

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**EFFECTO DE LA ALIMENTACIÓN CON YOGURT SOBRE
EL CONTEO DE QUISTES DE *Malphigamoeba mellificae* y
ESPORAS *Nosema apis* EN LA ABEJA (*Apis mellifera*).**

LUCY MARGARETH MATRICARDI ORTIZ

Médica Veterinaria

GUATEMALA, AGOSTO DE 2014

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**EFFECTO DE LA ALIMENTACIÓN CON YOGURT SOBRE EL
CONTEO DE QUISTES DE *Malphigamoeba mellificae* y ESPORAS
Nosema apis EN LA ABEJA (*Apis mellifera*).**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

LUCY MARGARETH MATRICARDI ORTIZ

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, AGOSTO 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	Lic. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	MSc. Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez
VOCAL V:	Br. Juan René Cifuentes López

ASESORES

LIC. ZOOT. EDGAR AMÍLCAR GARCÍA PIMENTEL
M.A. MANUEL EDUARDO RODRÍGUEZ ZEA
M.A. GUSTAVO ENRIQUE TARACENA GIL

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

EFFECTO DE LA ALIMENTACIÓN CON YOGURT SOBRE EL CONTEO DE QUISTES DE *Malphigamoeba mellificae* y ESPORAS *Nosema apis* EN LA ABEJA (*Apis mellifera*).

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO A:

A Dios:	Por siempre escuchar mis oraciones.
A mis papás:	Por haberme dado las mejores lecciones de vida: amor, honestidad, lealtad y perseverancia.
A mi mamá:	Porque ha sido la mejor amiga, ejemplo profesional y mujer más luchadora, inteligente y graciosa que he conocido.
A mi papá:	Porque es una persona pacífica, noble, inteligente y siempre se desveló conmigo haciendo tareas.
A mi abuelita Margarita:	Por ser ejemplo responsabilidad, constancia y determinación.
A mi novio:	Edgar, por su cariño y apoyo en momentos difíciles.
A mis amigas del alma:	Biscuita, Inge y Tefa, porque me quieren luego de conocerme tal cual soy.
A mis compañeros de promoción:	Especialmente Denise Mejía

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	3
III. OBJETIVOS	4
3.1 Objetivo general.....	4
3.2 Objetivo específico	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1 Clasificación taxonómica de la abeja.....	5
4.2 Anatomía de la abeja	5
4.2.1 Cabeza	6
4.2.1.1 Ojos.....	7
4.2.1.2 Antenas.....	8
4.2.1.3 Aparato bucal.....	8
4.2.1.3.1 Mandíbulas.....	9
4.2.1.3.2 Clípeo y labrum (o labio)	9
4.2.1.3.3 Probóscide	10
4.2.1.4 Tórax.....	11
4.2.1.4.1 Patas y alas.....	11
4.2.1.5 Abdomen.....	13
4.2.1.5.1 Aguijón	13
4.2.1.6 Sistemas	15

4.2.1.6.1 Digestivo.....	15
4.2.1.6.2 Respiratorio	16
4.2.1.6.3 Circulatorio	17
4.2.1.7 Glándulas de importancia	18
4.2.1.7.1 Cereras.....	18
4.2.1.7.2 De Nassanoff.....	18
4.2.1.7.3 Mandibulares.....	18
4.2.1.7.4 Post cerebral y torácica	19
4.2.1.7.5 Hipofaríngeas	19
4.3 Nosemiasis y amebiasis de la abeja.....	19
4.3.1 Definición.....	19
4.3.2 Etiología	19
4.3.3 Distribución.....	20
4.3.4 Hospedadores	20
4.3.5 Factores predisponentes	21
4.3.6 Transmisión	21
4.3.7 Ciclo	22
4.3.8 Patogenia	23
4.3.9 Signos	23
4.3.10 Lesiones.....	24
4.3.11 Efectos nocivos de la amebiasis.....	25
4.3.12 Diagnóstico.....	25

4.3.12.1 Diagnóstico diferencial	27
4.3.13 Pronóstico.....	27
4.3.14 Tratamiento	28
4.3.15 Prevención.....	28
4.4 Yogurt	29
4.4.1 Definición.....	29
4.4.2 Procedimiento de elaboración	30
4.4.3 Componentes nutricionales del yogurt	30
4.4.4 Efectos benéficos	32
4.4.5 Acción probiótica del yogurt	33
4.4.5.1 Definición de probiótico	33
4.4.5.2 Efectos de los probióticos	33
4.4.5.3 Antagonismo competitivo	34
4.4.5.4 Probióticos empleados en apicultura	35
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
5.1 Materiales	36
5.1.1 Recursos humanos.....	36
5.1.2 Materiales de laboratorio	36
5.1.3 Materiales de campo	37
5.1.4 Recursos biológicos	37

5.2 Metodología	38
5.2.1 Área de estudio	38
5.2.2 Diseño del estudio	38
5.2.3 Tratamientos.....	39
5.2.4 Preparación del yogurt en laboratorio.....	39
5.2.5 Duración del estudio.....	40
5.2.6 Colecta de las muestras	40
5.2.7 Análisis de laboratorio	40
5.2.8 Registro de datos de laboratorio.....	41
5.2.9 Análisis estadístico	41
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
VII. CONCLUSIONES.....	46
VIII.RECOMENDACIONES	47
IX. RESUMEN.....	48
SUMMARY	49
X. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	50
XI. ANEXOS	53

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Interpretación del grado de infestación de <i>Malphigamoeba mellificae</i> de acuerdo al recuento de quistes	26
Cuadro 2 Interpretación del grado de infestación de <i>Nosema apis</i> de acuerdo al recuento de esporas.....	27
Cuadro 3 Componentes nutricionales del yogurt	32
Cuadro 4 Promedio de quistes de <i>Malphigamoeba mellificae</i> y esporas de <i>Nosema apis</i> por tratamiento y muestreo	43
Cuadro 5 Registro de resultados de laboratorio.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Abeja obrera, Zángano y abeja reina.....	6
Figura 2 Cabeza de <i>Apis mellifera</i>	7
Figura 3 Anatomía de la antena	8
Figura 4 Anatomía de la región mandibular de la abeja.....	9
Figura 5 Probóscide de la abeja.....	10
Figura 6 Anatomía de las patas de la abeja.....	12
Figura 7 Anatomía de las alas de la abeja	13
Figura 8 Anatomía del aguijón de la abeja.....	14
Figura 9 Sistema digestivo de la abeja	16
Figura 10 Sistema respiratorio de la abeja.....	17
Figura 11 Promedio de esporas de <i>Nosema apis</i> por tratamiento y muestreo	46
Figura 12 Promedio de quistes de <i>Malpighamoeba mellificae</i> por tratamiento y muestreo.	46

I. INTRODUCCIÓN

Tanto *Nosema apis* como *Malpighamoeba mellificae* son parásitos capaces de reducir el pecoreo y, en consecuencia, la producción de miel, polen, jalea real y ovoposición por parte de la reina (Bruno, 2010). Todo esto disminuye la vitalidad y la producción de la colmena en general, causando grandes pérdidas económicas para el apicultor, el cual generalmente recurre a antibióticos para el tratamiento.

En Guatemala, la apicultura tiene gran importancia en la exportación de melón y sandía, especialmente en el Valle de la Fragua, Zacapa, sitio en que la presencia de abejas es una condición esencial para la polinización, y es capaz de incrementar hasta en un 40% la producción de estos frutos. Según el último informe del MAGA (2011), los principales departamentos productores de miel son San Marcos, Quetzaltenango, Suchitepéquez, Retalhuleu, Huehuetenango y Santa Rosa. A nivel nacional se produjo en el año 2011, 807,909 litros de miel, pagándose a Q 986 el quintal. En total, la actividad apícola generó US\$ 6'188'000 por concepto de exportaciones. Sin embargo, son muchas las exigencias que debe satisfacer la miel para poder ser exportada, entre las más importantes figura la ausencia de residuos de antibióticos y pesticidas. Es por ello que el uso de probióticos y otros productos naturales inocuos adquieren gran importancia en el tratamiento y prevención de las más importantes enfermedades de las abejas.

El uso de probióticos en apicultura no es una práctica muy común, sin embargo, mediante la inclusión de bacterias ácido lácticas en la dieta, es posible, por efectos de exclusión competitiva, disminuir la carga de microorganismos patógenos y prevenir los efectos negativos que éstos presentan en la producción. Es por ello, que el principal objetivo de este estudio es determinar si la alimentación de abejas con yogurt disminuye el conteo de esporas de *Nosema apis* y quistes de *Malpighamoeba mellificae* en las colonias, de modo que pueda

ser considerado como una alternativa para la prevención de la noseemiasis y amebiasis.

II. HIPÓTESIS

La alimentación de abejas (*Apis mellifera*) con yogurt reduce el conteo de quistes de *Malpighamoeba mellificae* y esporas de *Nosema apis* en las colonias.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- Generar información sobre el uso de yogurt como alternativa en la prevención de la amebiasis (*Malpighamoeba mellificae*) y noseemiasis (*Nosema apis*) de la abeja (*Apis mellifera*).

3.2 Objetivo específico

- Evaluar el efecto de la alimentación de abejas (*Apis mellifera*) con yogurt sobre la carga de quistes de *Malpighamoeba mellificae* y esporas de *Nosema apis* de las colonias.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Clasificación taxonómica de la abeja

Reino	Animal
Subreino	Metazoarios
División	Artiozoarios
Phillum	Arthropoda
Clase	Insectos
Orden	Himenóptera
Familia	Apidae
Género	Apis
Especie	Apis mellifera

(11, 12)

4.2. Anatomía de la abeja

Las abejas, como todos los insectos, poseen un cuerpo dividido en 3 partes: cabeza (contiene órganos sensoriales), tórax (posee órganos locomoción) y abdomen (tiene órganos digestivos y de la reproducción). Poseen un exoesqueleto constituido por quitina. Una colonia de abejas está integrada por 3 tipos de individuos:

- Abeja reina: posee el cuerpo más largo y ancho que las obreras, la cabeza es ligeramente cuadrada y, el abdomen es alargado y de forma cónica. Sus alas,

cuando están plegadas, no alcanzan a cubrir el último tercio del abdomen. Pesa de 200 a 250 mg. (16)

- Zángano: posee una cabeza casi esférica, por la disposición de sus ojos compuestos. El tórax es fuerte y de mayor diámetro que el de las obreras y reinas; el abdomen es ancho, con la porción terminal ligeramente redondeada. Pesa de 180-200 mg. (16)
- Obreras: son de menor tamaño que los anteriores. La cabeza es triangular, por el menor desarrollo de los ojos compuestos. Sus alas, a diferencia de la reina, cubren totalmente el abdomen cuando están plegadas. Pesa de 100-130 mg. (16)

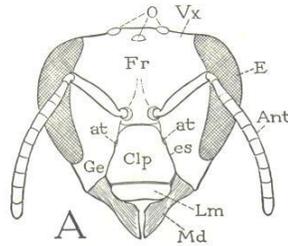
Figura 1 Abeja obrera, Zángano y abeja reina



4.2.1 Cabeza

En la parte externa de la cabeza se encuentran las siguientes estructuras; dos antenas, tres ojos simples, dos ojos compuestos, un labro, dos mandíbulas, un clípeo y la probosis. (16)

Figura 2 Cabeza de *Apis mellifera*



Clp = clípeo, Lm = labrum, Md = mandíbula, E= ojos compuestos, O= ocelos

4.2.1.1 Ojos

Lo ojos, junto con las antenas, son los órganos sensoriales más importantes. La abeja posee 2 tipos de ojos:

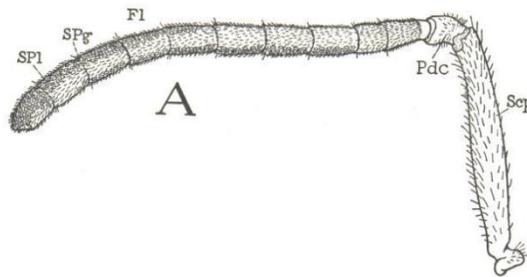
- **Compuestos:** Estas dos estructuras están localizadas en la parte superior y lateral de la cabeza. Cada ojo está compuesto de múltiples omatidios, los cuales son una unidad sensorial visual y constan de un lente, una célula cono, y un nervio óptico. Cada córnea es hexagonal y está separada de corneas contiguas por las células pigmentadas. Cada cornea proyecta su propia imagen. En el zángano hay unos 7-8,000 omatidios, en la obrera entre 4-5,000 y en la reina entre 3-4,000. Los ojos compuestos de las abejas son excelentes instrumentos para detectar movimiento. Este ojo compuesto también, tiene una capacidad excelente para detectar colores y formas; detectan casi todas las longitudes de onda que detecta el ser humano, difiriendo de este último en que no perciben el rojo ni el infrarrojo, pero si el amarillo, azul y ultravioleta. (16)
- **Ocelos:** Estas tres pequeñas esferas están localizadas en la parte superior de la cabeza y entre sí forman un pequeño triángulo. Su función es percibir la intensidad y dirección de la luz. (16)

La acción conjunta de estos 2 tipos de ojos proporciona una imagen de alta resolución, fácil detección de movimiento y, distinción de colores: amarillo y azul. (Ver imagen no.2) (16)

4.2.1.2 Antenas

En el centro de la cabeza, entre los ojos, se encuentran las antenas, que constan de un escapo basal y un flagelo, que está subdividido en once artejos en las obreras y las reinas y doce en los zánganos. Están cubiertas por abundantes pelos sensoriales y albergan el sentido del olfato. En cada subdivisión del flagelo existen múltiples órganos sensoriales, olfatorios y de tacto. (16)

Figura 3 Anatomía de la antena



Fl = flagelum, Pdc = pedicelo, Scp = escopa basal

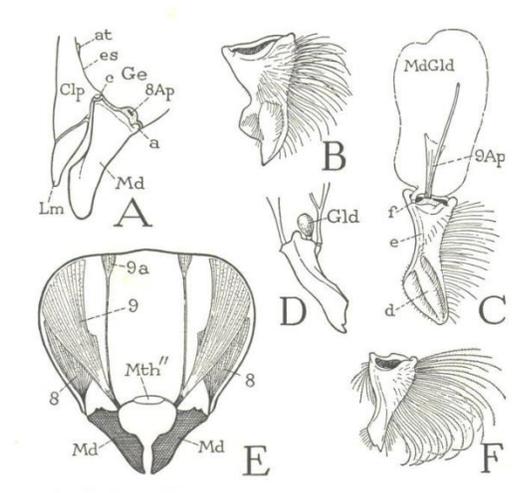
4.2.1.3 Aparato bucal

El aparato bucal de las abejas se clasifica como masticador-lamedor, y está constituido por varios apéndices, que cuando la abeja está en reposo o en vuelo, se mantienen plegados. Estos apéndices son:

4.2.1.3.1 Mandíbulas

Están suspendidas en la parte inferior de la cabeza, a los lados de la boca, detrás del labrum. Cada mandíbula tiene movimiento lateral solamente, y por su superficie interior corre un canal que da salida a las secreciones de las glándulas mandibulares. La glándula mandibular secreta un líquido claro que se cree es utilizado para ablandar la cera y hacerla más manejable. Las mandíbulas son utilizadas para trabajar la cera, comer polen y cualquier trabajo que requiera morder, agarrar o moldear. En la reina las glándulas mandibulares producen una feromona, ácido oxodecenoico, que inhibe la construcción de celdas, atrofia el desarrollo de los ovarios de las obreras, es un atrayente sexual muy fuerte para los zánganos durante el vuelo de acople y estructura los vuelos de pecoreo de las obreras. En presencia de otras reinas, las incita a pelear hasta la muerte. (16)

Figura 4 Anatomía de la región mandibular de la abeja.



Md = mandíbula, MaGld = glándula mandibular.

4.2.1.3.2 Clípeo y labrum (o labio)

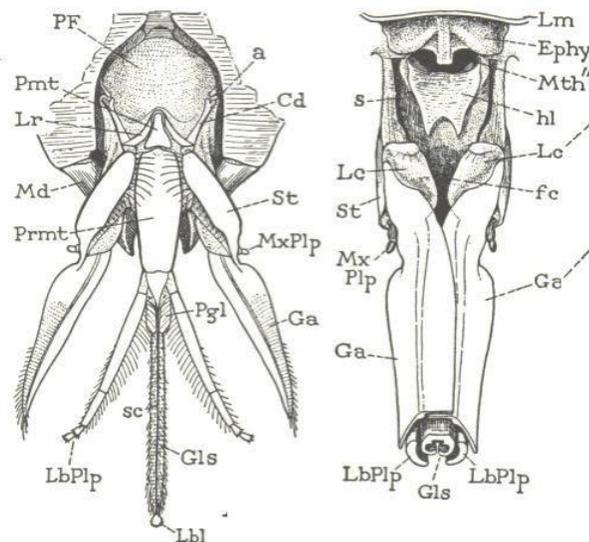
Estas estructuras en forma de placas están localizadas en la parte central inferior de la cabeza y protegen las partes bucales más delicadas. La placa

superior es la más grande y se conoce como el cípeo y la inferior, en forma de rectángulo, el labro. (Ver imagen no.2) (16)

4.2.1.3.3 Probóscide

Este no es un órgano como tal si no un grupo de estructuras que se unen y permiten ingerir y regurgitar, néctar, agua o miel. Aquí se encuentran las siguientes estructuras: la base del labium, el postmentum, y más adelante el prementum. En la parte terminal del prementum está la lengua como tal o la glosa. A los lados de la glosa, externamente, están los palpos labiales y, lateralmente a éstos, unas estructuras en forma de lancetas, las maxilas. La base de las maxilas se denomina estipes, los cuales a su vez están suspendidos de unas estructuras quitinosas delgadas, llamadas cardos. Cada estipe en su parte distal soporta la galea y lacinia. Entre los estipes y la galea se encuentra el palpo maxilar. Cuando la probosis no está en uso se retracta, proceso que es facilitado por los cardos. (16)

Figura 5 Probóscide de la abeja



Pmt = postmentum, Prmt = prementum, Cd = cardos, St = estipes, MxPlp= palpos malxilares, Pgl = palpos labiales, Gls = glosa, Lbl = labellum, Ga= galea; LbPlp= palpos labiales, Mx= maxila, Md= mandíbulas, Lc= lacinia.

Es así como un canal alimenticio temporal es formado por las superficies cóncavas internas de las galeas, terminando hacia arriba sobre la glosa y ajustándose a lo largo y en contra de los palpos labiales, los cuales descansan fuertemente contra los lados de la glosa, y constituyen los órganos del gusto. La glosa, un conducto largo formado por anillos quitinosos, está rodeada de pelos, los cuales ayudan a recolectar líquidos, tal como lo haría un pincel. Una vez empapada la glosa en néctar, la abeja la retrae y fuerza el néctar a salir de ella por medio de presión negativa, tal como si fuera una jeringa o una pajilla. El néctar entonces pasa a la galea, y se deposita en una pequeña cavidad en la base de la lengua, formada por la paraglosa. Luego, doblando el labium hacia arriba, la base de la glosa es llevada a acercarse con la cavidad bucal, y el néctar acumulado es succionado hacia el esófago por la acción de una bomba faríngea. El néctar así reunido sirve como alimento para las abejas, mientras que el excedente es almacenado en forma de miel. (16)

4.2.1.4 Tórax

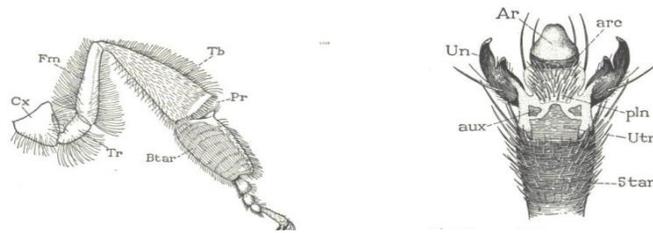
El tórax es la parte central del cuerpo de la abeja, en la que se insertan fuertes músculos que permiten movilidad de la cabeza, abdomen, patas y alas. Está dividido en 4 porciones: protórax (inserción del primer par de patas), mesotórax (segundo par de patas y primer par de alas), metatórax (tercer par de patas y segundo par de alas) y propodeo (primer segmento del abdomen, que permite gran movilidad). (16)

4.2.1.4.1 Patas y alas

Las patas están formadas por 6 artejos articulados que son, de proximal a distal: coxa, trocánter, fémur, tibia, tarso y pretarso. Este último posee 2 uñas laterales, con las que las abejas pueden fijarse sobre superficies rugosas. A la vez, entre las uñas, se encuentra un lóbulo llamado arolium o pulvillus, que les

permite adherirse a las superficies lisas como los cristales. Además, las patas contienen varios accesorios, como el limpia antenas, el cesto del polen, el prensa-polen, rastrillos o peines, entre otros, que les sirven para diversas funciones, como limpieza de la colmena y de ellas mismas, recolección y procesamiento de polen, etc. (16)

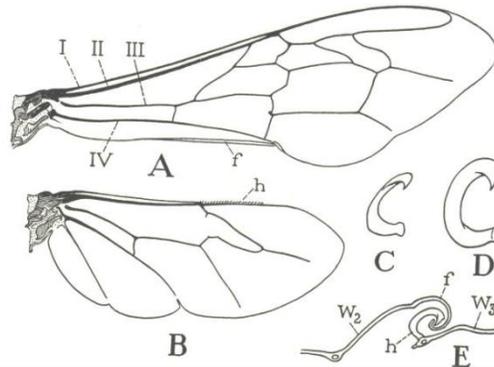
Figura 6 Anatomía de las patas de la abeja



Cx = coxa, Tr = trocanter, Fm = fémur, Tb = tibia, Btar = basitarso Ar = arolium, Un = Unge = garra

Las alas se forman mediante la unión de dos capas de exoesqueleto, y son fortalecidas por estructuras tubulares conocidas como nervaduras, a través de las cuales fluye hemolinfa. La abeja tiene dos pares de alas, una anterior y otra posterior, de menor tamaño. Ambas se unen en el vuelo por los ganchos de las alas o ámulos, para que ambas batan al unísono. Siendo membranas finas, las alas son relativamente frágiles y sufren daño significativo por el vuelo, razón por la que las obreras tienen un periodo de vida tan corto (no porque fisiológicamente se agoten), sino que sus alas se van acortando y eventualmente no tienen suficiente superficie para elevar su peso, lo que imposibilita que regresen a la colonia. (16)

Figura 7 Anatomía de las alas de la abeja



A = ala anterior, B = ala posterior, C & D = ámulos E = cómo encajan los ámulos del ala posterior en el borde anal del ala anterior.

4.2.1.5 Abdomen

Constituye un tercio del total de la abeja. En él se encuentran algunas glándulas y los principales órganos como el estómago, el intestino, el tubo de malphigi, el aguijón, el aparato genital, las glándulas cereras y las glándulas de Nassanof.

El abdomen está formado por 9 segmentos, pero solamente 6 son visibles, ya que el primero es el propodeum (situado en el tórax) y los últimos 2 se transforman en el aguijón y los órganos genitales. Los segmentos están unidos por membranas intersegmentales, que les permiten grandes movimientos de contracción y dilatación. (16)

4.2.1.5.1 Aguijón

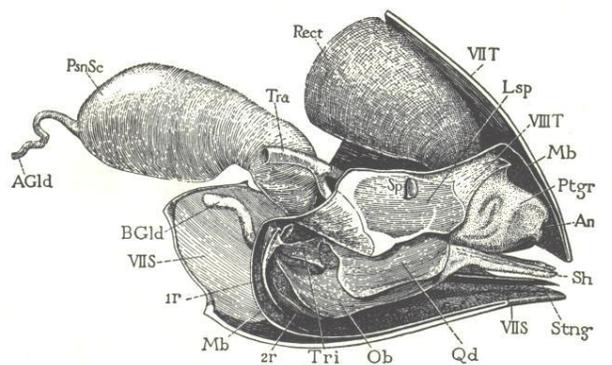
El aguijón es el órgano de defensa de las obreras y las reinas, y está situado en el extremo posterior del abdomen. El aguijón parece ser sólido, pero en realidad está compuesto de tres partes móviles: un estilete y dos lancetas, los cuales presentan una serie de espinas en el borde, para facilitar el anclaje en la

piel, y dos vainas de protección. El estilete termina en punta fina pero en su parte proximal es bastante ancha, lo que permite almacenar cierta cantidad de veneno. Las lancetas son largas y puntiagudas, y corren a lo largo de la parte inferior del estilete, formando un canal, por el que corre más veneno. Una vez que la abeja ha penetrado a su víctima con el aguijón, el veneno se expulsa a través de unas pequeñas hendiduras ubicadas en la porción terminal del aguijón, el cual sigue bombeando veneno y penetrando hasta 2 horas después de haberse desprendido de la abeja. (16)

El veneno es producido en dos glándulas: la glándula ácida, la cual produce ácido fórmico y la glándula básica. Ambas secreciones se almacenan en el saco del veneno. Al momento de ser requerido, el veneno es succionado, por acción de las lancetas y una serie de válvulas, hacia la base del estilete y el canal formado por el estilete y las lancetas. (16)

El veneno tiene varias sustancias activas como: a) la melitina, que produce citólisis; b) histamina, que disminuye la presión arterial; c) hialurodinasa, que produce separación y disgregación de las células atacadas, permitiendo la penetración del veneno y; d) Fosfolipasa A, que produce hemólisis de glóbulos rojos y destrucción de ciertas enzimas. (16)

Figura 8 Anatomía del aguijón de la abeja



Stngr = estilete, PsnSc = saco de veneno, AGld = glándula ácida, BGld = glándula básica, Sh= lancetas

4.2.1.6 Sistemas

4.2.1.6.1 Digestivo

El sistema digestivo comienza con la proboscis, la cual abre en la cavidad de la bomba de succión, continúa con el esófago y luego se expande en el saco de néctar.

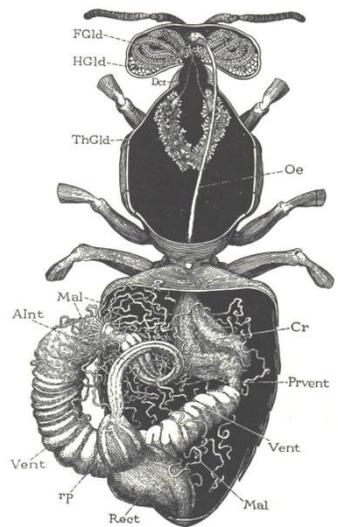
A este saco le sigue el proventrículo, un canal angosto y muscular y luego el ventrículo, o estómago verdadero. Posteriormente está el intestino, que se divide en intestino anterior e intestino posterior o recto. Este último abre al ano. (16)

El esófago es un tubo a través del cual el alimento es movido por ondas musculares en sentido anteroposterior. El saco de la miel tiene como principal función almacenar alimento. El proventrículo regula el alimento que entra al ventrículo, pues su parte anterior, unida al saco del néctar, posee una válvula muscular en “X”, mediante la cual se remueve selectivamente el polen del néctar o miel, para pasarlo al ventrículo. La parte anterior del ventrículo tiene una válvula que evita la regurgitación de material del estómago al saco de miel.

En el ventrículo se lleva a cabo parte de la digestión y absorción de sustancias alimenticias. Posteriormente, el canal alimentario se continúa con el intestino delgado, en el que se terminan de asimilar los nutrientes procedentes del ventrículo, y luego son distribuidos a través de la hemolinfa. Al intestino grueso o recto llegan los productos de desecho, que son deshidratados por acción de las papilas rectales, permitiendo que los excrementos sean almacenados en la ampolla rectal. Esto es particularmente importante en invierno, cuando las abejas no pueden salir de la colmena a defecar. (16)

En la unión del intestino con el ventrículo, se encuentra una red de túbulos llamados *túbulos de Malpighio*. Estos son órganos de excreción similares a los riñones en los animales superiores, y se extienden por toda la cavidad del cuerpo de la abeja. Tienen como función remover desperdicios y sales de la hemolinfa, para trasladarlos al recto y luego excretarlos. (16)

Figura 9 Sistema digestivo de la abeja



Oe = esófago, Cr = molleja, Prvent = proventrículo, Vent = ventrículo, Mal = túbulos de Malpighio, AInt = intestino anterior, Rect = recto

4.2.1.6.2 Respiratorio

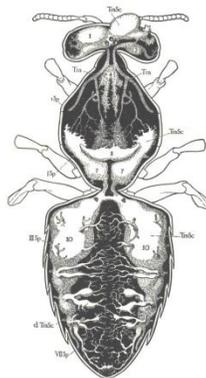
El sistema respiratorio de la abeja está compuesto por un sin número de pequeños canales tubulares, multi-ramificados y de pared muy fina, que son introcrecimientos del integumento conocidos como, tráqueas. Las ramificaciones terminales de las tráqueas llegan hasta la más diminuta célula del cuerpo. La hemolinfa no transporta oxígeno otro que el que usan las células de la propia hemolinfa. Las tráqueas se comunican al exterior mediante los espiráculos. Existen 10 pares de espiráculos en la abeja, tres en el tórax y siete en el abdomen. La respiración se lleva a cabo mediante la contracción rítmica del

abdomen. Además de las tráqueas, que son bastante rígidas y no permiten que haya mucho intercambio de gases con el exterior, en la abeja también existen los sacos de aire, que son blandos, colapsables y responden a cambios en presión generados por las contracciones y expansiones musculares del abdomen.

Los sacos de aire más grandes se encuentran en el abdomen; sin embargo, también los encontramos en el tórax.

Las tráqueas terminan en túbulos minúsculos, o traquéolos. Estos se embeben en las células y les hacen disponible oxígeno. El bióxido de carbono pasa en solución desde la hemolinfa y sale del cuerpo de la abeja por difusión (16).

Figura 10 Sistema respiratorio de la abeja



TraSc = sacos traqueales, Tra = tráqueas, Sp = espiráculos.

4.2.1.6.3 Circulatorio

Los espacios en el cuerpo de la abeja que no están ocupados por tejidos u órganos están bañados por la hemolinfa. Flotando en la hemolinfa hay numerosas células sanguíneas o hemocitos. Sin embargo, ninguno de ellos tiene como función el transporte de oxígeno. Su función es atacar, digerir partículas extrañas y la detoxificar. La hemolinfa se mantiene en circulación a través del cuerpo

mediante un vaso dorsal, u vaso ventral, la aorta, el corazón y los órganos pulsatorios de la cabeza y el tórax (16).

4.2.1.7 Glándulas de importancia

4.2.1.7.1 Cereras

Situadas en la parte posterior del abdomen (4to-7mo segmento) de las obreras. Se desarrollan al atrofiarse las hipofaríngeas (12-20 días de vida). Están encargadas de secretar la cera (palmitato de miricilo), que la obrera moldea para construir el panal (16).

4.2.1.7.2 De Nassanoff

Localizadas en la parte superior del abdomen de las obreras y la reina (7mo segmento). Estas glándulas están encargadas de secretar un olor característico para cada colonia, gracias al cual las abejas pueden reconocer a los miembros de su familia. Los zánganos carecen de estas glándulas, lo que les permite entrar a cualquier colmena (16).

4.2.1.7.3 Mandibulares

Desarrolladas en la reina y las obreras, pero rudimentarias en los zánganos. Permite a las reinas segregar la feromona real, la cual inhibe la construcción de celdas reales, estructura el vuelo de las obreras y atrae a los zánganos durante el vuelo de acoplamiento. En las obreras, la secreción de estas glándulas ayuda a amasar y preparar la cera con que se construyen los panales (16).

4.2.1.7.4 Post cerebral y torácica

Son glándulas salivares vinculadas al aparato digestivo, que segregan enzimas necesarias para la digestión (16).

4.2.1.7.5 Hipofaríngeas

Situadas en la cabeza, muy desarrolladas en la obrera, presentes en la reina y ausentes en el zángano. Segregan jalea real, utilizada para alimentar a las reinas durante toda su vida, y a las larvas de obreras y zánganos durante los primeros 3 días (16).

4.3 Nosemiasis y amebiasis de la abeja

4.3.1 Definición

Tanto la amebiasis como la nosemiasis son enfermedades parasitarias de las abejas adultas, causadas por el protozoo sarcodino *Malpighamoeba mellificae* (amebiasis) y por el hongo microsporidio *Nosema Apis* (nosemiasis), pudiendo actuar de forma individual o conjunta, siendo esto último lo más común (7,8).

4.3.2 Etiología

Malpighamoeba mellificae es un parásito protozoario que se caracteriza por la formación de quistes (estadios de resistencia), los cuales presentan una envoltura que los protege de condiciones adversas (físicas o químicas), son de forma redonda, de un tamaño aproximado de 5 a 8 micras de diámetro y pueden permanecer viables en los panales hasta por seis meses (7,8).

Nosema apis es un parásito microscópico perteneciente al Reino Fungi, clase Microsporidia. La forma vegetativa del parásito sólo se encuentra en el interior del tracto intestinal de las abejas enfermas y para su desplazamiento utiliza un largo filamento. Los esporos, elementos de conservación y de diseminación del parásito en el medio exterior, se presentan con forma oval, incoloros, refringentes, con unas dimensiones de 4,5 - 6,4 μ x 2,5 - 3 μ , y constituidos por una doble pared que encierran un protoplasma granuloso, que muestran los núcleos, y una vacuola de un filamento largo y fino, que aparece enrollado. Estos quistes pueden sobrevivir en los excrementos diarreicos durante más de dos años; en el suelo de 44 a 71 días, y en la miel durante dos a cuatro meses. Resisten el calor (60°C), y a la desecación dos meses a temperatura ambiente. Son destruidos por los rayos solares en 15 a 32 horas, por el ácido fénico al cuatro por ciento en 10 minutos, por vapores de ácido acético a 10^o- 15^o C en dos días y por los vapores de formol en 48 horas (13).

4.3.3 Distribución

Tanto *Malphigamoeba mellificae* como *Nosema apis*, se encuentran ampliamente diseminadas en Europa, Oceanía y América (14).

4.3.4 Hospedadores

La amebiasis por *Malphigamoeba mellificae* es exclusiva de las abejas obreras, siendo su mecanismo de difusión la trofalaxis (7,8).

La nosemosis afecta tanto a la reina como a las obreras y a los zánganos, influyendo de forma notable la edad, habiéndose demostrado que las abejas viejas (más de 15 días de edad) son más sensibles a la enfermedad y las menos receptivas son las que tienen menos de 10 días de vida, por una renovación más

rápida de las células epiteliales del intestino medio en el que se asienta el parásito (13).

4.3.5 Factores predisponentes

Entre los factores predisponentes para el desarrollo de la amebiasis por *Malphigamoeba mellificae* se encuentran todos aquellos que disminuyan la actividad de las pecoreadoras, provoquen enclaustramiento durante largo tiempo dentro de la colmena, disminuyan la calidad o cantidad de los alimentos o bien provoquen estrés. Entre estos factores encontramos inviernos largos y húmedos, periodos de mal tiempo que influyan en las floraciones, enjambrazón de la colonia, excesiva intervención del apicultor, presencia de plagas como *Galleria mellonea* (transporta mecánicamente las esporas), ubicación de la colmena en lugares húmedos, infecciones concomitantes, entre otros (13).

Habitualmente *Nosema apis* está presente en la mayoría de los apiarios sin causar daños serios. Se necesita de la contribución de factores como los anteriormente mencionados para que se transforme en un serio problema (21).

4.3.6 Transmisión

La incidencia de ambas parasitosis varía a lo largo del año. Se manifiesta por lo general a fines de invierno (debido al enclaustramiento y acúmulo de heces en la colmena) o a principios de verano, ya que este coincide con el inicio del periodo de crecimiento de la población, por lo que ocurren varios cambios dentro de la colmena: a) aumenta el metabolismo de las abejas; b) se incrementa el contenido rectal; c) ocurre una mayor actividad de limpieza de las celdas, preparándolas para la postura de la reina (13).

Todos estos eventos, conjuntamente con una parasitosis activa, favorecen el contagio de las abejas más jóvenes dedicadas a esta tarea. La reina y los zánganos pueden llegar a contagiarse al ser alimentados por abejas también dedicadas a la limpieza o por alimento contaminado (13).

Además, ambas parasitosis pueden transmitirse también por el uso de cuadros y materiales contaminados, de una colmena infestada, a una susceptible (13).

4.3.7 Ciclo

Los quistes de *Malphigamoeba mellificae* son ingeridos por las abejas al limpiar los panales y las paredes de la colmena o al consumir miel contaminada. Una vez ingeridos llegan al intestino, se ubican en el extremo posterior del ventrículo (sitio en que se acumulan partículas sólidas de alimento) e inician la fase vegetativa (germinación de una ameba flagelada). Posteriormente penetran en los tubos de Malpighi, donde viven intracelularmente, se alimentan, reproducen por medio de fisión binaria y se desarrollan hacia formas maduras (esporas). Alrededor de 3-4 semanas, la mayoría de las células del epitelio tubular son destruidas, liberándose los quistes, que pueden infestar otras células de los túbulos o pasar al intestino y luego al recto para ser excretados con las heces (7,8).

Fuera del organismo de la abeja, las esporas de *Nosema apis* se encuentran en estado latente, pero cuando son ingeridas con los alimentos o el agua que se han contaminado, germinan dentro del ventrículo o estómago verdadero de la obrera y se desarrollan en microorganismos móviles (planocitos), los cuales se multiplican e invaden el tejido epitelial que forma la pared interna del estómago.

El parásito sigue desarrollándose dentro de las células epiteliales, convirtiéndose en merócito, esporoblasto, esporas jóvenes y finalmente esporas maduras. Estas esporas son liberadas por citólisis, cayendo al estómago, pasando por el intestino y finalmente siendo liberadas en el recto a través de las heces. (18) Este proceso origina una gran destrucción de células epiteliales, al mismo tiempo que se produce una autoinfección en nuevas zonas de epitelio (13).

4.3.8 Patogenia

Luego del paso de *Malphigamoeba mellificae* desde los intestinos hacia los túbulos, se produce atrofia de estos últimos, impidiendo la correcta eliminación de los desechos de la hemolinfa, como el ácido úrico, lo que conlleva a una auto-intoxicación de la abeja (7,8).

Al invadir las células del intestino medio, *Nosema apis* provoca una perturbación funcional, la absorción de principios nutritivos se interrumpe y las abejas no digieren bien la miel y el polen, aunque consumen una mayor cantidad de alimento (hasta un 30 por ciento más). Si no se bloquea la multiplicación de esporas, la función digestiva se anula en 14 a 21 días. (Bruno, 2010) También se produce afección de distintas glándulas, tales como las hipofaríngeas (productoras de la jalea real) y las cerumígenas (productoras de cera). Además, se evidencia atrofia de las células de la ampolla rectal (implicadas en la reabsorción de agua), y en los ovarios de la reina (13).

4.3.9 Signos

Malphigamoeba mellificae produce un incremento en la mortalidad de abejas, y progresivo despoblamiento de la colmena. En algunos casos se puede observar abejas que se arrastran fuera de la colmena, sin poder volar.

Puede observarse diarrea abundante de coloración amarillo claro en la piquera, así como abdomen engrosado y distendido, lo cual repercute en la capacidad de vuelo de la abeja (17).

Nosema apis se manifiesta como un abdomen globoso y distendido por la acumulación de excrementos. No siempre se genera diarrea intensa; sin embargo, las deyecciones son de color marrón/verdoso claro y olor fétido. Las abejas presentan un aspecto brillante, una debilidad general y una imposibilidad de volar, a consecuencia de una compresión de los sacos aéreos. Se manifiestan temblores en las alas y parálisis completa (13).

4.3.10 Lesiones

En infecciones severas por *Malphigamoeba mellificae* los tubos de Malpighi se observan ligeramente abultados, con aspecto vítreo, color blanco lechoso y con zonas necróticas (17.)

La noseemiasis causa inflamación fuerte del intestino medio, el cual presenta una apariencia lechosa y acuosa. (17) Microscópicamente, los límites de los núcleos de las células epiteliales del intestino medio desaparecen, el protoplasma se vuelve heterogéneo y se vacuoliza. Las células de la ampolla rectal degeneran y se atrofian. El volumen de las glándulas hipofaríngeas, así como el diámetro de sus glóbulos y el tamaño de sus núcleos van decreciendo con el avance de la noseemiasis hasta llegar a una completa atrofia, que en las reinas llega hasta los ovarios, provocando disminución de la oviposición hasta alcanzar la esterilidad (castración parasitaria). Este proceso degenerativo en las reinas motiva que haya múltiples sustituciones de reinas en una misma temporada. La noseemiasis también destruye los elementos formes de la hemolinfa, lo que provoca una anemia pronunciada y un acortamiento de la vida productiva (1).

4.3.11 Efectos nocivos de la amebiasis

- La destrucción progresiva de las células epiteliales altera el proceso de digestión y absorción, provocando debilitamiento general y envejecimiento prematuro debido al agotamiento de las reservas corporales.
- Las abejas enfermas viven la mitad del tiempo que los individuos no afectados. Sin embargo, la velocidad de regeneración de la colonia no es proporcional a las muertes prematuras, produciéndose un desequilibrio en la población, dando como resultado una colonia debilitada y con poco desarrollo.
- Se produce la atrofia de las glándulas hipofaríngeas de las abejas nodrizas, lo cual provoca una reducción en la cría de hasta un 15% por falta de alimento larval (jalea real). Además, merma la calidad de la reina, su nivel de postura y por tanto el crecimiento de la colonia.
- En reinas muy infestadas se observa atrofia ovárica, interrumpiéndose la postura de huevos, impidiendo el crecimiento de la población de la colonia.
- Los zánganos enfermos sufren afección del aparato reproductor, generando fecundación deficiente de la reina.
- Disminución de la producción de miel en un 25%
- Aumento del consumo de miel (hasta un 50%), debido a la mala absorción de los nutrientes (5).

4.3.12 Diagnóstico

Para el diagnóstico de laboratorio de estas parasitosis, se realiza una disección del abdomen de la abeja adulta, para extraer los tubos de Malpighi, (proyecciones filiformes originadas en la unión del ventrículo con el intestino posterior) los cuales se observan directamente empleando un microscopio óptico a 400x. Los quistes y esporas se observarán fácilmente a través de las inflamadas y transparentes paredes de los tubos (7,8).

Si los tubos no están tan inflamados como para permitir la observación directa de los quistes y esporas, después de la disección los tubos deberán ser colocados sobre un portaobjetos con una gota de solución salina y presionados con un cubreobjetos, para posteriormente ser observados a 40 x y 100 x (7,8).

Otro método empleado para el diagnóstico es la maceración en un mortero del abdomen de 100 abejas conservadas en formol al 4%, agregando 2-3 ml de agua destilada. Posteriormente se toma una gota de esta solución y se observa al microscopio con 400 aumentos (7,8).

Asimismo, para el diagnóstico se puede utilizar las heces de la abeja, las cuales se diluyen en agua destilada. Las esporas de *Nosema apis* son ovoides, alargadas e incoloras, mientras que los quistes de *Malphigamoeba mellificae* son esféricos y su tamaño es el doble de las esporas de *Nosema apis* (7,8).

En todos los casos, la muestra para diagnóstico puede ser teñida con azul de metileno o nigrosina, para facilitar la observación de los quistes (13).

La interpretación de los resultados debe hacerse de acuerdo al siguiente cuadro:

Cuadro 1 Interpretación del grado de infestación de *Malphigamoeba mellificae* de acuerdo al recuento de quistes. (10)

Grado de infestación	Número de esporos/quistes observados
Normal	1-249
Semi-severo	250-500
Severo	>501

Cuadro 2 Interpretación del grado de infestación de *Nosema apis* de acuerdo al recuento de quistes (10).

Grado de infestación	Número de esporos/quistes observados
Normal	10'000-100'000
Ligera	100'000-600'00
Moderada	600'000-800'000
Semi-severa	800'000-1'000'000
Severa	>1'000'000

4.3.12.1 Diagnóstico diferencial

No deben confundirse los esporos de *Nosema apis* con levaduras y hongos que se tiñen con los colorantes utilizados. Tampoco con las gotas de grasa que son de talla irregular, redondeadas y que no se colorean con las tinciones usuales, aunque sí con el Sudán. Asimismo, es importante diferenciar entre sí los quistes de *Malphigamoeba mellificae* y las esporas de *Nosema apis* (21).

4.3.13 Pronóstico

La parasitosis por *Malphigamoeba mellificae* y *Nosema apis* es una enfermedad de gravedad variable, que se presenta frecuentemente como una parasitosis de poca gravedad y buen pronóstico si se aplica el tratamiento con fumagilina. Muchas colonias soportan el parasitismo sin mostrar síntomas, en la forma crónica. Sin embargo, el paso de la forma crónica a la forma aguda, en que mueren gran cantidad de abejas, puede producirse muy rápido en épocas de invierno (13).

4.3.14 Tratamiento

No existe un medicamento eficaz contra *Malphigamoeba mellificae*. La fumagilina utilizada contra la Nosemiasis no es eficaz contra esta enfermedad. Sin embargo, ya que estas parasitosis generalmente se presentan de forma conjunta, el uso de fumagilina siempre será útil ante una amebiasis, para reducir la exigencia inmunológica sobre el insecto. (7,8)

Para el tratamiento de la nosemiasis es efectivo rociar las calles de los panales con una solución de agua con azúcar o miel (2 partes de azúcar o miel por una parte de agua) a la que se le añade Fumidil B (fumagilina) en dosis de 102 mg por colmena, disueltos en 1 litro de jarabe (19).

La fumagilina es una sal soluble con poder antibiótico, que actúa sobre la forma vegetativa de *Nosema apis*, aun cuando se halle en el interior de las células del epitelio ventricular. Este tratamiento deberá ser aplicado 5 veces, a intervalo de una semana. Para evitar que el antibiótico pierda efectividad, debe prepararse únicamente la solución necesaria para cada tratamiento y suministrar el jarabe medicado a todas las colonias del colmenar, con lo cual inhibimos la excreción de esporos. Es importante señalar que el antibiótico es ineficaz aplicado en espolvoreo (5).

Sin embargo, a pesar de existir un tratamiento eficaz, es importante señalar que la legislación vigente no permite la utilización de antibióticos o sulfamidas para el control de la nosemosis por la ausencia de “Límites Máximos de Residuos” de la formulación existente para el control de esta enfermedad (13).

4.3.15 Prevención

- Evitar la enjambrazón

- Mantener una alimentación adecuada en las épocas que escaseen los recursos naturales.
- Eliminar las colmenas debilitadas.
- Limpiar cajas-bastidores y suelos cada vez que sean usados. Se recomienda una solución caliente de soda cáustica al 2%, y posteriormente dejar secar al sol las cajas. En cuanto a las paredes de madera de las colmenas, lo más efectivo y duradero es flamearlas. Los marquitos se deben sumergir en soluciones limpiadoras como ácido acético glacial al 80%.
- Para combatir de manera radical la amebiasis lo mejor es quemar los panales muy sucios de heces, juntamente con alimento y marquitos.
- Transferencia de las abejas a colmenas no contaminadas al inicio de verano.
- Cambiar el 33% de los cuadros de la cámara de cría por año para disminuir la contaminación interna.
- Evitar el exceso de humedad dentro de la colmena, así como los lugares húmedos y sombríos para la instalación del colmenar.
- Realizar cambio de reina cada dos años
- No manipular excesivamente las colmenas, especialmente en invierno.
- No efectuar tratamientos preventivos con antibióticos.
- Realizar por lo menos una vez al año (principios de verano) un muestreo de abejas del colmenar para su análisis en laboratorio.
- Reproducir las colmenas que muestren resistencia a la enfermedad (1).

4.4 Yogurt

4.4.1 Definición

De acuerdo al Codex Alimentarius, el yogurt es leche (usualmente de vaca) que ha sido fermentada con *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*

bajo condiciones definidas de tiempo y temperatura. Cada especie de bacterias estimula el crecimiento de la otra, y los productos de su metabolismo combinado dan como resultado la textura cremosa característica y el ligero sabor ácido. El yogurt también puede contener otros aditivos tales como sólidos lácteos, azúcares, frutas, etc. (22)

4.4.2 Procedimiento de elaboración

La fermentación natural o controlada de la leche produce ácido láctico. Existen un gran número de microorganismos que producen ácido láctico, siendo los principales: *Streptococcus lactis* y *Streptococcus cremoris*, que se encuentran en el 90% de los cultivos lácticos. Existen otros microorganismos por lo general heterofermentativos como *Leuconostoc dextranicum* y el *Leuconostoc citrivorum* que actúan sobre los citratos de la leche, produciendo compuestos como el diacetilo, ácido acético, ácido propiónico, etc. Para la elaboración del yogurt se requiere un litro de leche pasteurizada o pasada por tratamiento de UHT. Este litro deberá inocularse con la totalidad del sobre comercial, posteriormente deberá incubarse a 43°C durante 5-24 horas, hasta que toma la consistencia de coágulo, y el yogurt resultante se adhiera a las paredes del envase que lo contiene. A este yogurt inicial se le denominará cepa madre. Para la elaboración de los siguientes litros de yogurt, sólo será necesario un ml de la cepa madre por cada litro de leche a utilizar. El procedimiento de incubación para este yogurt será el mismo que el de la cepa madre (9.)

4.4.3 Componentes nutricionales del yogurt

A continuación se describirá la composición nutricional de un yogurt elaborado a partir de leche de vaca entera, pues dependiendo del tipo de leche, procedimiento de elaboración y tiempo de cultivo, estos componentes pueden variar.

Cuadro 3 Componentes nutricionales del yogurt (6)

Componente	Leche líquida entera	Yogurt de leche entera
Energía	65 Kcal	62 kcal
Proteína	3.5 g	3.0 g
Grasa	3.5 g	3.4 g
Carbohidratos	4.9 g	4.9 g
Calcio	118 mg	111 mg
Hierro	0.06 mg	Trazas
Magnesio	13 mg	-
Fósforo	93 mg	87 mg
Potasio	144 mg	132 mg
Sodio	50 mg	47 mg
Vitamina A	140 UI	140 UI
Vitamina D	41 UI	-
Vitamina E	0.13 UI	-
Vitamina C	1 UI	1 UI
Biotina	3.1 mg	1.2 mg
Niacina	0.92 mg	0.77 mg
Ac. Pantoténico	0.340 mg	0.313 mg
B1	30 mg	30 mg

B2	170 mg	160 mg
B6	40 mg	46 mg
B12	0.4 mg	0.1 mg

4.4.4 Efectos benéficos

- Aumenta el valor biológico (para el humano) de las proteínas lácteas.
- Favorece la absorción de minerales.
- Las bacterias ácido-lácticas presentes en el yogurt aumentan la síntesis intestinal de vitaminas del complejo B.
- El incremento en la síntesis de ácido láctico presenta un efecto bacteriostático sobre varias bacterias potencialmente patógenas presentes en el tracto gastrointestinal. Algunos de los efectos observados en medios a base de yogurt son:
 - Muerte de *Shigella* a las 2 horas, y de *Salmonella typhi* entre las 30-48 horas.
 - Cese de la multiplicación de *Escherichia coli*.
 - Pérdida de las propiedades patógenas de *Salmonella paratyphi*, *Vibrio comma* y *Neisseria meningitidis* (6).
- Mejora la tolerancia a la lactosa, ya que las bacterias ácido lácticas contienen lactasa, enzima que facilita la digestión de la lactosa, antes que cause malestar intestinal.
- Previene y mejora los síntomas de la diarrea, pues ayuda a restablecer la flora bacteriana perdida durante el tratamiento con antibióticos.
- Fuente importante de calcio y proteína: el calcio presente en el yogurt presenta una alta biodisponibilidad, pues se encuentra disuelto en el ácido láctico.

Asimismo, las proteínas, debido a que han sido parcialmente digeridas por las bacterias durante el proceso de cultivo, son fácilmente digeribles (22).

4.4.5 Acción probiótica del yogurt

4.4.5.1 Definición de probiótico

Los probióticos son microorganismos vivos que al agregarse como suplemento en la dieta, favorecen la digestión y ayudan al mantenimiento del equilibrio de la flora microbiana en el intestino (10).

Los cultivos probióticos más comúnmente utilizados son los lactobacilos, especialmente *L. casei*, *L. acidophilus* y *L. rhamnosus*. Estos son capaces de ejercer un fuerte efecto inhibitorio sobre cepas patógenas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis* (7,8).

4.4.5.2 Efectos de los probióticos

Beneficios inmunológicos

- Activa los macrófagos locales para aumentar la presentación de los antígenos a los linfocitos B y aumenta la producción de inmunoglobulina A secretoria (IgA) tanto local como sistémicamente.
- Modula los perfiles de citoquinas.
- Induce disminución de la respuesta a los antígenos de los alimentos (15).

Beneficios no inmunológicos

- Aumenta la digestibilidad de los alimentos y compite con los patógenos por los nutrientes.
- Altera el pH local para crear un ambiente desfavorable para patógenos.
- Produce bacterioquinas y compite por la disponibilidad de nutrientes contra otros microorganismos patógenos.
- Fagocita radicales superóxidos.
- Estimula la producción epitelial de mucina.
- Aumenta la función de barrera intestinal.
- Compite por adherencia con los patógenos.
- Modifica las toxinas de origen patógeno (15).

4.4.5.3 Antagonismo competitivo

Los probióticos están destinados a ayudar a la microbiota intestinal que se aloja en el organismo naturalmente. Se han utilizado algunos preparados de probióticos para evitar la diarrea provocada por antibióticos, o como parte del tratamiento para la disbiosis vinculada a los antibióticos. En general, la evidencia clínica más fuerte a favor de los probióticos está relacionada con su uso en mejorar la salud del intestino por medio de exclusión competitiva (11,12). El antagonismo o "exclusión competitiva" implica la colonización de un medio con bacterias benéficas (probióticas, generalmente lactobacilos) para que éstas compitan a diferentes niveles con las patógenas, de modo que se inhiba su desarrollo.

En relación a la flora bacteriana del intestino de la abeja (*Apis mellifera*), se ha demostrado que los huevos, larvas y abejas que recién emergen están libres de gérmenes, y la colonización del intestino ocurre cuando las larvas son alimentadas con jalea real por las abejas nodrizas. En relación a la naturaleza de

esta flora, el estudio de Audisio y Apella 2006, por medio de aislamientos directos del intestino de varias abejas, demuestra la presencia de al menos 100 cepas diferentes de lactobacilos capaces de inhibir fuertemente el desarrollo de *Staphylococcus aureus*, *Staphilococcus niger*, *Listeria* y *Paenibacillus larvae*. Estos resultados indican que *Lactobacillus* es un constituyente de la microbiota intestinal de la abeja melífera y que es posible la formulación de un suplemento probiótico capaz de inhibir al *Paenibacillus larvae* en la protección contra la loque americana. (Audisio y Apella, 2006). Es por ello que las investigaciones actuales están orientadas a la búsqueda de cepas que presenten muy buena colonización de las larvas y poder inhibitorio para la prevención de distintas enfermedades (11,12).

Este mecanismo de exclusión competitiva no sólo es eficaz para evitar la colonización por bacterias patógenas, sino que también es capaz de ejercer un efecto inhibitorio sobre la presencia de amebas, según el estudio de Barrón-González et al 2006, en relación a la acción inhibitoria de probióticos sobre el crecimiento axénico *in vitro* de *Entamoeba histolytica* (4).

4.4.5.4 Probióticos empleados en apicultura

Actualmente existe un producto denominado “Lactilli”, elaborado a partir de *Lactobacillus bulgaricus* (70%), *Streptococcus termophilus* (20%), *Lactobacillus acidophilus* (5%) y *Lactobacillus lactis* (5%), que busca, de manera natural y evitando el uso de químicos y antibióticos, inhibir el desarrollo de microorganismos dañinos y fortalecer el sistema inmune de las abejas (20).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos humanos

- Estudiante investigadora
- Estudiante epesista de Zootecnia
- Asesores profesionales (2 veterinarios y un zootecnista)
- Trabajador encargado de las colmenas en finca San Julián
- Técnico laboratorista del centro de capacitación apícola, mejoramiento genético y patología del programa MOSCAMED.

5.1.2 Materiales de laboratorio

- Mortero y pistilo
- 1 galón de agua destilada
- 90 Jeringas de 1 ml
- Pinzas de disección
- Tijeras
- Cámara de Neubauer
- Contador manual
- Microscopio
- Lapicero
- Hoja de registro de datos (cuadro 5)
- 112 litros de leche descremada fluida, UHT
- 4 quintales de azúcar
- 1 caja de guantes de látex
- Embudo plástico
- Termómetro

- Ollas de aluminio, con capacidad para 10 y 8 lts.
- Incubadora
- 1 Bata de laboratorio
- 1 cámara fotográfica

5.1.3 Materiales de campo

- 30 Frascos de vidrio
- 2 galones de alcohol etílico al 70%
- 1 par de guantes de cuero
- Overol blanco
- 1 par de Botas de hule
- Bebederos tipo Doolite
- 1 Ahumador
- 1 Velo
- 2 Hieleras
- Masking tape
- Marcador permanente
- Balanza de reloj
- Rasqueta
- 1 Jeringa de 500 ml
- 3 galones de plástico
- 16 bolsas de hielo sintético

5.1.4 Recursos biológicos

- 30 colmenas pertenecientes a la Finca San Julián
- Liofilizado de cepas de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*

5.2 Metodología

5.2.1 Área de estudio

El estudio se realizó en el apiario de la Finca San Julián, propiedad de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

La Finca se ubica en el municipio de Patulul, departamento de Suchitepéquez, a 126.5 Km de distancia de la capital, sobre la carretera interamericana al pacífico. Geográficamente, se ubica a 14 25´16" latitud Norte y 91 09´36" Longitud Oeste, a una altura de 3100 pies sobre el nivel del mar (De la cruz, 1982). Posee una temperatura media anual de 23.8 hasta 30 grados centígrados, humedad relativa de 74%, una precipitación pluvial de 3,559 mm distribuida a lo largo de todo el año principalmente en los meses de abril a noviembre. Se caracteriza por tener una zona de vida de bosque húmedo subtropical cálido. Los suelos son bien drenados, textura franco arenosa, de color oscuro y de ph 6.1.

5.2.2 Diseño del estudio

En el presente estudio se evaluó el efecto de la alimentación con yogurt elaborado a partir de cepas de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, en el conteo de quistes amebianos en colonias de abejas (*Apis mellifera*).

El diseño del estudio fue al azar, con 2 tratamientos y 15 repeticiones por cada tratamiento.

5.2.3 Tratamientos

Se utilizaron 30 colmenas pertenecientes a la Finca San Julián. Se asignó un número a cada colmena y, completamente al azar, se seleccionaron 15 colmenas que pertenecieron al tratamiento 1 (grupo control), el cual recibió alimentación artificial corriente a base de jarabe de azúcar (2 partes de agua por una de azúcar, sin yogurt), y 15 colmenas que fueron parte del tratamiento 2 (grupo experimental), al cual se administró los días martes y viernes, a las 7:00 am, 1 litro (por colmena) de una solución compuesta por 1.48 lbs de azúcar (670 ml) y 334 ml de yogurt, es decir, una proporción de 2 partes de azúcar por cada parte de yogurt, por medio de un bebedero tipo Doolite.

El volumen de alimentación artificial a proporcionar se determinó en base a la cantidad recomendada para las colmenas en periodos de lluvia, que es de 8lts de jarabe/colmena/mes.

5.2.4 Preparación del yogurt en laboratorio

El yogurt se elaboró a partir del liofilizado comercial “DelvoYog CY-346 DSL”, el cual está compuesto por *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* en una proporción de 1:1. Cada semana se elaboraron 11 litros de yogurt, a partir de 14 lts de leche descremada fluida UHT, en el laboratorio de Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Una vez preparado, se colocó el yogurt en galones de plástico que se almacenaron en refrigeración hasta que fueron transportados en una hielera a la Finca San Julián, donde se almacenaron en la refrigeradora del comedor.

5.2.5 Duración del estudio

El estudio tuvo una duración de 2 meses (20 de agosto al 20 de octubre de Octubre 2012).

5.2.6 Colecta de las muestras

Durante la fase experimental se realizaron 4 muestreos. El primero antes comenzar a administrar el yogurt (para determinar el grado de infestación de las colmenas), el segundo y tercer muestreos se realizaron al concluir el primer y segundo mes de la administración de yogurt, respectivamente. Para cada muestreo se tomó una muestra de 25-30 obreras por cada una de las colmenas del estudio. Se colocó esta muestra, debidamente identificada, en frascos de vidrio, con 40 ml de alcohol etílico al 70%. Posteriormente las muestras fueron transportadas al laboratorio de parásitos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, donde se realizó el conteo total y diferencial de quistes amebianos, empleando el procedimiento que se detalla a continuación.

5.2.7 Análisis de laboratorio

Las muestras se procesaron en el laboratorio de Parasitología, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Cada muestra fue procesada de la siguiente manera:

1. Mediante el uso de pinzas de disección y tijeras, se obtuvo el abdomen de 25-30 abejas.
2. Empleando un mortero y pistilo, se maceraron los abdómenes, junto con 30 ml de agua destilada.
3. Con ayuda de una jeringa con aguja, se tomó 1 ml de la mezcla del mortero. Luego se colocó una gota de esta mezcla en una cámara de Neubauer, en

la cual se realizó el conteo total y diferencial (*Nosema* o *Malphigamoeba*) de quistes.

4. El conteo de quistes se realizó en un microscopio, empleando el objetivo 40x o seco fuerte, empleando los 4 cuadros (A, B, C, D,) corrientemente utilizados para el conteo de glóbulos rojos. El número de quistes registrados para *Malphigamoeba mellificae* no debió multiplicarse por ninguna constante, pues constituye un valor absoluto, mientras que el número de esporas observado de *Nosema* debió multiplicarse por 50'000, de acuerdo al procedimiento reportado por el Manual de MOSCAMED para el conteo total y diferencial de quistes amebianos.

5.2.8 Registro de datos de laboratorio

Para el registro de los resultados obtenidos en el laboratorio se utilizó el cuadro 5 colocada en la sección de anexos.

5.2.9 Análisis estadístico

La variable a analizar fue el promedio de esporas y quistes de *Nosema apis* y *Malpighamoeba mellificae*, respectivamente, por tratamiento. Para el análisis de los datos se utilizó la prueba de T student para 2 muestras independientes, con $\alpha = 0.05$.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El muestreo inicial permitió corroborar que la cantidad promedio de esporas de *Nosema apis* del grupo experimental y el grupo control eran similares: 353,000 y 410,000, respectivamente. La misma observación pudo realizarse en el caso de *Malpighamoeba mellificae*, en la que el grupo experimental presentó un promedio de 30.87 quistes y el grupo control un promedio de 32.07 quistes.

En el grupo experimental la cantidad promedio de quistes y esporas, tanto de *Nosema apis* como de *Malpighamoeba mellificae* fue reduciéndose conforme avanzaba el período de administración de yogurt. Al inicio del experimento el conteo promedio de *Malpighamoeba mellificae* fue de 32.07, disminuyendo hasta 7.33 al finalizar la fase experimental. En el caso de *Nosema apis*, el conteo promedio inicial fue 353,333.33, y al finalizar la fase experimental fue 266,666.67. (Ver figuras 11 y 12).

El grupo control mostró un incremento en el promedio de quistes de *Malpighamoeba mellificae*, finalizando el experimento con un promedio de 46.80, cuando inicialmente presentaba un promedio de 30.87. Caso contrario se presentó con *Nosema apis*, en la que se observó una disminución en la cantidad promedio de esporas conforme avanzaba el experimento; pues el grupo control finalizó con un promedio de 296,666.67, habiendo iniciado con un promedio de 410,000 (ver figuras 11 y 12).

Cuadro 4 Promedio de Quistes de *Nosema apis* y *Malpighamoeba mellificae* por tratamiento y muestreo.

	Muestreo 1		Muestreo 2		Muestreo 3	
Tratamiento	<i>Nosema apis</i>	<i>Malpighamoeba</i>	<i>Nosema Apis</i>	<i>Malpighamoeba</i>	<i>Nosema apis</i>	<i>Malpighamoeba</i>
Control	410000.00	30.87	286666.67	43.33	296666.67	46.80

Experimental	353333.33	32.07	313333.33	8.93	266666.67	7.33
--------------	-----------	-------	-----------	------	-----------	------

El segundo muestreo se realizó 30 días después de haberse iniciado la alimentación del grupo experimental con yogurt. Los resultados de la prueba de T Student indican que no existe diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre el promedio de esporas de *Nosema apis* para ambos grupos. Sin embargo, para *Malpighamoeba mellifcae*, sí existe diferencia significativa ($p < 0.05$) ya que el grupo experimental presentó un promedio de 8.93 quistes, a diferencia del grupo control, el cual presentaba un promedio de 43.33 quistes.

El tercer muestreo se realizó 60 días después de haberse iniciado la administración de yogurt al grupo experimental. Los resultados de la prueba de T indican que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el promedio de esporas de *Nosema apis* para ambos grupos ($p > 0.05$). Sin embargo, para *Malpighamoeba mellifcae*, si existe diferencia significativa, presentando el grupo experimental un promedio de 7.33 quistes, a diferencia del grupo control, el cual presentaba un promedio de 46.80 quistes.

El efecto del yogurt sobre la disminución del conteo de quistes de *Malpighamoeba mellifcae* en el grupo experimental puede explicarse por medio de la exclusión competitiva, la cual es un efecto que ejercen las bacterias probióticas como *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* (cepas a partir de las cuales se elaboró el yogurt) sobre las amebas intestinales, alterando el pH local, produciendo bacterioquinas, limitando la disponibilidad de nutrientes para los patógenos y compitiendo por espacio físico en el intestino, inhibiendo así el desarrollo de las amebas (11,12).

Los promedios mensuales de esporas de *Nosema apis* en el grupo experimental disminuyeron conforme avanzaba la administración del yogurt. Sin

embargo, esta disminución, al ser comparada con los promedios mensuales del grupo control, no fue significativa, lo que indica que las cepas empleadas en el yogurt no tienen efecto importante en la sobrevivencia de *Nosema apis* a nivel intestinal. Sin embargo, es importante recordar que las abejas pueden soportar grandes cargas de *Nosema apis* (conteos de hasta 800,000 quistes) sin manifestar signos clínicos, a diferencia de *Malpighamoeba mellificae*, caso en que 250 quistes son suficientes para provocar signos clínicos (10).

La disminución del promedio de esporas de *Nosema apis*, paralela al incremento de quistes de *Malpighamoeba mellificae* en el grupo control (ver gráficas 1 y 2), puede explicarse como resultado de una competencia interespecífica a nivel intestinal, en la que 2 especies (*Nosema apis* y *Malpighamoeba mellificae*) compiten por nichos similares. Pero que al entrar el invierno, el estrés generado por la disminución en la disponibilidad de alimento, inundaciones, etc., favorece la multiplicación de *Malpighamoeba mellificae*, y con ello el desplazamiento parcial de *Nosema apis*. Sin embargo, es importante tener en cuenta que en el caso de las abejas, estas amebas siempre podrán coexistir, pues sólo compiten por nichos similares a nivel intestinal. Cada una es capaz de multiplicarse de forma independiente a nivel del estómago verdadero en el caso de *Nosema* y túbulos de Malpigio en el caso de *Malpighamoeba* (7,8).

Aunque el yogurt constituye una alternativa muy onerosa y complicada para el pequeño productor apícola, la demostración de que cepas como *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* son probióticos capaces de disminuir significativamente la presencia de *Malpighamoeba mellificae* en las colonias, es información de gran utilidad para las empresas interesadas en la elaboración de probióticos de uso apícola, los cuales contribuirían a la producción de miel y subproductos orgánicos, libres de antibióticos nocivos como la Fumagilina, corrientemente usada para tratar la amebiasis (19).

Aunque no era objetivo de esta investigación, se realizó el hallazgo que la alimentación del grupo experimental con yogurt incrementó en 31.72 lts la primera cosecha de miel del 2013 (siendo 22.7 lts en 2012 y 54.4 lts en 2013). Esto puede atribuirse tanto a la reducción del promedio de quistes amebianos como al alto contenido proteico del yogurt 3g por cada 250 ml (6).

Aunque tampoco era objetivo de la investigación, se observó que el yogurt endulzado con azúcar morena en una proporción de 1:1 tiene buena aceptación por las abejas, puesto que un litro de solución era consumido por una colmena en un promedio de 45 minutos-1 hora.

Figura no.11 Promedio de quistes de *Nosema apis* por tratamiento y muestreo

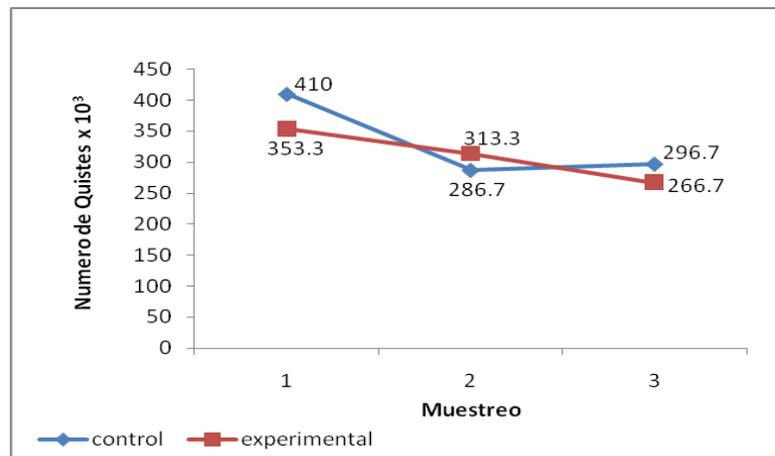
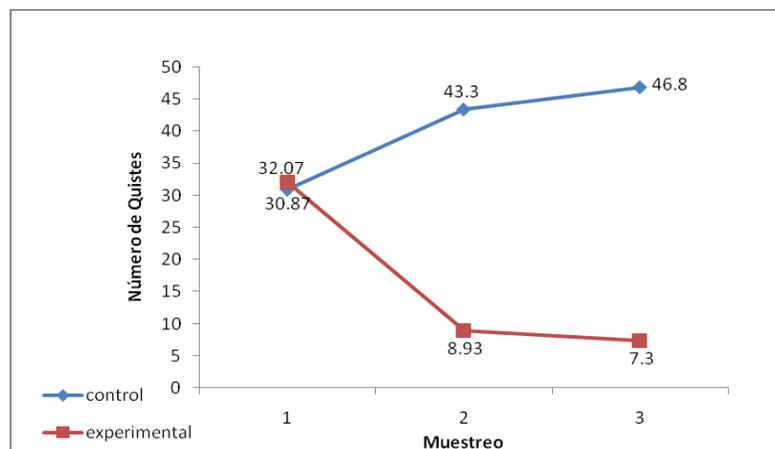


Figura no.12 Promedio de quistes de *Malpighamoeba mellifica* por tratamiento y muestreo.



VII. CONCLUSIONES

- El yogurt elaborado a partir de cepas de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, endulzado con azúcar morena, en una proporción de 1:1, es capaz de reducir de forma estadísticamente significativa el conteo de quistes de *Malpighamoeba mellificae* en las colonias de abejas (*Apis mellifera*) a los 30 y 60 días.
- El yogurt elaborado a partir de cepas de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, endulzado con azúcar morena, en una proporción de 1:1, no tiene efecto estadísticamente significativo sobre el conteo de esporas de *Nosema apis* en las colonias de abejas (*Apis mellifera*).a los 30 y 60 días.

VIII. RECOMENDACIONES

- Continuar investigando sobre el uso de probióticos tales como *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus lactis* en apicultura, de modo que se pueda desarrollar un liofilizado comercial efectivo para prevenir la amebiasis de la abeja (*Apis mellifera*).
- Utilizar el yogurt a base de leche descremada de vaca endulzado con azúcar morena en una proporción de 1:1 como profiláctico para la amebiasis y alimento para las colonias de abejas (*Apis mellifera*) durante la época de invierno.
- Evaluar el efecto probiótico residual del yogurt mediante un muestreo a los 90 días después de iniciada la administración del mismo, para determinar si todavía existe disminución significativa sobre el conteo de quistes de *Malphigamoeba mellificae* y esporas de *Nosema apis* las colonias de abejas (*Apis mellifera*).
- Realizar un análisis costo-beneficio acerca de la administración de yogurt durante el invierno a colonias de abejas (*Apis mellifera*), en comparación con la cantidad de miel y subproductos obtenidos durante la cosecha.

IX. RESUMEN

Matricardi Ortiz, L. 2013. Efecto de la alimentación con yogurt sobre el conteo de quistes amebianos de *Malphigamoeba mellificae* y esporas *Nosema apis* en la abeja (*apis mellifera*). Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de medicina veterinaria. 57 p.

El presente trabajo utiliza yogurt como medio para enriquecer la flora intestinal de las abejas con *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, para que, por medio de exclusión competitiva, se disminuya el conteo de quistes y esporas. Se utilizaron 30 colmenas pertenecientes a la finca San Julián, éstas se dividieron al azar en 2 grupos, el control (tratamiento 1) y el experimental (tratamiento 2). El grupo experimental recibió durante 2 meses, 2 litros de yogurt/semana/colmena, endulzado con azúcar morena en una proporción de 1:1, por medio de bebederos Doolite. El grupo control se alimentó con jarabe de azúcar (1 parte de agua por una de azúcar) con la misma frecuencia, cantidad y modalidad que el grupo experimental. Se realizaron 3 muestreos, el primero al inicio del experimento para determinar la carga parasitaria de todas las colmenas, el 2do y 3ero al concluir los 30 y 60 días de la administración de yogurt, respectivamente. La variable a analizar fue el promedio de quistes por tratamiento, y la prueba empleada fue la de T student para dos muestras independientes. Esta prueba determinó que existe diferencia significativa en el conteo de quistes de *Malpighamoeba mellificae* (desde el primer mes de la administración del yogurt) entre el grupo control y el experimental, siendo el de este último más bajo. Sin embargo, no existió diferencia significativa en el conteo de esporas de *Nosema apis* entre ambos grupos.

SUMMARY

Matricardi Ortiz, L. 2013. Effect of the use of yogurt over the amount of amebian cysts of *Malpighamoeba mellificae* and *Nosema apis* spores in bees (*apis mellifera*). Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Faculty of veterinary medicine . 57 p.

The present thesis uses yogurt as a vehicle to provide the bee's intestinal flora with two probiotics: *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*, in order to exclude spores and cysts of *Nosema Apis* and *Malpighamoeba mellificae*. Thirty hives of "Finca San Julián" were used in the experiment; they were randomly divided in 2 groups, the control group (treatment no.1) and the experimental group (treatment no.2). The experimental group received over 2 months, 2 liters of yogurt/week/hive, sweetened with brown sugar in a 1:1 proportion, using a "Doolite sprue", while the control group was being fed only with sugar syrup (made with water and sugar in a 1:1 proportion), in the same amount, frequency and way that the experimental group. Three samplings were done, the first, at the beginning of the experiment to determinate the amount of parasite cysts and spores in the 30 hives, the second and the third samplings were done at the end of the first and the second month, respectively, of the administration of the yogurt. The analyzed variable was the average of cyst and spores per treatment, and the statistical test used was "T student" for two independent samples. The test concluded that there was a significant difference between the average of cyst of *Malpighamoeba mellificae* in the control and the experimental group (these one lower); although, there was no significant difference between the average of spores of *Nosema apis* between the two groups.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Apilab. 2011. Parasitosis internas (amebiasis). Consultado 12 nov. 2011. Disponible en <http://www.apilab.com/es/pdf/otra/AMEBIASIS.pdf>
2. Arzú de Guise, E. 2010. Evaluación de 3 concentraciones de Jacaranda (*Jacaranda mimosifolia*) como tratamiento contra la amebiasis (*Malphigamoeba mellificae*) de la abeja (*Apis mellifera*). Tesis Lic. Med. Vet. Guatemala, GT;USAC/FMVZ. 27 p.
3. Audisio, M.; Apella, M. 2006. Caracterización de cepas de *Lactobacillus* aisladas del intestino de la abeja *Apis mellifera* (en línea). Consultado 18 nov. 2011. Disponible en [http://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?key words=&id=&id=05448&inst=yes&congresos=yes&detalles=yes&congr_id=220149](http://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?key%20words=&id=&id=05448&inst=yes&congresos=yes&detalles=yes&congr_id=220149)
4. Barrón et al. 2006. Acción inhibitoria de probióticos sobre el crecimiento axénico in vitro de *Entamoeba histolytica* (en línea). Consultado 18 nov. 2011. Disponible en http://www.respyn.uanl.mx/vii/2/articulos/accion_inhibitoria.htm
5. Bruno, G. 2010. Enfermedades de las abejas (en línea). Consultado 12 nov. 2011. Disponible en <http://www.imkerei.com/articulos/nosemosis.htm>
6. Bueno, M. 2009. El yogurt, una antigua tradición (en línea). Consultado 6 nov. 2011. Disponible en <http://www.biosalud.org/archivos/noticias/4el%20yogur%20una%20antigua%20tradicion.pdf>
7. Calderón, A.; Chavez, G.; Fallas, N. 2009. Amebiasis en colonias de abejas melíferas (en línea). Consultado 10 nov. 2011. Disponible en http://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:ZlrNjAWnRicJ:scholar.google.com/+amebiasis+de+la+abeja&hl=es&as_sdt=0,5

8. Calderón, O.; Chaves, C.; Padilla, C.; Villalobos, L.; Arias, M. 2007. Evaluación del efecto del cultivo probiótico *Lactobacillus rhamnosus* adicionado a yogurt natural y con probióticos comerciales sobre poblaciones de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis* (en línea). Consultado 18 nov. 2011. Disponible en file:///C:/Users/Lucy/AppData/Local/Temp/scielo.php.htm
9. Chávez, J. 2010. Ficha técnica de elaboración de yogurt (en línea). Consultado 6 nov. 2011. Disponible en <http://www.infolactea.com/descargas/biblioteca/120.pdf>
10. Ibarra, C. 2012 Centro de capacitación apícola, mejoramiento genético y laboratorio de patología de Samalá, Comisión MOSCAMED. Retalhuleu, Guatemala. Comunicación personal.
11. Hernández, M. 2010. Probiótico/definición (en línea). Consultado 18 nov. 2011. Disponible en <http://es.mimi.hu/salud/probiotico.html>
12. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, AR). 2002. Apicultura-generalidades (en línea). Consultado 15 abr. 2011. Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/concordia/actividad/apicultura/apicultura-general.htm>
13. _____. 2004. Loque americana de las abejas: tratamiento y prevención (en línea). Consultado 18 nov. 2011. Disponible en http://www.vet-uy.com/articulos/artic_apic/001/ap001.htm
14. Llorente, J. 2010. Nosemosis (en línea). Consultado 12 nov. 2011. Disponible en <http://www.info-bee.com.ar/files/docs/nosemosis.pdf>

15. Mace, H. 1983. Manual completo de apicultura. México, Editorial continental. 187 p.
16. Organización mundial de gastroenterología. 2008. Probióticos y prebióticos (en línea). Consultado 18 nov. 2011. Disponible en http://www.worldgastroenterology.org/assets/downloads/es/pdf/guidelines/19_probioticos_prebioticos_es.pdf
17. Pesante, D. 2010. Anatomía de la abeja (en línea). Consultado 10 ene. 2012. Disponible en <http://academic.uprm.edu/dpesante/4016/03-anato.PDF>
18. Prost, P. 1981. Apicultura. España. Editorial Mundi prensa. 179p.
19. Root, A. 1959. ABC y XYZ de la apicultura. 18ava ed. Argentina. Editorial edicial. 203 p.
20. Sanidad apícola. 2009. Nosemosis (en línea). Consultado 12 nov. 2011. Disponible en <http://www.apinetla.com.ar/ar/sanidad/nosema.htm>
21. Trakia Natural. Lactilli para abejas (en línea). Consultado 12 nov. 2011. Disponible en <http://www.probiosalud.com/probioticos-para-animales/74-lactilly-para-abejas-250-gr.html>
22. Valega, O. 2010. Nosemosis (en línea). Consultado 12 nov. 2011. Disponible en <http://www.imkerei.com/articulos/nosemosis.htm>
23. Villalobos, C. 2010. El yogurt, un aliado de la salud (en línea). Consultado 6 nov. 2011. Disponible en http://www.dospinos.com/images/dospinos/principal/EL_YOGURT3.pdf

XI. ANEXOS

Cuadro 5 Registro de resultados de laboratorio

		Cantidad de quistes	
Muestreo	No. Colonia	Nosema	Malphigamoeba
Inicial	1		
	2		
	3		
1ero	1		
	2		
	3		
2do	1		
	2		
	3		