. E. Lange. 2010. Detección de *Malpighamoeba mellificae* (protista: Amoebozoa) en *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) de Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 69(3-4): 299-303.
- Polaino, C., L. Fernández y F. Cobo. 2006. Manual práctico del apicultor. Grupo Cultural. Editorial, país
- Puerta, F., J. Flores, J. Ruiz, J. Ruz y F. Campano. 2001. Enfermedades de las abejas. Prevención, diagnóstico y tratamiento. Ed. COAG Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- Prasad, N., S. Govindharaju y K. Keshawa Reddy. 2000. Positive staining method for detection of pebrine spore *Nosema bombycis* in silkworm *Bombyx mori*. *Sericologia* (France).
- Piqueras, J. M. R., R. Piqueras y J. María. 2009. Iniciación a la apicultura 29.

- Romero, R. E. V., R. A. M. Sarmiento, N. C. O. Flórez y W. D. M. Quintero. 2012. Apicultura. Manual técnico de apicultura (*Apis mellifera*)
- Ruz Luque, J., C. Díaz Gaona, V. Rodríguez Estévez y M. Sánchez Rodríguez. 2014. Principales debilidades de la apicultura ecológica.
- Sota, M. D. d. I. 2006. Manual de procedimientos enfermedades de las abejas: Trámites en apicultura.
- Tapia-González, J. M., G. Alcazar-Oceguera, J. O. Macías-Macías, F. Contreras-Escareño, J. C. Tapia-Rivera, F. J. Chavoya-Moreno y J. C. Martínez-González. 2017. Nosemosis en abejas melíferas y su relación con factores ambientales en Jalisco, México. Revista mexicana de ciencias pecuarias 8(3): 325-330.
- ULLOA JA, Modragón CPM, Rodríguez RR, Reséndis VJA, Rosas UP. La miel de abeja y su importancia. Revista Fuente. 2010. 2(4):11-18.
- Winkler, S. S. J. 2013. Identificación de especies de *Nosema* spp. En colonias de *Apis mellifera* en cuatro zonas geográficas de Chile, mediante técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- Wiese, H. y A. N. Marques. 1985. Nova apicultura. Editorial páginas White, G. F. 1919. Nosema-disease. US Department of Agriculture.
- Williams, B. a P., Hirt, R.P., Lucocq, J.M., Embley, T.M., 2002. A mitochondrial remnant in the microsporidian *Trachipleistophora hominis*. Nature 418, 865–869
- Williams, B. a P., 2009. Unique physiology of host-parasite interactions in microsporidia infections. Cell. Microbiol. 11, 1551–1560
- Wittner, M., Weiss, L., 1999. The Microsporidia and Microsporidiosis. ASM Press Washington, DC. 1999 - 553 pp. Wolf, S., McMahon, D.P., Lim, K.S., Pull, C.D., Clark, S.J., Paxton, R.J., Osborne, J.L., 2014. So near and yet so far: harmonic radar reveals reduced homing ability of nosema infected honeybees. PLoS One 9, e103989.

Xu, Y., Weiss, L.M., 2005. The microsporidian polar tube: a highly specialised invasion organelle. *Int. J. Parasitol.* 35, 941–953.