

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**



**“DETERMINACIÓN DE PLAGICIDAS EN MIELES DE *Melipona beecheii* y
tetragonisca angustula (HYMENOPTERA: APOIDEA) Y EVALUACIÓN DE LA LC 50
SOBRE LAS OBRERAS “**

TESIS PRESENTADA
POR

CARLOS MANUEL MALDONADO AGUILERA
PARA OPTAR AL TITULO DE

BIÒLOGO

GUATEMALA, ENERO DE 2009

1. RESUMEN

Las mieles de los meliponinos presenta diversas características las cuales han sido estudiadas para reconocer diversos tipos de miel, principalmente llegan a variar por factores como el recurso floral disponible para la obtención de polen y néctar (Molan, P. 1992). Vit en el 2004, publicó la composición bioquímica de la miel de algunas especies de abejas sin aguijón, en la que señala la alta cantidad de monosacáridos, que constituyen el 60–80% de la miel; agua, alrededor de un 15 a 20%; minerales; sustancias nitrogenadas; ácidos orgánicos los cuales confieren a la miel un pH de 3.6 a 4.2; enzimas; vitaminas y hormonas; inhibinas, a las que se les atribuye actividad antibiótica.

El Folidol (Paratión, Etil-paratión, Metil-paratión) es un insecticida-acaricida organofosforado de uso común en el campo y en la ciudad (jardinería), que se reporta como sumamente tóxico para abejas y para mamíferos (<http://www.dsostenible.com.ar/tecnologias/paration.html>), y fue el insecticida que se reportó con mayor incidencia en los reportes por parte de las personas entrevistadas y se reconoce como un insecticida sumamente tóxico.

En este trabajo se plantearon dos objetivos: determinar la presencia de insecticidas en las mieles de abejas sin aguijón y determinar la concentración letal media (LC₅₀) ante Folidol, en obreras adultas de *Melipona beecheii* y *Tetragonisca angustula*.

No se determinó la presencia de plaguicidas en las muestras analizadas, y se presume que son cuatro los factores que influyeron en este resultado: las fechas de las colectas, la ubicación de las colmenas en los meliponarios, los recursos alimenticios y la conducta evasiva de las abejas ante plaguicidas.

La LC₅₀ para *M. beecheii* se determinó como 0.007 g/ml (7ppm), mientras que para *T. angustula* se determinó como 0.001 g/ml (1ppm). La LC₉₀ para *M. beecheii* se determinó como 0.176 g/ml (176ppm), mientras que para *T. angustula* se determinó como 0.002 g/ml (2ppm).

2. INTRODUCCIÓN

Las abejas sin aguijón son nativas de las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Los nativos de la región Mesoamericana les atribuían varias propiedades curativas a los distintos productos de las colmenas de estas abejas, siendo algunas de las propiedades aún reconocidas por los campesinos. Actualmente, se tienen reportes del uso de miel de *Melipona beecheii* para el tratamiento de afecciones respiratorias, llagas, golpes, quemaduras y en el caso de la miel de las abejas *Tetragonisca angustula* y *Geotrigona acapulconis* es empleada para el tratamiento de pterigión y cataratas (Enríquez, et al 2004). Para lograr la detección de elementos que puedan ser problemáticos al momento de pretender comercializar las mieles -principalmente al momento pretender exportarlas- se propone realizar una determinación de insecticidas de las mieles de, *Melipona beecheii* (criolla) y *Tetragonisca angustula* (doncella), que son las dos especies mejor conocidas por las personas en el área rural, y también son de las especies de mayor distribución en el territorio nacional.

Tradicionalmente los insecticidas agrícolas y acaricidas de uso veterinario se han utilizado casi indiscriminadamente, al punto de crear una problemática distinta a la que supuestamente estaban combatiendo. Al determinar la presencia de insecticidas de uso común en el campo en la miel de estas dos especies, se da un paso hacia el fomento de la conservación y uso sostenible de las especies nativas de este país por medio del fomento a la comercialización y establecimiento de estándares de calidad de los productos que de ellas se obtienen.

En este trabajo de investigación se plantearon dos experimentos, el primero constó de una determinación de insecticidas de los principales grupos (carbamatos, órganoclorados, órganofosforados y piretroides) en la miel de dos especies de abejas nativas sin aguijón y el segundo la determinación de la dosis letal media que puedan tener los insecticidas sobre las abejas mismas.

3. ANTECEDENTES

3.1 ABEJAS NATIVAS SIN AGUIJÓN O MELIPONINOS

Dentro del orden Hymenoptera, superfamilia Apoidea están incluidas las abejas, las cuales son de gran importancia debido a que juegan un papel importante en los procesos ecológicos como polinizadores de plantas, al coleccionar polen y néctar o aceites de angiospermas, los que utilizan para proveer alimento a sus larvas. Las abejas miden entre 2 y 39mm de largo, sin embargo existen algunas con mayor tamaño. La mayoría presenta una biomasa de menos de 1mg a más de 1g. Se caracterizan por tener el cuerpo cubierto de pelos, los cuales suelen ser ramificados o plumosos (Ayala, R. 1998; Marroquín, A. 2000; Marroquín, A. 2004).

Se han clasificado 7 familias de abejas, que incluyen más de 20,000 especies en todo el mundo (Michener, C.D., 2000). Dentro de la familia Apidae, se encuentran las abejas sin aguijón (tribu Meliponini) y las abejas de miel (tribu Apini), las cuales son las únicas tribus que son verdaderamente sociales y que presentan colonias que acumulan grandes cantidades de alimento. Las abejas sin aguijón, exclusivas de los trópicos, alcanzan las 400 especies y son más abundantes en los trópicos de América (Ayala, R. 1999, Michener, C.D., 2000). En Guatemala se han identificado a la fecha 32 especies de meliponinos, sin embargo estos son resultados parciales ya que no se han realizado colectas en todo el país (Enríquez et al, 2003).

3.2 ABEJAS SIN AGUIJÓN UTILIZADAS EN GUATEMALA

Antes de la conquista española los antiguos mayas de la Península de Yucatán practicaban la crianza de diversas especies de abejas sin aguijón nativas del área. La principal abeja nativa cultivada fue *Melipona beecheii*, que alcanzó un mayor desarrollo debido a que es una especie de fácil manejo, abundante en el área y en especial a que su miel era utilizada en rituales ceremoniales, como producto medicinal y alimenticio (Villanueva, R. 2003; González-Acereto, J. 2005).

Melipona beecheii aún se mantiene en troncos de algunas casas de comunidades rurales, reportado principalmente en regiones como Santa Rosa y Chiquimula, en donde también suelen mantener colmenas de *Tetragonisca angustula*. Las personas conservan colmenas en sus casas, empleando la miel y otros productos de la colmena como alimento o para el tratamiento de diversas afecciones. En especial la miel blanca, producida por *Melipona beecheii*, la cual suele ser utilizada para el tratamiento de enfermedades como diarreas, gastritis, llagas, problemas respiratorios, golpes, entre otros (Enríquez, et al. 2004).

Las abejas comúnmente utilizadas en Guatemala para la obtención de miel y otros productos se presentan en la siguiente tabla, en la cual se indican los nombres comunes que se le dan a estas abejas (Enríquez, et al. 2004). Cabe mencionar que este debe ser considerado como un listado preliminar ya que sólo se tomaron en cuenta dos regiones para obtener este listado.

Tabla 1

Abejas cuyas mieles son comúnmente consumidas o utilizadas

Nombre científico	Nombre común
<i>Melipona beecheii</i>	Colmena grande, criolla
<i>Melipona sp.</i>	Tinzuca
<i>Tetragonisca angustula</i>	Chúmelo, doncella
<i>Geotrigona acapulconis</i>	Talnete
<i>Scaptotrigona pectoralis</i>	Magua canche, alazán, congo canche
<i>Scaptotrigona mexicana</i>	Magua negro, congo negro
<i>Plebeia sp.</i>	Serenita, Sarquita, Boca de sapo, Hoyito de gallina.
<i>Trigona nigerrima</i>	Joloncan,
<i>Partamona bilineata</i>	Sacar, Cushusho.
<i>Cephalotrigona sexmeniae</i>	Congo mandinga
<i>Trigona fulviventris</i>	Culo de señora, Mandinga

(Fuente: Enríquez, E. et al. 2004. corregido por E. Enríquez 2007, com. Pers.)

Así mismo es necesario conocer los meliponinos que existen en cada región y que puedan ser propuestos para el cultivo tecnificado de éstas abejas. Por lo que es necesario llevar a cabo colectas sistemáticas en áreas importantes, y con esto conocer la apifauna de meliponinos de cada lugar disponible para la crianza, con el objetivo de la obtención de miel.

3.3 PROCESO DE PRODUCCIÓN DE LA MIEL

La materia prima que da lugar a la miel procede, bien del néctar de las flores, que se encuentran en los nectarios, bien de los mielatos o mieladas, que son secreciones azucaradas de ciertos pulgones (áfidos) que se alimentan del contenido floemático de las plantas leñosas, o también de exudados dulces de ciertas partes vivas de los vegetales (Villota, 1999).

El proceso de formación de la miel se realiza en los siguientes pasos consecutivos: en primer lugar, las abejas pecoreadoras recogen la materia prima y entregan el contenido del buche melario a las abejas domésticas. Después se produce la aireación del contenido del buche melario para la reducción del contenido de agua y la inversión de los azúcares que forman la materia prima. Luego se almacena la miel en formación en las celdillas y se produce la ventilación para las siguientes reducciones del contenido de agua (Villota, 1999). El proceso que se describe a continuación es para la producción de miel por *A. mellifera*; en los meliponinos, el proceso es muy parecido, excepto que la miel no se deposita en celdas, sino que en potes.

3.3.1 La obtención de la materia prima

En cada colmena, la colonia dispone de abejas pecoreadoras de tipo scout o exploradoras (su proporción oscila entre el 5 y el 35%), que son las encargadas de buscar las fuentes de materia prima. Al regresar a la colmena, mediante

movimientos peculiares, las *danzas*, indican la dirección y la distancia de la fuente a las otras abejas pecoreadoras (Villota, 1999).

El radio de vuelo de una abeja pecoreadora en la recolección de néctar es de aproximadamente 2km, aunque a veces puede llegar hasta 4-5km. Puede transportar una carga de 40-70mg, lo que representa más del 40% de su peso. En el vuelo se consumen unos 10mg de azúcar por hora. En 1928 el investigador Park observó que una pecoreadora, en un año favorable, realiza 13.5 viajes por día y permanece fuera de la colmena hasta por 10 horas al día; mientras que en un año desfavorable, solamente se mantiene fuera por un máximo de 7.5 horas (Villota, 1999).

El factor principal de atracción de las plantas hacia las abejas es la cantidad de néctar que producen, una vez fueron atraídas hacia las flores visualmente (atracción por colores). Existe una relación positiva entre la atracción y la intensidad de secreción, siendo esta también dependiente de las particularidades ecológicas y variedades de los cultivos (Villota, 1999).

Las abejas pecoreadoras pueden ser de dos tipos: las que recogen néctar y las que recogen polen; las que colectan miel se interesan por los nectarios, mientras que las que colectan polen se interesan sólo por las anteras (Villota, 1999).

3.3.2. Las etapas del proceso de formación de la miel

3.3.2.1. Recogida de la materia prima por las abejas pecoreadoras y entrega del contenido del buche melario: la abeja pecoreadora recoge, con su glosa o lengua, la materia prima azucarada, que pasa a través de su esófago hasta un ensanchamiento del intestino, el buche melario, cuyo contenido máximo es de 50-60µl y su peso de 40-07mg. El proventrículo es un órgano valvular, embutido en el buche desde la parte del intestino, que posee cuatro labélulos triangulares con

cara interna vellosa. Estos labélulos permanecen cerrados sólo mientras la pecoreadora recolecta néctar. Sólo cuando la abeja necesita consumir energía se abren, para permitir el paso de alimento al intestino (Villota, 1999).

El proventrículo realiza, además, funciones de filtrado del néctar de los granos de polen y otras partículas mediante movimientos peristálticos, que provocan un efecto de *peinado*, reteniendo los granos de polen y otras partículas, y aglomerándolas en la vellosidad interna de sus labélulos en el interior del estómago, para después liberarlas en forma de paquetes o glomérulos hacia el intestino (Villota, 1999).

Durante la recolección de néctar o mielato, se añaden secreciones glandulares propias de las abejas, ricas en enzimas provenientes de las glándulas hipofaríngeas, cefálicas, torácicas y mandibulares, que juegan un papel importante en la maduración de la miel (Villota, 1999).

Cuando la pecoreadora regresa a la colmena, si el número de individuos es alto y la intensidad de colecta elevada, regurgita el contenido del buche melario en la glosa de otra abeja, estableciéndose una cadena de alimentación. Si el número de individuos es bajo y hay poca actividad, lo deposita directamente en una celdilla del panal (Villota, 1999).

3.3.2.2. Aireación del contenido del buche melario para la evaporación y la transformación de los azúcares que forman la materia prima: este proceso se desarrolla en dos fases: una activa, en la que sólo las abejas domésticas toman parte; y otra pasiva, en la cual la totalidad de ellas participa. Las abejas encargadas de la elaboración de la miel alargan su probóscide y regurgitan una gota de líquido de su buche melario. La gota es deslizada por la glosa estirada de modo que la superficie de evaporación aumenta, y la gota queda expuesta a las

corrientes de aire caliente del interior de la colmena. Luego la vuelven a absorber, o la pasan a otras abejas. Este proceso se repite entre 15-20 minutos. Al mismo tiempo se secretan enzimas que transforman algunos azúcares y que son responsables del espectro de azúcares característico de las mieles maduras. Cuando la miel alcanza su punto de viscosidad, es depositada en una celdilla, y comienza el proceso de maduración (Villota, 1999).

3.3.2.3. Almacenamiento de la miel en formación en las celdillas y ventilación para siguientes reducciones del contenido de agua: en esta fase, la evaporación es indirecta, a causa de las corrientes de aire provocadas especialmente durante la noche. Con el producto intermedio, a modo de gotitas o de películas finas, se rellenan las celdillas, en principio hasta un tercio o un cuarto de su volumen. La proporción de agua se reduce hasta un nivel inferior al 18-19%. También se producen cambios químicos en los carbohidratos. Este proceso de maduración dura de 1-3 días y en él influyen la población de la colmena, la oferta de fuente nectarífera, el contenido de agua de la materia prima, el grado de llenado de las celdillas, y factores climáticos como humedad y temperatura (Villota, 1999).

3.3.2.4. Operculado de miel: con el fin de impedir el contacto de la miel madura con el aire, del que podría absorber agua por su capacidad higroscópica, las abejas operculan las celdillas con cera, que proviene de las glándulas ceríferas del abdomen de las abejas jóvenes, y que presenta un color de amarillo pálido hasta blanco (Villota, 1999).

3.4. MIEL DE MELIPONINOS

La miel producida por *Apis mellifera* ha sido definida como un fluido dulce, denso, transparente y viscoso; resultante de la acción enzimática de las abejas sobre el néctar de las flores y exudados de las partes vivas de las plantas. De éste modo el

néctar es enriquecido con fermentos, ácidos y albúmina de la abeja (López, G. 1997; White, W. 1971). En general las mieles de los meliponinos presenta diversas características las cuales han sido estudiadas para reconocer diversos tipos de miel, principalmente llegan a variar por factores como el recurso floral disponible para la obtención de polen y néctar (Molan, P. 1992). Vit en el 2004, publicó la composición bioquímica de la miel de algunas especies de abejas sin aguijón, en la que señala la alta cantidad de monosacáridos, que constituyen el 60–80% de la miel; agua, alrededor de un 15 a 20%; minerales; sustancias nitrogenadas; ácidos orgánicos los cuales confieren a la miel un pH de 3.6 a 4.2; enzimas; vitaminas y hormonas; inhibinas, a las que se les atribuye actividad antibiótica.

Para el análisis de mieles existen diversas pruebas físico-químicas importantes, algunas de las cuales presentan elevados costos para su realización. Las pruebas más importantes y accesibles son las de acidez libre y total, humedad, azúcares y cenizas. Estas pruebas nos indican las principales características de la miel y que muchas veces se relacionan con las propiedades antibacterianas. Existen 7 características físico-químicas utilizadas para determinar la calidad de la miel de *Apis mellifera*, actualmente se propone que los valores de estos parámetros para meliponinos sean aceptados para que la miel producida por las abejas sin aguijón pueda ser comercializada a nivel internacional (Vit, P. et al. 2004).

3.5. USOS DE LA MIEL DE MELIPONINOS

La miel de meliponinos es utilizada en Mesoamérica, desde antes de la conquista española. Los mayas criaban abejas nativas sin aguijón, llegando a formar meliponarios con cientos de colmenas. La miel era utilizada con fines ceremoniales, como producto medicinal y como alimento, sin embargo con la llegada de los españoles a América se introdujo la abeja europea quien posee mayor capacidad de producción de miel desplazando la crianza de abejas nativas (Villanueva, R. 2003).

Actualmente en Guatemala la crianza de abejas sin aguijón esta restringida a pequeños grupos, quienes utilizan especialmente la miel, a la que atribuyen propiedades medicinales, en particular para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, oftalmológicas, dermatológicas, etc. Estudios realizados han tratado de rescatar este conocimiento por medio de encuestas realizadas a meliponicultores en Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa y Esquipulas, Chiquimula, se reporta el uso de la miel de meliponinos, para el tratamiento de diversas afecciones. En Guatemala se han realizado algunas investigaciones que demuestran la efectividad antibacteriana contra agentes causales de la mastitis en el ganado, géneros *Staphylococcus*, *Aerococcus*, *Actinomyces* y *Escherichia*, que también suelen atacar al humano (Enríquez, et al 2001, Enríquez, et al 2004). Se determinó que las mieles de ciertas especies de meliponinos presentan actividad antibacteriana a bajas concentraciones (concentraciones mínimas inhibitorias) (Enríquez, E., Dardón, M., 2006).

3.6. MELIPONICULTURA COMO ALTERNATIVA ECONÓMICA

La meliponicultura es la crianza de abejas sin aguijón, y en Guatemala se lleva a cabo de forma tradicional con técnicas relativamente sencillas. La meliponicultura permite obtener los productos de la colmena como miel, polen, cera y propóleo. Las personas en algunas comunidades utilizan todos estos productos y en algunos casos suelen comercializarlos, principalmente la miel. Existe una demanda local por este producto dada la atribución de beneficios terapéuticos, hecho que eleva su precio considerablemente en comparación con el de la miel de *Apis mellifera*.

Considerando que no es una actividad que necesite de mucho tiempo para ser llevada a cabo, la meliponicultura representa una importante alternativa económica para comunidades rurales que pueden ser beneficiadas si existiese un mercado nacional o internacional para la comercialización de la miel y otros productos de la colmena de abejas sin aguijón (González-Acereto, J. 2005).

3.7. MELIPONINOS Y LA VIGILANCIA AMBIENTAL

Las abejas y sus productos han sido utilizados exitosamente para medir química y radioactividad en ambientes expuestos a fuentes de contaminación. La utilización de las colmenas como bioindicadores tiene tres ventajas: (1) posibilidad de desplazar unidades estandarizadas que ocupan un espacio físico reducido en comparación con el área muestreada en localidades de interés; (2) bioacumulación de residuos tóxicos tanto en abejas como en sus productos y (3) la posibilidad de trabajar con alimentación artificial controlada (Vit, 1999).

Las abejas pecorean y procesan numerosos materiales donde se pueden bioconcentrar residuos tóxicos en forma primaria, secundaria o terciaria. Estos materiales son recolectados en extensas áreas y las unidades de acopio están formadas por la unidad social o colonia, la cual vive en colmenas y conforma lo que hoy se acepta como un superorganismo. Es como una unidad de muestreo compacta con seudópodos recolectores de muestras ambientales. El estudio de los productos que pueden ser recolectados por las abejas, su biotransformación y su bioacumulación permite seleccionar las variables experimentales de protocolos de trabajo a fin de evaluar las especies tóxicas que funcionen como indicadores prácticos para inferir el grado de salud ambiental (Vit, 1999).

3.8. INSECTICIDAS Y SUS USOS

En sus inicios, la clasificación de los insecticidas se basaba en su toxicidad para el insecto, determinada por su forma de penetrar al organismo de los mismos. Por ejemplo: insecticidas estomacales, como el arseniato de plomo, tóxicos cuando se ingieren; fumigantes, como el ácido cianhídrico, que entran como un gas a través de los espiráculos; insecticidas de contacto, por ejemplo la nicotina, que penetran por la cutícula. En la actualidad, la clasificación de los insecticidas se basa en su

acción toxicológica sobre los tejidos vitales y sobre los sistemas de enzimas (Castañeda, E. 2000).

El avance de la frontera agrícola ha expuesto tanto al hombre como a especies tradicionalmente silvestres en contacto mutuo; a pesar de que últimamente se ha considerado el uso de plaguicidas de otras naturalezas –que no sean químicos sintéticos-, el uso de químicos para controlar las poblaciones de diversos organismos considerados como plagas en los cultivos. Entre estos intentos podemos mencionar la utilización de *Bacillus thuringiensis* en cultivos de tomate con el fin de controlar las larvas de *Heliothis zea* (Turcios, E. 2001). Se ha observado que la utilización de insecticidas no reduce significativamente la acción de algunos parasitoides, como por ejemplo los parasitoides de la mosca minadora (*Liriomyza* sp) (García, R. 2002).

Es aún común el uso de distintos insecticidas pertenecientes a diferentes grupos químicos. A continuación se muestra una tabla donde se incluyen los insecticidas de mayor utilización en Guatemala.

Tabla 2

Insecticidas de uso común en el agro guatemalteco

Grupo Químico	Nombre Comercial y Compuesto Activo (nombre genérico)
Carbamato	Lannate 90WP (metomil) NUDRIN 90SP (metomil) VYDATE 24SL (oxamil)
Organoclorado	Thiodan 35EC (endosulfan) ENDOSULFAN35 EC (endosulfan)
Organofosforado	DIAZINON 60EC (dianion) Folidol 48EC (metil parathion) METIL PARATION 48EC (metil parathion) Metasystox 25EC (oxidemeton metil)

	ORTHENE75SP (acefate) PROMOFEKTION 40EC (dimetoato) Tamaron 60 SL (metamidofos) Volaton 50EC (foxim) VEXTER 48EC (clorpirifos) DIBROM 58EC (naled)
Organofosforado+Piretroide	TAMBO 44EC (profenofos+cipermetrina)
Piretroide	AMBUSH 10 EC (permetrina) Baytroid 2.5EC (ciflutrina) Decis 2.5EC (deltametrina) KARATE 2.5EC (lambda-cihalotrina)
Microbiológico	DiPel 6.4WG (<i>Bacillus thuringiensis</i>)
Tritiano	EVISEC 50SP (tiociclam-H-oxalato)
Benzoilurea	NOMOLT 15SC (teflubenzuron)
Cloronicotinilo	Confidor 70WG (imidacloprid)
Lactona macrocíclica	ROMECTIN 1.8EC (lactosa)

(Modificado de: Sagayama, K. 2001. Guía de aplicación de plaguicidas)

3.9. PRINCIPALES GRUPOS DE PESTICIDAS

3.9.1. CARBAMATOS

Son, junto con los insecticidas órganofosforados, inhibidores de la colinesterasa (CE) pero con varias diferencias con estos. Causan una inhibición reversible de dichas enzimas porque la unión enzima-carbamil es reversible, lo que origina un síndrome clínico mas benigno con una duración mas corta, en las intoxicaciones por insecticidas órganofosforados esta unión es irreversible. A diferencia de los órganofosforados tienen muy mala penetración al sistema nervioso central, por ello la presentación clínica de esta intoxicación recuerda la de las intoxicaciones por insecticidas órganofosforados con la excepción de originar pocos efectos sobre el sistema nervioso central, con convulsiones muy raras en la clínica. Los valores de colinesterasa en suero y hematíes retornan a su valor normal a las

pocas horas, por ello en muchas ocasiones su determinación será normal cuando el paciente acude al Hospital (<http://tratado.uninet.edu/c1007i.html>).

Estos compuestos tienen una estructura química basada en el ácido carbámico, con una serie de radicales que le dan la acción anticolinesterásica, en el caso de añadir un radical bencénico al éter de oxígeno o bien un hidrógeno o un radical metomilo al átomo de nitrógeno dando lugar a los metil y dimetilcarbamatos. Los ditiocarbamatos tienen actividad antifúngica y herbicida, con poco efecto anticolinesterásico. (<http://tratado.uninet.edu/c1007i.html>).

3.9.2. ÓRGANOCOLORADOS

Los insecticidas órganoclorados son moléculas orgánicas cloradas con peso molecular de 291 a 545; su estructura cíclica y su gran peso molecular los hace muy parecidos químicamente a los compuestos hidrocarburos clorados utilizados como disolventes. Pero los insecticidas órganoclorados se diferencian de los hidrocarburos clorados en que los primeros son estimulantes del sistema nervioso central y los segundos son depresores del mismo. En realidad esta distinción no es absoluta, el gamma isómero del hexaclorobenceno (Lindano) es un estimulante, pero hay otros isómeros que tienen un efecto opuesto. Estos compuestos fueron sintetizados a finales del siglo pasado; su poder como insecticida fue conocido y empleado durante la segunda guerra mundial. El representante más importante es el diclorodifeniltricloroetano (DDT). Se usaron de forma indiscriminada contra los insectos en campañas como la de la malaria de 1,940 a 1,960 con resultados muy buenos, por su bajo precio y gran eficacia. En 1,948 se descubrió que el DDT se acumulaba indefinidamente en tejidos humanos, en 1,970 varios estudios revelaron que se encontraba en la población general de Estados Unidos; posteriormente se comprobó que esto también sucedía con otros insecticidas como hexaclorobenceno, diclorodifenildietano, heptaclor, aldrín y dieldrín. El Instituto Nacional del Cáncer en USA relacionó el heptaclor con tumores malignos en ratas.

En 1,972 fue prohibido el DDT en Estados Unidos, posteriormente lo fueron también el heptaclor, kepone, mirex, endrín, aldrín, dieldrín, hexaclorobenceno, strobane, clorobencilato y clordano. El uso de toxafeno está muy restringido, estando disponibles el metoxiclor, keltane y lindano (<http://tratado.uninet.edu/c1006i.html>).

Posteriormente al demostrarse su persistencia en el medio, su acumulación en seres vivos y otros posibles efectos nocivos a largo plazo, se prohibió su uso en la mayoría de los países. Su frecuencia es cada vez menor, llegando a ser raras en algunas zonas, utilizándose en otras a pesar de su prohibición, el menor número de intoxicaciones se deben a su menor uso, al ser desplazado por otros insecticidas de similar eficacia pero que son biodegradables y no persisten en el medio ambiente (<http://tratado.uninet.edu/c1006i.html>)

3.9.2.1. Clasificación de los organoclorados

Se pueden dividir en varios grupos según su estructura molecular: Grupo del DDT y análogos como metoxicloro, pertano; Hexaclorociclohexano, con los isómeros alfa, beta y gamma o lindano; Ciclodienos, aldrín, endrín, dieldrín, clordano, endosulfán y heptaclor; y Canfenos clorados, toxafén y clordecona. Hay una tendencia entre los insectos a desarrollar resistencia para cada grupo en concreto, no produciéndose resistencia entre grupos. La intoxicación por estos insecticidas es cada vez menos frecuente, llegando a ser raras en algunas zonas, utilizándose en otras a pesar de su prohibición, el menor número de intoxicaciones se deben a su menor uso, al ser desplazado por otros insecticidas de similar eficacia pero que son biodegradables y no persisten en el medio ambiente. En la actualidad el más usado es el lindano que se usa contra garrapatas y piojos en champú y soluciones antiparasitarias (<http://tratado.uninet.edu/c1006i.html>).

3.9.3. ÓRGANOFOSFORADOS

Se denominan compuestos organofosforados (COF) a aquellas sustancias orgánicas derivadas de la estructura química del fósforo (<http://tratado.uninet.edu/c1005i.html>)

Es muy amplia la lista de utilidades de estas sustancias. En medicina los COF se han utilizado clásicamente para el tratamiento de la miastenia gravis, el glaucoma, el íleo paralítico y la atonía vesical, y más, recientemente para tratar algunos tumores la enfermedad de Alzheimer y la retinitis por citomegalovirus. Algunos países utilizan los COF como armas de guerra química. En la industria los COF se utilizan como aditivos del petróleo, disolventes, en las industrias de colorantes, barnices, cuero artificial, aislantes eléctricos, impermeabilizantes, ignífugos, ablandadores de plásticos, plastificantes del caucho etc. En el ámbito doméstico los insecticidas órganofosforados (IOF) forman parte de la formulación de muchos insecticidas para cucarachas y hormigas (<http://tratado.uninet.edu/c1005i.html>).

Sin embargo el uso más relevante de los COF es en la agricultura fundamentalmente como insecticidas, y en menor grado como helminticidas, acaricidas, nematocidas, fungicidas y herbicidas. En la actualidad los insecticidas órgano fosforados (IOF) son los plaguicidas empleados con mayor frecuencia en todo el mundo, y por ello son frecuentes las intoxicaciones por estas sustancias (<http://tratado.uninet.edu/c1005i.html>).

3.9.3.1. Metabolismo de los órganofosforados

En general los COF son sustancias muy liposolubles. Su volatilidad es variable, aunque se suelen utilizar como IOF los compuestos menos volátiles. Una vez que entran en un organismo vivo, poseen una corta vida media en el plasma y un elevado volumen de distribución en los tejidos (<http://tratado.uninet.edu/c1005i.html>).

Los IOF son atacados por una serie de enzimas (esterasas, enzimas microsomiales, transferasas), fundamentalmente en el hígado, sufriendo una serie de transformaciones químicas. Estas transformaciones tienden a aumentar la hidrosolubilidad del plaguicida, y por consiguiente facilitan su excreción. Pero a veces el metabolismo aumenta su toxicidad, como sucede con las formas oxón en que son transformadas el paratión y el malatión. Debido a su alta liposolubilidad los IOF se acumulan en tejidos ricos en grasas, como el panículo adiposo o el

tejido nervioso, desde donde pueden ser liberados nuevamente al torrente sanguíneo. Los COF se eliminan por vía urinaria y heces, en su forma activa o previa metabolización hepática (<http://tratado.uninet.edu/c1005i.html>).

Los IOF pueden producir cuatro tipos de efectos tóxicos, según sea su mecanismo de acción:

- 1) Inhibición de la enzima CE, produciendo una sobreestimulación colinérgica, que será la que dominará el cuadro.
- 2) Acción tóxica directa sobre distintos parénquimas, al igual que cualquier otro tóxico.
- 3) Disfunción de la placa neuromuscular postsináptica, dando lugar al llamado "síndrome intermedio".
- 4) Inhibición de la enzima esterasa neurotóxica (ENT), produciendo una neuropatía retardada (NR) (<http://tratado.uninet.edu/c1005i.html>).

3.9.3.2. Órganofosforados de uso más común

3.9.3.2.a. Clorpirifos

clorpirifos, tiofosfato de 0,0-dietilo y de O- (3, 5, 6-tricloro 2,2-piridilo): Fue descubierto en 1956. Es un insecticida-acaricida activo por ingestión, contacto e inhalación. Pertenece al grupo IV.2 (o grupo dietoxi). Su toxicidad es moderada (DL₅₀ oral para la rata de 96-270 mg/kg). Posee un amplio campo de actividad. Se utiliza no sólo en la agricultura sino también en los hogares, contra las cucarachas. La marca comercial más utilizada es Dursban® (<http://tratado.uninet.edu/c100502.html>)

3.9.3.2.c. Dimetoato

(ditiofosfato de O,O-dimetilo y de S- (N-metilcarbamoil) metilo): Es un insecticida-acaricida sistémico con actividad por ingestión y contacto. Pertenece al grupo IV.1

(o grupo dimetoxi). Su toxicidad es moderada (DL_{50} oral para la rata de 255-310 mg/kg). Las marcas comerciales más utilizadas son Cekutoato y Dafene® (<http://tratado.uninet.edu/c100502.html>).

3.9.3.2d.Fention

(3-metil 4-metiltiofenil dimetil tionofosfato): Es un insecticida penetrante, con acción por ingestión y contacto. Pertenece al grupo IV.1 (o grupo dimetoxi). Su toxicidad es moderada (DL_{50} oral para la rata de 250 mg/kg). Es muy tóxico para abejas- y aves. La marca comercial más utilizada es Lebaycid (<http://tratado.uninet.edu /c100502.html>).

3.9.3.2.e.Isofenfos

(isopropil fosforoamidotioato de O-etilo y de 2-isopropoxi carbonil fenilo): Es un insecticida sistémico con actividad por ingestión y contacto. Pertenece al grupo IV.2 (o grupo dietoxi). Su toxicidad es alta (DL_{50} oral para la rata de 20 mg/kg). La marca comercial más utilizada es Oftanol® (<http://tratado.uninet.edu /c100502.html>).

3.9.3.2.f.Malation

(ditioposfato de O,O-dimetilo y de S-(1,2- dietoxicarboniletilo): Su descubrimiento en 1950 fue un hito en la historia de los IOF, puesto que fue el primer IOF que mostró un amplio espectro de acción y una baja toxicidad para los mamíferos. Es un insecticida-acaricida con acción por ingestión y contacto. Pertenece al grupo IV.1 (o grupo dimetoxi). En los organismos vivos se metaboliza a maloxón, su forma más tóxica. Su toxicidad es baja (DL_{50} oral para la rata de 1.000-2.800 mg/kg). Las marcas comerciales más utilizadas son Benatión y Exatión® (<http://tratado.uninet.edu/c100502.html>).

3.9.3.2.g.Metamidofos

(tiofosforamidato de O,S-dimetilo): Es un insecticida-acaricida con actividad por vía sistémica, ingestión y contacto. Pertenece al grupo IV.8 (o grupo de los sustituyentes mixtos). Su toxicidad es alta (DL_{50} oral para la rata de 20 mg/kg), por lo que está prohibido su uso en invernaderos y en recintos cerrados. Las marcas

comerciales más utilizadas son Orthomonitor y Tamarón® (<http://tratado.uninet.edu/c100502.html>).

3.9.3.2.h.Monocrotofos

(fosfato de dimetilo y de cis 1-metil 2-(N-metilcarbamoil) vinilo): Es un insecticida-acaricida con actividad por vía sistémica y por contacto. Pertenece al grupo IV.1 (o grupo dimetoxi). Su toxicidad es alta (DL_{50} oral para la rata de 8-23 mg/kg). Las marcas comerciales más utilizadas son Ceku y Nuvacrón® (<http://tratado.uninet.edu/c100502.html>).

3.9.3.2.i.Paration

(etil paratión, tiofosfato de O,O-dietilo y de O-(4-nitrofenilo): Fue descubierto en 1946, y pronto pasó a ser el plaguicida más utilizado debido a su gran eficacia. Es un insecticida-acaricida con actividad por ingestión y contacto. Pertenece al grupo IV.2 (o grupo dietoxi). En organismos vivos se metaboliza a maloxón, su forma más tóxica. Su toxicidad es muy alta (DL_{50} oral para la rata de 2 mg/kg), por lo que está prohibido su uso en invernaderos y en recintos cerrados. La marca comercial más utilizada es Folidol® (<http://tratado.uninet.edu/c100502.html>).

3.9.4. PIRETROIDES

Los piretroides son un grupo de pesticidas artificiales desarrollados para controlar preponderantemente las poblaciones de insectos plaga. Este grupo surgió como un intento por parte del hombre de emular los efectos insecticidas de las piretrinas naturales obtenidas del crisantemo, que se venían usando desde 1850 (<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Piretroides.htm>).

La obtención de piretrinas sintéticas (denominadas piretroides, es decir, “semejantes a piretrinas”), se remonta a la fabricación de la Aletrina en 1949. Desde ese entonces su uso se ha ido ampliando en la medida en que los demás pesticidas eran acusados de alta residualidad, bioacumulación y carcinogénesis (órganoclorados) y por otra parte el alto efecto tóxico en organismos no plaga y en mamíferos (carbamatos y órganofosforados). Los piretroides, en cambio, no

poseen estas desventajas y debido a las bajas cantidades de producto necesarias para combatir las plagas su costo operativo es más que conveniente (<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Piretroides.htm>).

Debido a las ventajas antes señaladas, los piretroides son actualmente una de las principales armas elegidas por los productores agropecuarios y la más importante herramienta en el combate hogareño de los mosquitos. Sus cualidades en este último campo, son su alto poder de volteo y su baja acción en el hombre (<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Piretroides.htm>).

Su acción, como casi todos los insecticidas, es a nivel sistema nervioso, generando una alteración de la transmisión del impulso nervioso (<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Piretroides.htm>).

Al contrario de los órganoclorados, los carbamatos y los órganofosforados, no existen muchos casos de resistencia de insectos a piretroides. Sin embargo, como con todos los insecticidas, es recomendable un uso moderado de los mismos alternando los distintos tipos de insecticidas y usando las cantidades mínimas necesarias (<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Piretroides.htm>).

Aletrina, cypermetrina, permetrina, resmetrina, tetrametrina, etc. son algunos de los piretroides que han salido al mercado (<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Piretroides.htm>). De estos la permetrina es el piretroide más comúnmente utilizado en los Estados Unidos (http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts155.html).

Las piretrinas y los piretroides interfieren con el funcionamiento normal de los nervios y el cerebro. La exposición breve a niveles muy altos de estos compuestos en el aire, los alimentos o el agua puede causar mareo, dolor de cabeza, náusea, espasmos musculares, falta de energía, alteraciones de la conciencia, convulsiones y pérdida del conocimiento. Los cambios de estado mental pueden durar varios días luego de que la exposición a altos niveles ha terminado. No hay ninguna evidencia de que las piretrinas o los piretroides afectan la capacidad de

reproducción en seres humanos, pero algunos estudios en animales han demostrado una reducción de la fertilidad en machos y hembras (http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts155.html).

No hay ninguna evidencia de que las piretrinas o los piretroides producen cáncer en seres humanos o en animales. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (*IARC*, por sus siglas en inglés) ha determinado que la carcinogenicidad de los piretroides deltametrina, fenvalerato y permetrina no es clasificable (http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts155.html).

Es probable que los efectos observados en niños expuestos a altos niveles de piretrinas o de piretroides sean similares a los observados en adultos. No sabemos si los niños difieren de los adultos en su susceptibilidad a estos productos químicos (http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts155.html).

No se han observado defectos de nacimiento en seres humanos expuestos a piretrinas o a piretroides. Las crías de animales que ingirieron piretrinas o piretroides durante la preñez mostraron señales de posible daño del sistema inmunitario. Algunos animales que fueron expuestos a piretrinas o a piretroides inmediatamente después de nacer exhibieron alteraciones de comportamiento cuando adultos (http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts155.html).

3.10. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS

3.10.1. Concepto de cromatografía

La cromatografía es una técnica mediante la cual los componentes de una mezcla, se separan según las distintas velocidades con que se desplazan a través de una fase estacionaria cuando son transportados por una fase móvil líquida o gaseosa (http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf).

3.10.2. Base científica

3.10.2.a. Velocidades de migración de los solutos

La efectividad de una columna cromatográfica para la separación de dos solutos depende en parte de las velocidades relativas a las cuales las dos especies son eludidas, es decir, el proceso en el cual los solutos son lavados a través de una fase estacionaria por el movimiento de una fase móvil. Estas velocidades son determinadas a su vez, por las **relaciones de partición** de los solutos entre las dos fases, es decir, las diferencias en el grado al cual los solutos se reparten entre la fase móvil y la estacionaria. La relación entre la velocidad de migración de un soluto y su relación de participación, lo podemos expresar con: $\bar{U} = u \times \text{fracción de tiempo que el soluto transcurre en la fase móvil}$. También depende el **tiempo de retención**, que es el tiempo entre la inyección de una muestra y la aparición de un pico de soluto en el detector de una columna cromatográfica (http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf).

El **factor de capacidad** es un parámetro experimental importante que se emplea ampliamente para describir las velocidades de migración de solutos en columnas. Para un soluto A, el factor de capacidad K_A se define como:

$$K'_A = K_{AVS} / V_M$$

En donde K_A es la relación de partición para las especies A.

Cuando el factor de capacidad para un soluto es mucho menor que la unidad, tiene lugar la elusión tan rápidamente que la determinación de los tiempos de retención es difícil. Cuando el factor de capacidad sea mayor que 20 a 30, los tiempos de elusión se convierten excepcionalmente largos. Idealmente, las separaciones se deben realizar bajo condiciones en las cuales los factores de capacidad para los solutos de una mezcla estén límites de 1 y 5. Los factores de

capacidad en la cromatografía gaseosa se pueden variar cambiando la temperatura y el empaquetado de la columna. En la cromatografía líquida, los factores de capacidad se pueden manipular frecuentemente para dar mejores separaciones variando la composición de la fase móvil y de la fase estacionaria (http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf).

El **factor de selectividad** α de una columna para las dos especies, A y B, se define como:

$$\alpha = K_B / K_A$$

En donde K_B es la proporción de participación para las especies B retenidas con más fuerza y K_A es la constante para las especies mantenidas menos fuertemente, o sean las eludidas más rápidamente, A (http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf).

De acuerdo con esta definición, α es siempre mayor que la unidad. La sustitución de la ecuación del factor de capacidad y de la ecuación análoga para el soluto B dentro de la ecuación del factor de selectividad, proporciona, después de una reacomodación, una relación entre el factor de selectividad para dos solutos y sus factores de capacidad:

$$\alpha = K'_B / K'_A$$

En donde K'_B y K'_A son los factores de capacidad para B y A, respectivamente (http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabaj4.pdf)

3.10.2.b. Eficiencia de las columnas cromatográficas

La eficiencia de una columna cromatográfica se refiere a la magnitud del ensanchamiento de banda que ocurre cuando un compuesto pasa a través de la columna. El grado de ensanchamiento de la banda depende del tiempo que la fase móvil está en contacto con la fase estacionaria. Estas situaciones se dan por diferentes razones:

- En el centro de una banda cromatográfica la concentración de una especie es elevada, en tanto que los bordes se aproxima a cero. Por consiguiente, las moléculas tienden a migrar hacia cualquiera de los bordes de la banda, lo que produce es un ensanchamiento de la banda ([http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/manchi/alim/trabajos %200506/trabajo4.pdf](http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf)).
- Otra causa de ensanchamiento de banda es cuando las moléculas en la fase móvil siguen trayectorias de longitudes diferentes a medida que va atravesando la columna, y en su llegada al detector difiere, y consecuentemente las bandas son más anchas. La anchura de una banda se incrementa al moverse hacia abajo, en la columna debido a que ha tenido más tiempo para expandirse. Así la anchura de la zona está relacionada directamente con el tiempo de residencia en la columna e inversamente a la velocidad de flujo de la fase móvil. El ensanchamiento de la columna, y en esta forma la pérdida de eficiencia de ésta, es consecuencia de la velocidad finita a la cual ocurren los procesos de transferencia de varias masas durante la migración de un soluto hacia abajo en una columna. Algunas de las variables que afectan estas velocidades son controlables y se pueden aprovechar para mejorar las separaciones (<http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.10.3. Clasificación según el estado de la fase móvil

3.10.3.1. Cromatografía de gases (CG): Es una técnica de separación en la que la fase móvil es un gas. La cromatografía de gases se lleva a cabo siempre en columna

(<http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.10.3.2. Cromatografía de líquidos (CL): Es una técnica de separación en la que la fase móvil es un líquido. La cromatografía de líquidos se puede realizar tanto en columna como en plano. Hoy día, la cromatografía de líquidos en la que normalmente se utilizan partículas muy pequeñas y presiones de entrada relativamente altas, se suele denominar cromatografía de líquidos de alta eficacia (o alta presión), y con el acrónimo HPLC (<http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.10.3.3. Cromatografía de fluidos supercríticos (CFS): Es una técnica de separación en la que la fase móvil es un fluido ligeramente por encima de su temperatura y presión críticas. En general, los términos y definiciones utilizados en cromatografía de gases o líquidos, son aplicables a la cromatografía de fluidos supercríticos (<http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.10.4. Clasificación según la configuración del lecho cromatográfico

Según la forma de llevar a cabo la separación cromatográfica, es decir, según el dispositivo utilizado, cabe distinguir dos tipos de técnicas cromatográficas:

3.10.4.a. Cromatografía en columna: Es una técnica de separación en la que el lecho estacionario está dentro de un tubo. Las partículas de la fase estacionaria sólida, o del soporte recubierto con la fase estacionaria líquida, pueden llenar el

volumen interno del tubo (columna rellena), o concentrarse sobre o a lo largo de la pared interna del tubo, dejando un camino abierto sin restricción, en la parte media, por el que circula la fase móvil (columna abierta). El flujo de la fase móvil (líquido o gas) a través de la estacionaria se consigue: por presión, por capilaridad o por gravedad (<http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.10.4.b. Cromatografía plana: Es una técnica de separación en la que la fase estacionaria es un plano o está sobre un plano. Este plano puede ser un papel utilizado como tal, o impregnado con una sustancia a modo de lecho estacionario (cromatografía en papel, PC), o bien una capa de partículas sólidas que recubren un soporte, como por ejemplo una placa de vidrio (cromatografía en capa fina, TLC). El flujo de la fase móvil puede conseguirse de dos formas:

1. por capilaridad (cromatografía horizontal y ascendente).
2. por capilaridad y gravedad (cromatografía descendente).

(<http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

En la cromatografía plana queda excluido el uso de un gas como fase móvil, por lo que ésta siempre es líquida (<http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.10.5. Clasificación según el mecanismo de separación

3.10.5.a. Cromatografía de adsorción: La separación se basa fundamentalmente en las distintas afinidades de adsorción de los componentes de la muestra hacia la superficie de un sólido activo (<http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.10.5.b. Cromatografía de reparto: La separación se basa fundamentalmente en las diferencias de solubilidad de los componentes de la muestra en la fase

estacionaria (cromatografía de gases) o en las diferencias de solubilidad de los componentes en la fase móvil y en la fase estacionaria (cromatografía de líquidos) (<http://www.uam.es/personalpd/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.10.5.c. Cromatografía de intercambio iónico: La separación se basa fundamentalmente en la distinta susceptibilidad para el intercambio de iones de los componentes de la muestra. El sólido es un cambiador de iones (fuerzas electrostáticas)

(<http://www.uam.es/personalpd/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.10.5.d. Cromatografía de exclusión: La separación se basa fundamentalmente en efectos de exclusión, tales como diferencias en el tamaño de las moléculas y /o en su forma o en su carga. El término cromatografía de exclusión por tamaño, se puede utilizar cuando la separación se basa en el tamaño molecular. Los términos cromatografía de filtración sobre gel o permeación sobre gel (GPC), se han utilizado para describir este proceso cuando la fase estacionaria es un gel hinchado. El término cromatografía de exclusión de iones es específico para la separación de iones en una fase acuosa (<http://www.uam.es/personalpd/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.10.5.d. Cromatografía de afinidad: Esta expresión caracteriza a una particular variante de la cromatografía, en la que se utiliza para la separación una interacción biológica específica entre el analito y la fase. Es un tipo especial de cromatografía de adsorción utilizada especialmente en bioquímica, en la que un sólido tiene enlazado un llamado ligando de afinidad que puede ser, por ejemplo, un indicador enzimático o un anticuerpo (<http://www.uam.es/personalpd/ciencias/manchi/alim/trabajos%200506/trabajo4.pdf>).

3.11. APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA EN EL ANÁLISIS DE MIELES

Las técnicas cromatográficas se han utilizado recientemente para la detección de una serie de compuestos que van desde contaminantes como los pertenecientes al grupo de los nitrofuranos (Nitrofurazona, Furazolidona, Furaladona, Nitrofurantóina, Nifuraldeazona, Nifupirazina), que corresponden a un grupo de sustancias antimicrobianas utilizadas contra algunos agentes patógenos. Hoy se encuentran prohibidos en cualquier especie animal de la que derivan alimentos dada la toxicidad de los mismos y sus metabolitos que permanecen en el alimento enlazados a proteínas (http://www.sada.org.ar/Noticias/nitrofuranos_en_miel.htm).

Por el momento la única técnica validada internacionalmente es la que se aplica mediante un equipo denominado HPLC masa-masa, también expresada como LC/MS/MS (Cromatografía Líquida con doble detector espectrométrico de masa) (http://www.sada.org.ar/Noticias/nitrofuranos_en_miel.htm).

También se han utilizado técnicas de extracción en fase sólida y determinación con cromatografía de gases con detectores ECD/NPD para detectar IOF, IOC y bifenilos policlorados (PCB). Este análisis multiresidual se realiza como una determinación de rutina para los residuos las mieles que se producen en la provincia de Aragón, España (<http://redsicura.iata.csic.es/xarxa/ocs/viewabstract.php?id=110&cf=1>).

En algunos países, como Chile, se utilizan estas técnicas (cromatografía HPLC con detector de IR), de forma rutinaria, para determinar el contenido de fructosa, glucosa, maltosa, sacarosa y turanosa en las mieles de abeja. La identificación se realiza mediante los tiempos de retención, y la cuantificación se realiza según el método del estándar externo a través de las áreas de los picos o bien de la altura de los mismos (Norma Chilena NCh574-2006).

3.12. CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA LC₅₀

La dosis letal media es una regresión logística para el cálculo de las probabilidades de animales muertos (Valdovinos-Núñez, 2003).

3.12.1. Algunos valores reportados de LD₅₀ para *A. mellifera*

Se ha reportado que la LD₅₀ de *A. mellifera* para tetraconazole es de (48hs): 1,70ug/abeja (<http://www.insuagro.com.ar/FU/domark.html>). Jiménez (2005) determinó para que para *A. mellifera* los valores de LD₅₀ para ciertos varroicidas iban de 4 a 65 µg/kg (<http://www3.interscience.wiley.com/search/allsearch>). Se ha determinado que para imidacloprid (un compuesto cloronicotínico) el valor es de 24 ng/abeja a 24 horas ([http://www.setacjournals.org/perlserv/?request=getabstract&doi=10.1897%2F1551-5028\(2000\)019%3C1901%3ACOITIT%3E2.3.CO%3B2&ct=1](http://www.setacjournals.org/perlserv/?request=getabstract&doi=10.1897%2F1551-5028(2000)019%3C1901%3ACOITIT%3E2.3.CO%3B2&ct=1)).

Tornier et al, en 2002 determinaron valores de LD₅₀ /24 horas, para dimetoato, por contacto y por ingesta (vía oral), para *A. mellifera* en España, siendo los valores determinados en 0.10-0.14 µg a.i./abeja por vía oral, y de 0.23-0.26 µg a.i./abeja por contacto. Ellos utilizaron como parámetro los valores de toxicidad dados por la OECD, que son para ingesta 0.10 a 0.35 µg a.i./abeja; mientras que para las pruebas por contacto los valores críticos son de 0.10 a 0.30 µg a.i./abeja (Tornier et al, 2003).

Se han realizado otras determinaciones de LD₅₀ para distintos pesticidas:

Pesticida	LD ₅₀ (µg/abeja)
Imidacloprid	0.0179
Clorpirifos	0.059
Malation	0.27
Carbaryl	1.3
Permetrina	0.075
Deltametrina	0.035
Acetamiprida	7.07

2,4-D	100
Diuron	145

Fuente: <http://feql.wsu.edu/esrp531/Fall05/102605DOC.pdf>

3.13. CALIDAD SANITARIA DE LA MIEL

El control de la calidad sanitaria de los alimentos permitirá proponer soluciones correctivas a problemas recurrentes en la aplicación inadecuada de plaguicidas y de fármacos veterinarios cuyos residuos deterioran la salud humana. Además, permitirá hacer seguimientos comparativos gracias a la creación de bases de datos. En cuanto al impacto económico, podría pensarse en el uso de etiquetas que diferencien los productos que cumplan con los límites máximos de residuos, como productos de excelencia (González, I. et al. 2000).

Entre los beneficios de la verificación de presencia de sustancias en la miel dentro del marco de el mejoramiento de las condiciones higiénico-sanitarias se pueden considerar el mejoramiento y valorización de los productos de la colmena (análisis de ley, análisis fisicoquímicos, análisis de residuos de sustancias utilizadas para tratar enfermedades de la colmena, análisis de residuos de contaminantes ambientales y análisis microbiológicos (Mutinelli, F. 2000. Del Pozo & Schopflocher, 2004).

Durante el mes de febrero del 2000 se efectuó una reunión del Comité del Codex Alimentarius de la FAO-OMS para definir los estándares internacionales para la miel de abejas. Tales estándares son de gran relevancia en el mercado, a fin de constituir la base de intercambios mundiales de este producto de la colmena. Los elementos “objetivos” de la calidad de la miel de abejas pueden reducirse a dos fundamentales y válidos para todos: 1.- Genuinidad (miel no adulterada) y 2.- Higiene (que no contenga sustancias nocivas) (Persano, L. 2000).

También se considera la calidad de la miel como indicadora del cumplimiento de las condiciones de crianza, cultivo y manejo de los productos de las colmenas; un producto sobrecalentado, recogido en lugares desaseados, con impurezas de cualquier índole, cosechada antes de que haya completado su proceso natural de fermentación y deshidratación, debe dar como resultado una miel de calidad inferior (Del Pozo & Schopflocher, 2004).

4. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala se tienen reportes del aprovechamiento de meliponinos en los departamentos de Chiquimula, Santa rosa, Retalhuleu, San Marcos, Petén y Jutiapa, donde se comercializa la miel, a nivel local, para el tratamiento de diversas afecciones, basándose en el saber popular. Aunque las mieles de meliponinos se venden localmente, se han hecho muy pocos estudios sobre el control de calidad, la validación de todas las propiedades medicinales o nutricionales que se les imputan, o de la biología de las distintas especies, por lo que no se pueden comercializar localmente a gran escala, ni muchos menos a nivel internacional.

Guatemala es un país que basa su economía en la agricultura, la cual está buscando alternativas económicas más amigables con el medio ambiente. La meliponicultura es una buena alternativa económica ya que las abejas además de producir miel, son polinizadoras y garantizan una buena producción de frutos y semillas. Se han reportado para Guatemala 32 especies de meliponinos, las cuales pueden potencialmente ser explotadas pero no se conoce mucho sobre su biología, distribución, características de la miel, recursos alimenticios que prefieren, etc. Dichos aspectos son muy importantes para el desarrollo de la meliponicultura como una alternativa económica en nuestro país (Enríquez, et al 2004).

A nivel internacional se reconoce la importancia de la miel de meliponinos para usos terapéuticos principalmente, lo que ha impulsado una iniciativa latinoamericana de crear un mercado internacional para la venta de este producto. Sin embargo, se sabe muy poco sobre las características fisicoquímicas, biológicas, nutricionales o de la presencia de compuestos dañinos a la salud en las distintas mieles, lo que imposibilita la definición de los parámetros que regirán las cualidades de la miel a ofertar –el control de calidad-, situación que sí se da con la miel de la abeja melífera. Si Guatemala quiere exportar mieles de meliponinos, debe conocer las cualidades de las mismas.

Se tiene la percepción de que en el interior de la república las reglamentaciones, en cuanto al expendio y la utilización de pesticidas en general, no son seguidas. Se consideran casos como la utilización de recipientes no apropiados para la distribución y transporte de los plaguicidas, malas prácticas en las aplicaciones de los mismos y utilización indistinta de los diferentes plaguicidas.

La realización de esta investigación es de gran importancia si se pretende un conocimiento de utilidad no solamente para personas interesadas en este grupo de organismos, desde un punto de vista científico; también, y principalmente, es útil para las personas que se dedican a la crianza de los meliponinos (meliponicultores), ya que son estos últimos los que se verían beneficiados de la viabilidad de la comercialización a gran escala de los productos elaborados por los meliponinos. Además, la verificación de la inocuidad y el control de la calidad sanitaria de productos naturales utilizados tradicionalmente como alimento y/o como tratamiento para diversos padecimientos de la salud, son temas que cada día toman más auge a nivel internacional.

Otro tema que poco a poco toma relevancia es el de la vigilancia ambiental; esto como resultado de la, cada vez más generalizada, conciencia ambiental, consecuencia del deterioro que las actividades antropogénicas han causado al entorno. Se ha reportado que los productos de las colmenas (polen, propóleo y cera) son sensibles a los más variados contaminantes, entre los cuales se pueden incluir: minerales, metales pesados, productos químicos, compuestos orgánicos, criptorgánicos, microbianos, etc. (Becker, A. 1999). Dentro de las ventajas de utilizar estos organismos con fines de medir la contaminación química en ambientes expuestos a contaminantes están: (1) posibilidad de desplazar unidades estandarizadas que ocupan un espacio físico reducido en comparación con el área muestreada en localidades de interés; (2) bioacumulación de residuos tóxicos tanto en abejas como en sus productos y (3) la posibilidad de trabajar con alimentación artificial controlada (Vit, 1999).

Tanto la apicultura como la meliponicultura son asuntos científicos muy amplios, que tienen que ver con agricultura, nutrición, medicina, productos industriales y medio ambiente. Algunos países poseen un potencial desaprovechado para la producción de miel, cera u otros productos apícolas. Cabe mencionar que la crianza de abejas es un negocio que requiere de una pequeña inversión de capitales, un reducido volumen de trabajo y asegura una gran cosecha en comparación con otras actividades destinadas a aliviar la pobreza. Como actividad económica, la crianza de abejas puede desempeñar un papel vital para el desarrollo rural (Saha, J. Ch. 2002).

El Folidol (Paratión, Etil-paratión, Metil-paratión) es un insecticida-acaricida organofosforado de uso común en el campo y en la ciudad (jardinería), que se reporta como sumamente tóxico para abejas y para mamíferos (<http://www.dsostenible.com.ar/tecnologias/paration.html>). Y fue el insecticida que se reportó con mayor incidencia por parte de las personas entrevistadas y se reporta como un insecticida sumamente tóxico.

Se optó por la determinación de la Concentración Letal media (LC_{50}) ya que se asemeja más a las condiciones bajo las cuales las abejas entrarían en contacto con el insecticida (después de ser rociado sobre un sustrato que, en condiciones naturales, sería la planta)

5. OBJETIVOS

5.1. Generales

5.1.1. Determinar la presencia de insecticidas en las mieles de abejas sin aguijón.

5.1.2. Determinar la concentración letal media (LC_{50}) con los insecticidas encontrados, en obreras adultas de *Melipona beecheii* y *Tetragonisca angustula*.

5.2. Específicos

5.2.1. Determinar la presencia de insecticidas en las mieles de *M. beecheii* y *T. angustula*.

5.2.2. Realizar bioensayos para determinar la concentración letal media (LC_{50}) con los insecticidas encontrados, en obreras adultas de *M. beecheii* y *T. angustula*.

5.2.3. Generar información que podrá ser utilizada tanto por investigadores como por meliponicultores del área rural para valorizar y comercializar los productos de sus colmenas.

6. HIPÓTESIS

6.1. Las mieles de *Melipona beecheii* y *Tetragonisca angustula* colectadas presentan plaguicidas.

6.2. Las concentraciones de plaguicidas analizados encontrados en las colmenas alcanzan niveles tóxicos para las obreras de *Melipona beecheii* y *Tetragonisca angustula*.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Diseño experimental

7.1.1. Determinación de plaguicidas en mieles de meliponinos

7.1.1.1. Naturaleza del experimento: transversal.

7.1.1.2. Unidad Experimental: muestras de miel de dos especies de abejas nativas sin aguijón.

7.1.1.3. Diseño del experimento: jerárquico en dos etapas.

7.1.1.4. Unidad Muestral: insecticidas organofosforados, órganoclorados, carbamatos y piretroides encontrados en miel de dos especies de abejas nativas sin aguijón, de seis departamentos representativos de distintas zonas biogeográficas del país.

7.1.1.5. Tipo de muestreo: muestreo por conglomerados en dos etapas.

7.1.1.6. Cantidad de réplicas: tres muestras de miel de cada región biogeográfica en las que se realicen los muestreos.

7.1.1.7. Variables Independientes: dos especies de abejas nativas sin aguijón; seis departamentos de Guatemala. Las regiones y departamentos donde se realicen las colectas.

7.1.1.8. Variables dependientes: insecticidas determinados.

7.1.1.9. Unidades de evaluación: muestras de miel colectadas.

7.1.1.10. Variable de respuesta: μg de insecticida encontrado/g de miel, o presencia/ausencia de pesticidas.

7.1.1.11. Análisis estadístico: se había propuesto un análisis de varianza (ANDEVA) para un diseño jerárquico en dos etapas, pero se dejó como descriptivo, ya que no se detectaron trazas de insecticidas.

7.1.2. Determinación de Concentración Letal Media ante Folidol

7.1.2.1. Naturaleza del experimento: transversal.

7.1.2.2. Unidad Experimental: obreras de las dos especies de abejas.

7.1.2.3. Diseño del experimento: jerárquico en dos etapas.

7.1.2.4. Unidad Muestral: las abejas obreras de las dos especies consideradas.

7.1.2.5. Tipo de muestreo: colecta aleatoria manual con atrapador.

7.1.2.6. Cantidad de réplicas: de 12 a 19 abejas por tratamiento (por concentración evaluada).

7.1.2.7. Variables Independientes: dos especies de abejas nativas sin aguijón y el insecticida evaluado (Folidol).

7.1.2.8. Variables dependientes: abejas afectadas por el insecticida.

7.1.2.9. Unidades de evaluación: abejas obreras de las dos especies consideradas.

7.1.2.10. Variable de respuesta: número de abejas muertas.

7.1.2.1.1. Análisis estadístico: se realizó un análisis de regresión no paramétrica, con transformación de los datos a “probit” utilizando el paquete estadístico Epa Probit.

7.2. Distribución Espacial: seis departamentos representativos de distintas biogeográficas (Stuart 1942, modificada por Campbell y Vannini 1989): Chiquimula, Santa rosa, Retalhuleu, San Marcos, Petén y Jutiapa.

7.3. Distribución Temporal: Colecta de mieles de febrero a abril 2007.

7.4. Etapa experimental: se separó en cuatro fases: a) colecta de mieles de *M. beecheii* y *T. angustula* en seis departamentos representativos de distintas regiones biogeográficas (Stuart 1942, modificada por Campbell y Vannini 1989): Chiquimula, Santa rosa, Retalhuleu, San Marcos, Petén y Jutiapa; b) crianza y cuidado de colmenas de las dos especies de donde se tomaron individuos sanos, de la misma colmena y de edades muy similares; c) determinación de los distintos insecticidas en las mieles colectadas de las colmenas; d) evaluación del efecto de un insecticida (Folidol) sobre las abejas vivas por medio de bioensayos. Puesto que no se pudo detectar trazas de insecticidas presentes en las mieles, se seleccionó el insecticida reportado con mayor incidencia en la encuesta (Folidol), para la realización de los bioensayos para la determinación de la LC_{50} en obreras.

7.5. Análisis estadístico: Se tomó la presencia/ausencia de insecticidas en las muestras analizadas. Puesto que no se tuvieron las condiciones que permitieran realizar un análisis de varianza, se hizo un análisis descriptivo.

En el caso de la componente de la determinación de la LC_{50} , se les aplicó una prueba de probitancia (Probit) que se basa en una regresión (análisis de regresión no paramétrica), para el cálculo de las probabilidades de animales muertos (Valdovinos-Núñez, 2003). Para la comparación entre los tratamientos (concentraciones) y entre especies se realizó un análisis de varianza (ANDEVA).

7.6. Procedimiento

Se colectó miel de *Melipona beecheii* y *Tetragonisca angustula* en los seis departamentos ya indicados; las mieles colectadas se llevaron al laboratorio INLASA para la determinación de presencia de insecticidas.

7.6.1. Técnicas utilizadas en el proceso de la investigación

7.6.1.1. Colecta de las muestras de miel: Se visitaron 3 meliponarios de cada uno de los seis departamentos mencionados anteriormente, para la colecta de muestras de miel de dos especies de meliponinos. La visita y colecta de miel se realizó en la época seca, en los meses de Febrero, Marzo y Abril; época en que los meliponicultores castran sus colmenas. Durante la colecta de miel, se abrieron los pots, donde las abejas almacenan su miel, haciendo un pequeño agujero en la parte superior.

Con una jeringa nueva, libre de trazas de químicos, se colectaron 150 ml de miel que fueron colocados en un envase de vidrio ámbar y fueron transportados en hielera a 4 ° C. Fueron almacenados en refrigeradora hasta la realización de las pruebas propuestas. Por cada muestra de miel, en el campo se llenó una boleta que incluye datos de: tipo de caja, lugar, cultivos aledaños a los meliponarios, nombre del meliponicultor, etc.

7.6.1.2. Determinación de presencia de insecticidas en la miel: se trataron las mieles extraídas de las colmenas con solventes aplicando procedimientos estándares, sugeridos por Bogdanov, 2006; se colocaron los insecticidas extraídos en un cromatógrafo de gases, con una librería especial para insecticidas de los principales grupos (carbamatos, órganoclorados, órganofosforados y piretroides) y se utilizó la metodología Pesticide analytical manual Vol. 1 /Transmital No. 10/1999 PAM para la extracción y la corrida de las muestras (Arreola, M.C., 2006).

7.6.1.3. Administración de encuesta: en cada lugar de colecta se le administró una encuesta a las personas propietarias o encargadas del meliponario –o de las colmenas- para determinar el uso de algún tipo de insecticida en el sitio de crianza o en los alrededores, con el objetivo de tener una base de datos sobre la cual partir en los análisis químicos. Los insecticidas reportados en esta encuesta sirvieron para elegir el insecticida a utilizar en los bioensayos (Folidol), ya que no fueron detectadas trazas de insecticidas por el cromatógrafo.

7.6.1.4. Realización de los bioensayos: se utilizaron las abejas obreras de las especies *Melipona beecheii* y *Tetragonisca angustula*. Se diluyó el insecticida en concentraciones decrecientes (1×10^{-1} g/ml, 1×10^{-2} g/ml, 1×10^{-3} g/ml y 5×10^{-4} g/ml) previamente a la aplicación a un papel filtro. Se colocaron de 12 a 19 abejas de cada especie en una caja de petri, se sometieron las abejas a una temperatura de 4-5 C° para adormecerlas. Se colocaron los papeles en el fondo de las cajas, y se introdujeron las abejas. A las abejas se les proporcionó agua y azúcar para alimentarse; se mantuvieron en una incubadora de 30-32 C° y a 70 % de humedad relativa por 24 horas para contar el número de abejas muertas por lote. Los resultados de este experimento fueron evaluados por medio de una regresión no paramétrica con transformación probit de los datos para el cálculo de las probabilidades de animales muertos (Valdovinos-Núñez, 2003). Se optó por la determinación de la Concentración Letal media (LC₅₀), ya que se asemeja más a las condiciones bajo las cuales las abejas entrarían en contacto con el insecticida (después de ser rociado sobre un sustrato que, en condiciones naturales, sería la planta). En cada prueba, se contó el número de abejas muertas cada hora por doce horas, y luego a las veinticuatro horas.

8. RESULTADOS

Tabla 1. Plaguicidas reportados por los meliponicultores

GRUPO DE PESTICIDA	PESTICIDA REPORTADO, grupo químico
Órganoclorados	Malatión (ditiófosfato de O,O-dimetilo)
Órganofosforados	Folidol (Paratión, Etil-paratión, Metil-paratión) Tamarón (Metamidofos), Volatón (Foxim)
Piretroides	Karate (Lambda-cihalotrina)
Bipiridales (bipiridilos)	Gramoxón (Paraquat), Edonal (Paraquat) Gramurón (Paraquat+Diurón)
Glifosfato	Ranger (Glifosfato)
Atrazinas	Gesaprim (Atrazina)

Fuente: datos proporcionados por los meliponicultores.

Tabla 2. Muestras de miel colectadas en las distintas regiones biogeográficas de Guatemala.

Código	Especie	Región biogeográfica
MB(Q)87	<i>Melipona beecheii</i>	Quekchí
MB(Q)88	<i>Melipona beecheii</i>	Quekchí
TA(Q)86	<i>Tetragonisca angustula</i>	Quekchí
MS(Q)84	<i>Melipona solana</i>	Quekchí
NP(Q)85	<i>Nannotrigona perilampoides</i>	Quekchí
MB(P)62	<i>Melipona beecheii</i>	Petén
TA(P)66	<i>Tetragonisca angustula</i>	Petén
TA(P)64	<i>Tetragonisca angustula</i>	Petén
TA(P)61	<i>Tetragonisca angustula</i>	Petén
MB(P)63	<i>Melipona beecheii</i>	Petén
MB(P)65	<i>Melipona beecheii</i>	Petén
TA(P)67	<i>Tetragonisca angustula</i>	Petén
TA(P)68	<i>Tetragonisca angustula</i>	Petén

SM –E-74	<i>Scaptotrigona mexicana</i>	Escuintleca
TA-E-73	<i>Tetragonisca angustula</i>	Escuintleca
TA-E-71	<i>Tetragonisca angustula</i>	Escuintleca
TA-E-70	<i>Tetragonisca angustula</i>	Escuintleca
TA-E-76	<i>Tetragonisca angustula</i>	Escuintleca
SP-E-75	<i>Scaptotrigona pectoralis</i>	Escuintleca
MB(CH)88	<i>Melipona beecheii</i>	chimalteca
TA-E-77	<i>Tetragonisca angustula</i>	Escuintleca
MB(CH)79	<i>Melipona beecheii</i>	chimalteca
MB(CH)80	<i>Melipona beecheii</i>	chimalteca
MB(CH)81	<i>Melipona beecheii</i>	chimalteca
MS-E-72	<i>Melipona solana</i>	Escuintleca
MB(CH)82	<i>Melipona beecheii</i>	chimalteca
TA(CH)83	<i>Tetragonisca angustula</i>	chimalteca
TA(P)69	<i>Tetragonisca angustula</i>	Petén
TGA(CH)91	<i>T. geotrigona acapulconis</i>	chimalteca
MB(CH)90	<i>Melipona beecheii</i>	chimalteca
MB(Q)89	<i>Melipona beecheii</i>	Quekchí
MB(CH)92	<i>Melipona beecheii</i>	chimalteca
TGA(CH)93	<i>T. geotrigona acapulconis</i>	chimalteca

Fuente: base de datos elaborada a partir de los datos de colecta.

Tabla 3. Resultados de las determinaciones de insecticidas en las muestras de miel colectadas

Especie	Muestras	Determinación
<i>M. Beecheii</i>	6	ND
<i>T. angustula</i>	3	ND
<i>T. (G) acapulconis</i>	2	ND
<i>S. pectoralis</i>	1	ND

Fuente: análisis de laboratorio. ND: no se detectaron trazas de insecticidas.

Tabla 4. Abejas *Melipona beecheii* muertas a distintos tiempos, a distintas concentraciones de Folídol.

Tratamiento (concentración)	T1*	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	N
1 (1×10^{-1} g/ml)	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
2 (1×10^{-2} g/ml)	0	0	0	0	5	10	12	12	12	12	12	12	12
3 (1×10^{-3} g/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
4 (5×10^{-4} g/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
5 (control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12

Réplica: 1; Alimento: agua con azúcar 50/50. Fuente: datos experimentales. *T indica las horas de conteo.

Tabla 5. Abejas *Melipona beecheii* muertas a distintos tiempos, a distintas concentraciones de Folídol.

Tratamiento (concentración)	T1*	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	N
1 (1×10^{-1} g/ml)	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
2 (1×10^{-2} g/ml)	0	0	0	0	0	8	12	12	12	12	12	12	12
3 (1×10^{-3} g/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
4 (5×10^{-4} g/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
5 (control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12

Réplica: 2; Alimento: agua con azúcar 50/50. Fuente: datos experimentales. *T indica las horas de conteo.

Tabla 6. Abejas *Melipona beecheii* muertas a distintos tiempos, a distintas concentraciones de Folídol.

Tratamiento (concentración)	T1*	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	N
1 (1×10^{-1} g/ml)	0	1	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
2 (1×10^{-2} g/ml)	0	0	0	1	8	11	12	12	12	12	12	12	12
3 (1×10^{-3} g/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
4 (5×10^{-4} g/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
5 (control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12

Réplica: 3; Alimento: agua con azúcar 50/50. Fuente: datos experimentales. *T indica las horas de conteo.

Tabla 7. Abejas *Tetragonisca angustula* muertas a distintos tiempos, a distintas concentraciones de Folidol.

Tratamiento (concentración)	T1*	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	N
1 (1×10^{-1} g/ml)	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
2 (1×10^{-2} g/ml)	0	13	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
3 (1×10^{-3} g/ml)	0	0	1	5	12	12	12	12	12	12	12	12	12
4 (5×10^{-4} g/ml)	0	0	0	0	0	1	1	4	5	8	10	12	12
5 (control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14

Réplica: 1; Alimento: agua con azúcar 50/50. Fuente: datos experimentales. *T indica las horas de conteo.

Tabla 8. Abejas *Tetragonisca angustula* muertas a distintos tiempos, a distintas concentraciones de Folidol.

Tratamiento (concentración)	T1*	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	N
1 (1×10^{-1} g/ml)	0	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
2 (1×10^{-2} g/ml)	0	3	10	18	19	19	19	19	19	19	19	19	19
3 (1×10^{-3} g/ml)	0	0	0	0	8	12	12	12	12	12	12	12	12
4 (5×10^{-4} g/ml)	0	0	0	0	6	14	16	16	16	16	16	16	16
5 (control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14

Réplica: 2; Alimento: agua con azúcar 50/50. Fuente: datos experimentales. *T indica las horas de conteo.

Tabla 9. Abejas *Tetragonisca angustula* muertas a distintos tiempos, a distintas concentraciones de Folidol.

Tratamiento (concentración)	T1*	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	N
1 (1×10^{-1} g/ml)	0	0	10	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
2 (1×10^{-2} g/ml)	0	0	2	8	14	14	14	14	14	14	14	14	14
3 (1×10^{-3} g/ml)	0	0	0	0	0	0	0	1	3	8	10	13	14
4 (5×10^{-4} g/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	5	14
5 (control)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13

Réplica: 3; Alimento: agua con azúcar 50/50. Fuente: datos experimentales. *T indica las horas de conteo.

Tabla 10. Concentraciones letales para las dos especies estudiadas.

Especie	LC ₅₀ (ppm)	LC ₉₀ (ppm)
<i>M. beecheii</i>	0.007 g/ml (7)	0.176 g/ml (176)
<i>T. angustula</i>	0.001 g/ml (1)	0.002 g/ml (2)

Fuente: datos experimentales.

Tabla 11. Knockdown presentado por *M. beecheii*

Tratamiento (concentración)	Kd (24)	Kd (24)	Kd (24)
1 (1×10^{-1} g/ml)	12	12	12
2 (1×10^{-2} g/ml)	12	12	12
3 (1×10^{-3} g/ml)	4	5	4
4 (5×10^{-4} g/ml)	0	0	0
5 (control)	0	0	0

Tabla 12. Knockdown presentado por *T. angustula*

Tratamiento (concentración)	Kd (24)	Kd (24)	Kd (24)
1 (1×10^{-1} g/ml)	11	16	14
2 (1×10^{-2} g/ml)	18	19	14
3 (1×10^{-3} g/ml)	12	12	14
4 (5×10^{-4} g/ml)	12	16	14
5 (control)	0	0	0

Tabla 13. Porcentaje de abejas muertas a varios tiempos y porcentaje de Kd (efectividad de un insecticida a las 24 horas de aplicación).

Especie	2 horas (%)	6 horas (%)	12 horas (%)	Kd (t 24) (%)
<i>M. beecheii</i>	17	45	50	50
<i>T. angustula</i>	25	76	94	100

Fuente: datos experimentales. Porcentaje que representan del total de individuos utilizados en las pruebas. Para la determinación del Kd, solamente se consideran los tratamientos en los que a las 24 horas se encuentre muerta la totalidad de los individuos.

Tabla 14. Resumen de los análisis comparativos

Fuente	Valor de P
Mb. Entre concentraciones	0.0049
Ta. Entre concentraciones	0.0011
Mb. Vrs. Ta. (LC entre especies)	0.0000

Fuente: valores de P obtenidos por medio de un ANDEVA realizado en el programa Intercooled

STATA 6. Mb.: *M. beecheii*, Ta.: *T. angustula*.

9. DISCUSIÓN

Presencia de insecticidas

En la tabla 1, se pueden observar los plaguicidas de uso común en las regiones en las cuales se realizaron los muestreos. De acuerdo a lo indicado por los mismos meliponicultores, el folidol es un plaguicida de uso generalizado en todos los meliponarios muestreados. Se asume que el uso de este plaguicida es tan común, debido a que es un insecticida de amplio espectro y de muy alta efectividad.

Se analizaron 12 muestras, tres de cada una de las cuatro diferentes regiones en las cuales se realizaron las colectas (tabla 3). Las colectas se llevaron a cabo entre los meses de marzo y junio del año 2007, con un total de de 33 muestras (tabla 2).

En todas las muestras se determinó que la presencia de insecticidas era menor a los límites de sensibilidad del instrumental utilizado. Esto implica que podría haber trazas muy pequeñas de pesticidas presentes en las muestras (tabla 3). Las cantidades podrían encontrarse por debajo de 0.01ppm, de acuerdo al límite de sensibilidad del instrumental utilizado (ver tabla de límites de sensibilidad en la sección de anexos).

Se presume que son cuatro los factores que influyeron en este resultado: 1) la época del año en que se realizaron de las colectas, 2) la ubicación de las colmenas en los meliponarios, 3) los recursos alimenticios de las abejas y, 4) la conducta evasiva de las abejas ante plaguicidas.

El primero de los factores antes mencionados tuvo su efecto sobre la determinación ya que, según lo que indicaban los meliponicultores, aplican los insecticidas luego de las siembras y en el tiempo de cosecha; esto nos da un período intermedio (de ventana) que coincide con las fechas en las que se

colectaron las muestras, ya que es en esa época del año en la que las colmenas son castradas para la extracción de sus productos. El segundo de los factores indicados refleja el cuidado que tienen los meliponicultores con el manejo de las colmenas; según lo que los mismos meliponicultores indican, ellos colocan las colmenas lejos de los sembradíos de cultivos o en la periferia de las viviendas (en los pórticos). Los meliponicultores manifestaron que no utilizaban a los meliponinos como polinizadores en sus cultivos, como sucede con *A. mellifera*, a pesar de estar conscientes de la capacidad de estos para la polinización. Los meliponinos, en general, tienen significado cultural y de salud para los campesinos, por lo que manejan las colmenas con mucho cuidado, ya que las colmenas son heredadas de padres a hijos (Enríquez, et al, 2004).

El tercero de los factores que se consideran influyentes en la no presencia de insecticidas en las mieles analizadas, es el recurso alimenticio de los meliponinos. Vásquez (2007) demuestra, por medio de un análisis de recursos polínicos, que los meliponinos se alimentan principalmente de especies vegetales de origen silvestre. Este hecho provoca que las abejas se mantengan alejadas de las áreas de cultivo, donde se realizan los rociamientos con plaguicidas. El cuarto de los factores es la presunción sobre el hecho de que las abejas se alejan naturalmente de las áreas de cultivo cuando se realizan los rociamientos con insecticidas y que prefieren visitar las plantas que no presentan restos de plaguicidas. Se conoce que las abejas presentan hábitos de conducta (la mayoría relacionados con la comunicación) que incluyen acciones como: vuelo, caminata, aleteos (y combinaciones entre los anteriores), ventilación y quietud (estas, principalmente, dentro de las colmenas); además, presentan comportamientos de limpieza, mandíbulas abiertas, postura agresiva, ataque, autoagresión y shock. Se sabe que por medio de estas conductas, las abejas exploradoras (scouts) le comunican al resto de las abejas de la colmena información de naturaleza tanto cualitativa como cuantitativa sobre la fuente de alimento; otra información que las abejas son capaces de transmitir es la dirección y distancia a la cual se encuentra la potencial fuente de alimento (Ramos, et al, 1992).

Aparte de la comunicación de tipo corporal (motora y sonora), la comunicación entre las abejas se realiza por medio del contacto físico y sustancias químicas. Las feromonas son los signos de intercambio entre los miembros de estas especies, las Kairomonas las Allomonas son el tipo de sustancias que predisponen a la defensa ante otras especies (Breed et al. 2004); podían ser señales visuales, audibles, táctiles o químicas las que permitan a las abejas alejarse de las sustancias nocivas y, por lo tanto, evitar llevarlas a las colmenas y evitar el contacto con ellas por parte de las demás miembros de la colmena y de los productos que en ella se procesan.

Por otra parte, cuando se indagó sobre los hábitos en cuanto a la utilización de pesticidas en general, se observó una serie de irregularidades, desde la obtención de los pesticidas hasta las aplicaciones y las medidas de bioseguridad. Los meliponicultores indicaron que los pesticidas que utilizan normalmente en sus cultivos, los compran en las tiendas de productos agrícolas (o en las tiendas de abarrotes); pueden pedir que se les venda cantidades pequeñas (una botella o un galón) e incluso ellos mismos llevan los recipientes para que se les expenda en ellos (de esta forma se les vende un poco más barato). Utilizan indiscriminadamente los recipientes para uno u otro pesticida (independientemente de la naturaleza del mismo). No en todos los casos, los recipientes que contienen pesticidas que son ofrecidos en las tiendas, se indica de cuál pesticida se trata, la concentración a la cual se encuentra ni las medidas de seguridad que se deben tener al momento de manejar el producto. Tampoco se especifica nombre comercial, compuesto activo, naturaleza química, concentración ni fecha de vencimiento del producto.

Otro mal hábito que se detectó durante el estudio es la práctica común de mezclar los distintos productos (insecticidas y herbicidas) a manera de cóctel y rociar los cultivos con ellos. Además de lo anterior, los campesinos indican que utilizan la misma bomba, los que la tienen, para rociar los distintos pesticidas. Hay casos en los que los utilizan indiscriminadamente (rocían las malezas o los hormigueros, e.g., con el pesticida que tengan).

En cuanto a las medidas de bioseguridad, se observó que las personas que manipulan y aplican los pesticidas están expuestas de forma directa a ellos, ya que los manipulan con las manos, sin utilizar guantes; utilizan las mismas ropas que usan a diario y lavan las bombas en arroyos o en la pila de la casa; además, no utilizan mascarillas apropiadas, con los filtros recomendados para este tipo de compuestos.

LC₅₀ y Kd

Se determinó la Concentración Letal media (LC₅₀), la LC₉₀ y el “knock down” (kd) para ambas especies, siendo *M. beecheii* la más resistente.

Para ambas pruebas, se escogió el insecticida Folidol puro en polvo, debido a que éste es utilizado comúnmente por los campesinos en sus plantaciones y en sus hogares (tabla 1); también se usa en los ambientes urbanos en la jardinería y para el control de plagas domésticas (cucarachas, hormigas y zompopos); fue de reporte recurrente en nuestras encuestas. Las personas en el campo indican que lo utilizan para “rociar” las paredes de sus casas para evitar la infestación de insectos. Por ser un insecticida que se queda sobre los sustratos, las probabilidades de que las abejas entren en contacto con un sustrato sobre el cual se haya aplicado el insecticida no son bajas, porque, como se indica anteriormente, las personas conservan las colmenas cerca de las casas y utilizan el insecticida en las macetas de flores ornamentales, en las paredes de sus casas, incluso en las bases de las colmenas que son mantenidas en cajas tecnificadas (esto para evitar que le “entre hormiga” a la colmena).

Este insecticida se vende libremente en los mercados, tiendas de jardinería y otros expendios en los que se ofrecen productos agrícolas, como “polvo para insectos”. Los sobres en los que se venden las cantidades más pequeñas, no indican el producto que contienen, naturaleza química, compuesto activo ni las medidas de precaución que se deben tener al manipularlo. Otra razón por la que se escogió el

Folidol, es que este es un insecticida de amplio espectro que actúa como veneno por contacto, ingesta o inhalación. Su uso contra los insectos picadores y succionadores está muy difundido en la agricultura y en el cultivo de frutas, verduras y uvas. También se aplica en la lucha contra ácaros, coleópteros y orugas. Normalmente se aplica en forma de spray (emulsión: 500 g/l; aceite: 10%). Otras aplicaciones del Folidol van de soluciones de 2-4%, como emulsionante concentrado a 50-80% o esparcido puro (<http://144.16.93.203/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol340.htm#Paration>).

Se ha reportado que el Folidol ha sido causante de intoxicaciones (niños muertos en Taucamarca, Perú, tragedia ocurrida en 1999 luego que escolares consumieran un desayuno contaminado), y se ha dictaminado la prohibición de la fabricación, comercialización y uso de todas las formas del paratión en ese país Latinoamericano (<http://www.cbgnetwork.org/1246.html>).

La intoxicación humana puede resultar de la ingesta, la inhalación o la exposición dérmica. El paratión se adsorbe y se distribuye rápidamente por todo el organismo. Inhibe de manera irreversible la enzima acetilcolinesterasa y de esta manera interrumpe el normal funcionamiento del sistema nervioso central. Los síntomas típicos de la intoxicación aguda son: dolores de cabeza, transpiración y desvanecimiento seguidos de visión dificultosa, desórdenes gastrointestinales, falta de aire, temblores, convulsiones, pérdida del conocimiento, parálisis pulmonar y finalmente paro cardíaco. Estos síntomas pueden aparecer incluso después de varias horas ([http://144.16.93.203/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol340.htm# Paratión](http://144.16.93.203/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol340.htm#Paration)).

El uso del Paratión, Paratión metílico y Paratión etílico ha sido restringido en los Estados Unidos, debido a su peligro al hombre, y su uso no se debe recomendar en los proyectos agrícolas internacionales para el pequeño agricultor (http://www.fastonline.org/CD3WD_40/HLTHES/PC/M0035S/ES/M0035S12.HTM).

Tanto el Paratión etílico como el metílico están catalogados como de toxicidad de grado I: extremadamente peligrosos; se considera que sus efectos crónicos son de

efectos tóxicos en el embrión y causal de aborto (La clasificación de los plaguicidas es la recomendada por la XXVII Asamblea de la Organización Mundial de la Salud). Dentro de los efectos al medioambiente se listan los siguientes: muy tóxico para peces, muy tóxico para pájaros, extremadamente peligrosos para animales de sangre caliente y muy tóxico para abejas (http://www.union.org.mx/publicaciones/guia/actividadesyagravios/plagas_cuadro.htm).

En *Apis mellifera* se reporta la DL_{50} ante Folidol como 0,28 μ g/abeja en aplicación oral, y 0,11 μ g/abeja; esto sería equivalente, aproximadamente a 2.24×10^{-3} μ g/mg y 8.8×10^{-4} μ g/mg de abeja, respectivamente, considerando el peso promedio de las abejas obreras como 125mg (<http://www.ellas.cl/productosapicolas.htm>) en aplicación por contacto del insecticida estudiado (<http://144.16.93.203/energy/HC270799/HDL/ENV/envsp/Vol340.htm#Parati3n>).

Se debe considerar que la dosis letal media se basa en la aplicación directa a los sujetos de experimento, por lo que los resultados serán aparentemente, en términos numéricos, más bajos que los que se podrían reportar en una prueba de concentración letal media, que es lo que se debería aplicar al sustrato para que afecte a los individuos de la prueba. Esta última condición sería la más parecida a las condiciones de aplicación en el campo, ya que los rociamientos de insecticida se realizan sobre los sustratos que las abejas visitan. En este caso, el problema radica en que no se libera al ambiente la cantidad estricta determinada como dosis letal para los organismos, sino una concentración a la cual, ya sea por ingesta o por contacto, el organismo acumule una cantidad de plaguicida equivalente a la dosis mortal.

En las pruebas realizadas sobre *M. beecheii*, se observó que las dos concentraciones más altas (1×10^{-1} g/ml y 1×10^{-2} g/ml) fueron las únicas que afectaron a esta especie (tablas 4 a 6), y las otras dos concentraciones (1×10^{-3} g/ml y 5×10^{-4} g/ml) se comportaron de manera muy similar al tratamiento control (agua destilada). De las dos concentraciones más bajas, solamente en el tercer

tratamiento (concentración) se observó un efecto a las 24 horas. Aislado y analizando las dos concentraciones más altas, se observa que sí hay diferencia significativa ($P < 0.05$) al compararlas con el tratamiento control. Se observó consistencia en la respuesta de *M. beecheii* ante el Folidol, al comparar las tres réplicas.

Al analizar los resultados entre los dos grupos (especies) por medio de un análisis de varianza, se observó diferencia significativa entre las respuestas observadas en las dos especies ($P < 0.05$), resultando *M. beecheii* la más resistente y *T. angustula* la más susceptible. Esto es respaldado también con los resultados del Kd, ya que a las 24 horas sólo el 50% de los tratamientos de *M. beecheii* mostró un Kd efectivo (la totalidad de individuos de un tratamiento muertos), mientras que *T. angustula* respondió en un 100%. La diferencia se debe a que *M. beecheii* presenta una mayor biomasa que *T. angustula* (midiendo de 9.9-10.7mm y 4.4-4.7mm, respectivamente), y los efectos de los químicos, sean pesticidas o medicamentos, están sujetos a la masa (peso) de quien recibe la dosis. Se observa consistencia entre las concentraciones y porcentajes de Kd con las relaciones de las dimensiones de las abejas (las abejas más grandes presentan menor susceptibilidad).

En las pruebas realizadas dentro del grupo de *T. angustula* (tablas 7-9), se observa diferencia significativa entre los distintos tratamientos (concentraciones) ($P < 0.05$), pero no se observa diferencia al comparar las réplicas entre sí.

La LC_{50} para *M. beecheii* se determinó como 0.007 g/ml (7ppm), mientras que para *T. angustula* se determinó como 0.001 g/ml (1ppm) (tabla 10).

La LC_{90} para *M. beecheii* se determinó como 0.176 g/ml (176ppm), mientras que para *T. angustula* se determinó como 0.002 g/ml (2ppm) (tabla 10).

Los datos que se reportan para la LC en meliponinos, se restringe a dos especies: *Nannotrigona perilampoides* y *Trigona nigra*. Los insecticidas que se utilizaron fueron malatión, diazinón y metomilo; en dicha prueba los valores de LC₅₀ para *N. perilampoides* fueron de 0.0062, 0.00060 y 9.33 ppm y para *T. nigra* 0.0487, 0.0125 y 8.46 ppm, respectivamente para los insecticidas utilizados (Valdovinos-Núñez, 2003). Al comparar los resultados obtenidos en este experimento con los reportados por Valdovinos-Núñez, en cuanto a la LC₅₀, se pueden colocar como cercanos, pero menores a los de las pruebas con el insecticida metomilo; hay que considerar que esas pruebas se efectuaron con otras especies, más pequeñas incluso que *T. angustula*.

El que el Kd para *M. beecheii* es de 50%; mientras que para *T. angustula* es de 100% (tabla 11). Se tomó como efectividad para las estimaciones del Kd, solamente los tratamientos en los cuales todos los individuos utilizados en las pruebas se encontraron muertos a las 24 horas de haber aplicado el insecticida. No se encontraron datos sobre la determinación de Kd para otras especies de meliponinos.

10. CONCLUSIONES

- 10.1. Las trazas de insecticidas que se encontraron en las muestras de miel están por debajo de los límites de sensibilidad del instrumental utilizado para la determinación de presencia de insecticidas, por lo que puede utilizarse para consumo humano.
- 10.2. La ubicación de las colmenas, la época del año, el manejo de las colmenas, los recursos alimenticios preferidos por las abejas, la conducta y la capacidad de comunicación de las abejas son factores que influyen al momento de determinar la presencia de plaguicidas en los productos de las colmenas, ya que disminuyen las probabilidades de que las abejas entren en contacto con los plaguicidas.
- 10.3. La LC_{50} para *M. beecheii* se determinó como 0.007 g/ml (7ppm). La LC_{50} para *T. angustula* se determinó como 0.001 g/ml (1ppm) ante Folidol; observándose consistencia entre la masa corporal y la resistencia ante agentes químicos.
- 10.4. La LC_{90} para *M. beecheii* se determinó como 0.176 g/ml (176ppm). La LC_{90} para *T. angustula* se determinó como 0.002 g/ml (2ppm) ante Folidol.
- 10.5. El Folidol ejerce un efecto de Kd de 50% en *M. beecheii*, mientras que el Kd observado en *T. angustula* es de 100%.
- 10.6. En el área rural, se observa un total descontrol en el expendio y el manejo de pesticidas, lo que implica que, además de contaminar el ambiente, las personas ponen en riesgo su salud al estar expuestas a sustancias tóxicas.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1. Considerar para futuros estudios sobre la calidad sanitaria de la miel y otros productos de las colmenas y de determinación de concentraciones letales para las diferentes especies de meliponinos, la utilización de distintos insecticidas y otros productos agroquímicos de uso frecuente, preferiblemente de aplicación por rociamiento.
- 11.2. Determinar presencia de plaguicidas, en fechas propias de la fumigación, para identificar la importancia del efecto de la época del año sobre los resultados de determinación.
- 11.3. Determinar las concentraciones letales ante plaguicidas y la presencia de los mismos para las distintas especies de meliponinos cuyos productos son utilizados para consumo humano o como medicamento, por ejemplo en la miel y el polen de *Trigona geotrigona acalpulconis* (Talnete), *Scaptotrigona mexicana* (congo negro) y de *Scaptotrigona pectoralis* (congo canche).

12. REFERENCIAS:

1. Arreola, M.C. 2006. comunicación personal.
2. Ayala, R. Revisión de las abejas sin aguijón de México (Hymenoptera; Apidae: Meliponini) 1999. Folia Entomológica.
3. Becker, A. 1999. Las abejas, Centinelas del entorno ambiental. Revista L'a Abeille de Francs. Francia.
4. Bogdanov, S. 2006. Contaminants of bee products. Review Article. Apidologie 37(2006)1-18.
5. Breed, M.D., Guzman-Novoa E., Hunt G.J. 2004. Defensive behavior of honey bees: organization, genetics, and comparisons with other bees. Annu Rev Entomol;49:271-98.
6. Castañeda, E. Evaluación de cuatro secuencias de insecticidas con diferente grupo toxicológico en el control del picudo (*Anthonomus eugeniei* C.) del chile (*Capsicum annuum* L.), en la aldea El Guayabal, Estancuela, Zacapa (Tesis de Graduación, Facultad de Agronomía) 2000.
7. Campbell JA y Vannini JP. 1989. Distribution of Amphibians and Reptiles in Guatemala and Belize. USA.
8. Del Pozo, E; Shopflocher, R. 2004. Cría de abejas-su empresa de apicultura. Albatros. Argentina. 192 pp.
9. Enríquez, E. C. Monroy, A. Solis. 2001. Estado actual de la meliponicultura en Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa, Guatemala. Memorias del II Seminario Mexicano de Abejas sin Aguijón. Mérida, Yucatán, México.

10. Enríquez, E., Yurrita, C., Ayala, R., Monroy, C., Marroquín, A. 2003. listado preliminar de las abejas sin aguijón de Guatemala. Memorias del III Seminario Mesoamericano sobre abejas sin aguijón, Tapachula, Chiapas, México. 6-8 de noviembre de 2003.
11. Enríquez, E. C. Yurrita, C. Aldana, J. Ochenta, R. Jáuregui, P. Chau. 2004. Desarrollo de la crianza de abejas sin aguijón –Meliponicultura- para el aprovechamiento y comercialización de sus productos, como una alternativa económica sustentable en el área de El Trifinio, Chiquimula. Informe Final Proyecto SENACYT. Guatemala.
12. Enríquez, M. E., Dardón, M. 2006. Caracterización de la miel de meliponinos de distintas regiones biogeográficas de Guatemala. Resúmenes de investigación, Área técnica de la Dirección General de Investigación DIGI.
13. Enríquez, E, 2007. comunicación personal.
14. Epa Probit analysis program, version 1.5.
15. García, A.; Soto, D. y Romo, C. 1985. La miel de abejas: Composición química, propiedades y usos industriales. Rev.Chil.Nutr. Vol. 14, No. 3, pp 183-190.
16. García, R. determinación de parasitoidismo en mosca minadora (*Liriomyza* sp.) (Diptera: Agromyzidae) en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) en la aldea Chiac, Rabinal, Baja Verapaz. (Tesis de Graduación, Facultad de Agronomía) 2002.

17. González, I. et al. 2000. Propuesta de un centro regional para control de la calidad sanitaria de alimentos. Memorias del Simposio "Control de calidad 2000", VII Congreso nacional de ciencias farmacéuticas. Mérida, Venezuela.
18. González –Acereto, J. De Araujo, C. 2005. Manual de Meliponicultura Mexicana. Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Fundación Produce Guerrero A.C. México.
19. Intercooled Stata 6. 1984-1999. Statistics Data Analysis. Stata corporation. Tx, USA.
20. López, G. 1997. ¿Cómo cura la miel? Equipo revista Integral. Manuales Integral 7. Barcelona, España.
21. Marroquín, A. Sistemática e historia natural de las abejas (Hymenoptera: Apoidea) de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2000.
22. Marroquín, A. 2002. Importancia de las abejas sin aguijón en la polinización de los bosques tropicales. Curso: Diversidad, Biología y Crianza de abejas sin aguijón. Escuela de Biología, Universidad de San Carlos de Guatemala. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología –CONCYT- Guatemala.
23. Michener, C.D. 2000. The bees of the world. The Johns Hopkins University Press. USA. 913+xiv pp.
24. Molan, P. 1992. The Antibacterial Activity of Honey. Bee World. Vol. 73. Pág. 59-76.

25. Mutinelli, F. et al. 2000. Organización y funciones de un centro regional de control de calidad: el centro regional para la apicultura. Memorias del Simposio "Control de calidad 2000", VII Congreso nacional de ciencias farmacéuticas. Mérida, Venezuela.
26. Norma Chilena NCh574-2006. Versión final comité, septiembre de 2006.
27. Persano, L. 2000. La miel de abejas: Valorización y criterios internacionales de calidad. Memorias del Simposio "Control de calidad 2000", VII Congreso nacional de ciencias farmacéuticas. Mérida, Venezuela.
28. Ramos, T. et al. 1992. Comportamiento defensivo de la abeja *Apis mellifera* en confinamiento. Revista de la Facultad de Agronomía de Maracay, Venezuela. 18:47-65. 1992. Venezuela.
29. Sagayama, K Dardón, D. 2001. Guía de aplicación de insecticidas. ICTA-JICA. Chimaltenango, Guatemala.
30. Saha, J. Ch. 2002. Apicultura para el desarrollo rural –su potencial y apicultura contra la pobreza- desde la perspectiva de Bangladesh. Comisión permanente de Apicultura para el desarrollo rural. Bangladesh.
31. Stuart LC. Una descripción preliminar de las provincias bióticas de Guatemala, fundada sobre la distribución del género salamandrino (sic). USA:Anals. Soc. Geog. Hist. Guatemala.
32. Tornier, I., Kling, A., Schur, A. Money bee testing in Southern Europe: from the laboratory to the relevant crop in the field. Bulletin of Insectology 56(1) 185,187: 2003.

33. Turcios, E. Evaluación de cinco prácticas basadas en insecticidas para el control del gusano *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) en tomate, en Salamá, Baja Verapaz. (Tesis de Graduación, Facultad de Agronomía) 2001.
34. Valdovinos-Núñez, G. 2003. Resultados preliminares del efecto del malatión, diazinón y metomilo en abejas nativas sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) de la Península de Yucatán, México. Memorias del III Seminario Mesoamericano sobre abejas sin aguijón. Tapachula, Chiapas, México.
35. Vásquez, M. Recursos polínicos utilizados por la abeja nativa shuruya (*Scaptotrigona pectoralis*) (Apidae: Meliponini) en un meliponario de la parte baja de los cipresales en Pachalum, Quiché, durante la época seca y lluviosa. (Tesis de grado, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2007.
36. Villanueva, R. Et, al. 2003 La Meliponicultura, una Tradición Maya que se Pierde. III Seminario Mesoamericano sobre Abejas sin Aguijón. Tapachula, Chiapas, México.
37. Villota, P. 1999. Las abejas y la miel. Acento Editorial. España. 93 pp.
38. Vit, P. 1999. Uso de meliponinos en apiterapia y vigilancia ambiental. Memorias del Primer Seminario Nacional Sobre Abejas Sin Aguijón. Veracruz, México.
39. Vit, P., M. Medina & E. Enríquez. 2004. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, México and Venezuela. Bee World 85 (1).

40. White. W. Honey, Its Composition and Properties. 1971. Beekeeping in the United States. Agricultural Research service. United States Department of Agriculture. Washington. D.C., EEUU.
41. (<http://tratado.uninet.edu/c1005i.html>). Consultado 20 de agosto de 2007.
42. (<http://tratado.uninet.edu/c100502.html>). Consultado 20 de agosto de 2007.
43. (<http://tratado.uninet.edu/c1006i.html>). Consultado 20 de agosto de 2007.
44. (<http://tratado.uninet.edu/c1007i.html>). Consultado 20 de agosto de 2007.
45. (<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Piretroides.htm>). Consultado 1 de septiembre de 2007.
46. (http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts155.html). Consultado 1 de septiembre de 2007.
47. (http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/manchi/alim/trabajos%2005-06/trabajo4.pdf). consultado el 8 de octubre de 2007.
48. (http://www.sada.org.ar/Noticias/nitrofuranos_en_miel.htm). Consultado el 8 de octubre de 2007).
49. (<http://redsicura.iata.csic.es/xarxa/ocs/viewabstract.php?id=110&cf=1>). Consultado el 8 de octubre de 2007.
50. (<http://www.insuagro.com.ar/FU/domark.html>) consultado el 17 de octubre de 2007.

51. <http://www3.interscience.wiley.com/search/allsearch> consultado el 17 de octubre de 2007.
52. ([http://www.setacjournals.org/perlserv/?request=getabstract&doi=10.1897%2F1551-5028\(2000\)019%3C1901%3ACOITIT%3E2.3.CO%3B2&ct=1](http://www.setacjournals.org/perlserv/?request=getabstract&doi=10.1897%2F1551-5028(2000)019%3C1901%3ACOITIT%3E2.3.CO%3B2&ct=1)) consultado el 17 de octubre de 2007.
53. (<http://feql.wsu.edu/esrp531/Fall05/102605DOC.pdf>) consultado el 17 de octubre de 2007.
54. (<http://www.dsostenible.com.ar/tecnologias/paration.html>). Consultado el 31 de julio de 2008.
55. (<http://www.cbgnetwork.org/1246.html>). Consultado el 31 de julio de 2008.
56. (http://144.16.93.203/energy/H_C270799/HDL/ENV/envsp/Vol340.htm Paración). Consultado el 31 de julio de 2008.
57. (http://www.union.org.mx/publicaciones/guia/actividadesyagravios/plagas_cuadros.htm). Consultado el 31 de julio de 2008.
58. (http://www.fastonline.org/CD3WD_40/HLTHES/PC/M0035S/ES-/M0035S12.HTM). Consultado el 31 de julio de 2008.
59. (<http://www.ellas.cl/productosapicolas.htm>) consultado el 1 de septiembre de 2008.

Anexos

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES
Version 1.5

TA1

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Proportion		
			Observed Proportion Responding	Responding Adjusted for Controls	Predicted Proportion Responding
0.0005	12	1	0.0833	0.0833	0.0833
0.0010	12	11	0.9167	0.9167	0.9167
0.0100	18	18	1.0000	1.0000	1.0000
0.1000	11	11	1.0000	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.000

Chi - Square for Heterogeneity
(tabular value at 0.05 level) = 5.991

Mu = -3.150515
Sigma = 0.108832

Parameter	Estimate	Std. Err.	95% Confidence Limits
Intercept	33.948528	7.710100	(18.836733, 49.060326)
Slope	9.188506	2.444464	(4.397356, 13.979656)

Theoretical Spontaneous Response Rate = 0.0000

TA1 (hora 5)

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000	0.000	0.001
LC/EC 5.00	0.000	0.000	0.001
LC/EC 10.00	0.001	0.000	0.001
LC/EC 15.00	0.001	0.000	0.001
LC/EC 50.00	0.001	0.001	0.001
LC/EC 85.00	0.001	0.001	0.001
LC/EC 90.00	0.001	0.001	0.002
LC/EC 95.00	0.001	0.001	0.002
LC/EC 99.00	0.001	0.001	0.003

TA2

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Proportion		
			Observed Proportion Responding	Responding Adjusted for Controls	Predicted Proportion Responding
0.0005	16	6	0.3750	0.3750	0.3678
0.0010	12	8	0.6667	0.6667	0.6790
0.0100	19	19	1.0000	1.0000	0.9991
0.1000	16	16	1.0000	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.029

Chi - Square for Heterogeneity
(tabular value at 0.05 level) = 5.991

Mu = -3.174371

Sigma = 0.375031

Parameter	Estimate	Std. Err.	95% Confidence Limits
Intercept	13.464299	3.980246	(5.663017, 21.265581)
Slope	2.666450	1.256628	(0.203458, 5.129441)

Theoretical Spontaneous Response Rate = 0.0000

TA2

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000	0.000	0.000
LC/EC 5.00	0.000	0.000	0.000
LC/EC 10.00	0.000	0.000	0.000
LC/EC 15.00	0.000	0.000	0.000
LC/EC 50.00	0.001	0.000	0.002
LC/EC 85.00	0.002	0.001	64.462
LC/EC 90.00	0.002	0.001	1013.178
LC/EC 95.00	0.003	0.001	60694.086
LC/EC 99.00	0.005	0.002	132999456.000

TA3

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Proportion		
			Observed	Responding	Predicted
			Proportion Responding	Adjusted for Controls	Proportion Responding
0.0005	14	1	0.0714	0.0714	0.0714
0.0010	14	8	0.5714	0.5714	0.5714
0.0100	14	14	1.0000	1.0000	1.0000
0.1000	14	14	1.0000	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = -0.000

Chi - Square for Heterogeneity
(tabular value at 0.05 level) = 5.991

Mu = -3.032940

Sigma = 0.182961

Parameter	Estimate	Std. Err.	95% Confidence Limits	
Intercept	21.577013	6.241406	(9.343858,	33.810169)
Slope	5.465659	2.016010	(1.514278,	9.417039)

Theoretical Spontaneous Response Rate = 0.0000

TA3

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000	0.000	0.001
LC/EC 5.00	0.000	0.000	0.001
LC/EC 10.00	0.001	0.000	0.001
LC/EC 15.00	0.001	0.000	0.001
LC/EC 50.00	0.001	0.001	0.002
LC/EC 85.00	0.001	0.001	0.007
LC/EC 90.00	0.002	0.001	0.010
LC/EC 95.00	0.002	0.001	0.017
LC/EC 99.00	0.002	0.001	0.047

MB1

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Proportion		
			Observed Proportion Responding	Adjusted for Controls	Predicted Proportion Responding
0.0005	12	0	0.0000	0.0000	0.0095
0.0010	12	1	0.0833	0.0833	0.0364
0.0100	12	5	0.4167	0.4167	0.5131
0.1000	12	12	1.0000	1.0000	0.9685

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 1.705

Chi - Square for Heterogeneity
(tabular value at 0.05 level) = 5.991

Mu = -2.018020

Sigma = 0.547432

Parameter	Estimate	Std. Err.	95% Confidence Limits
Intercept	8.686337	0.945108	(6.833927, 10.538749)
Slope	1.826710	0.429208	(0.985462, 2.667959)

Theoretical Spontaneous Response Rate = 0.0000

MB1

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.001	0.000	0.001
LC/EC 5.00	0.001	0.000	0.003
LC/EC 10.00	0.002	0.000	0.004
LC/EC 15.00	0.003	0.001	0.005
LC/EC 50.00	0.010	0.005	0.022
LC/EC 85.00	0.035	0.016	0.172
LC/EC 90.00	0.048	0.021	0.293
LC/EC 95.00	0.076	0.030	0.655
LC/EC 99.00	0.180	0.057	3.049

MB2

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Proportion		
			Observed Proportion Responding	Responding Adjusted for Controls	Predicted Proportion Responding
0.0005	12	0	0.0000	0.0000	0.0132
0.0010	12	1	0.0833	0.0833	0.0557
0.0100	12	8	0.6667	0.6667	0.6902
0.1000	12	12	1.0000	1.0000	0.9951

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.424

Chi - Square for Heterogeneity
(tabular value at 0.05 level) = 5.991

Mu = -2.237721

Sigma = 0.478934

Parameter	Estimate	Std. Err.	95% Confidence Limits	
Intercept	9.672298	1.212065	(7.296652,	12.047945)
Slope	2.087971	0.504487	(1.099177,	3.076766)

Theoretical Spontaneous Response Rate = 0.0000

MB2

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000	0.000	0.001
LC/EC 5.00	0.001	0.000	0.002
LC/EC 10.00	0.001	0.000	0.003
LC/EC 15.00	0.002	0.001	0.004
LC/EC 50.00	0.006	0.003	0.013
LC/EC 85.00	0.018	0.009	0.081
LC/EC 90.00	0.024	0.011	0.130
LC/EC 95.00	0.035	0.015	0.268
LC/EC 99.00	0.075	0.027	1.062

MB3

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Proportion		
			Observed Proportion Responding	Responding Adjusted for Controls	Predicted Proportion Responding
0.0005	12	0	0.0000	0.0000	0.0132
0.0010	12	1	0.0833	0.0833	0.0557
0.0100	12	8	0.6667	0.6667	0.6902
0.1000	12	12	1.0000	1.0000	0.9951

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.424

Chi - Square for Heterogeneity
(tabular value at 0.05 level) = 5.991

Mu = -2.237721
Sigma = 0.478934

Parameter	Estimate	Std. Err.	95% Confidence Limits	
Intercept	9.672298	1.212065	(7.296652,	12.047945)
Slope	2.087971	0.504487	(1.099177,	3.076766)

Theoretical Spontaneous Response Rate = 0.0000

MB3

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000	0.000	0.001
LC/EC 5.00	0.001	0.000	0.002
LC/EC 10.00	0.001	0.000	0.003
LC/EC 15.00	0.002	0.001	0.004
LC/EC 50.00	0.006	0.003	0.013
LC/EC 85.00	0.018	0.009	0.081
LC/EC 90.00	0.024	0.011	0.130
LC/EC 95.00	0.035	0.015	0.268
LC/EC 99.00	0.075	0.027	1.062

Límites de sensibilidad para los distintos insecticidas

Organofosforados	Limite de deteccion (PPM)
Carbophenothion	0.02
Chlorpyrifos	0.01
Diazinon	0.01
Dichlorvos	0.03
Dimethoato	0.01
EPN	0.05
Ethion	0.03
Fenthion	0.02
Malation	0.02
Pirimiphos-methyl	0.05
Parathion-methyl	0.01
Profenofos	0.01
Terbufos	0.05

Pyrethroids	Limite de deteccion (PPM)
Deltamethrin	0.05
Cypermethrin	0.05
Cyfluthrin	0.05
Permethrin	0.05
Cyhalothrin	0.05

Organoclorados	Limite de deteccion (PPM)
γ BHC (Lindane)	0.01
Aldrin	0.01
BHC (A-HCH)	0.01
Chlorothalonil	0.01
Chlordano	0.01
Dichloran	0.01
Dieldrin	0.01
Endosulfan 1 (Thiodan-1)	0.01
Endosulfan 2 (Thiodan-2)	0.01
Endosulfan sulfate	0.01
Endrin	0.01
Heptachlor epoxide	0.01
Hexachlorobenzene	0.01
Methoxychlor	0.03
pp-DDD	0.01
pp-DDE	0.01
pp-DDT	0.01
β -BHC (B-HCH)	0.01
δ -BHC (D-HCH)	0.01