

T-UES
1304
P363c
13100137



**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**



**“CONTROL DEL LOQUE EUROPEO CON HIDROXIDO DE
CALCIO EN CONDICIONES DE LABORATORIO”**

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:
PATRICIA DEL CARMEN PEÑA PEREZ
WILFREDO MARTINEZ CASTRO
KEVIN ORLANDO MANZANARES VELADO**

**REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE:
INGENIERO AGRÓNOMO**

CIUDAD UNIVERSITARIA, ENERO DEL 2000.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

Rector : Dra. María Isabel Rodríguez

Secretario General : Lic. Lidia Margarita Muñoz Vela.

FACULCULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

DECANO : Ing. Agr. Francisco Lara
Acencio.

SECRETARIO : Ing Agr. Jorge Alberto Ulloa.

Jefe del departamento de zootécnia

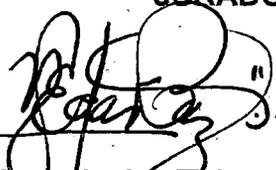

Ing. Agr.: Msc. Juan Francisco Alvarado Panameño

ASESORES:


Lic. Dora Alicia Cardona


Ing. Agr. Roberto Armando Perdomo B.

JURADO EXAMINADOR :


Ing Agr. Msc. Napoleón-Edgardo Paz Quevedo


Ing. Agr. Carlos René Platero Montoya


Dr. Orlando Alberto Silva Hernández

RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo en los meses de mayo - agosto/99 y trata sobre la evaluación de la solución de hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) en diferentes concentraciones para el control del complejo de bacterias causales del loque europeo en abejas melíferas (*Apis mellifera*).

El estudio se realizó en el laboratorio central de la Red Nacional de Laboratorios de bacteriología de la Dirección General de Sanidad Vegetal y Animal, del Ministerio de Agricultura y Ganadería, ubicado en el cantón el Matazano, municipio de Soyapango, Departamento de San Salvador; a 8 km al este de San Salvador, a 650 m.s.n.m., con coordenadas: 13°41'12" Latitud Norte y 89°08'16" Longitud Oeste.

La fase de laboratorio se inició el 14 de mayo y finalizó el 27 de agosto de 1999, con una duración de 14 semanas. Se utilizaron 420 cajas petri en las que cada caja representa una unidad experimental.

El diseño estadístico utilizado fue completamente al azar con 6 tratamientos y 7 repeticiones por tratamiento, cada

repetición compuesta por dos observaciones: T₁=testigo (sin aplicación de producto); T₂=0.10g (Ca(OH)₂)/100 ml de agua; T₃=0.15g(Ca(OH)₂)/100 ml de agua; T₄=0.20g(Ca(OH)₂)/100 ml de agua; T₅=testigo relativo, producto comercial 2.5 g trisulfavit/100 ml de agua; T₆= testigo relativo producto comercial 2.5 g Terrasul-A/100 ml de agua.

El factor en estudio fue: El hidróxido de calcio en cantidades 0.10, 0.15, 0.20 g/100 ml de agua.

La variable evaluada fue: la cantidad de colonias aparecidas por tratamiento, las cuales fueron cuantificadas 24 horas después en un cuenta colonias.

Metodología del laboratorio: A las muestras recolectadas de tamaño 10x10cm se les realizó la prueba del palillo y las que salieron positivas, se les realizó la prueba de gota colgante en el laboratorio, para confirmar la presencia de dicha enfermedad.

En el análisis estadístico se encontraron diferencias al 5% de significancia, lo que demuestra que los tratamientos producen algún efecto sobre el desarrollo de colonias del complejo de bacterias causales del loque europeo. Los mejores resultados se obtuvieron con el T₃ = 0.15 g (Ca(OH)₂/100 ml de agua) y el T₆ producto comercial terra-sul-A

2.5 g/100 ml de agua. Lo que respecta a la variable evaluada, el testigo fue el de mayor crecimiento de colonias con una media 1372.86 comparado con los demás tratamientos en estudio: $T_2 = 466.14$, $T_3 = 179.57$, $T_4 = 322.50$, $T_5 = 222.29$ y $T_6 = 111.57$.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresarles nuestros sinceros agradecimientos :

❖ A NUESTROS ASESORES.

Lic. Dora Alicia Cardona e Ing. Agrónomo Roberto A. Perdomo.

❖ Al Ing. Mauricio Díaz Paniagua.

❖ Al Sr. Decano de la Facultad de Ciencias Agronómicas:

Ing. Agr. Francisco Lara Ascencio.

❖ AL JURADO EXAMINADOR:

Dr. Orlando Alberto Silva Hernández, Ing. Agr. Carlos René Platero Montoya e Ing. Agr. Napoleón Edgardo Paz Quevedo.

❖ AL DOCENTE DEL DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA:

Ing. Agr. Mario Bermudez.

❖ AL DOCENTE DEL DEPARTAMENTO DE PROTECCION VEGETAL:

Ing. Agr. Gustavo Henríquez.

❖ AL ING. AGRONOMO:

Walter Alexander Mejía Muñoz.

❖ A LOS SEÑORES:

Sr. Francisco Vargas Osorio.

Sr. Juan (empleado del MAG).

Sra. Ana María de Saz, por su colaboración.

DEDICATORIA

- ❖ A MI SEÑOR Y SALVADOR JESUCRISTO:
Por haberme enseñado el camino a seguir y haberme dado razón para vivir.

- ❖ A MI MADRE:
María Elba, por su ayuda y por todo su amor.

- ❖ A MI ABUELA:
Rafaela Pérez (Q.D.D.G.), por su apoyo incondicional durante toda su vida.

- ❖ A MIS HERMANAS:
Ana Cecilia y Gloria Marina, por darme todo su apoyo y comprensión; y a mis demás hermanos: Roberto, Carina, y Oscar.

- ❖ A TODOS MIS SOBRINOS.

- ❖ A MI NOVIO.
Walter Alexander, por haberme brindado mucha comprensión y amor.

- ❖ A MIS COMPAÑEROS DE TESIS:
Kevin y Wilfredo.

- ❖ A MIS AMIGAS.
Daysi, Lorena y Yanira.

Patricia.

DEDICATORIA.

❖ A DIOS TODOPODEROSO:

Por haberme dado la oportunidad de coronar esta carrera.

❖ A MIS PADRES:

Rosa Hilda Castro y Juan Nestor Martínez, por el amor que brindaron y su apoyo incondicional para concluir mis estudios. Muchas Gracias.

❖ A BUELOS:

Carlós Castro, Adela de Castro (Q.E.D.D.) y Sabina de León; por el cariño y amor que siempre me han demostrado.

❖ A MIS HERMANOS:

Milton Nestor, Alcira Emeli y Margarita, por todo el apoyo y comprensión.

❖ A MIS SOBRINOS:

Naysi, Vanesa, Gabriela, Adela y Kevin.

❖ A NANCY TANYA, por su amor y comprensión en todo momento.

❖ A MIS COMPAÑEROS DE TESIS:

Patricia y Kevin.

❖ A MIS TIOS, PRIMOS Y AMIGOS.

Wilfredo Martínez

DEDICATORIA.

- ❖ A DIOS:
Por haberme brindado vida y fe para alcanzar las metas planteadas.
- ❖ A MI MADRE:
Mercedes del Carmen Velado, por su amor y apoyo incondicional. Gracias.
- ❖ A MI ABUELA:
María Teresa Velado, por su cariño y sus consejos tiempo.
- ❖ A MIS HERMANOS:
Alba Margarita y Paul Armando, por acompañarme en todo momento.
- ❖ A MI ESPOSA E HIJO:
Graciela Jackeline y Kevin Eduardo, por darme su amor y comprensión.
- ❖ A MIS MEJORES AMIGOS:
Roberto Perdomo, Francisco Chapoya, Sonia Escobar, Tania Zepeda, Norma Cabrera, Astrid; por compartir penas y alegrías.
- ❖ A MIS COMPAÑEROS DE TESIS:
Patricia y Wilfredo, por su amistad y paciencia.
- ❖ A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS:
Lupita, Karen, Hugo, Félix, Julio, Katia, Pedro, Maverick, Carlos Alvares, Carlos Osmin, Oscar Barrera, Julio Alvarenga, Fabián, Aníbal, Daysi Villanueva, Rodolfo, Omero Valiente, Carmen María, y demás compañeros; que de una u otra manera compartieron momentos alegres.

Kevin Manzanares.

INDICE.

<i>Contenido</i>	<i>Página</i>
RESUMEN	iv
AGRADECIMIENTOS	vii
INDICE DE CUADROS	xiv
INDICE DE FIGURAS	xv
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION DE LITERATURA	3
2.1. Apicultura	3
2.1.1. Orígenes de la apicultura	3
2.1.2. Importancia de la apicultura en El Salvador	3
2.2. Enfermedades de las abejas	4
2.2.1. Loque europeo	5
2.2.1.1. Etiología.....	5
2.2.1.2. Epizootiología.....	6
2.2.1.3. Patogenia.....	7
2.2.1.4. Sintomatología.....	8
2.2.1.5. Propagación.....	10
2.2.1.6. Diagnóstico.....	11
2.2.1.7. Prevención.....	12

2.2.1.8. Tratamiento	13
2.3 Antibióticos	15
2.3.1 Generalidades	15
2.3.2 Mecanismo de acción	16
2.3.3 Producción de antibiótico	17
2.3.4 Antibióticos naturales	19
2.4 Hidróxido de calcio	19
2.4.1 Generalidades y clasificación	19
2.4.2 Características químicas	20
2.4.3 Procedimiento de obtención	20
2.4.4 Mecanismo de acción	21
2.4.5 Efecto de hidróxido de la cal en algunos géneros de bacterias.	22
2.4.6 Usos del hidróxido de calcio	23
2.4.6.1 Algunas de sus aplicaciones más importantes.....	23
2.4.6.2 Aplicaciones en la Agricultura ...	24
2.4.7 Uso empírico de la cal en el control de la Loque europeo	25
3. MATERIALES Y METODOS	26
3.1 Ubicación geográfica	26
3.2 Duración del ensayo	26

3.3 Metodología	26
3.3.1 Localización del experimento	27
3.4 Fase de Laboratorio	27
3.4.1 Prueba del palillo	27
3.4.2 Técnica de la gota colgante	28
3.4.3 Siembra de la bacteria	29
3.4.4 Técnica de coloración de gram	29
3.4.5 Resiembra del complejo de bacteria	30
3.4.6 Preparación del medio de cultivo	30
3.4.7 Preparación de los tratamientos	31
3.4.8 Prueba de sensibilidad	32
4. METODOLOGIA ESTADISTICA	35
4.1 Factor en estudio	35
4.2 Descripción de tratamientos	35
5. DISEÑO ESTADISTICO	36
6. DISCUSION DE RESULTADOS	38
7. CONCLUSIONES	43
8. RECOMENDACIONES	44
9. BIBLIOGRAFIA	45
10. ANEXOS.....	51

INDICE DE CUADROS

CUADRO	PAGINA
1- Respuesta del complejo de bacterias a los Antibióticos utilizados	34
2- Datos iniciales promedios del aparecimiento de colonia de bacterias	38
A-1 ANVA de los promedios de la cantidad de colonias Aparecidas en los tratamientos	52
A-2 Datos iniciales transformados por la expresión Log (x)	53
A-3 Análisis de varianza de la cantidad de colonias de bacterias Aparecidas	54
A-4 Cuadro resumen de coeficientes de los contrastes ortogonales	55
A-5 Análisis de varianza descompuesto de los contrastes ortogonales	56
A-6 Viñeta de producto comercial (Terra-sul "A")	57
A-7 Viñeta de producto comercial (Trisulfavi)	58

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PAG.
Figura 1. Panal enfermo de la Loque europea con aspecto de crucigrama	8
Figura 2. Larvas muertas en posición de " C "	9
Figura 3. Prueba del palillo	11
Figura 4. Promedios de colonias de bacterias aparecidas por tratamiento	39
Figura 5. Comparación de las dosis del hidróxido de calcio	40
Figura 6. Comparación entre el efecto del hidróxido de calcio y los productos comerciales	41
Figura A-1 Datos transformados promedios de colonias de bacterias aparecidas por tratamiento	59
Figura A-2. Promedio de colonias de bacterias aparecidas por Repetición	60
Figura A-3. Datos transformados promedios de colonias de bacterias aparecidas por repetición	61
Figura A-4. Panal que contiene larvas afectadas del Loque Europeo	62
Figura A-5. Apariencia de la larva infectada	63

Figura A-6. Complejo de bacterias causantes del Loque europeo	64
Figura A-7. Inoculación de colonias del complejo de bacterias.	65
Figura A-8. Diseño estadístico de la distribución de las Placas en laboratorio	66
Figura A-9. Hoja de toma de datos	67

1. INTRODUCCION.

En El Salvador, la apicultura es uno de los rubros de la zootecnia que tiene importancia económica desde dos puntos de vista: Por la diversidad de productos que se obtienen y por el servicio que las abejas dan al polinizar numerosas especies vegetales de importancia económica (OIRSA, 1989).

Las abejas melíferas como cualquier organismo vivo, son susceptibles a una variedad de enfermedades, pestes y predadores, que tienen efectos negativos en el desarrollo normal de la colonia y su productividad (Pedrón Gonzales, 1998). Las enfermedades de las abejas que causan daños económicos anuales, se clasifican en enfermedades de la cría y enfermedades de las adultas; entre las enfermedades de la cría tenemos: *Loque americano*, *Loque europeo*, *Cría de Cal*, *Cría de Piedra*, *Cría Ensacada*; y entre las enfermedades de las abejas adultas están: *La Parálisis*, *Nosemiasis*, *Acariosis* y *Varroasis*, entre otras (OIRSA, 1990).

El *Loque europeo* afecta a la cría de las abejas melíferas a nivel mundial, en algunas áreas y bajo ciertas condiciones ambientales, ha causado daños serios en la cría

lo que da como resultado cosechas de miel muy bajas, aunque existen varios organismos bacterianos asociados con el *Loque europeo*, que pueden infectar a las larvas, se considera en general que el *Melissococcus pluton* es el principal agente que lo causa (Pedrón Gonzales, 1998).

Los apicultores recurren a los antibióticos y bactericidas tradicionales con el peligro de hacer uso indiscriminado de éstos; lo que representaría problemas de residuos en la miel y con ello, la amenaza que los países importadores, especialmente europeos, rechacen la miel por no cumplir las normas de calidad establecidas; que repercute en pérdidas económicas muy significativas para el país. Por el uso empírico se evaluó in vitro la efectividad del hidróxido de calcio (cal hidratada) para el control del complejo de bacterias principales agentes causales del *Loque europeo* en abejas melíferas.

2. REVISION DE LITERATURA.

2.1. LA APICULTURA.

2.1.1 Orígenes de la apicultura.

La apicultura es una actividad de la zootecnia que comprende la utilización de técnicas de cría, mejora genética y explotación racional de las abejas melíferas, cuyo objetivo principal es la producción de miel, cera, reinas, propóleo, jalea real y otros subproductos (OIRSA, 1990).

Se han encontrado en España, frescos mesolíticos que datan de 7000 años A. de C., que atestiguan la cosecha de colmenas silvestres. Pero no fue, hasta los años 3000 a 2000 A. de C., que el ser humano comenzó a tener las colmenas bajo su cuidado y protección, se usaron vasijas de barro y canastas tejidas de hierba seca, para albergar a las abejas (OIRSA, 1988).

2.1.2 Importancia de la apicultura.

La miel tiene valor alimenticio, económico y en medicina; ya que genera trabajos directos e indirectos en la economía

de cada uno de los países productores de miel. Además la industria apícola produce: cera, polen, jalea real, propóleo, veneno de abejas, reinas, y núcleos de abejas; productos que tienen demanda en el comercio nacional e internacional y se utilizan en la alimentación humana, industria farmacéutica y polinización de cultivos (OIRSA, 1988).

La miel es elaborada por las abejas a base del néctar de las flores y desde tiempos prehistóricos se ha utilizado en la alimentación y la medicina (Camargo, 1972).

2.2. ENFERMEDADES APICOLAS CAUSADAS POR BACTERIAS

Las enfermedades de las abejas pueden clasificarse en enfermedades de la cría y en enfermedades de abejas adultas. Tanto las enfermedades de la cría como de las adultas pueden subdividirse de acuerdo al agente etiológico que las causa: enfermedades bacterianas, fungales, virales y parasitarias. (OIRSA, 1990).

Entre las enfermedades de la cría tenemos: *Loque americano*, *cría ensacada*, *cría calcárea*, y *loque europeo*. Con la confirmación de la *varroasis* en los apiarios del país en

1996, la incidencia del loque europeo en las colmenas ha ido en aumento aun 90% de lo que era antes de la llegada de la varroasis (Perdomo, 1997).

2.2.1 Loque Europeo.

El Loque europeo es una enfermedad infecciosa de larvas de las abejas, conocida también como loque benigna, cría avinagrada o EFB (European Foulbrood). (OIRSA, 1990). Esta es causada por un complejo específico de bacterias y otras que son parte de la flora microbiana en larvas sanas. Su característica principal consiste en que las larvas muertas no adquieren consistencia pegajosa y las obreras las pueden sacar de las colmenas (Leiva de Paz, 1983).

2.2.1.1. Etiología.

La etiología de esta enfermedad no es simple, pues se presentan varios microorganismos bacterianos que actúan independiente o en conjunto, éstos son: Melissococcus pluton, conocido como Bacillus pluton, hasta 1956, y como Streptococcus pluton hasta 1983, (Root, 1978). El Melissococcus pluton debilita las larvas y favorece el ataque de otros gérmenes como el Bacillus alvei, Bacillus

laterosporus, Acromobacter eurydice. (Loque Europeo, 1999; Allan, 1999).

El *Melissococcus pluton*, es una bacteria en forma de coco que no forma esporas y mide 0.7x1.0 micr as, crece en forma de cadenas, puede mantenerse viable en las paredes de las celdillas en el excremento de las abejas o en el piso de la colmena por varios meses. (Manual Técnico Apicola, SF; Office Internacional Des Epizootes, 1992).

2.2.1.2 Epizootiología.

La enfermedad se ha reportado en casi todos los países donde existe la apicultura y se presenta tanto en las larvas de obreras, zánganos y rara vez en las larvas de reinas; se puede presentar en cualquier época del año, pero suele ser más frecuente al inicio de las floraciones. (Manual técnico apicola, SF; Frittsch y Bremer, 1975).

EL patógeno puede permanecer viable durante el invierno en celdas, heces, desperdicios de cera en el piso de la colmena.

Se transmite de colonia a colonia por las mismas abejas, alimento contaminado, utensilios, vestimenta, panales y partes de colmenas por división de colonias contaminadas,

etc. Afecta sólo a las larvas jóvenes menores de 2 días de edad y a las colonias débiles y carentes de alimento (OIRSA, 1988).

2.2.1.3 Patogenia.

En el desarrollo de la enfermedad pueden participar distintas especies bacterianas, el cuadro clínico de la enfermedad es variado. Las larvas se transforman tras la infección en una masa untuosa color marrón o amarillentas y friables, suelen morir al estar las celdas abiertas, y en ocasiones después de opercular. Por lo general despiden olor fétido. Los restos de las larvas descompuestas no son filamentosos.

Por lo común, en estado de desecación dejan en las celdas costras escamosas de forma irregular. Los restos de larvas cilíndricas se encuentran en el fondo de las celdas. (Fritzsch y Bremer, 1975).

Una larva recién eclosionada, puede ser infectada con una sola espora que germina un día después de su ingestión, y la forma vegetativa de la bacteria se desarrolla en el intestino, para continuar su reproducción en la hemolinfa (OIRSA, 1990).

2.2.1.4 Sintomatología.

Los síntomas son variables, las larvas pueden perder su color blanco lechoso y brillante, se vuelven amarillentas y opacas (Fig. A-5) (Dale,1998) muestran por transparencia su sistema traqueal; hay flacidez (ni viscosa ni filamentosa). El panal presenta aspecto de mosaico, unas celdas contienen larvas desarrolladas y otras huevos parecidos a un crucigrama (Fig. 1).

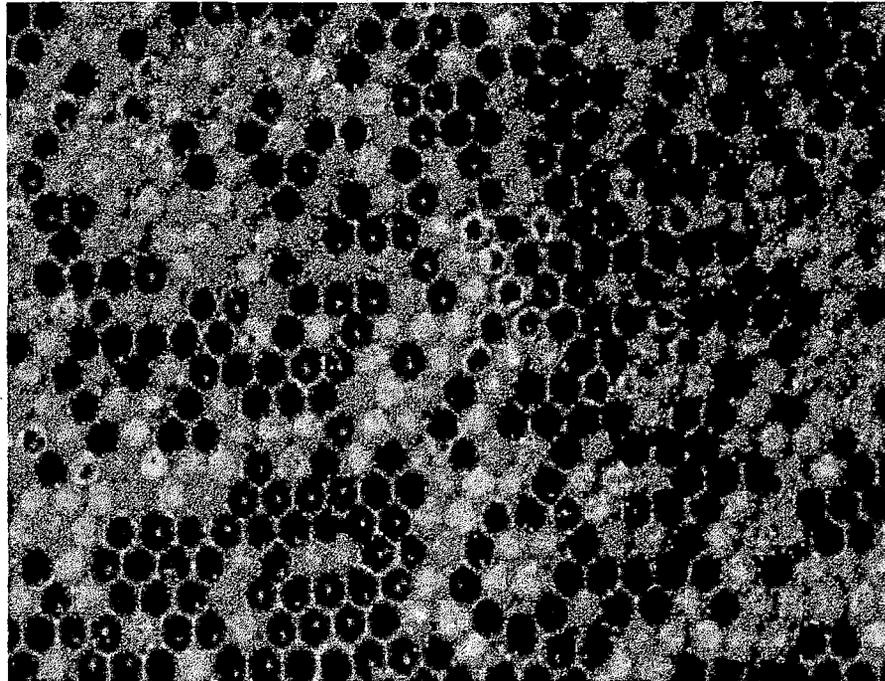


Figura 1. Panal enfermo del Loque europeo con aspecto de crucigrama.

Si la infección de la colmena es grave, las obreras no alcanzan a retirar las larvas muertas y se tornan color marrón, que despide un olor pútrido como vinagre. (Cornejo, 1975). Las larvas suelen morir al encontrarse las celdas operculadas, que presentan un color similar al *Loque americano*. (Camargo, 1972), las larvas se desploman y poco a poco se secan y forman una escama suelta de color café (Manual completo de Apicultura, 1990).

Las larvas enfermas del *Loque europeo*, se mueven inquietas dentro de sus celdas y por esto, al morir están enrolladas en las celdas, muertas o en posición de "C" en el fondo de éstas (Fig. 2) (Allan, 1999). El *Loque europeo* es una enfermedad de las larvas que las mata por lo general al tener 4 ó 5 días de edad. (Bailey, 1984).

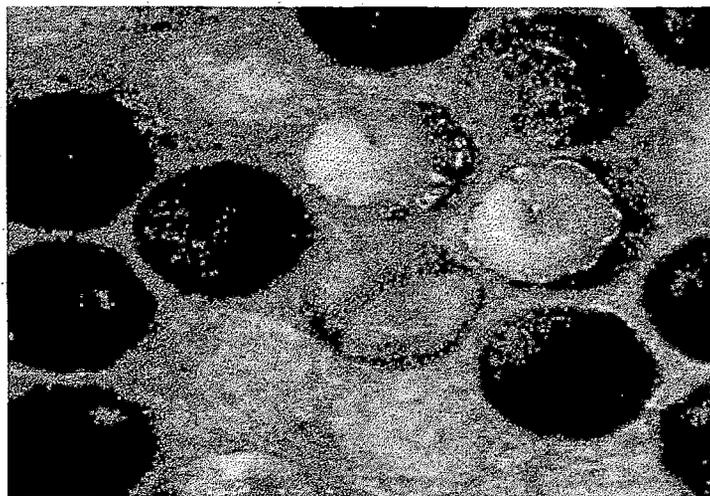


Figura 2. Larvas muertas en posición de "C".

2.2.1.5 Propagación.

El Melissococcus pluton, es un organismo muy fuerte, puede sobrevivir por meses en equipo contaminado.

La bacteria entra en la colonia a través de abejas infectadas, equipo o miel introducida por el apicultor.

El organismo puede estar presente en una forma inactiva por algunos meses antes de que los signos sean visibles. La infección puede propagarse a través de la manipulación de la colmena donde los panales infectados son introducidos en las colonias sanas. Las abejas que salen a la deriva de una colmena a otra y la contaminación del agua para beber son otras posibles causas de propagación. Las abejas enfermas transmiten la bacteria durante la limpieza y alimentación de las crías, cuando las partes de la boca llegan a contaminarse, el microorganismo es luego introducido por accidente en las larvas jóvenes saludables, donde encuentran su camino en el intestino medio y se multiplican. (Allan, 1999; Mac Gregor, 1987).

2.2.1.6 Diagnóstico.

La identificación de la enfermedad en el campo, se hace en base a los síntomas observados y mediante la prueba del palillo (Fig. 3) la cual no forma hebra elástica como la *loque americana*.

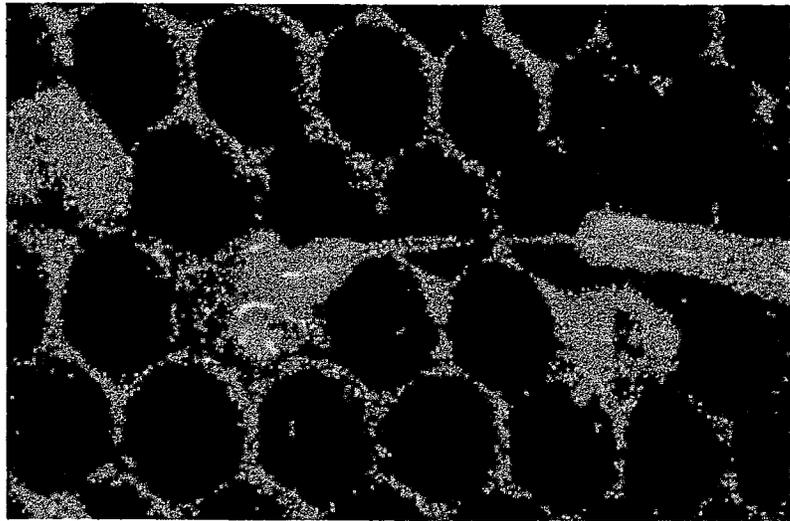


Figura 3. Prueba del palillo.

A nivel de laboratorio existen exámenes como frotis y pruebas bioquímicas para identificar a los diferentes gérmenes involucrados en las enfermedades. (OIRSA, 1990).

El diagnóstico puede ser clínico, diferencial y bacteriológico. El clínico tiene un gran valor tanto en medio sano como contaminado, mediante el examen minucioso

de las crías. El aislamiento y clasificación de los agentes causales definen el diagnóstico bacteriológico, por lo que se debe enviar al laboratorio un fragmento de panal que contienen crías enfermas. El diagnóstico diferencial se debe hacer con *loque americano* y *cría sacciforme*.

El *Loque europeo* no puede ser identificado a simple vista de una manera confiable, ya que los síntomas de la enfermedad pueden ser confundidos con otras como *loque americano* y *cría sacciforme* (Dale, 1998).

2.2.1.7 Prevención.

En general para prevenir el *Loque europeo* se recomienda:

- No comprar o utilizar reinas de origen dudoso, ya que pueden ser viejas o enfermas.
- Usar reinas jóvenes y de buena procedencia.
- No utilizar panales viejos ni material dudoso.
- Tener agua limpia disponible para las abejas.
- No mezclar panales con crías enfermas entre las colmenas.
- Mantener en cuarentena los enjambres capturados.
- No colocar las colmenas en el suelo.

- Quemar la espátula en el ahumador, después de revisar una colmena enferma. (Manual técnico apícola, SF).
- Dar una adecuada alimentación que estimule a las colonias, para que intensifiquen sus labores de limpieza. (OIRSA, 1988).
- Evitar en lo posible el pillaje, y reducir las piqueras en épocas de escasez y cuando la colonia por alguna razón esté débil. No dejar abierta la colmena mucho tiempo mientras se revisan, identificar a las colonias enfermas para que en futuras revisiones éstas sean inspeccionadas hasta el final para no contagiar a las colonias sanas.

Durante la cosecha, la miel de colonias enfermas deberá ser extraída hasta el final y no alimentar con esta miel a otras abejas. (Empezando correctamente con abejas, 1984; OIRSA, 1988; Manual técnico apícola, SF).

2.2.1.8 Tratamiento.

Si la enfermedad está muy desarrollada y ocupa gran parte de la cría, lo más aconsejable es la destrucción de la colonia, por estar debilitada y no merecer conservarla por carecer de valor.

Por lo general se aconseja una adecuada alimentación intensiva, eficaz y duradera con jarabe de azúcar, que estimule a la colonia enferma para que intensifiquen las labores de limpieza; no son aconsejables tratamientos preventivos. Los medicamentos utilizados son por lo general: oxitetraciclinas, neomicina, estreptomicina, cloranfenicol, tiocianato de eritromicina y diestreptomicina; pero la desventaja de esto es que persisten residuos en la miel y además un relativo costo elevado. (Jean- Prost, 1995).

En los tratamientos debe tenerse precaución con el pillaje, además debe cuidarse la dosificación de los fármacos para no perjudicar a la cría o a las mismas abejas adultas. (Dale, 1998).

Los tratamientos prolongados con baja dosificación suelen ser más efectivos que los breves en dosis altas. Debe cuidarse que la miel no se contamine con los medicamentos que le puedan hacer perder sus condiciones naturales para la alimentación (Sepúlveda, 1983).

Los apicultores recurren a los antibióticos y bactericidas tradicionales con el peligro de hacer uso indiscriminado de ellos, lo que representa problemas

de residuos en la miel. (Díaz, 1997).

Las formas de aplicación son:

Directa : -Polvo sobre las crías afectadas

Indirecta: -En jarabe (Disolver el azúcar y el medicamento en agua).

-En pasta (se mezcla azúcar, miel y el medicamento para formar una consistencia pastosa)

2.3 ANTIBIOTICOS.

2.3.1 Generalidades.

Los antibióticos provocan dos tipos de efectos sobre las bacterias: inhiben el crecimiento, la reproducción, y conducen a la muerte. Estos efectos son ejercidos principalmente por interferir en la síntesis de la pared celular, alterar la permeabilidad de la membrana citoplasmática, interferir en la síntesis proteica y en la duplicación cromosómica.

Los antibióticos muestran diferencias notables en sus propiedades físicas, químicas y farmacológicas, así como en sus espectros antibacterianos y en su

mecanismo de acción. (Goodman y Gilman, 1996).

Un antibiótico es una sustancia química producida por un microorganismo capaz de matar o inhibir el crecimiento o proliferación de otros microorganismos.

Se han descubierto miles de antibióticos pero sólo unos cuantos han demostrado ser de gran valor práctico para la medicina. (Brock, Smith, Madigan, 1992; Carter, 1994).

2.3.2 Mecanismo de acción.

Los antimicrobianos se dividen en dos clases:

BACTERICIDAS: Estos tienen una acción mortal rápida. Por ejemplo: *Penicilinas, Estreptomicina, Cefalosporinas, Polimixina y Neomicina*. En concentraciones elevadas, la *Eritromicina* puede ser bactericida.

BACTERIOSTATICOS: Estos inhiben la proliferación de microorganismos, por ejemplo: *Tetraciclinas, Sulfonamidas y Cloranfenicol*. Dependen del sistema inmunitario para la lisis y eliminación de bacterias (Carter, 1994).

2.3.3 Producción de Antibióticos.

La producción de antibióticos por microorganismos es un fenómeno muy frecuente y una variedad de microorganismos producen antibióticos que actúan contra otros. Aquellos que los producen son mas frecuentes en los suelos. Tres grupos son los responsables de la producción de la mayoría de los antibióticos usados: Hongos, del género Penicillium, que producen antibióticos como la penicilina y la griseofulvina; bacterias del género Bacillus de las que se obtienen antibióticos como la bacitracina, polimixina y actinomicetos del género Streptomyces, microorganismos que se encuentran distribuidos en el suelo, donde se han descubierto la mayoría de los antibióticos. (Brock, Smith, Madigan, 1992).

Estreptomycin: es el nombre de una sustancia sintetizada por el actinomiceto Streptomyces griseus; este nombre se da también genéricamente a diferentes antibióticos que por su estructura están relacionados, y forman sales como: clorhidrato, sulfato, fosfato que son más usados (Mondragon, 1969).

Se demostró que éste inhibía la proliferación del bacilo

tuberculoso y a diversos microorganismos aerobios gram positivos y gram negativos. (Goodman y Gilman, 1996).

Tetraciclina: se considera antibiótico de amplio espectro, pues destruyen o inhiben microorganismos gram positivos y gram negativos. Son tres los antibióticos incluidos en este grupo y sus espectros antimicrobianos son casi idénticos. La *tetraciclina*, *clorotetraciclina* y la *oxitetraciclina* (Mondragon, 1969).

Oxitetraciclina: han sido utilizados para tratar enfermedades infecciosas y como aditivo de alimento para animales, son muy eficaces en enfermedades por *Rickettsias*, *Micoplasmas* y *Clamidios*. (Goodman y Gilman 1996).

Sulfamidas: Las sulfamidas son agentes antimicrobianos sintéticos bacteriostáticos con un amplio espectro antibacteriano que abarca la mayoría de gram positivos y muchos gram negativos, en especial estos últimos. Las sulfamidas disminuyen la proliferación de las bacterias que actúan como inhibidores competitivos (Manual Merck, 1993). Hoy en día la mayoría de los antibióticos son de uso

restringido o prohibitivo, entre ellos se tienen: las sulfas, estreptomina (Lüllmann, 1999).

2.3.4 Antibióticos naturales.

Existe gran diversidad de plantas con amplio poder antimicrobiano y bactericida. Por el alto contenido de taninos y con base a la acción farmacológica, la acción terapéutica se manifiesta. Entre las cuales podemos mencionar: Mamey, Palo Hediondo, Epazote, Quina, Tempate, etc. (Bonilla Vasquez, 1991).

2.4 HIDROXIDO DE CALCIO.

2.4.1 Generalidades y clasificación.

La cal es uno de los materiales de construcción más antiguos, utilizado por los egipcios para construir sus famosas pirámides; los romanos descubrieron que al mezclar cal viva con puzolana y agregados, la mezcla se endurecía bajo el agua. (Calderón y Sánchez, 1988).

Las cales son carbonato de calcio que se encuentran en la naturaleza y se clasifican en: Cales aéreas y cales hidráulicas (Calderón, Galdámez, Bolaños, 1970).

2.4.2 Características Químicas.

El hidróxido de calcio aparece en el mercado como un polvo blanco micro cristalino y desagradable al tacto (Buckman y Brady, 1982).

Es alcalino con un pH de 12.8, poco soluble en agua (1.2g por litro de agua a temperatura de 25°C). Es una base fuerte obtenida a partir de la calcificación de carbonato de calcio (Estrela y Pécora, SF).

2.4.3 Procedimientos de obtención

El hidróxido de calcio se prepara por la acción del agua sobre el óxido cálcico, y desprender mucho calor.



Nombre Comercial: Cal apagada

Nombre Químico: Hidróxido de calcio

Formula Química: $\text{Ca}(\text{OH})_2$. (Cépeda, 1991).

Hidróxido de cal [$\text{Ca}(\text{OH})_2$]. Se denomina cal apagada y se obtiene al hidratar la cal viva, tiene como densidad promedio 0.6 g/cm³. Por lo general el hidróxido de calcio tiene un contenido de hasta un 95% de CaO, el resto son impurezas como arena, arcilla y otros óxidos. (Torres,

Cordóva, Cardona, 1991).

El hidróxido de calcio, polvo amorfo y suelto, de sabor y reacción fuerte alcalino, puede cristalizarse al calentar de forma gradual hasta 80°C, una dilución de cal y evaporarla en el vacío.

El hidróxido de calcio forma una masa blanca, de aspecto y consistencia de engrudo llamado pasta cal, que con mayor cantidad de agua forma un líquido lechoso o lechada de cal; dejándola en reposo, se precipita el exceso de hidróxido, y queda una disolución de hidróxido de calcio conocida como agua cal (Calvet, 1956).

La cal se prepara al disolverla en agua y se utiliza como antiácida, desinfectante intestinal y antidiarreico y, mezclada con aceite, se llama Linimento Oleo Calcáreo, para la cura de quemaduras. (Cañas, 1999).

2.4.4 Mecanismo de acción.

Los iones oxidrilos del hidróxido de calcio desarrollan su mecanismo de acción a nivel de la membrana citoplasmática. El efecto del elevado pH del hidróxido de calcio (12.8), ayudado por la liberación de los oxidrilos, es capaz de alterar la formación de la membrana citoplasmática a través de daños químicos en los componentes orgánicos en el

transporte de nutrientes y por medio de la destrucción de fosfolípidos y ácidos grasos insaturados de la membrana citoplasmática. (Estrela y Pécora, SF).

2.4.5 Efecto de la cal en algunos géneros de bacterias.

En experimentos de laboratorio y de campo se ha encontrado que el hidróxido de calcio, rompe y fragmenta la pared y membrana de la bacteria Vibrio cholerae, causante del cólera, igual que la cal utilizada para la construcción y nixtamalización del maíz para tortillas, es excelente bactericida contra microorganismos enteropatógenos (Organización Panamericana de la Salud, S.F.).

Las bacterias enteropatógenas son sensibles a la cal, ya que después de 30 minutos dentro de una solución acuosa mueren, en el caso del Vibrio cholerae, hasta con un minuto dentro de la solución. Las pruebas se han realizado in vitro e in situ con vegetales, en las que se utilizó una solución acuosa concentrada de 1.5 gramos por litro de agua. Se sabía que los pH ácidos afectaban a esta bacteria, pero nunca se había probado con pH alcalinos (Organización Panamericana de la Salud, S.F.).

Existen también resultados de tiempos requeridos para matar

99.9% de bacterias en contacto con una solución saturada de Hidróxido de calcio; 15 especies de varios géneros entre ellos Streptococcus, Lactobacillus, Bacteroides, Actinobacillus, Wolinella, necesitan menos de un minuto; otras 8 especies bacterianas toman entre uno a tres minutos y finalmente Enterococcus faecales necesita 6 minutos (Estrela y Pécora, SF).

2.4.6 Usos del hidróxido de calcio.

2.4.6.1 Algunas de sus aplicaciones más importantes:

Se utiliza en la construcción, como materia prima en la fabricación de pinturas, insecticidas, pesticidas, y bactericidas (Calderón, Galdámez, Bolaños, 1970).

Como álcali, en curtido de pieles, en blanqueo de fibras textiles, en la extracción del azúcar de la remolacha (Liptrot, 1974).

Como desinfectante en galeras avícolas, comosedante en gastritis de bovinos y perros (Meyer, 1959).

En usos odontológicos, y en la nixtamalización (Organización Panamericana de la Salud, S.F.).

2.4.6.2 Aplicaciones en la agricultura.

En la agricultura se utilizan materiales que se incorporan al suelo, con el objetivo de mejorar las propiedades físicas, químicas, y biológicas, de aquellos suelos donde después de aplicar en forma continua por años, diferentes fuentes de fertilizantes nitrogenados, el pH ha descendido de forma gradual, y a la vez han disminuido los contenidos de potasio, calcio, y manganeso, mientras el aluminio intercambiable aumenta sus contenidos de 5 a 6 veces (Torres, Cordova, Cardona, SF).

La aplicación de fuentes químicas que contienen los elementos calcio y magnesio tales como carbonato de calcio (cal agrícola), cal dolomita, cal hidratada o apagada (hidróxido de calcio), cal-magnesio; tiene el objetivo de neutralizar el aluminio intercambiable, el cual se precipita como hidróxido de aluminio insoluble; así como elevar los valores de pH del suelo e incrementar el porcentaje de bases intercambiables, que disminuye los contenidos de manganeso y hierro presentes en el suelo (Torres, Cordova, Cardona, SF).

Un exceso de calcio en el suelo afecta la traslocación de los elementos minerales dentro de la planta (Perdomo y Hampton, 1970).

2.4.7 Uso empírico de la cal en el control del Loque europeo.

Existen pequeños y medianos apicultores en la zona oriental de El Salvador que se han visto afectados por la diseminación de la enfermedad, que en especial ataca a la cría disminuyendo la población de la colmena, lo que ocasiona pérdidas económicas al disminuir la producción de miel. Al hacer uso indiscriminado de productos de uso restringido y creando resistencia de la enfermedad a los medicamentos empleados, se altera la calidad de la miel y se elevan los costos de producción.

En tal sentido, los apicultores utilizan el hidróxido de calcio en la alimentación mezclado con jarabe de azúcar y espolvoreado sobre los marcos de las crías afectadas, por lo que se representa como una alternativa para el control de dicha enfermedad.

Según Jaime Díaz, líder del comité de calidad del cluster de apicultura, en la zona occidental del país utilizan la cal como bactericida para el combate del loque europeo, ya que esta enfermedad debilita a las colmenas provocando disminución en la producción de miel y predisponiéndolas para el ataque de otras enfermedades; la cantidad utilizada para el control de ésta es de $\frac{1}{2}$ libra de cal hidratada por barril de agua. ¹

¹ Díaz Márquez, J. 1999. Utilización del Hidróxido de Calcio. Escalón, San Salvador, El Salvador. CONAPIS. (Comunicación personal).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. UBICACION GEOGRAFICA.

El muestreo se realizó en la zona oriental, departamento de San Miguel, municipio de Jucuapa, realizado en 30 apiarios distribuidos en la región, las muestras fueron obtenidas por la unidad de control sanitario apícola de la Dirección General de Sanidad Vegetal y Animal del Ministerio de Agricultura y Ganadería.

3.2 DURACION DEL ENSAYO .

La investigación tuvo una duración de 14 semanas, en un periodo comprendido desde el 14 de mayo hasta el 27 de agosto de 1999.

3.3 METODOLOGIA

Consistió sólo en fase de laboratorio, debido a que en el uso empírico del hidróxido de calcio para el control de la enfermedad no se conocen cantidades óptimas para el control de ésta, por lo anterior se evaluó *in vitro* las dosis a usar y determinar cual es la mejor dosis.

3.3.1 Localización del experimento.

El experimento se llevó a cabo en el laboratorio de Bacteriología de la Dirección General de Sanidad Vegetal y Animal, del Ministerio de Agricultura y Ganadería, ubicado en el cantón El Matazano, municipio de Soyapango, departamento de San Salvador; 8 Km al Este de San Salvador, a 650 msnm, con coordenadas geográficas: 13° 41' 12" Latitud Norte y 89° 08' 16" Longitud Oeste.

3.4 FASE DE LABORATORIO.

Las muestras de panal enfermo obtenidas en el campo a las cuales se les realizó la prueba del palillo fueron trasladadas al laboratorio central de la red nacional de laboratorios de la Dirección General de Sanidad Vegetal y Animal del Ministerio de Agricultura y Ganadería, cantón el Matazano, Soyapango y para verificar que se trataba del loque europeo se realizó la prueba de la gota colgante.

3.4.1. Prueba del palillo.

Esta consiste en introducir un palillo delgado, a una celdilla afectada y si al retirarlo despacio forma una hebra viscosa y gelatinosa como liga a una distancia de una

pulgada, es *Loque americano* y si no se forma la hebra es *Loque europeo*.

3.4.2. Técnica de la gota colgante.

Preparación del frotis: las larvas sospechosas se maceran dentro de la celda, luego se realiza un frotis delgado y se colorea con fucshina básica al 5% durante 30 segundos, lavándose el exceso del colorante con agua de chorro.

Preparación de la laminilla: Se coloca una gota de la suspensión del cultivo del complejo de bacterias sobre un cubre objetos y se invierte éste en la cavidad de un porta objeto especial para este examen.

Examen de la laminilla: para ello fue necesario utilizar el objetivo 100x del microscopio.

Esta técnica es utilizada en especial para diferenciar el *Loque americano* del *Loque europeo*, para ello se buscó en el microscopio, las áreas en las cuales el agua se encontraba estancada entre los grumos de aceite, se enfocan para identificar la presencia de bacilos flotantes del complejo de bacterias de la *Loque europeo*.

3.4.3 Siembra de la bacteria.

Luego de las observaciones del frotis al microscopio de las celdillas que salieron positivas al *Loque europeo*, se sembró, en un medio de cultivo Agar-sangre. Se esterilizó un asa bacteriológica, se dejó enfriar enfriar y se introdujo en la celdilla seleccionada extrayendo parte de la larva macerada, y se extendió sobre la placa, se trazan varias estrías sobre la superficie del agar, se esteriliza cada vez el asa para el aislamiento de la bacteria, por agotamiento luego se colocó la placa en estufa a 37°C por 24 horas en micro anaerobiosis.

3.4.4 Técnica de coloración de gram.

- De un cultivo de 18 a 24 horas, se preparó un frotis fijo para tinción.
- Se aplica la solución de cristal violeta durante 1.0 minuto.
- Se lavó de forma adecuada con agua de chorro.
- Luego se aplicó la solución de lugol durante 1.0 minuto y se dejó escurrir, sin lavar.
- Se decoloró con alcohol acetona durante 2 ó 4 segundos y se lavó de inmediato con agua de chorro.

- Se contrastó con safranina al 0.5% durante 30 segundos; se lavó y se secó a temperatura ambiente.

3.4.5 Resiembra del complejo de bacterias.

Luego de la identificación se mantuvieron las bacterias por medio de resiembra para disponer de cultivos nuevos y poder realizar la investigación.

3.4.6 Preparación del medio de cultivo: Agar-Sangre.

En un erlenmeyer que contenía perlas de cristal se depositaron 100 ml de sangre que se obtuvieron de la vena yugular de un carnero, y para evitar la coagulación de ésta, se mantiene en una agitación constante durante 30 minutos para desfibrinar. Se pesaron 30 g. de medio agar base y se agregaron 500 ml de agua destilada estéril, se homogenizó y se llevó a ebullición con movimiento constante, se llevó a autoclave a 15 lbs/15 minutos para esterilizar el medio y luego se llevó a baño maría a 45° C para que se estabilizara y se le agregara la sangre, y llevarlo a esta temperatura para evitar que la sangre se quemara con el medio. Se agregó el 10% de sangre al medio.

3.4.7. Preparación de los Tratamientos.

Luego se procedió a pesar en la balanza analítica las diferentes cantidades de cal en base al criterio usado por los apicultores en el uso empírico de 227g de cal/187.5 Litros de agua, se determinó hacer los cálculos respectivos para llegar a las cantidades empleadas 0.10, 0.15 y 0.20 g. y de los productos comerciales según la dosis recomendada, 2.5 g. de *Trisulfavit* y *Terra - sul - A*.

Se disolvieron las cantidades pesadas antes mencionadas en 100 ml. de agua destilada (solución preparada), luego se identificaron tubos de ensayo y placas petri de la siguiente manera: 1 tubo y 2 placas por cada tratamiento, desde la dilución 10^1 hasta 10^5 .

- Se pusieron 10 ml. de la solución preparada al primer tubo y se inoculó con la bacteria, por medio del patrón de turbidez, se toma como tubo patrón el # 5, el cual contiene 1,500,000,000 bacterias por c.c.
- Se colocó 9 ml. de agua destilada a cada uno de los tubos siguientes.
- Al segundo tubo se le agregó 1 ml. de la solución preparada, esta es la primera dilución 10^1
- A partir del segundo tubo se hizo diluciones

seriadas; se colocó 1.0 ml al tubo siguiente y así en forma sucesiva 1.0 ml a las placas respectivas (Fig. A-7).

- Se agregó de 15-20 ml. del medio preparado (agar-sangre) a cada una de las placas, se agita suave para homogenizar la solución. Luego se dejó a temperatura ambiente para que se solidificara el medio y se invirtieron las placas para luego colocarlas en microanaerobiosis, se llevó a estufa a 37°C por 24 horas. Luego se seleccionó las placas para realizar el conteo de las bacterias en un cuenta colonias.

3.4.8 Prueba de sensibilidad.

Esta prueba evalúa la capacidad de un antibiótico u otro fármaco antimicrobiano para inhibir *in vitro* el desarrollo bacteriano. Esta capacidad puede determinarse por el método de dilución o por el método de difusión. Para evaluar de forma cuantitativa la actividad de un antibiótico, pueden agregarse diluciones de éste a un caldo de cultivo o un medio de agar en el que luego se siembra el microorganismo problema.

Las pruebas de sensibilidad se suelen efectuar en placas de

9 a 10 cm. de diámetro y con 6 ó 7 discos de antibióticos como máximo en cada placa.

Un microorganismo se considera sensible a un medicamento cuando lo probable es que la infección que causa, responda al tratamiento con dicho fármaco a la dosis recomendada y si la zona de inhibición es mayor o igual a 10 mm. El término resistente indica que no es probable que el microorganismo responda a un medicamento determinado, cualesquiera que sean las dosis y si la zona de inhibición es menor a 10 mm o no hay.

Se utilizó el método de prueba de sensibilidad en placas. En un tubo de ensayo se colocó 1.0 ml. de agua destilada y luego se hizo una emulsión de la bacteria. Se vertió a la placa con Agar Müller Hinton y se cubrió toda la placa. Se colocaron los discos equidistantes entre sí y fueron distribuidos en la placa en forma de círculo. Después se introdujeron en el desecador y luego en la estufa a 37°C por 24 horas. Terminado este tiempo se sacaron las placas para la interpretación y se visualizó el halo de inhibición de la bacteria.

Cuadro 1. Respuesta del complejo de bacterias a los antibióticos utilizados.

Antibióticos	Sensible	Resistente
Terramicina	+	
Penicilina	+	
Oxitetraciclina	+	
Triplesulfa	+	
Estreptomicina		-
Enroflacin		-

4. METODOLOGIA ESTADISTICA.

4.1 FACTOR EN ESTUDIO ES:

Hidróxido de calcio (cal hidratada), en las dosis 0.10, 0.15, 0.20 g. / 100 ml de agua.

4.2 DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Los tratamientos consistieron en la aplicación de diferentes dosis de hidróxido de calcio y productos comerciales, las cuales se describen a continuación:

T₁= Testigo 10 ml de agua (sin aplicación de productos).

T₂= 0.10 g de hidróxido de calcio / 100 ml de agua.

T₃= 0.15 g de hidróxido de calcio / 100 ml de agua.

T₄= 0.20 g de hidróxido de calcio / 100 ml de agua.

T₅= Testigo relativo, producto comercial; (Cuadro A-6).

T₆= Testigo relativo, producto comercial; (Cuadro A- 7).

5. DISEÑO ESTADISTICO.

Se utilizó un diseño completamente al azar con 6 tratamientos y 7 repeticiones por tratamiento, cada repetición compuesta por 2 observaciones haciendo un total de 420.

A los resultados obtenidos se les aplicó un análisis de varianza y una prueba de contrastes ortogonales, al 1% de significancia a través del programa estadístico MSTATC.

Conversión Logarítmica de los Resultados.

Debido a la naturaleza de los datos, con heterogeneidad de varianza, se transformaron por medio de la expresión: $\text{Log.}(x)$.

MODELO MATEMATICO.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde :

Y_{ij} = Característica bajo estudio observado en la parcela " j " y donde se aplicó el tratamiento " i ".

μ = Media experimental.

T_i = Efecto del tratamiento " i " .

E_{ij} = Error experimental.

$i = 1, 2, \dots, 6$ = Número de tratamientos .

$j = 1, 2, \dots, 7$ = Número de repeticiones de cada tratamiento .

La distribución estadística para este diseño es de la siguiente manera:

ANVA.

Fuente de Variación	Grados de Libertad
Tratamientos	$(N - 1) = 5$ $(6 - 1) = 5$
Error Experimental	$N (n-1) = 36$ $6 (7-1) = 36$
Total	$Nn - 1 = 41$ $6 \times 7 - 1 = 41$

Parámetro a evaluar. El parámetro a evaluar fue: La cantidad de colonias aparecidas.

6. DISCUSION DE RESULTADOS.

Con base a los datos de nuestra investigación (ver cuadro 2) y después de aplicar el análisis estadístico correspondiente se obtienen los resultados que se presentan en el cuadro A-1.

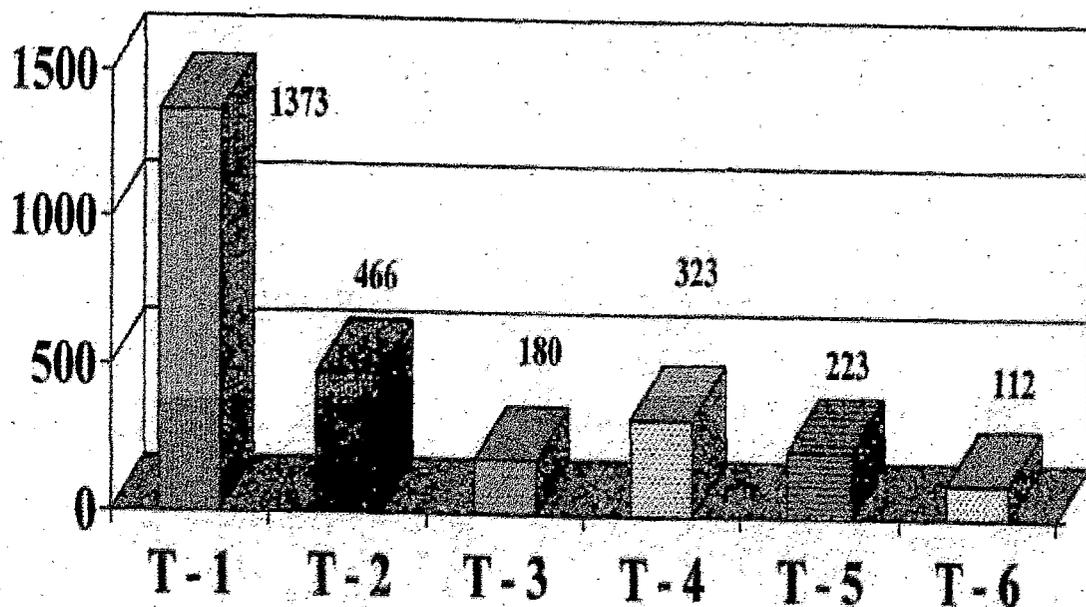
CUADRO 2. DATOS INICIALES PROMEDIOS DEL APARECIMIENTO DE COLONIAS DE BACTERIAS.

TRATAMIENTOS	REPETICIONES								
	1	2	3	4	5	6	7	Σ	\bar{X}
T ₁ =TESTIGO	1370	1410	1310	1400	1390	1360	1390	9630	1375.71
T ₂ =Ca(OH) ₂ 0.10 %	463	475	460	468	469	462	466	3263	466.14
T ₃ =Ca(OH) ₂ 0.15 %	175	212	160	177	192	166	175	1257	179.57
T ₄ =Ca(OH) ₂ 0.20 %	339	301	298	341	320	319	340	2258	322.57
T ₅ =TRISULFAVIT	218	220	232	222	219	225	220	1556	222.29
T ₆ =TERRA-SUL-A	112	100	116	118	106	114	115	781	111.57

Como se puede observar en el Cuadro A-1, el análisis estadístico resulta altamente significativo, lo que demuestra que los tratamientos investigados producen algún efecto sobre el aparecimiento de colonias del complejo de bacterias causales de la *Loque europea*.

Como se puede observar en el contraste 1 (Cuadro A-1), todos los tratamientos ejercen un control en diferentes

magnitudes sobre el complejo de bacterias, ya que todos los tratamientos con hidróxido de calcio y antibióticos comerciales presentaron una menor media que la aparecida en el testigo. (Figura 4).



\bar{X} = Promedio
T1 = Testigo, sin tratamiento
T2 = Hidróxido de calcio, 0.10 g
T3 = Hidróxido de calcio, 0.15 g
T4 = Hidróxido de calcio, 0.20 g
T5 = Trisulfavit, 2.5 g
T6 = Terra sul "A", 2.5 g

Figura 4. Promedios de colonias de bacterias aparecidas por tratamientos.

En el contraste 2 (Cuadro A-1) se comparan todos los tratamientos que contienen hidróxido de calcio. Pero al

evaluar el hidróxido de calcio 0.15g ($T_3; \bar{X}=179.57$) contra el hidróxido de calcio 0.10g ($T_2; \bar{X}=466.14$) y 0.20 g ($T_4; \bar{X}=322.57$), da como resultado que el tratamiento 3 ejerce un mejor control sobre el aparecimiento de las bacterias causales de la loque Europea inhibiendo el crecimiento de estas (Fig.5).

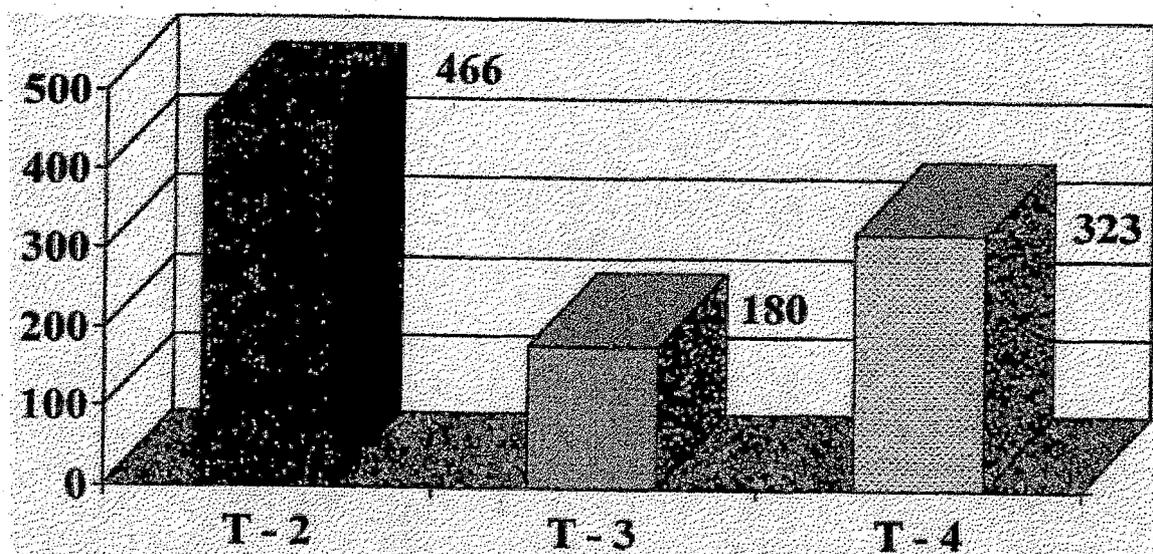


Figura 5. Comparación de las dosis del hidróxido de calcio.

En vista del resultado de los contrastes 3, 4 y 5 se determinó que el tratamiento 3 (hidróxido de calcio, 0.15 g/100 ml de agua) ejerce un mejor control que el tratamiento 5 (Trisulfavit), pero el control que ejerce el T_3 es menor si lo comparamos con el T_6 (Terra - sul - "A"),

ya que sus medias así lo demuestran (Cuadro 2). Esta diferencia posiblemente se deba a que el tratamiento 6 presenta una mayor cantidad de sulfas que el tratamiento 5 y además, la oxitetraciclina presente en la formula, resultó efectiva contra el complejo de bacterias del Loque europeo, en la prueba de sensibilidad realizada (Cuadro 1; Figura 6).

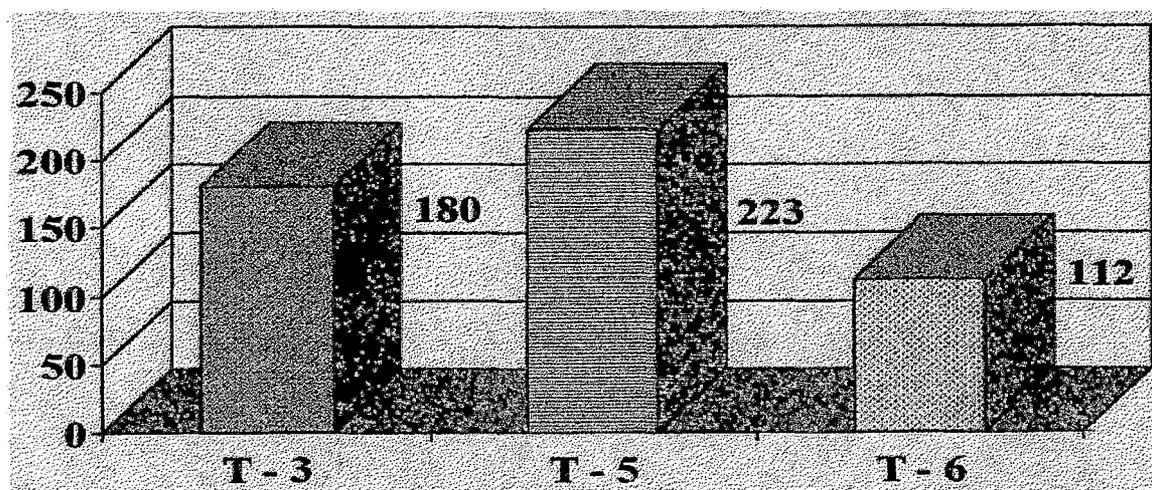


Figura 6. Comparación entre el efecto del hidróxido de calcio y el de los productos comerciales.

Los productos comerciales tienen el gran problema que actualmente los antibióticos son de uso restringido y prohibitivo; dentro de los cuales podemos mencionar algunos como la tetraciclina, la oxitetraciclina, la

estreptomycin, etc; estos ocasionan un rechazo de la miel por su persistencia en el producto, lo que provoca un cierre comercial.

Dejando el tratamiento 3, como el tratamiento que ejerció el mejor control en el crecimiento de las bacterias causales de la *Loque Europea*; sin poner en riesgo la calidad de la miel, por no ser tan tóxico y ni siquiera es perceptible al paladar.

7. CONCLUSIONES.

1. Los tratamientos utilizados in vitro tienen un efecto de control sobre el crecimiento del complejo de bacterias causales del *Loque europeo*, ya que en todos se vio una disminución, en diferentes magnitudes, en el apareamiento de unidades formadoras de colonias (UFC) con respecto al testigo.
2. De las concentraciones de hidróxido de calcio evaluadas la de 0.15 g/100 ml de agua, es la que presentó un mejor control (180 UFC con relación a 1,373 UFC del testigo).
3. Que los tratamientos en orden descendente que hicieron mejor control fueron: producto comercial Terra-sul-A (112 UFC), hidróxido de calcio (180 UFC) y producto comercial Trisulfavit (223 UFC); pero en vista del peligro de contaminación de las mieles con antibióticos, especialmente las sulfas, se considera que el mejor de los tratamientos fue el hidróxido de calcio 0.15 g/100 ml de agua.

8. RECOMENDACIONES.

- Se recomienda evaluar la concentración 0.15 g/100 ml de agua en condiciones de campo; para determinar su efectividad en las condiciones de la colmena enferma.
- Evaluar métodos de aplicación del hidróxido de calcio en las colmenas afectadas por el *Loque europeo*.
- Investigar el efecto de la cal sobre otras enfermedades apícolas causadas por bacterias en nuestro país.
- Determinar si la cal causa alguna alteración química, en la composición de la miel, principalmente en su acidez específica (pH).

9. BIBLIOGRAFÍA

1. ALLAN, L. 1999. European foul brood disease of bees
<http://www.agric.wa.gov.au/agency/pubns/farmnote/1996/f04396.htm>.
2. BAILEY, L. 1984. Patología de las abejas. Trad. Pedro Ducar Malverda. Zaragoza, España. Acribia. P. 34 - 35.
3. BONILLA VÁSQUEZ, C. 1991. Uso de harina de epazote, mango y papaya para el control de parásito internos en cerdos criollos. Tesis Ing. Agrónomo. San Salvador, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas. P. 3,7,10.
4. BUCKMAN, H. O.; BRADY, N. C. 1982. Naturaleza y propiedades de los suelos: Texto de edafología para la enseñanza. Trad. Salord Barcelo, México, UTEHA. P. 406 - 407.
5. BROCK, T.D.; SMITH, D. W.; MADIGAN, M. T. 1992. Microbiología. 4ª. ed. Prentice Hall. México. P. 245-247, 253-254, 245-254.
6. CALDERÓN CALDERÓN, G.A.; SÁNCHEZ RENDEROS, C. A. 1988. Materiales y métodos constructivos para la vivienda marginal y rural. Tesis Ing. CIV. San Salvador, Universidad de El Salvador, Facultad de Ingeniería y Arquitectura. P. 105-108.

15. Maff Fool Broad (13) [Htt://www.tdale,demon.co.uk/Beekeeping/maff-d13. Htm.](http://www.tdale,demon.co.uk/Beekeeping/maff-d13.Htm)
16. DÍAZ, M. 1997. Mejorando la apicultura nacional. El Diario de Hoy, San Salvador, El Salvador; marzo 19.
17. EMPEZANDO CORRECTAMENTE CON ABEJAS. 1984. Trad. Ernesto Guzmán Novoa. México, Samecoex, S.A. P. 97.
18. ESTRELA, C.; PÉCORA, J. s.f. Características de hidróxido de calcio [htm./http://www.forp.usp.br/Restauradora/calcio/química. Htm.](http://www.forp.usp.br/Restauradora/calcio/química.Htm)
19. FRITZSCH, W.; BREMER, R. 1975. Higiene y profilaxis en apicultura. Trad. José Romero Muñoz de Arenillas. Zaragoza Acribia. España. P. 26 - 28.
20. GOODMAN Y GILMAN. 1996. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª. ed. México. Mc-Graw Hill Interamericana. Vol.(2). P. 1095.
21. GUZMÁN, P. A. 1986. Diccionario geográfico de El Salvador. Tomo I, Ministerio de Obras Públicas. Instituto Nacional Geográfico. P. 400.

22. JEAN - PROST, P. 1995. Apicultura. Conocimiento de la abeja, manejo de la colmena. 3ª. Edic. Trad. Enrique Asencio Sierra. Bilbao, España. Ediciones Mundi Prensa. P. 250-252.
23. JORDAN, M. 1999. Las abejas se pueden enfermar. El Diario de Hoy, San Salvador, El Salvador; mayo 25: P. 62.
24. LEIVA DE PAZ, G. 1983. Las abejas su explotación nacional, San Andrés, El Salvador, ENA. P. 162,167- 168.
25. LIPROT, G.F. 1974. Química Inorgánica Moderna. Trad. Gustavo Gardoño Sánchez/Continental SECSA. P.235 - 236.
26. LOQUE EUROPEO. 1999. <http://www.inta.gov.ar/apinet.euro.htm>.
27. LÜLLMANN, C. 1999. Institut Für Honiganalytik.
28. MANUAL MERCK. 1994. Diagnóstico y terapéutica. - Barcelona, España. Océano. 9ª. ed. P.29-33.
29. MANUAL TÉCNICO APÍCOLA. s.f, Proyecto establecimiento y manejo de un apiario productivo en la zona del bosque Nancuchiname. El Salvador. FUPAD-USAID. P. 27 - 28.

30. MANUAL COMPLETO DE APICULTURA. 1990. Trad. Emeterio Elu Acha. México. Limusa. P. 92-95.
31. MACGREGOR, S. E. 1987. La apicultura en los Estados Unidos. México. Limusa. P.92 - 95.
32. MEYER, L. 1959. Farmacología y terapéutica veterinaria. Trad. María Teresa Toral. México, D.F. Hispanoamericana. P. 373 - 374.
33. MONDRAGON, M. 1969. Farmacia química, Madrid, España. Albranbra, P. 489-690.
34. NUILA DE MEJÍA, J. A.; MEJÍA MEJÍA, M. A. 1990. Manual de diseños experimentales, con la aplicación en la agricultura y ganadería. Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas. P. 56 - 68.
35. OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTES. 1992. Manual of standars for diagnostic. Test. And vaccines. P.694-697.
36. O.I.R.S.A. 1990. Enfermedades y plagas de la abeja Mellifera Occidental. BID. P. 21 - 32.
37. 1998. Manejo y control de la abeja africanizada; Programa regional para el manejo y control de la abeja africanizada. BID. P. 22 - 26.

38. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD.S.F. Excelente bactericida contra el vibrio cholerae. México. Tomado de inf. [http: www.acrideedo.ar/servicios/comunica/vibrio. htm.](http://www.acrideedo.ar/servicios/comunica/vibrio.htm)
39. PEDRÓN GONZÁLES, J. 1998. Patología de la abeja melífera. México, D.F. Corporación Industrial Gráfica. P.7 - 9.
40. PERDOMO BARRIENTOS, R. 1997. La loque Europea. DGSVA. (Comunicación personal).
41. PERDOMO, R. HAMPTON, H. 1970. Ciencia y tecnología del suelo. Guatemala, Centro de Producción de Materiales. P. 115 - 117.
42. ROOT, A. I. 1978. ABC y XYZ de la apicultura moderna 37 ed. Trad. Virginia McCormick, Buenos Aires, Argentina. Hemisferio Sur. P. 216 - 228.
43. SEPÚLVEDA GIL, J. M. 1983. El mundo de las abejas. Barcelona, España. Editorial Aedos. P. 154.
44. TORRES ARIAS, G.; CÓRDOVA OSORIO, M.; CARDONA Z., R. E. 1991. Usos de enmiendas o alcalinizantes en suelos ácidos de las zonas cafetaleras de El Salvador. Instituto Salvadoreño de Investigaciones del Café. P. 8-10.

10. ANEXOS

**CUADRO A-1. ANVA de los promedios de la cantidad de colonias
aparecidas en los tratamientos.**

F.de V.	GL	SC	CM	"F" cal	"F" "tab. 1%
Tratamientos	5	5.073	1.015	1915.094	3.58**
C1=T ₁ -T ₂ T ₃ T ₄ T ₅ T ₆	1	3.486	3.486	6577.358	7.39**
C2=T ₃ -T ₂ T ₄	1	0.526	0.526	992.453	7.39**
C3=T ₃ -T ₅ T ₆	1	0.015	0.015	28.302	7.39**
C4=T ₃ -T ₅	1	0.148	0.148	279.245	7.39**
C5=T ₃ -T ₆	1	0.148	0.148	279.245	7.39**
Error Experimental	36	0.019	0.00053		
Total	41				

**= Altamente Significativo

CUADRO A - 2. DATOS INICIALES TRANSFORMADOS POR LA EXPRESIÓN Log (x)

TRATAMIENTOS	REPETICIONES								
	1	2	3	4	5	6	7	Σ	\bar{X}
Testigo	3.137	3.149	3.117	3.146	3.143	3.127	3.143	21.962	3.137
Cal. 0.10	2.666	2.677	2.663	2.670	2.671	2.665	2.668	18.679	2.668
Cal. 0.15	2.243	2.326	2.204	2.248	2.283	2.220	2.243	15.767	2.252
Cal. 0.20	2.530	2.479	2.474	2.533	2.505	2.504	2.531	17.556	2.508
Trisulfavit	2.338	2.342	2.365	2.346	2.340	2.352	2.342	16.425	2.346
Terrasulfa	2.049	2.000	2.064	2.072	2.025	2.057	2.061	14.328	2.046

CUADRO A – 3. ANALISIS DE VARIANZA DE LA CANTIDAD DE COLONIAS DE BACTERIAS APARECIDAS

F. de V.	GL	SC	CM	"F" Calc.	F. Tablas 1%
Tratamiento	5	5.073	1.015	1915.094**	3.58
Error Experimental	36	0.019	0.00053		
TOTAL	41	5.092			

**** = Altamente Significativo**

CUADRO A – 4. CUADRO RESUMEN DE COEFICIENTES DE LOS CONTRASTES ORTOGONALES

Contrastes	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	$\sum C_i Y_i$	$\sum (C_i Y_i)^2$	$n \sum (C_i)$	$\sum (C_i Y_i)^2$ $n \sum C_i^2$
	21.692	18.679	15.767	17.556	16.425	14.328				
$C_1 = T_1 - T_2 T_3 T_4 T_5 T_6$	+5	-1	-1	-1	-1	-1	-27.055	731.973	210	3.486
$C_2 = T_3 - T_2 T_4$	0	-1	+2	-1	0	0	+4.701	22.099	42	0.526
$C_3 = T_3 - T_5 T_6$	0	0	+2	0	-1	-1	-0.781	0.6099	42	0.015
$C_4 = T_3 - T_5$	0	0	+1	0	-1	0	+0.658	0.433	14	0.031
$C_5 = T_3 - T_6$	0	0	+1	0	0	-1	-1.439	2.071	14	0.148

**CUADRO A - 5. ANALISIS DE VARIANZA DESCOMPUESTO DE LOS
CONTRASTES ORTOGONALES**

F. de V.	GL	SC	CM	FC	F. Tablas 1%
Tratamientos	5	5.073	1.015	1915.094**	3.58
$C_1 = T_1 - T_2T_3T_4T_5T_6$	1	3.486	3.486	6577.358**	7.39
$C_2 = T_3 - T_2T_4$	1	0.526	0.526	992.453**	7.39
$C_3 = T_3 - T_5T_6$	1	0.015	0.015	28.302**	7.39
$C_4 = T_3 - T_5$	1	0.031	0.031	58.491**	7.39
$C_5 = T_3 - T_6$	1	0.148	0.148	279.245**	7.39
Error Experimental	36	0.019	0.00053		
TOTAL	41				

** = Altamente Significativo

CUADRO A - 6. VIÑETA DE PRODUCTO COMERCIAL

TERRA-SUL "A"

VITAMINADO.

Composición	Cantidad
Oxitetraciclina Hcl.....	900 mg.
Sulfatiazol Sódico.....	1,400 mg.
Ácido Ascórbico.....	540 mg.
Biotina.....	0.12 mg.
Vitamina A.....	100,000 UI
Vitamina D.....	3,000 UI
Vitamina E.....	6 UI
Vitamina B1.....	80 mg.
Vitamina B2.....	140 mg.
Vitamina B6.....	80 mg.
Vitamina 12.....	4.4 mg.
Ácido Fólico.....	65 mg.
Ácido Nicotínico.....	920 mg.
Ácido Pantoténico.....	210 mg.
Excipiente C.S.P.....	80 grs.

CUADRO A - 7. VIÑETA DE PRODUCTO COMERCIAL

TRISULFAVIT

MULTIVITAMINADO

Ingredientes	Cantidades
Trimetroprin.....	1500 mg.
Sulfatiazol - Sodico.....	800 mg.
Proteínas.....	400 mg.
Vitaminas	
"A".....	25,000 UI
Ds.....	2,500 UI
E.....	15 UI
C.....	41,6 mg.
B1.....	5 mg.
B2.....	8.3 mg.
B3.....	6 mg.
B12.....	0.2 mg.
K.....	4.1 mg.
Ácido Nicotínico.....	25 mg.
Ácido Fólico.....	0.25 mg.
Pantotenato de Calcio.....	25 mg.
Biotina	0.02 mg.
Sacarosa CSP.....	80 gms.

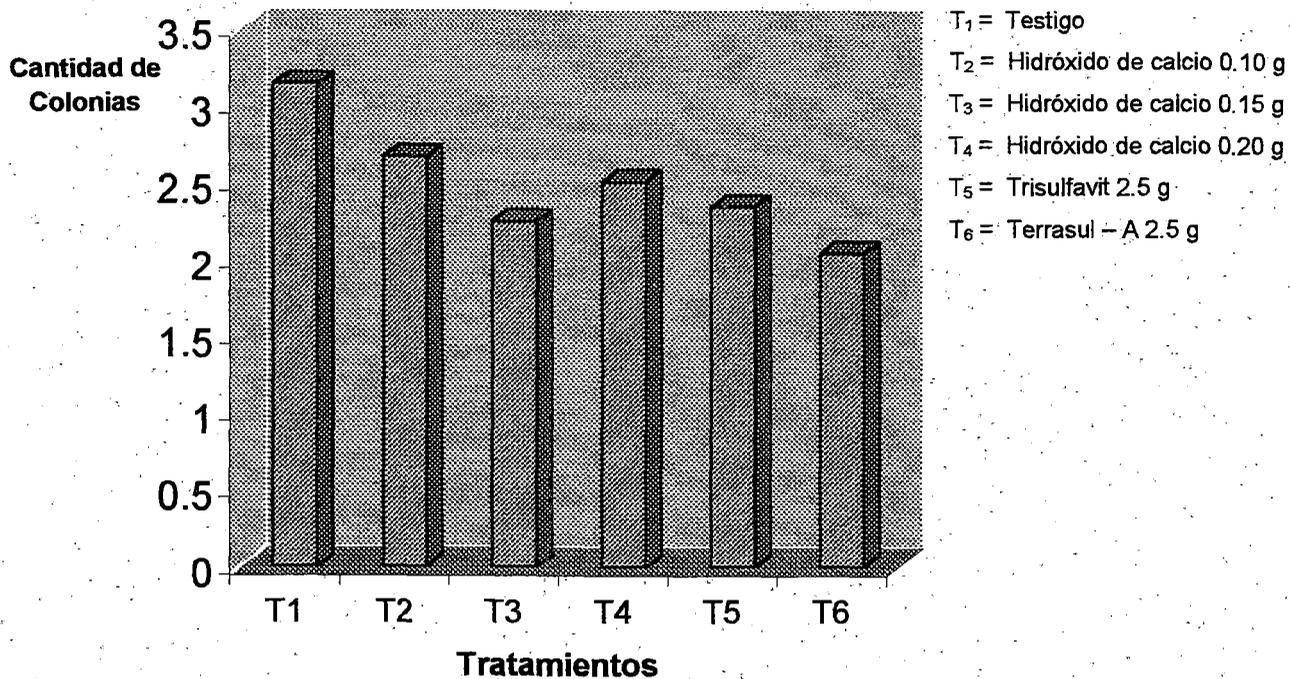


FIGURA A - 1.

DATOS TRANSFORMADOS PROMEDIO DE COLONIAS DE BACTERIAS APARECIDAS POR TRATAMIENTO.

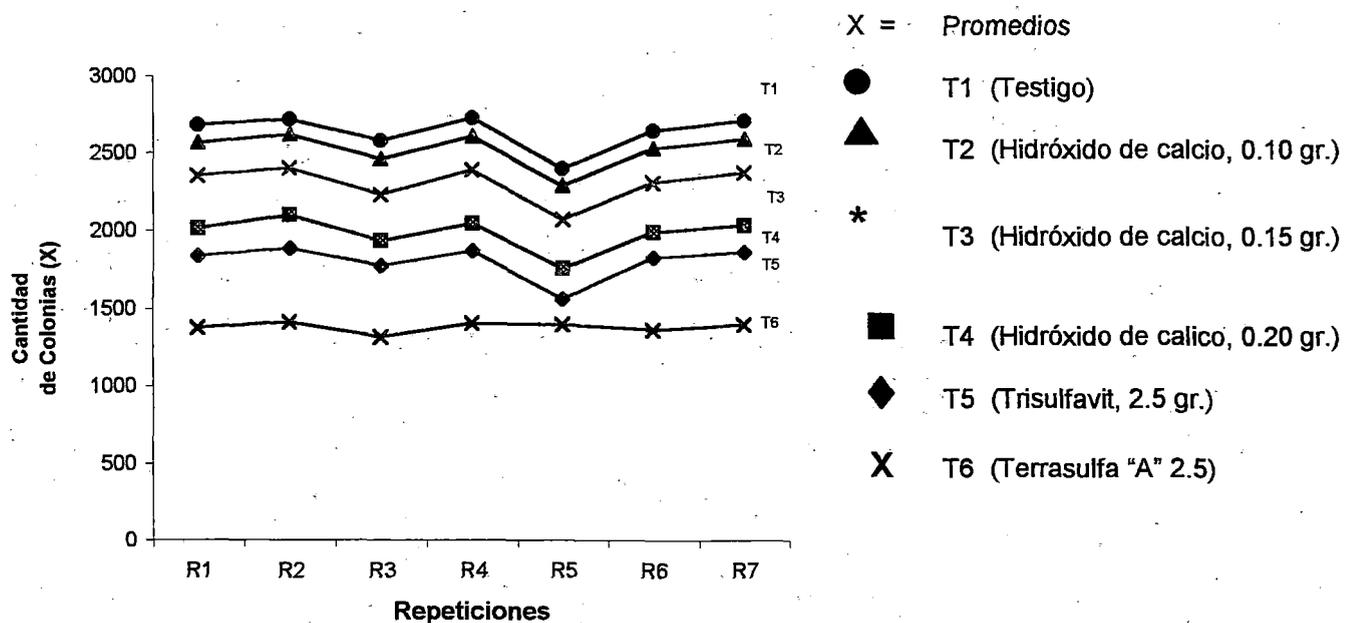


FIGURA A-2. PROMEDIOS DE COLONIAS DE BACTERIAS APARECIDAS POR REPETICION.

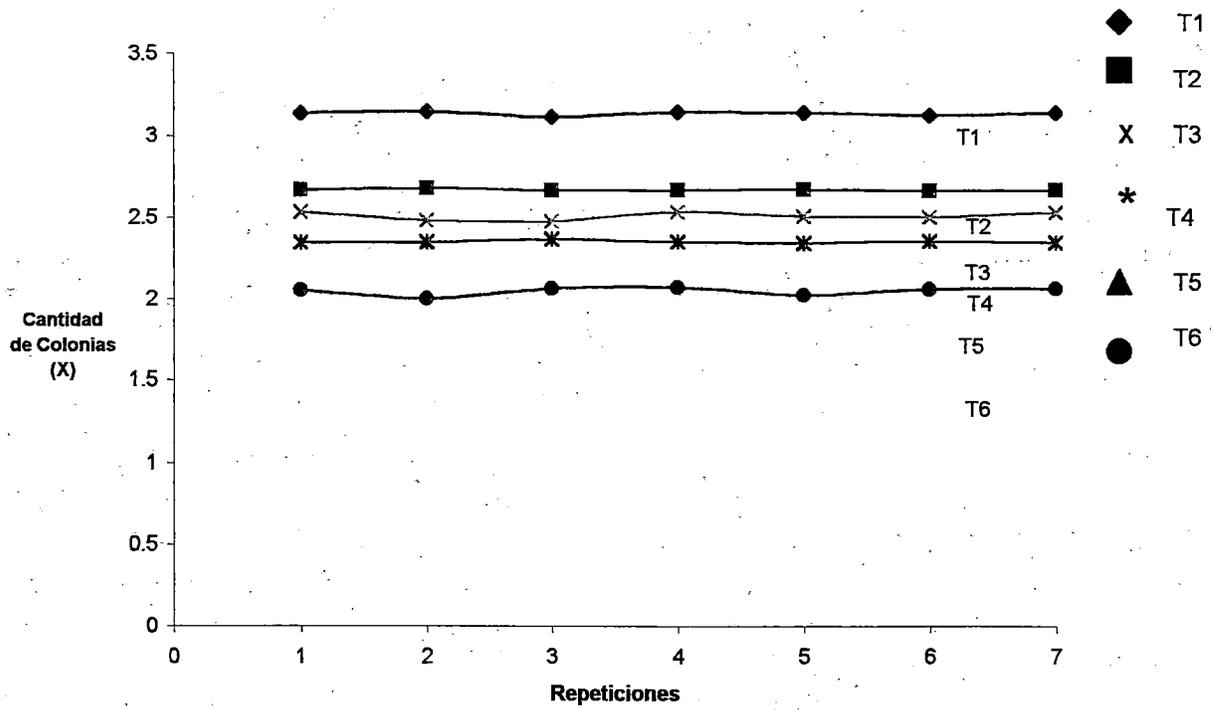


FIGURA A-3. DATOS TRANSFORMADOS PROMEDIOS DE COLONIAS DE BACTERIAS APARECIDAS POR REPETICIÓN.



FIGURA A-4. PANAL CONTENIENDO LARVAS AFECTADAS DE LA LOQUE EUROPEA.

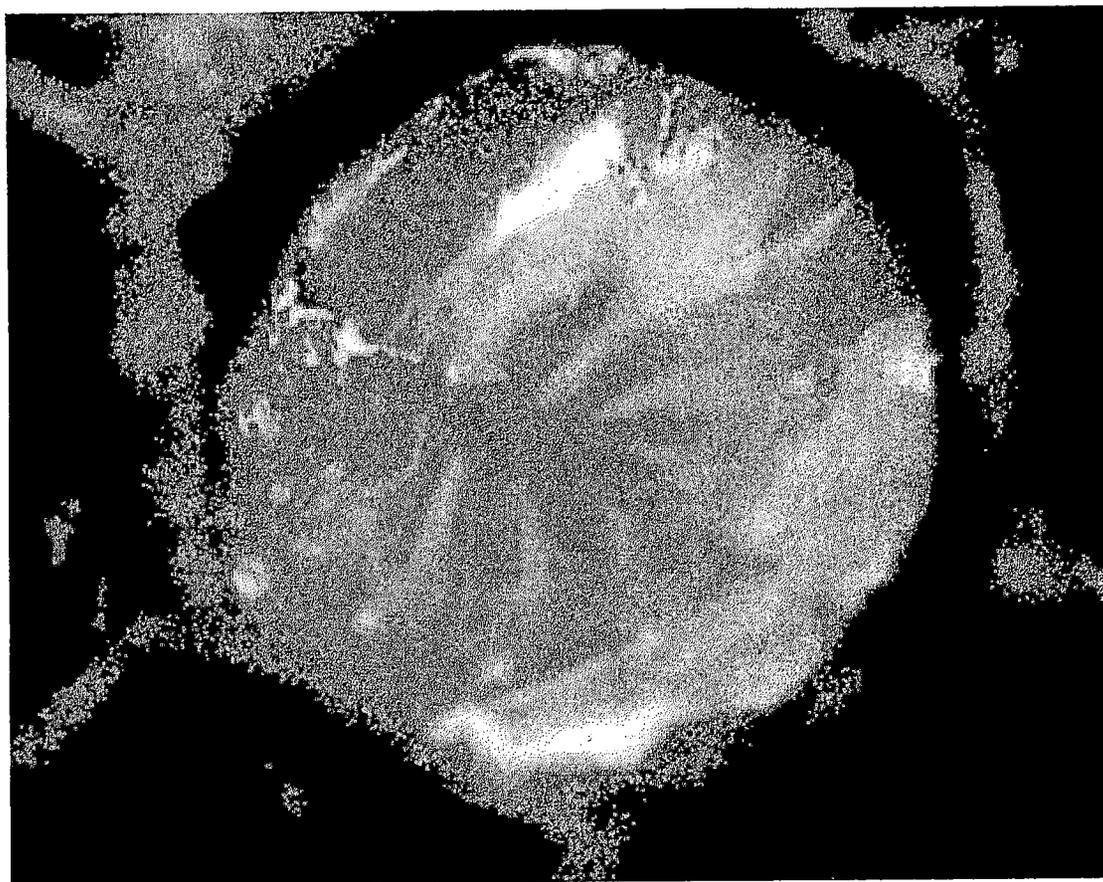


FIGURA A-5. APARIENCIA DE LA LARVA INFECTADA.

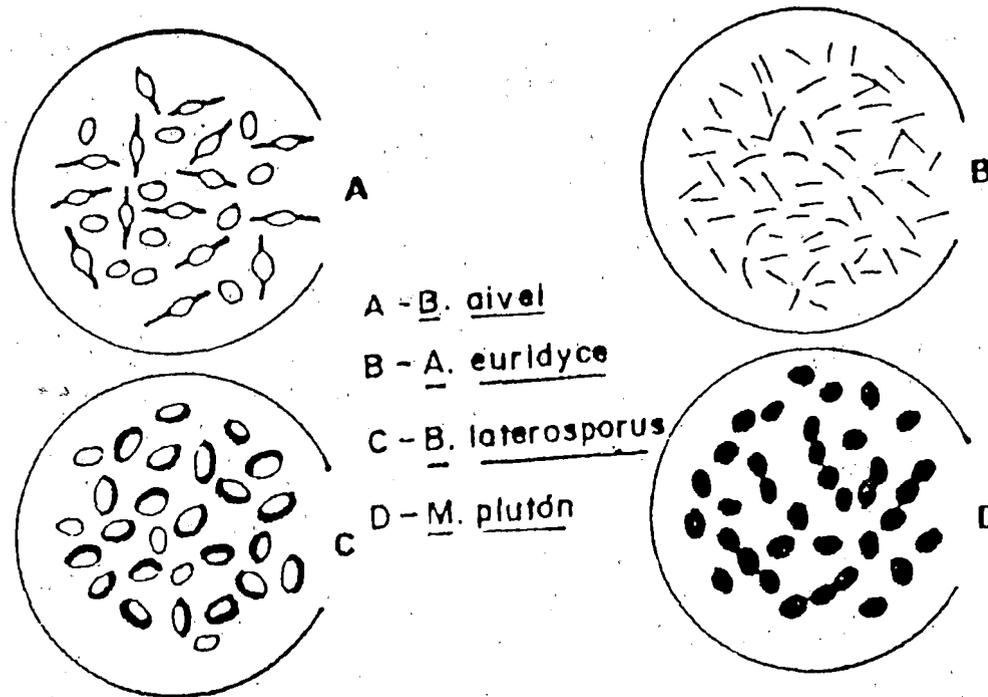


FIGURA A- 6. COMPLEJO DE BACTERIAS CAUSALES DEL LOQUE EUROPEO.

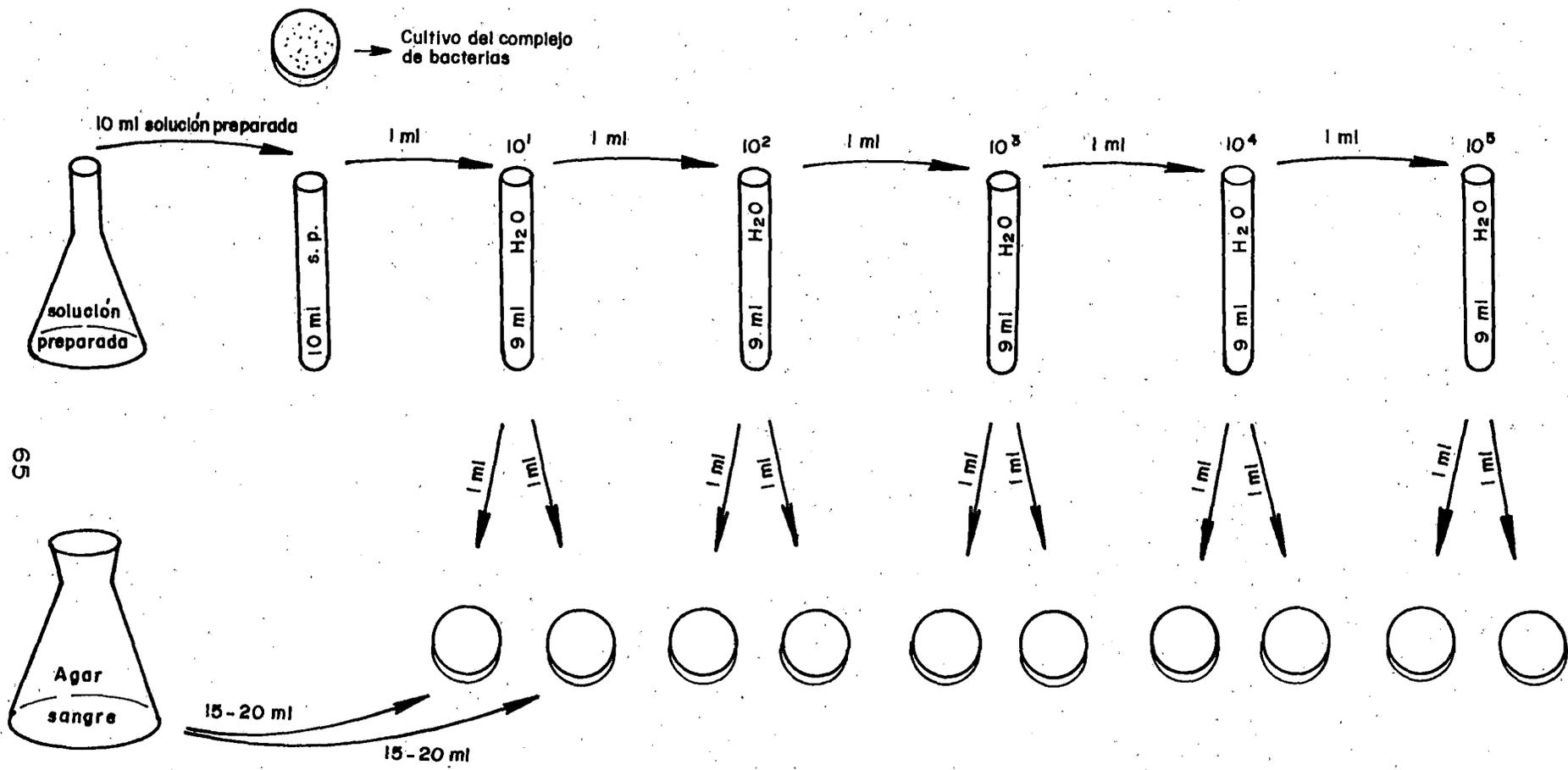


FIGURA A-7. INOCULACION DE COLONIAS DEL COMPLEJO DE BACTERIAS .



S.C.A.E.S. de R. L.

SOCIEDAD COOPERATIVA DE APICULTORES DE EL SALVADOR, DE R. L.

OFICINA CENTRAL: Carretera a Santa Ana Km. 27 ½ Cantón La Arenera, San Juan Opico Departamento La Libertad, El Salvador. C. A. Telefax: (503) 338-4868

SALA DE VENTAS: Avenida Río Lempa No. 10 Colonia Jardines de Guadalupe, Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador. C. A. Apto. Postal A 156, Teléfono (503) 243-3912. Fax: (503) 273-4248

La Arenera, 22 de Octubre de 1999.

Señores.
 AVINDUSTRIAS S.A. de C.V.
 Presente.
 Atn: Ing. Napoleón Ernesto Bolaños.

Estimado Ingeniero, el motivo de la presente es para comunicarle que de acuerdo a las exigencias del Mercado Internacional, la calidad de la Miel de Abejas es afectada por el Sulfatiazol Sódico, el cual es parte de los componentes del TERRA-SUL A, que AVINDUSTRIAS fabrica.

El TERRA-SUL A, por su efectividad contra las enfermedades de las abejas es un producto muy solicitado por Socios y Clientes de nuestra Cooperativa, pero su uso con la fórmula actual, por el contenido de Sulfatiazol, nos da problemas en el momento de Comercializar la Miel.

Es por eso que La Sociedad Cooperativa de Apicultores de El Salvador de R.L. (SCAES de R.L.) en coordinación con la Comisión Nacional Apícola de El Salvador (CONAPIS) han acordado luchar para que se cumpla con las exigencias del Mercado Internacional. Por tal motivo nos dirigimos a usted, para solicitarle, muy cordialmente, que ya no se utilice el Sulfatiazol para la fabricación de medicamentos para las Abejas; y así podamos vender a los Apicultores Medicinas Efectivas y que no afecten los productos Apícolas. Específicamente la Miel.

Agradeciéndolo su atención a la presente me despido.

Atentamente.

ic. José Ernesto Rodas Ayala.
 Vice-Presidente de CONAPIS.
 Presidente de SCAES de R.L.



