

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA



PRESENCIA DE LOQUES (AMERICANA Y EUROPEA), AISLAMIENTO Y PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A Melissococcus pluton EN EPOCA SECA, EN LA REGION CENTRAL DE EL SALVADOR

POR :

MILAGRO DE MARIA BONILLA BONILLA

NELSON RENE CASTRO TOBAR

ANA DAYSI CHEVEZ MORALES

REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO

SAN SALVADOR, OCTUBRE DE 1991

700
B715P

U.E.S. BIBLIOTECA
FACULTAD DE AGRONOMIA

Inventario: 13100302

000953
Ej 1.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR : DR. FABIO CASTILLO FIGUEROA

SECRETARIO GENERAL : LIC. MIGUEL ANGEL AZUCENA

d) por la secretaría de la Fac. de C.C. AA. 15-XI-91

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

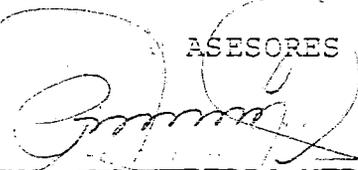
DECANO : ING. AGR. GALINDO ELEAZAR JIMENEZ MORAN

SECRETARIA : ING. AGR. MORENA ARGELIA RODRIGUEZ DE SOTO

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

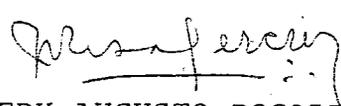
ING. AGR. JORGE RODOLFO MIRANDA GAMEZ

ASESORES :

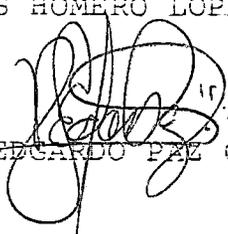

~~ING. AGR. PEDRO MEDRANO SORTO~~

DR. SIXTO PARADA RIVERA

JURADO EXAMINADOR :


DR. FREDY AUGUSTO ROSALES CRUZ


ING. AGR. LUIS HOMERO LOPEZ


ING. AGR. NAPOLEON EDEARDO PAZ QUEVEDO

R E S U M E N

En El Salvador, existen pequeños y medianos apicultores, quienes se ven afectados por pérdidas económicas al disminuir la producción de miel en sus apiarios a causa de las enfermedades, especialmente las que atacan a la cría y disminuyen por ende, la población, como son las loques americana y europea.

Es necesario por ello, hacer una mayor investigación de estas enfermedades en el país, tanto para ratificar su presencia como para dar alternativas de control, ya que unos apicultores utilizan en forma indiscriminada un solo producto, provocando esto, resistencia por parte de la bacteria al medicamento; otros en cambio, se abstienen de medicar por resaltarles un costo muy elevado.

En tal sentido, se realizó un muestreo en época seca en la región central de 64 apiarios y 111 colmenas, de las que se tomó muestras de panal con tamaño de 10 x 15 cm, después de hacer una observación y prueba de campo en la que se utilizó la prueba del palillo, además de considerar el aspecto de la postura, el color de las larvas y su posición en las celdas y también el olor de la colmena. Luego, las muestras fueron envueltas con papel sin ser tocadas directamente con las manos, se identificaron convenientemente y se llevaron posteriormente al Laboratorio de Referencia Nacional del Cen

tro de Desarrollo Ganadero, para su respectivo análisis.

En el laboratorio, se diferenci^ó la loque americana de la loque europea, con ayuda de la t^écnica de la gota colgante y la prueba de Holst. Se aisl^ó el Melissococcus pluton (agente causal primario de loque europea), sembrando en los medios de cultivo Agar sangre, se procedi^ó luego, a la coloración de Gram para la identificaci^ón del agente causal aislado en forma pura y en las pruebas de sensibilidad al mismo, se utiliz^ó el m^étodo en placa o del disco.

Los resultados obtenidos del muestreo demostraron que la loque americana está presente en un promedio total de 94,14%, causado por la resistencia de las esporas del Bacillus larvae, que pueden permanecer viables por largo tiempo y en condiciones adversas; tambi^{én} la loque europea se presenta, en un - promedio total de 6,07%, esto debido a que el agente causal de la misma (Melissococcus pluton), no forma esporas y es controlada en parte por las abejas limpiadoras. En el aislamiento y pruebas de sensibilidad a dicho agente causal, se observ^ó que es sensible a la tetraciclina y la oxitetraciclina, además la respuesta negativa de la penicilina, ampicilina, es-reptomycina, eritromycina y el triple sulfa, al no causar ning^{ún} efecto.

En relaci^ón con lo anterior, se concluye que las loques (americana y europea) se presentan en el país tambi^{én} en época seca y que pueden utilizarse otras alternativas en el control de loque europea.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestros sinceros agradecimientos :

- A NUESTROS ASESORES :
Ing. Agr. Pedro Medrano Sorto y Dr. Sixto Parada Rivera.

- A LOS TECNICOS DEL PROGRAMA DE ABEJA AFRICANIZADA DEL
C.D.G., SOYAPANGO.

- A LA SRA. DORA ALICIA DUQUE DE VIDAL Y AL DOCTOR FREDDY
ROSALES :
Por su contribución y apoyo en el desarrollo de nuestro
trabajo.

- A LA SEÑORA MARINA DEL CARMEN RODRIGUEZ
Por su paciente colaboración en el mecanografiado de es
te trabajo.

- AL SEÑOR JOSE MARIA MARTINEZ (DON CHEMITA)
Por su valioso aporte.

DEDICATORIA

- A NUESTRO CREADOR :
Por iluminarme el camino a seguir

- A MIS PADRES
María Graciela Bonilla de Bonilla
Felipe Vinicio Bonilla B.
Por su amor y apoyo

- A MIS HERMANOS
Hernán, Blanca Flor, Ana Gladis, Alvaro, Hugo, Mayra, -
Gloria, Omar, Vinicio, Edwar, Baltazar

- A MI ABUELITA
Luz Diamantina Bonilla

- A MIS SOBRINOS

- A MI TIA CLARA LUZ
Con un especial cariño

- A MIS AMIGOS Y A MIS COMPAÑEROS DE ESTUDIO

MILAGRO DE MARIA

DEDICATORIA

- A DIOS TODOPODEROSO

- A MIS PADRES
José María Castro
Delia Tobar de Castro

- A MIS QUERIDOS HERMANOS

- A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

- A MILAGRO DE MARIA y ANA DAYSI

- A MI COMPAÑERO
Mario Martínez

- A MI AMIGO
José Everardo Mata

NELSON RENE

DEDICATORIA

- AL OMNIPOTENTE :
Por guiarme paso a paso.
"No temas porque yo estoy contigo; no desmayes, porque yo soy tu Dios... siempre te ayudaré, siempre te sustentaré con la diestra de mi justicia".
Isaías 41:10

- A MI MADRE :
Dora Morales de Chévez
Por haberme cuidado y orientado con ternura y amor haciendo suyos mis sacrificios.

- A MI ABUELO MATERNO :
De grata recordación.
Por transmitirme con sencillez sus consejos y perseverancia.

- A LOS MIEMBROS DE : JUVENTUD MISIONERA SALESIANA (DON RUA)
Por su entusiasmo y alentadora disposición en todo momento.

- A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS :
Milagro de María, Nelson René, Mercy, Liliam y todos aquellos que de una u otra forma me brindaron su apoyo, consejo y paciencia

CON CARIÑO

ANA DAYSI

I N D I C E

	Página
RESUMEN	iv
AGRADECIMIENTOS	vi
DEDICATORIA	vii
INDICE DE CUADROS	xiii
INDICE DE FIGURAS	xv
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION DE LITERATURA	2
2.1. Importancia de la apicultura en El Salva- dor	2
2.2. Enfermedades de las abejas	2
2.2.1. Historia de las loques	3
2.2.2. Loque americana	4
2.2.2.1. Etiología	6
2.2.2.2. Epizootiología	7
2.2.2.3. Patogenia	8
2.2.2.4. Sintomatología	8
2.2.2.5. Tratamiento	9
2.2.2.6. Prevención	10
2.2.2.7. Diagnóstico	10
2.2.3. Loque europea	11
2.2.3.1. Etiología	11

	Página
2.2.3.2. Epizootiología	12
2.2.3.3. Patogenia	13
2.2.3.4. Sintomatología	13
2.2.3.5. Tratamiento	15
2.2.3.6. Prevención	16
2.2.3.7. Diagnóstico	16
2.2.4. Antibióticos	17
2.2.4.1. Generalidades	17
2.2.4.2. Algunos antibióticos actua- les	17
3. MATERIALES Y METODOS	20
3.1. Localización	20
3.1.1. Características generales	20
3.1.2. Ubicación geográfica	21
3.2. Metodología	21
3.2.1. Fase de campo	21
3.2.2. Fase de Laboratorio	23
3.2.2.1. Técnicas de Identificación ..	23
3.2.2.1.1. Técnica de la go- ta colgante	23
3.2.2.1.2. Prueba de Holst..	24
3.2.2.2. Aislamiento	24

	Página
3.2.2.2.1. Siembra	24
3.2.2.2.2. Coloración de Gram	25
3.2.2.3. Prueba de sensibilidad a <u>Melissococcus pluton</u>	26
4. RESULTADOS	27
4.1. Muestreo	27
4.1.1. Departamento de San Salvador	28
4.1.2. Departamento de Chalatenango	29
4.1.3. Departamento de La Libertad	30
4.1.4. Departamento de Cuscatlán	32
4.2. Aislamiento y pruebas de sensibilidad a <u>Me-</u> <u>lissococcus pluton</u>	32
5. DISCUSION	37
5.1. Muestreo	37
5.1.1. Loque americana	37
5.1.2. Loque europea	39
5.2. Aislamiento y prueba de sensibilidad	41
6. CONCLUSIONES	44
7. RECOMENDACIONES	45
8. BIBLIOGRAFIA	46
9. ANEXOS	51

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Signos diferenciales de Loque americana y Loque europea	22
2	Presencia de Loque americana y Loque europea en época seca, en la región central de El Salvador	28
3	Presencia de Loque americana y Loque europea en época seca, en el Departamento de San Salvador	29
4	Presencia de Loque americana y Loque europea en época seca, en el Departamento de Chalatenango	30
5	Presencia de Loque americana y Loque europea en época seca, en el Departamento de La Libertad	31
6	Presencia de Loque americana y Loque europea en época seca, en el Departamento de Cuscatlán	32
7	Respuesta del <u>Melissococcus pluton</u> , a los antibióticos utilizados en la prueba de sensibilidad	33

Cuadro		Página
A-1	Ubicación geográfica de los municipios <u>mues</u> treados en el Departamento de San Salvador.	56
A-2	Ubicación geográfica de los municipios <u>mues</u> treados en el Departamento de Chalatenango.	57
A-3	Ubicación geográfica de los municipios <u>mues</u> treados en el Departamento de La Libertad .	58
A-4	Ubicación geográfica de los municipios <u>mues</u> treados en el Departamento de Cuscatlán ...	59
A-5	Costo total de la investigación	67

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Colonias de <u>Melissococcus pluton</u> , <u>Bacillus alvei</u> (Loque europea) y <u>Bacillus larvae</u> -- (Loque americana)	34
2	Agente causal primario de Loque europea -- (<u>Melissococcus pluton</u>)	35
3	Agente causal de Loque americana (<u>Bacillus larvae</u>)	36
A-1	Estadios de pudrición en la cría con Loque Americana	52
A-2	Estadios de pudrición en la cría con Loque Europea.....	53
A-3	Ciclo de infección natural de Loque europea.	54
A-4	Dibujos esquemáticos de bacterias asociadas con enfermedades de la cría de la abeja melífera	55
A-5	Presencia de loques en época seca en la región central de El Salvador	60
A-6	Presencia de loques en época seca, en el Departamento de San Salvador	61
A-7	Presencia de loques en época seca, en el Departamento de Chalatenango	62

Figura		Página
A- 8	Presencia de loques en época seca, en el - Departamento de La Libertad	63
A- 9	Presencia de loques en época seca en el De partamento de Cuscatlán	64
A-10	Zona central con sus límites municipales .	65
A-11	Mapa de El Salvador por regiones	66

1. INTRODUCCION

En El Salvador como en muchos países, la apicultura tiene gran importancia debido a la diversidad de productos que se obtienen tales como cera, polen, propóleo, jalea real y miel. En nuestro país, de los productos elaborados por las abejas, la miel es el principal generador de divisas, de aquí la importancia de mantener una buena producción.

Las abejas como cualquier ser vivo se ven afectadas por enfermedades a lo largo de su ciclo de vida, cuyos síntomas no pueden pasar desapercibidos por el apicultor, puesto que ello, podría ocasionar la pérdida de la colonia. Las enfermedades que afectan a las crías en desarrollo revisten mayor gravedad, debido a que ocasionan las mayores pérdidas económicas, según OIRSA (26), al disminuir la población se pierden \$ 3,00 por colonia por año. Siendo entre estas enfermedades de la cría, de vital relevancia las loques (americana y europea) a las cuales, se les ha dado poca o ninguna importancia de investigación en el país. Por otra parte, al tratar de controlarlas se han tomado medidas inadecuadas, utilizando un solo producto, lo que está ocasionando una mayor resistencia por parte de las bacterias a éste.

Por ello, la investigación se orientó a realizar un muestreo de las dos enfermedades en la Región Central de El Salvador, desde el 11 de enero al 20 de mayo de 1991, tanto para ratificar su presencia como para advertir su gravedad a los apicultores; se aisló el agente causal primario de lo que europea (Melissococcus pluton), al cual se le realizó pruebas de sensibilidad, con el objetivo de encontrar otros antibióticos que sustituyan o complementen al tradicional y que puedan ser utilizados por todos los apicultores

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. Importancia de la apicultura en El Salvador

En El Salvador, la apicultura es una de las actividades pecuarias, clasificadas como dentro de las especies menores que aportan gran cantidad de materia prima para uso industrial (cosméticos, medicamentos, etc.).

Las abejas son insectos que contribuyen a la polinización de los cultivos y su producto más importante es la miel (25, 26)-

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 (4).

Para lograr una producción óptima de miel se requiere un manejo adecuado, buena alimentación y sobre todo un debido control del estado sanitario del apiario (11).

2.2. Enfermedades de las abejas

Las enfermedades de las abejas pueden clasificarse en enfermedades de la cría y en enfermedades de las 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) (26).

Las que atacan a la cría revisten mayor gravedad y se encuentran difundidas en todo el mundo afectando los ingresos de los apicultores y generando pérdidas económicas para los productores (7, 24).

Estas enfermedades pueden ser identificadas en el campo cuando el apicultor tiene experiencia, pero alguna de ellas requieren del envío de muestras a un laboratorio especializado, ya que sus síntomas son confusos. Es por ello que muchas veces los apicultores no se explican el por qué de los bajos rendimientos de sus colonias. Por lo que es recomendable realizar un muestreo en cada apiario una vez por año, y enviar las muestras a un laboratorio para su diagnóstico, principalmente cuando se trata de loque americana y loque europea, ya que sus signos pueden confundirse (25).

2.2.1. Historia de las loques

Root (29), reporta que Aristóteles en su tratado "Vida animalium", da una descripción detallada de la loque americana, también mencionada por Virgilio, quien se atreve a dar un posible tratamiento a base de vino; también Sampil, en 1978

las menciona como la peste de las abejas y pone de manifiesto su gravedad. Por otra parte, los verdaderos fundamentos científicos según Root (29), se deben a G. F. White, quien en 1904 describió el agente causal de la loque americana. Con respecto al tratamiento, el mismo autor menciona que a principios de la década de 1940, el Doctor Leonard Hoseman, profesor de Entomología de la Universidad de Missouri, EE. UU., introdujo el uso de sulfamidas para tratar loque americana, iniciando la quimioterapia en las enfermedades de las abejas; antes de este acontecimiento sólo existía la única alternativa de quemar las colmenas. Sin embargo, a finales de la década de 1940, se tuvieron informes de reinfección, esto se atribuyó en primera instancia a que los sulfamidas eran ineficaces para destruir las esporas de loque americana y en segunda instancia, a que los apicultores no revisaban bien sus colonias o usaban las drogas en forma incorrecta. Otro autor mencionado por Root (29), es Fonchnaeur, quien en 1951, da informes que la terramicina (oxitetraciclina), también era eficaz para tratar loque americana y loque europea, ya que en esta última sólo se acostumbraba reemplazar a la reina como práctica sanitaria. Es así como se inicia el uso de los antibióticos en el tratamiento de enfermedades de las abejas, pero en la actualidad su forma de atacar a las bacterias no se conoce con exactitud, aunque muchas pruebas indican que los antibióticos interfieren varias fases del metabolismo celular, que es vital para las bacterias en su reproducción. No se puede dar por

seguro que una droga que resulte eficaz en este año, por ejemplo, siga siéndolo por siempre, ya que es bien sabido que existen cepas de ciertos organismos patógenos que ofrecen mayor resistencia a la acción de las drogas, de lo que es habitual (34).

Fritzsch (11), reporta que Michael en 1964, demostró que las fumigaciones con óxido de etileno eran efectivas para destruir los organismos causantes de loque europea y loque americana. Según algunos autores (17, 31), para tratar los dos tipos de loque se emplea tanto el sulfatiazol como la terramicina (oxitetraciclina), además, que la tetraciclina, puede ser la más conveniente porque tiene mayor tiempo de acción en el organismo. Por otra parte, Fritzsch (11), asegura que el sulfatiazol no produce efecto en loque europea, sólo en loque americana; otro autor que menciona el sulfatiazol, es Joao Carmargo (4), quien lo recomienda como alternativa para sustituir a la terramicina, igualmente recomienda para la misma función, otros antibióticos de uso veterinario o humano, tales como la estreptomicina, aureomicina, tetraciclina, ambis-tryn y la penicilina; Root (29), adversa parcialmente a este último autor y plantea que el Departamento de Agricultura de EE. UU, no permite el uso de estreptomicina, por la posibilidad de que la miel destinada al consumo humano pueda llevar vestigios de la droga.

Respecto a la investigación de las loques en El Salvador, Woyke (38), menciona que en 1981, el consultor patólogo Doc-

tor J. Bobrzecki, examinó en el país 41 apiarios encontrando el 41.5% de los mismos con loque europea.

OIRSA (27), en 1990, reporta que según el M.A.G. hasta septiembre de 1987, en el país sólo se tenía conocimientos de brotes aislados de loque, sin saber si se trataba de americana o europea, pues no se habían efectuado monitoreos. Esto también ya había sido manifestado en el tercer informe (35). en 1988, lo que contradice a las manifestaciones de Woyké (38).

En agosto de 1989, el Centro de Desarrollo Ganadero (M.A.G.), realizó el primer diagnóstico de enfermedades de la cría de las abejas, reportando 27.6% de loque europea y 15.01% de loque americana a nivel nacional.

A nivel centroamericano, además de El Salvador, OIRSA (28), menciona en Costa Rica 46% de loque americana y 4% de loque europea y en Honduras 30.4% de loque americana y 17.6% de loque europea.

2.2.2. Loque Americana

Esta enfermedad es conocida también como peste maligna, pudrición de la cría, peste viscosa, cría putrefacta o simplemente AFB (American Foulbrood) (2, 3).

2.2.2.1. Etiología

La bacteria que causa la enfermedad es el Bacillus larvae

(White), y se puede encontrar en dos estadios: en su forma vegetativa, cuando se reproduce en las larvas de las abejas, y como espora, en su forma de resistencia fuera del cuerpo de las larvas. El Bacillus larvae, es un microorganismo aerobio, gram positivo, de 3 a 5 micras de largo por 0.5 micras de ancho, tiende a crecer agrupándose en cadenas. Las esporas miden 1.5 micras de largo por 0.8 micras de ancho. La formación de éstas, ocurre fuera del cuerpo de la larva en presencia de oxígeno. Estas esporas son altamente resistentes a la desecación, desinfectantes químicos, y altas temperaturas (26) (ver A4).

2.2.2.2. Epizootiología

La enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo en cualquier época del año, presentándose tanto en larvas de obreras como de zánganos, debido a que las esporas permanecen latentes por muchos años en los panales de las colonias que han sufrido la enfermedad, porque la escama que deja el cuerpo desecado de la larva muerta dentro de la celdilla, -- contiene una enorme cantidad de ellas. Usualmente, las obreras de la colonia llenan estas celdillas con alimento, sobreviniendo la infección si éste está contaminado y es facilitado por las abejas nodrizas a las larvas (21, 25).

Además, varios autores coinciden (22, 26, 31), en que el hombre favorece la diseminación de la enfermedad con sus ina-

decuadas prácticas de manejo, al no desinfectar sus instrumentos de trabajo al revisar una colonia enferma o por el intercambio de panales entre colonias; y también por medio del pillaje de las abejas, al transportar alimento contaminado hacia colonias sanas, o bien, que llevan a su propia colmena la infección de una colonia enferma.

2.2.2.3. Patogenia

Las larvas de las abejas adquieren la infección al ingerir las esporas con el alimento. Una larva recién eclosionada, puede ser infectada con una sola espóra, que germina un día después de su ingestión, y la forma vegetativa de la bacteria se reproduce en el intestino, pasando posteriormente a la hemolinfa, donde continúa su reproducción y se generan millones de bacterias matando a la larva pocos días después, generalmente, cuando ésta ha iniciado su etapa de pupa, aunque en algunos casos muere aún siendo larva y después de 30 días de su muerte se deseca completamente, quedando una escama adherida a la pared de la celdilla (26, 29).

2.2.2.4. Sintomatología

Leiva de Paz (22), menciona que el primer síntoma observado es el hundimiento y perforación de las celdas de la cría, también Sepúlveda Gil (31), describe una postura irregular en

el panal (cría salteada), así como un síntoma inconfundible que es el olor a cola de carpintero que se percibe al abrir la colmena.

En cuanto al color de la larva, Root (29), menciona que el blanco brillante que tiene la larva sana se torna opaco, y que aproximadamente dos semanas después el color es castaño claro intensificándose hasta llegar a un color achocolatado.

Las larvas enfermas presentan consistencia viscosa y elástica, las costras que forman se adhieren firmemente a las paredes de las celdas (8). Según Sepúlveda Gil (31), si las larvas afectadas, en estado pastoso blando son removidas con un palillo y se trata de sacarlas, se forma una hebra o filamento pegajoso de 3 a 4 centímetros o más de largo (ver A1).

2.2.2.5. Tratamiento

Blanco (2), considera que el método más efectivo es quemar las colmenas afectadas con todo y abejas, debido a que no existe medicamento eficaz para destruir las esporas resistentes del Bacillus larvae, otra alternativa es esterilizar el piso y techo de la colmena con un desinfectante capaz de destruir las esporas del Bacillus larvae, como la solución al 1% de Peróxido de hidrógeno conteniendo 0.5% de ácido fórmico, o también, sosa caústica al 4%. El mismo autor recomienda medicar las colonias enfermas con sulfas o tetraciclinas que actúan contra la forma vegetativa de la bacteria.

De Vidal (8), sugiere el uso de 300 miligramos de Oxite-traciclina por colmena; además que se debe tener cuidado de no usar sulfas y terramicinas (Oxitettraciclina) alternadamente, y de aplicar el antibiótico sobre los marcos, nunca sobre las celdas.

De Jong, también opina que la quema de las colmenas afectadas con loque Americana, es la alternativa más acertada en su control ^{1/}.

2.2.2.6. Prevención

Leiva de Paz (22), recomienda alimentar a todas las colonias con jarabe de azúcar, al cual se le diluye un cuarto de cucharadita de sulfatiazol sódico por galón de jarabe.

Blanco (2), sugiere otras prácticas como: evitar el pillaje, calentar la espátula metiéndola dentro del ahumador luego de revisar cada colmena, no usar miel de abeja para alimentar las colmenas porque puede contener esporas, cambiar los panales viejos, cambiar reina cada año y no intercambiar panales entre colmenas si no se está seguro de su sanidad.

2.2.2.7. Diagnóstico

Para identificar la enfermedad será necesario tomar en cuenta la edad de la cría y su olor característico.

En el campo, el diagnóstico más seguro es la prueba del palillo, la cual, consiste en introducir un palillo delgado

^{1/} DE JONG, D. 1991. Incidencia de las loques en El Salvador. Brasil. Facultad de Medicina, USP. (Comunicación personal).

en una celdilla afectada y retirarlo suavemente. Si al retirarlo se forma una hebra viscosa y gelatinosa como liga que se estira por lo menos a una distancia de una pulgada, se está seguro que se trata de Loque Americana (26).

2.2.3. Loque Europea

Esta es una enfermedad infecciosa de las larvas de las abejas conocida también con el nombre de loque benigna, cría avinagrada, cría rancia o simplemente EFB (European foul-brood) (23).

2.2.3.1. Etiología

Es causada por un complejo número de bacterias. Primeramente el Melissococcus pluton (White), conocido como Bacillus pluton hasta 1956 y posteriormente como Streptococcus pluton hasta 1983; el cual, debilita las larvas y favorece el ataque de otros gérmenes como el Bacillus alvei, Bacillus laterosporus, Achromobacter eurydice y otras bacterias de asociación que normalmente son parte de la flora microbiana de una larva (25, 26).

El Melissococcus pluton (White), es una bacteria en forma de coco que no produce esporas y mide 0.7 por 1.0 micras. Crece formando cadenas, pero también es común encontrarlo en pares. 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. El Bacillus alvei, agente causal secundario, mide 0.5 por 5.0 micras y su presencia es muy útil para el diagnóstico de laboratorio, ya que en el frotis de la gota colgante, las esporas no tienen movimiento Browniano, a diferencia de las del Bacillus larvae de la loque americana (26) (ver A4).

2.2.3.2. Epizootiología

La enfermedad se ha reportado en casi todos los países donde existe apicultura. OIRSA (25), menciona que según Handedall en 1966, ya existía en El Salvador.

Sepúlveda Gil (31), manifiesta que la enfermedad puede presentarse tanto en larvas de obreras como en zánganos y en cualquier época del año. Por otra parte, Fritzsich (11), da una descripción del proceso de infección, asegurando que los gérmenes de esta enfermedad se difunden con el alimento y que su proceso infectivo rápido se presenta en todo el desarrollo de las larvas, afectando su membrana peritrófica, debido al contacto con la papilla distribuída y no por vía intestinal.

La transmisión entre colonias puede darse por utensilios y equipo contaminado, además, por las mismas abejas, ya que éstas van a pecorear al campo en las mismas flores y otras veces pueden perderse entrando en otras colmenas, llevando así la enfermedad al depositar el néctar recolectado (21, 25).

2.2.3.3. Patogenia

La susceptibilidad de las larvas a la infección es muy alta -hasta que cumplen 48 horas de vida. El Melissococcus pluton presente en las paredes de las celdillas pueden ser ingerido por las larvas jóvenes dentro de ellas se produce activamente en el tracto digestivo, utilizando los nutrientes que las larvas reciben, estableciéndose así una competencia por el alimento (22).

Antes que la larva sea operculada, cuando tiene de 3 a 5 días de edad, el Melissococcus pluton se ha reproducido tanto que ocupa la mayor parte de la luz intestinal, pasando entonces, al epitelio junto con los demás microorganismos de asociación, destruyéndolo y posteriormente causando la muerte a las larvas. Luego de cuatro semanas de muerte, la larva se seca en el piso de las celdillas dejando una escama que las obreras limpiadoras remueven con facilidad (11, 26). (Ver A3).

2.2.3.4. Sintomatología

Durante las primeras etapas de la enfermedad y en casos leves, la distribución de la cría en los panales, aún no es irregular, pero en casos más avanzados se encuentran celdas abiertas entre otras operculadas (23). Harrison (17), observó que en la primera etapa de la enfermedad mueren pocas lar-

vas, las que son arrojadas rápidamente de la colmena, dependiendo de la capacidad sanitaria que las abejas tengan. Poco antes de la muerte, las larvas atacadas aparecen inquietas y se mueven en las celdas en lugar de mantener su posición normal, cruzándose y enrollándose alrededor de las paredes o se extienden longitudinalmente desde la entrada hasta el fondo de la celda. De acuerdo a Fritzsche (11), los panales con larvas muertas suelen despedir un olor característico más o menos agrio y variable según la flora microbiana que intervenga.

La coloración blanco brillante de las larvas se va tornando opaco y al poco tiempo de su muerte adquieren un color grisáceo o amarillento que se irá oscureciendo durante el proceso hasta un marrón o casi negro (29).

La muerte de las larvas puede ocurrir antes que las celdas sean operculadas o después que ya lo han sido, Marcenaro (23), opina que en el primer caso, las larvas muertas se secan rápidamente y debido a esta brevedad en el proceso de descomposición forman escamas de color claro, y en el segundo, la coloración de las escamas formadas es marrón oscuro o casi negro. El mismo autor, también menciona que en los primeros días, las larvas pueden retirarse de sus celdas sin que se les desgarre la piel, pero que cuando todos los tejidos se vuelven blandos, adquiriendo las larvas un aspecto traslúcido y una consistencia acuosa ya no es posible retirarlas sin que se rompan. A medida que se van secando se tornan pastosas y luego

gomosas, formando al final de su desecación las escamas, éstas no se adhieren a las paredes de las celdas y pueden ser retiradas fácilmente (ver A2).

2.2.3 5. Tratamiento

Según Fritzsche (11), la destrucción de la colonia no justificada por razones científicas y económicas, no debe llevarse a efecto más que en circunstancias excepcionales, es decir, cuando la población de abejas está muy debilitada y no merece conservarla por carecer de valor; debido esto, a que la enfermedad puede ser controlada si se toman medidas adecuadas. En LA COLMENA (21), se reporta que Miller y otros, han observado en muchos casos que basta matar a la reina, las abejas expulsan la cría muerta, limpian los panales y la enfermedad desaparece. Sin embargo, es más eficaz el tratamiento con antibióticos; al respecto, Sepúlveda Gil (31), menciona que Bailey opina que los medicamentos permiten sobrevivir a las larvas, pero éstas, continúan extendiendo la infección hasta llegar a las larvas de abeja reina. Como medida curativa, Blanco (2) recomienda usar la tetraciclina y la estreptomina en dosis de 300 mg de sal pura por tratamiento y por colmena. También DE VIDAL (8), propone el uso de terramicina en dosis de 10 a 15 mg por litro de jarabe; los dos autores coinciden en repetir de 3 a 5 ocasiones con un lapso de 8 a 14 días entre un tratamiento y otro. THE USE (36), reporta que Gulber y Allenman (1952), com

probaron que 60 de 65 colmenas fueron curadas de loque europea cuando se dió 0.1 gr de terramicina por colmena; 12 de 13 fueron curadas cuando se dió 0.2 gr y de 14 colonias todas fueron curadas cuando se dió 1.0 gr de terramicina a cada una. Otros como Ziabkin y Boltov en el mismo año, mencionan que 900,000 U.I. de penicilina por litro de jarabe de azúcar, curan completamente la loque europea cuando se les da a las colonias enfermas de 3 a 5 veces con intervalos de 7 a 10 días.

2.2.3.6. Prevención

Según DE VIDAL (8), se debe tener cuidado de no intercambiar colmenas sanas con enfermas y no permitir colmenas abandonadas o rústicas en la región. OIRSA (25), sugiere dar una adecuada alimentación que estimule a las colonias, para que intensifiquen sus labores de limpieza. Por otra parte, Blanco (2) opina que no es necesario la desinfección y el flamear el equipo, ya que en este caso no hay esporas que destruir.

2.2.3.7. Diagnóstico

La identificación en el campo de la enfermedad, se hace en base a los síntomas observados y mediante la prueba del palillo, la cual resulta negativa, es decir, que no se forma hebra elástica como en loque americana (15, 26).

2.2.4. Antibióticos

2.2.4.1. Generalidades

Entre los microorganismos, además de la lucha por el alimento, suceden muchas interacciones complejas; entre éstas, la producción de sustancias metabólicas por un microorganismo que, en concentraciones muy bajas, matan o inhiben el crecimiento del otro, cuando este último es sensible al producto del crecimiento. Este fenómeno es llamado antibiosis y probablemente los que comprendieron sus derivaciones prácticas fueron Pasteur y Joubert (1877) (12, 33).

Smith (33), menciona que Benedict y Langlykke, definen el término antibiótico como "un compuesto químico derivado o producido por organismos vivos, los cuales son capaces, a pequeña concentración de inhibir los procesos vitales de microorganismos.

La palabra antibiótico, literalmente significa "contra la vida" y actualmente la producción de éstos es un proceso en su mayoría corriente; producen antibióticos no sólo muchos hongos (mohos), actinomicetos, bacterias, líquenes, plantas y animales marinos, sino también diversos vegetales que se reproducen por semilla (12, 33).

2.2.4.2. Algunos antibióticos actuales

La penicilina: Descubierta por Fleming en 1929. Es producida por actividad metabólica del hongo Penicillium notatum y otros afines, particularmente Penicillium chrysogenum. La penicilina es bacteriostático en concentraciones bajas y bactericida a otras altas. Se observa inhibición sólo en células en desarrollo y se cree que las formas raras y anormales morfológicas en células expuestas a la penicilina, pro-

bablemente se deba a una interferencia con el metabolismo del ácido nucléico, lo que produce alteraciones en la asimilación de aminoácidos y en la síntesis de proteínas (30). La mortalidad no aumenta más allá de cierta proporción máxima, independientemente de cuanta sea la penicilina existente. No hay correlación entre la sensibilidad de los diversos organismos a la penicilina y la intensidad con que se manifiestan los efectos tóxicos. Su acción selectiva hace suponer que inhibe una reacción bioquímica esencial para el grupo de bacterias Gram positivas, pero que no existe en las Gram negativas ni en las células animales.

Estreptomina. Producto metabólico de Streptomyces griseus, obtenido en forma cristalina pura en 1944. Es un glucósido y su acción mortífera aumenta con la concentración. Tiende a producir capas resistentes y no conviene usarlo adicionalmente en una enfermedad cuando ya hay resistencia adquirida; otra desventaja es su toxicidad para el hombre, pero tiene el mérito de atacar algunos organismos que son resistentes a la penicilina (33).

Tetraciclina.: Se consideran antibióticos 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, es el compuesto inicial producido en la naturaleza por la actividad metabólica de especies de Streptomyces; la Clorotetraciclina (aureomicina). Parece que su actividad es la misma que la de la penicilina para los cocos Gram positivos y que la estreptomina para los bacilos Gram negativos; la Oxitetraciclina (terramicina), es producto metabólico del Streptomyces rimosus y tiene espectro antibacteriano similar al de la clorotetraciclina (30).

Eritromicina. Producto metabólico de Streptomyces erythraeus. Muy activa contra microorganismos o cocos Gram positivos, inhibe algunos bacilos Gram negativos, pero es inactiva contra la mayor parte de los bacilos entéricos y coliformes; posee actividad moderada contra algunas cepas de microorganismos que se han tornado resistentes a la penicilina y la estreptomina. Es eficaz solamente contra bacterias en multiplicación y puede ser bacteriostática o bactericida según la sensibilidad del organismo y la concentración del antibiótico (12).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Localización

3.1.1. Características generales

El Salvador, es un país de clima tropical, su régimen térmico está caracterizado por una disminución en la temperatura con respecto a la altura, y la oscilación diurna es mayor que la estacional (10, 13).

En cuanto a la vegetación, varía de acuerdo a los tipos de tierra; así tierra caliente comprende vegetación de playa, bosques salados; los terrenos bajos con bosques húmedo calientes; en tierras templadas están pinares y encinares, la mayor parte ocupadas por cafetales y árboles de sombra como : Inga paterno (paterna), Inga prensii (nacaspilo), Inga edulis (pepeto), y la vegetación de tierras frías que está en las montañas (20).

Las características climáticas de la región central por departamento son: San Salvador con temperatura promedio -- anual de 23 °C y humedad relativa de 73%, La Libertad, temperatura promedio anual de 23,6 °C, y humedad relativa 78%, Cuscatlán con 21,8 °C temperatura promedio anual y 77% de humedad relativa (13, 19).

3.1.2. Ubicación geográfica

El estudio comprendió la Región Central de El Salvador, a la cual pertenecen los Departamentos de : San Salvador, Chalatenango, La Libertad y Cuscatlán (Fig. A-10, A-11).

3.2. Metodología

La investigación comprendió dos fases que son: Fase de campo y fase de laboratorio.

3.2.1. Fase de campo

Comprendió la ubicación de los apiarios en los municipios de la Región Central, y el muestreo de los apiarios está dísticamente representativos; coordinándose para ello con los extensionistas del M.A.G. destacados en diferentes localidades.

Se muestreó el 13,5% de los apiarios de los cuales se tomó el 10% de las colmenas existentes en cada uno y donde se encontraron apiarios con muy pocas colmenas, se muestrearon todas.

Los criterios tomados para la selección de las muestras fueron los siguientes: Al abrir la colmena se examinaron primeramente los marcos con cría observándose a ambos lados de éste, tratando de visualizar algunos de los signos de mayor importancia que caracterizan a las enfermedades de los loques (Cuadro 1).

Luego de la observación se hizo la prueba del palillo para determinar el tipo de loque, inmediatamente después de esta prueba, se cortó cada muestra a un tamaño de 10 x 15 cm envolviéndolas en papel e identificándolas con el nombre del apiario, ubicación del lugar, y trasladándolas posteriormente al laboratorio.

CUADRO 1: SIGNOS DIFERENCIALES DE LOQUE AMERICANA Y LOQUE EUROPEA

S I G N O	LOQUE AMERICANA	LOQUE EUROPEA
Apariencia General del panal	Distribución irregular de la cría Opérculos sumidos y perforados	Distribución irregular, crías muertas en celdas abiertas
Edad de la cría muerta	Cría operculada	Cría chica (no operculada)
Color de la cría muerta	Primero cremoso, luego café claro, café oscuro y finalmente negro	Primero cremoso, luego gris claro, café oscuro y finalmente negro
Consistencia de la cría muerta	Primero acuoso y luego viscoso	Primero acuoso y luego pastoso (nunca viscoso)
Olor de la cría muerta	Cola para pegar madera, fuerte	Vinagre de suave a ácido
Características de la costra o escama	Se forma en el piso de la celda, usualmente alargada; difícil de desprender. Cabeza plana y lengua adherida al piso de la celda.	Se forma usualmente enrollada al fondo o en todas las paredes de la celda (como anillo) fácil de desprender. Apariencia de hule.

FUENTE: OIRSA: 1990 (26).

3.2.2. Fase de laboratorio

3.2.2.1. Técnicas de identificación

Las muestras se analizaron en el Laboratorio de Referencia Nacional del Centro de Desarrollo Ganadero, El Matazano, Soyapango, y para la diferenciación se siguió la técnica de la gota colgante y como auxiliar la Prueba de Holst.

3.2.2.1.1. Técnica de la gota colgante

a) Preparación del frotis: Se identificaron submuestras de cada pedazo de panal macerándose dentro de cada celda el contenido de la larva, luego se frotó restos de la larva en un cubreobjetos hasta que se formó una película opaca, se fijó el frotis en la llama del mechero, al mismo tiempo se colocó suficiente aceite de inmersión sobre un portaobjetos.

b) Tinción del frotis: Se tiñó con colorante Fuchsiná félica durante 5 a 7 segundos lavándose el exceso de colorante, con agua.

c) Preparación de la laminilla: El cubreobjetos mojado se colocó con el lado del frotis hacia abajo sobre el portaobjetos que fue previamente preparado con aceite de inmersión, con ello la laminilla ya estaba lista para ser vista al microscopio.

d) Examen de la laminilla: Para esto fue necesario utilizar el objetivo de inmersión del microscopio. Esta técnica es especialmente utilizada para diferenciar la loque americana de la loque europea; para ello se buscaron al microscopio, las áreas donde el agua se encontraba estancada entre los grumos de aceite, enfocándose estas áreas para detectar la presencia de esporas flotantes. Si al observarlas, estas mostraban movimiento Browniano, eran las esporas del Bacillus larvae siendo este movimiento una característica muy valiosa; pues las esporas del Bacillus alvei de la loque europea no

tiene movimiento, esto aunado a las características morfológicas de la bacteria, permitió hacer un diagnóstico inmediato.

3.2.2.1.2. Prueba de Holst

Esta prueba se utilizó como auxiliar para tener una mayor certeza en la diferenciación de las loques.

Se diluyó leche en polvo descremada a 1%, colocándose 4 ml en un tubo de ensayo más una porción del macerado de la larva, haciéndose esto en varios tubos según la cantidad de muestras; los tubos se incubaron a 37 °C durante 30 minutos; además se contaba con un testigo para comprobar los virajes de las diluciones, que ocurrían debido a que él a las enzimas proteolíticas del Bacillus larvae que degradan la proteína de la leche (caseína).

3.2.2.2. Aislamiento

3.2.2.2.1. Siembra

Luego de la observación de los frotis al microscopio y de la prueba de Holst; se sembró, de las celdillas positivas a loque europea en medios de cultivo agar base y agar sangre. Se esterilizó un asa de alambre dejándose enfriar y se introdujo en la celdilla seleccionada extrayendo parte de la larva

macerada y extendiendo sobre la placa la maceración, a fin de atenuarla; seguidamente se trazaron a ambos sentidos varias estrías sobre la superficie del agar, a intervalos de 5 a 7 mm. Esto se repetía por cada celdilla seleccionada.

Posteriormente se marcaron las cajas de petri ya sembradas, luego se colocaron en un desecador de vidrio (campana) el cual proporcionó el medio anaerobio, adecuado para el crecimiento de las colonias. El desecador fue introducido en una estufa a una temperatura de 37°C durante 48 horas. Después de transcurrido este tiempo se observaron las colonias formadas. De éstas se realizaron tinciones de gram.

3.2.2.2.2. Coloración de gram

Colocando en un portaobjetos unas gotitas de agua destilada se procedió a escoger de las cajas petri, las colonias más finas y extrayéndolas con el asa se colocaron en varios portaobjetos, luego se dejaron secar y se cubrieron con solución de violeta cristal por un minuto, se lavó con agua y añadió la solución lugol por un minuto y lavados los frotis se volvieron a cubrir con mezcla de alcohol y acetona por 30 segundos, por último se aplicó un colorante de contraste que fue safranina, luego fueron lavados, secados y observados al microscopio.

Para la purificación del Melissococcus pluton se resembró de las colonias que resultaron positivas y verificadas en la coloración de gram. Se prepararon otras placas con la resiembra

en igual forma y condiciones que en la siembra inicial, obteniéndose 24 horas después, colonias puras.

3.2.2.3. Pruebas de sensibilidad a *Melissococcus pluton*

Se utilizó el método de pruebas de sensibilidad en placa. En un tubo de ensayo se colocó 10 ml de caldo nutritivo de las colonias purificadas, se extrajo una de ellas y se mezcló con el caldo nutritivo del tubo, posteriormente fue vertida la suspensión del tubo en placas de agar sangre homogenizándose dentro de esta escurriendo el exceso en el tubo que contenía el cultivo puro. Se colocaron los discos equidistantes entre sí con una separación de 10 mm y fueron distribuidos en la placa formando un círculo, después se introdujeron en el desecador y luego en estufa a 37°C por 24 horas, terminado este tiempo, se sacaron las placas para la interpretación, se visualizaron las zonas de crecimiento del halo.

Los antibióticos utilizados fueron: Ampicilina, Estreptomicina, Eritromicina, Penicilina, Oxitettraciclina, Tetraciclina y triple sulfa.

4. RESULTADOS

4.1. Muestreo

De los 474 apiarios reportados por el MAG en la región central, se tomaron 64 que representan el 13,5%. Se muestrearon 111 colmenas resultando 105 positivas a Loque Americana, 7 a Loque Europea y 3 negativas a las dos enfermedades; los porcentajes totales promedio fueron para Loque Americana de un 94.14% y para Loque Europea de un 6.07%. El número de apiarios muestreados en el Departamento de San Salvador y Chalatenango fué de 18, en el Departamento de la Libertad de 20 y en el de Cuscatlán de 8, distribuidos en diferentes municipios en cada departamento. De las 111 colmenas muestreadas, 22 fueron del Departamento de San Salvador, 36 del Departamento de Chalatenango, 38 se obtuvieron del Departamento de La Libertad y 15 fueron tomadas del Departamento de Cuscatlán; siendo los porcentajes totales de las dos enfermedades en cada departamento los siguientes: 81.81% y 13.64% en San Salvador; en Chalatenango 100%, y 2.78%; para La Libertad 94.74% y 7.89%; y en Cuscatlán 100% y 0%, de loque americana y loque europea respectivamente (Cuadro 2, Fig. A5).

CUADRO 2 . PRESENCIA DE LOQUE AMERICANA Y LOQUE EUROPEA EN EPOCA SECA EN LA REGION CENTRAL DE EL SALVADOR

DEPARTAMENTO	APIARIOS MUESTREADOS	COLMENAS MUESTREADAS	LOQUE AMERICANA		LOQUE EUROPEA	
			COLMENAS POSITIVAS	%	COLMENAS POSITIVAS	%
San Salvador	18	22	18	81.81	3	13.64
Chalatenango	18	36	36	100.00	1	2.78
La Libertad	20	38	36	94.74	3	7.89
Cuscatlán	8	15	15	100.00	0	0
TOTALES	64	111	105	\bar{x} 94.14	7	\bar{x} 6.07

4.1.1. Departamento de San Salvador

De los doce municipios muestreados en el Departamento de San Salvador, 3 resultaron positivos a Loque europea con el segundo agente causal Bacillus alvei; presentándose también loque americana en todos los municipios muestreados.

El número total de colmenas muestreadas fue de 22, y de éstas, 18 resultaron positivas a Loque Americana; 3 a Loque Europea con presencia de Bacillus alvei y 2 de éstas a Loque americana; y 3 resultaron negativas a las dos enfermedades (Cuadro 3, Fig. A6).

CUADRO 3. PRESENCIA DE LOQUE AMERICANA Y LOQUE EUROPEA EN
EPOCA SECA EN EL DEPARTAMENTO DE SAN SALVADOR

MUNICIPIO	NUMERO DE COLMENAS MUESTREADAS	COLMENAS POSITIVAS A LOQUE AMERICANA	COLMENAS POSITIVAS A LOQUE EUROPEA
Aguilares	4	3	0
Nejapa	3	1	0
Tonacatepeque	2	2	0
San Martín	2	2	0
Soyapango	2	2	1**
Ciudad Delgado	1	1	0
Mejicanos	1	1	0
San Salvador	2	2	1**
Santo Tomás	1	1	0
Panchimalco	2	1	1**
Rosario de Mora	1	1	0
Santiago Texacuangos	1	1	0
TOTALES	22	18	3

** Bacillus alvei

- Ubicación geográfica (ver Anexos)

4.1.2. Departamento de Chalatenango

En el Departamento de Chalatenango se muestrearon 9 municipios y el total de colmenas fue de 36, y todas resultaron positivas a loque americana, una de éstas lo fué también

a loque europea con presencia de Bacillus alvei; (ver Cuadro 4, Fig. A-3).

CUADRO 4. PRESENCIA DE LOQUE AMERICANA Y LOQUE EUROPEA, EN EPOCA SECA, EN EL DEPARTAMENTO DE CHALATENANGO

MUNICIPIO	NUMERO DE COLMENAS MUESTREADAS	COLMENAS POSITIVAS A LOQUE AMERICANA	COLMENAS POSITIVAS A LOQUE EUROPEA
Citalá	3	3	0
San Ignacio	2	2	0
Nueva Concepción	4	4	0
La Reina	2	2	0
Tejutla	7	7	1**
El Paraíso	6	6	0
San Rafael	3	3	0
Chalatenango	4	4	0
La Palma	5	5	0
TOTALES	36	34	1

** Bacillus alvei

- Ubicación geográfica (ver Anexos).

4.1.3. Departamento de La Libertad

El Departamento de La Libertad comprendió el estudio de 38

colmenas en 11 municipios muestreados, obteniendo los resultados de 36 colmenas positivas a loque americana, y una de éstas también lo fue a loque europea con presencia de Melisso coccus pluton; otras 2 colmenas resultaron positivas sólo a loque europea, una con el Bacillus alvei y la otra con el Melissococcus pluton (Cuadro 5, Fig. A8).

CUADRO 5. PRESENCIA DE LOQUE AMERICANA Y LOQUE EUROPEA, EN EPOCA SECA, EN EL DEPARTAMENTO DE LA LIBERTAD

MUNICIPIO	NUMERO DE COLMENAS MUESTREADAS	COLMENAS POSITIVAS A LOQUE AMERICANA	COLMENAS POSITIVAS A LOQUE EUROPEA
La Libertad	5	4	1**
Zaragoza	3	3	0
Santa Tecla	3	3	0
Tamanique	5	4	1*
Chiltiupán	3	3	0
Sacacoyo	3	3	1*
San Juan Opico	4	4	0
San Pablo Tacachico	2	2	0
Ciudad Arce	4	4	0
Quezaltepeque	4	4	0
Antiguo Cuscatlán	2	2	0
T O T A L E S	38	36	3

* Melissococcus pluton

** Bacillus alvei

- Ubicación geográfica (ver Anexos)

4.1.4. Departamento de Cuscatlán

En el Departamento de Cuscatlán se muestrearon 4 municipios y un número total de 15 colmenas, resultando todas positivas a loque americana. Siendo este el único Departamento donde no se encontró loque europea (Cuadro 6, Fig. A9).

CUADRO 6. PRESENCIA DE LOQUE AMERICANA Y LOQUE EUROPEA, EN EPOCA SECA, EN EL DEPARTAMENTO DE CUSCATLAN

MUNICIPIO	NUMERO DE COLMENAS MUESTREADAS	COLMENAS POSITIVAS A LOQUE AMERICANA	COLMENAS POSITIVAS A LOQUE EUROPEA
Suchitoto	3	3	0
Cojutepeque	5	5	0
El Carmen	3	3	0
San Rafael Cedrcs	4	4	0
TOTALES	15	15	0

- Ubicación geográfica (ver Anexos)

4.2. Aislamiento y pruebas de sensibilidad a *Melissococcus pluton*

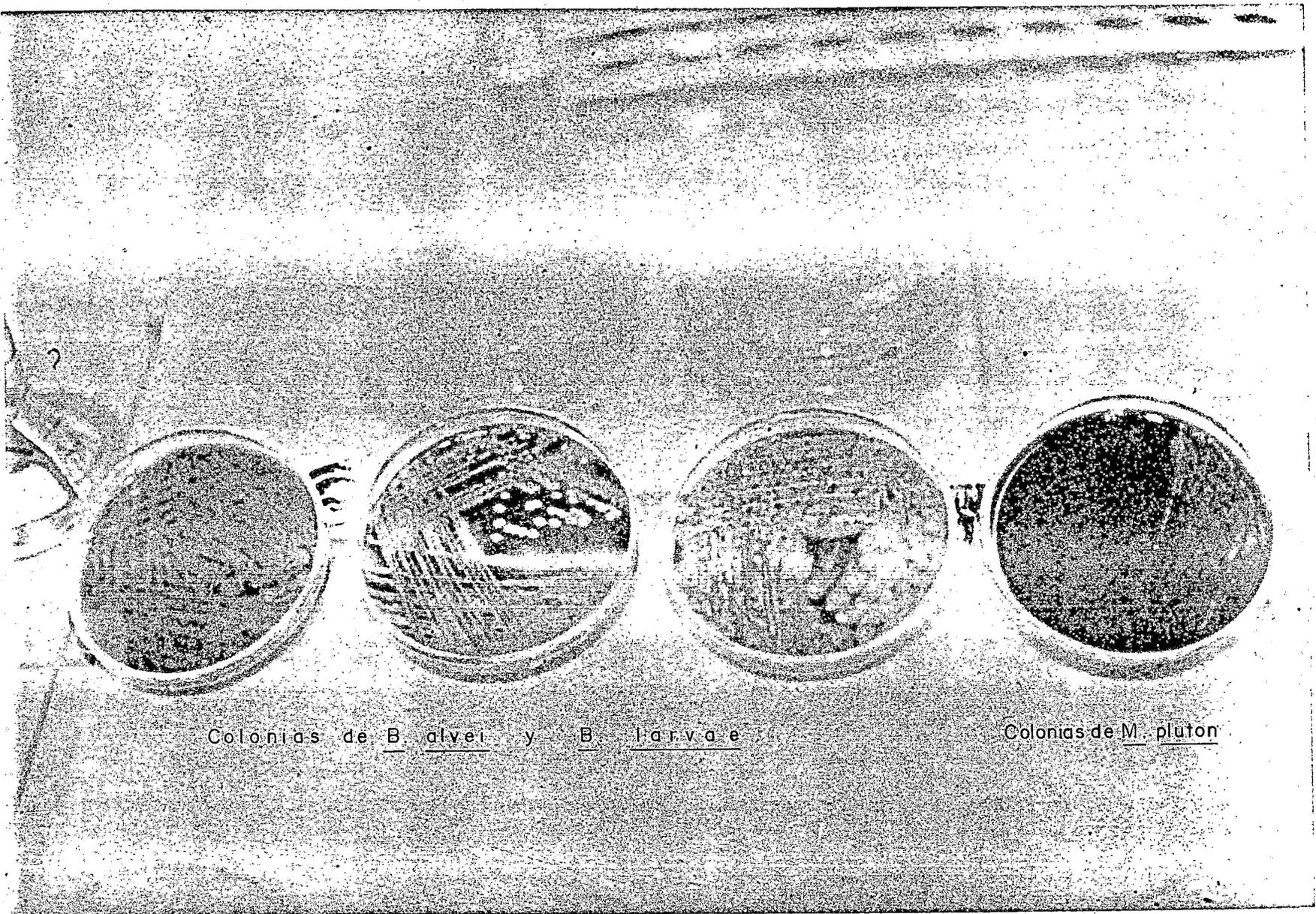
En la fase de diferenciación de los dos tipos de loque, dieron resultado la técnica de la gota colgante y la prueba de Holst, en la primera pudo observarse las esporas móviles de Bacillus larvae de la loque americana y las esporas inmóviles de Bacillus alvei de la loque europea; en la segunda pudo

confirmarse la presencia de lo que a americana por el aclaramien to de la solución de leche descremada al 1%.

Se aisló el Melissococcus pluton en el medio de cultivo agar sangre y en anaerobiosis. En los frotis de la coloración de gram, para identificar las bacterias aisladas en forma pura, pudo observarse la forma vegetativa y espora de Bacillus larvae y Bacillus alvei, así como los pares y cadenas de Melissococcus pluton (Fig. 1, 2 y 3). A este último se le hicieron las pruebas de sensibilidad utilizando los antibióticos siguientes : Ampicilina, Penicilina, Estreptomycin, Eritromicina, Tetraciclina, Oxitetraciclina y el Triple sulfa. De acuerdo al Cuadro 7, sólo la tetraciclina y la oxitetraciclina dieron resultado positivo, es decir, que causaron sensibilidad al Melissococcus pluton y pudo observarse claramente el halo formado alrededor de estos antibióticos.

CUADRO 7: RESPUESTA DEL Melissococcus pluton A LOS ANTIBIOTICOS UTILIZADOS EN LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD

N O M B R E	RESPUESTA	
	S E N S I B L E	RESISTENTE
Ampicilina	—	+
Penicilina	—	+
Estreptomycin	—	+
Eritromicina	—	+
Tetraciclina	+	—
Oxitetraciclina	+	—
Triple sulfa	—	+



Colonias de B. alvei y B. larvae

Colonias de M. pluton

Fig. 1. Colonias de Melissococcus pluton, Bacillus alvei (Loque europea) y Bacillus larvae (Loque americana)

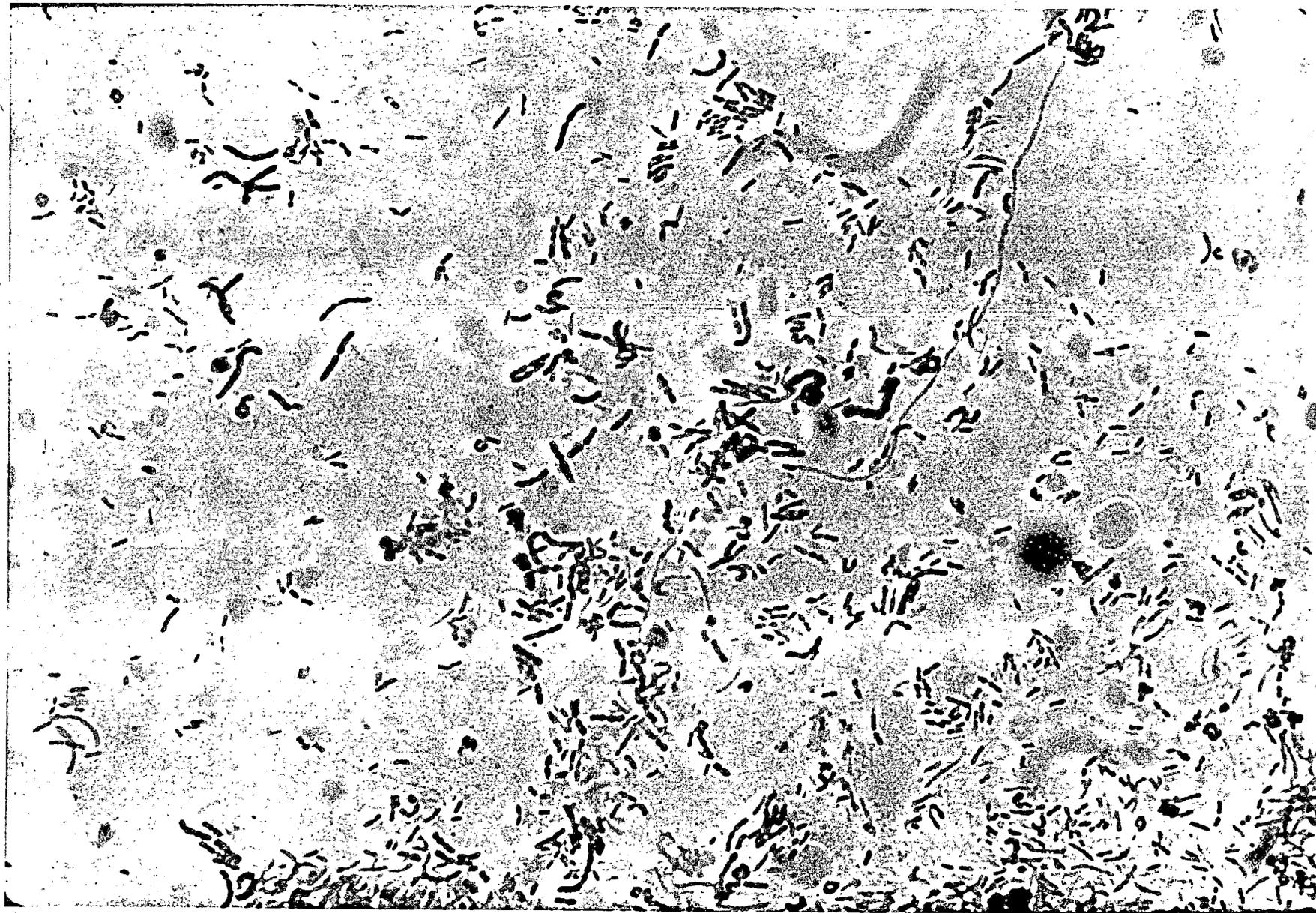


Fig. 2 - Agente causal de Loque Europea (Melissococcus pluton)

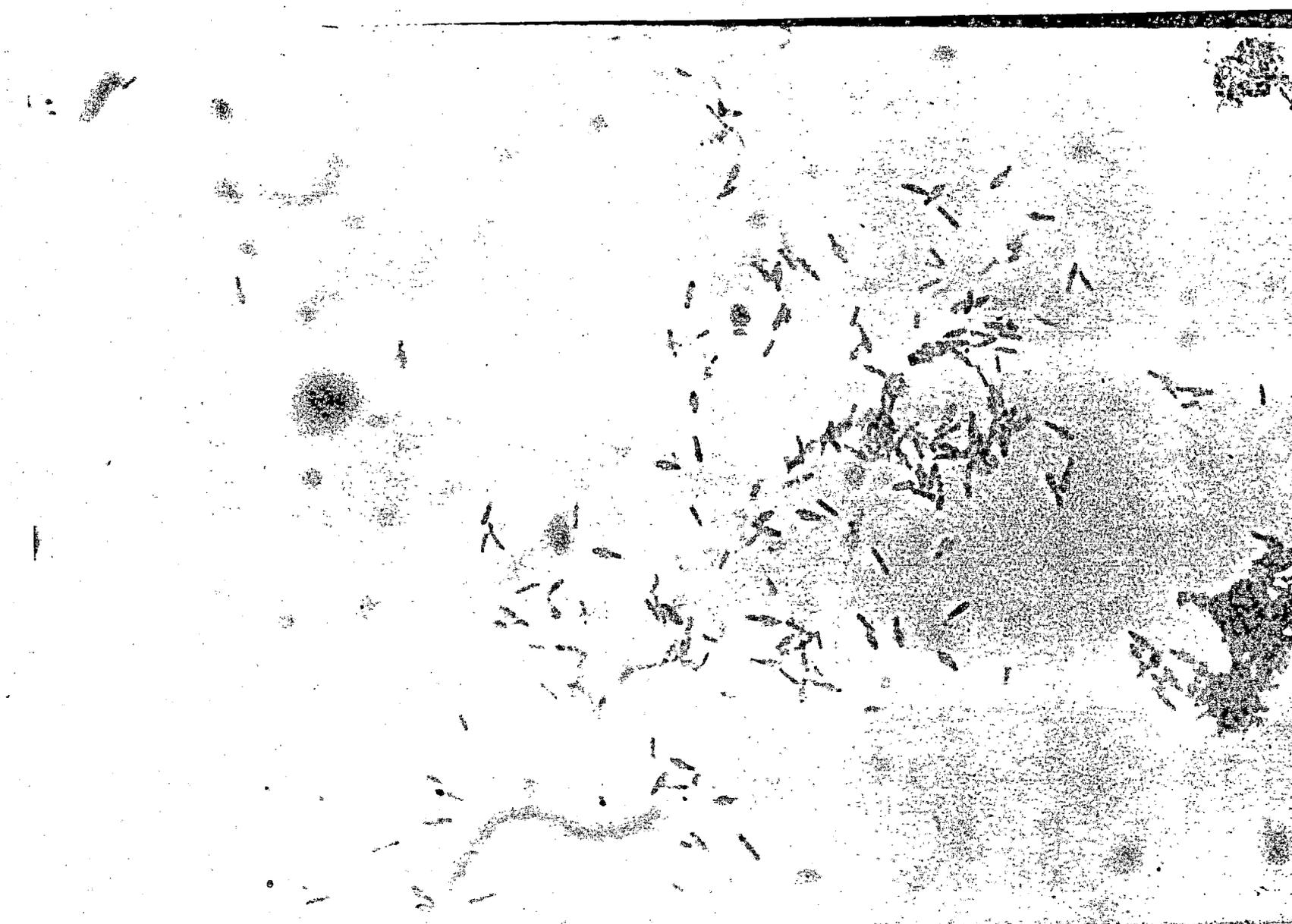
A black and white micrograph showing numerous small, rod-shaped spores of Bacillus larvae. The spores are scattered across the field of view, with a higher concentration in the center-right area. Some spores appear to be in chains or small groups. The background is light and grainy, typical of a micrograph.

Fig. 3 - Agente causal de Loque Americana (Bacillus larvae)

5. DISCUSION

5.1. Muestreo

5.1.1. Loque americana

El porcentaje total promedio de esta enfermedad en la Región Central fué de 94.14%, encontrándose en el Departamento de San Salvador, un 81.81%, en Chalatenango un 100% , en La Libertad un 94.74% y en Cuscatlán el 100%; esto obtenido de 111 colmenas muestreadas, de las cuales, 18 resultaron positivas en San Salvador, 36 en Chalatenango, 36 en La Libertad y 15 en el Departamento de Cuscatlán (Cuadro 2, Fig. A5).

Se hace notar la presencia de Loque americana en la mayoría de las muestras, comprobándose lo dicho por Fritzsich, OIRSA, y Sepúlveda (11, 25, 31), quienes mencionan que puede presentarse en cualquier época del año; confirmándose su progreso en la zona desde los últimos reportes del M.A.G. y OIRSA en agosto de 1989 (27), en los que se da un dato promedio de 7.33% , el cual se ve aumentado en un 86.81% con este estudio realizado en los meses de enero a mayo de 1991. Este incremento ha sido influenciado por una serie de factores que van desde el manejo inadecuado de las colmenas hasta el uso indiscriminado de una sola droga o medicamento, lo que hace que la bacteria se vuelva resistente a éste, comprobando así lo dicho por Stefferud (34), quien manifiesta

que existen cepas de ciertos organismos patógenos que ofrecen mayor resistencia a la acción de las drogas de lo que es habitual y que éstas pueden volverse ineficaces año tras año; otro factor es la falta de asesoría técnica a la mayoría de los apicultores, pero principalmente el incremento de esta enfermedad, se ve influenciado en gran parte a la resistencia de las esporas del agente causal, Bacillus larvae; según documento de OIRSA , las esporas de este bacilo son muy resistentes a las condiciones ambientales (deseccación, humedad, desinfectantes químicos y altas temperaturas), y se pueden diseminar dentro del apiario como también lo mencionan Leiva de Paz y Sepúlveda Gil, por medio del hombre al intercambiar panales y usar instrumentos contaminados, y por el pillaje, donde las abejas llevan la infección a otras colmenas (22, 26, 31).

La presencia de esporas de Bacillus larvae, fue notoria en las muestras analizadas, confirmándose lo que asegura Marcenaro (23), que las esporas son la forma de resistencia del Bacillus larvae, fuera del cuerpo de las larvas y que pueden permanecer latentes en los panales de las colonias que han sufrido la enfermedad, debido a que la escama que deja el cuerpo de la larva muerta dentro de la celdilla, contiene enorme cantidad de esporas, las que usualmente son mezcladas con el alimento por las abejas nodrizas, quienes lo proporcionan a las larvas.

5.1.2. Loque europea

Esta enfermedad se encontró en la Región Central, en menores porcentajes por departamento que la loque americana; siendo en San Salvador un 13.64%, en Chalatenango un 2.78%, en La Libertad un 7.89% y en Cuscatlán un 0%, lo que hace un total promedio para la región de 6.07%.

Las colmenas muestreadas fueron las mismas que para loque americana, resultando en San Salvador 3 colmenas positivas de las 22 muestreadas, para Chalatenango 1 positiva de 36, en La Libertad 3 positivas de 38 y en Cuscatlán ninguna positiva de 15 colmenas muestreadas. Este último departamento fué el único en no presentar loque europea.

La enfermedad disminuyó en un 8.62% del valor reportado por el M.A.G. y OIRSA en agosto de 1989, en donde era un promedio de 14.69% para la Región Central (27). Esta disminución de la enfermedad en la época seca se debe principalmente al papel que juegan los agentes causales primario y secundario; el primario, llamado Melissococcus pluton no forma esporas, por tanto, puede mantenerse viable por sólo unos meses -- en las paredes de las celdillas, en el excremento de las abejas o en el piso de la colmena, según lo mencionan Blanco, OIRSA y Sepúlveda Gil (2, 26, 31), la infección no puede extenderse porque las abejas están constantemente limpiando la colmena, por lo que logran mantener el equilibrio de la enfermedad; esto concuerda con lo que Marcenaro dice al respec-

to (23), que las larvas después de 4 semanas de muertas, se secan en el piso de las celdillas dejando una escama que las obreras limpiadoras remueven con facilidad; también se acepta lo dicho por Harrison (17), quien menciona que en las primeras etapas de la enfermedad las larvas que mueren son arrojadas rápidamente de la colmena y por ello, mientras más larvas mueran, el material de infección disminuye.

Las escamas de la loque europea, son fáciles de arrojar fuera de la colmena por las abejas limpiadoras, ya que no se endurecen en las paredes de las celdas, lo que se pudo comprobar, aceptando así lo dicho también por Marcenaro (23), al mencionar que las escamas de loque europea no se adhieren a las paredes de las celdas y pueden ser retiradas con facilidad.

Cuando las colmenas están débiles y durante la época lluviosa, a las abejas se les dificulta limpiar bien los desechos de larvas muertas; acá el Melissococcus pluton cobra fuerza, dándose en gran escala la infección, llegando a favorecer las condiciones para que se presente el agente causal secundario, Bacillus alvei de acuerdo con lo dicho por OIRSA y Root (26, 29), que aseguran que el Melissococcus pluton debilita a las larvas y favorece el ataque de Bacillus alvei y otros gérmenes asociados; también se pudo comprobar lo mencionado por Blanco, OIRSA y Sepúlveda Gil (2, 26, 31), cuando se refieren a que el Melissococcus pluton no forma esporas, al contrario del Bacillus alvei, que si presenta esta capacidad;



debido a esto, al llegar de nuevo la época seca el Melissococcus pluton casi desaparece y el Bacillus alvei permanece por mayor tiempo en la colmena.

Con el estudio realizado, se ha comprobado que la Loque Europea está presente de una forma u otra en la época seca, y que su influencia mayor la ejerce en la época lluviosa, donde las colmenas están débiles y falta el alimento; por otra parte la loque americana, ataca en las dos épocas del año debido a la resistencia de las esporas de Bacillus larvae, y por esta misma razón se extiende cada vez más.

Las dos enfermedades pueden aparecer juntas en colmenas muy débiles, lo que se pudo observar a nivel de campo y laboratorio en el presente estudio.

5.2. Aislamiento y prueba de sensibilidad a Melissococcus pluton

Se comprobó la eficacia de las técnicas de laboratorio para diferenciar los dos tipos de loque: la gota colgante, que dió magníficos resultados al observarse las esporas en movimiento del Bacillus larvae y las inmóviles del Bacillus alvei y en ocasiones los pares y cadenas del Melissococcus pluton; otra prueba fue la de Holst, que sirvió como técnica auxiliar en la diferenciación de las dos enfermedades, siendo las muestras aclaradas de solución al 1% de leche descremada positivas a loque americana y las muestras sin cambio alguno, positivas a loque europea; coincidiendo con lo manifestado.

por OIRSA, Blanco y Sepúlveda Gil (2 , 25 ,26 , 31), quienes describen estas técnicas.

El mejor medio para el crecimiento del Melissococcus pluton fue el agar sangre, bajo condiciones de anaerobiosis y temperatura de 37°C por 48 horas, comprobando lo manifestado por OIRSA (25, 26). También se observó la efectividad del método de siembra por estrías, en donde las colonias de Melissococcus pluton aparecieron aisladas, de manera similar las colonias de Bacillus alvei, y en la mayoría de placas sembradas, las colonias de Bacillus larvae. En la coloración de gram pudo verse claramente el carácter grampositivo de los microorganismos aislados, fue evidente la coloración azulada de los mismos, tal como lo describe OIRSA (25, 26).

En la prueba de sensibilidad se utilizó el método del disco; los antibióticos positivos a esta prueba fueron la tetraciclina y la oxitetraciclina, alrededor de los cuales se formó el halo o zona límpida sin crecimiento bacteriano, por el contrario, resultaron ineficaces la penicilina, la ampicilina, la eritromicina, la estreptomina, y el triple sulfa.

El resultado positivo de la tetraciclina coincide con lo dicho por Blanco (2), que la recomienda para el tratamiento de loque europea, así como también la estreptomina, pero ésta no resultó eficaz en este caso; la oxitetraciclina (terramicina), puede usarse satisfactoriamente, comprobando lo mencionado en los documentos de The use of antibiotics y Enfermedades de las abejas (36, 8), donde se dan dosis para tratar

loque europea; también Fouchnaeur, según Root (29), la reporta en 1951 incluso para el tratamiento de las dos loques.

Por los resultados negativos de la estreptomicina, la penicilina y el triple sulfa, no pueden usarse como sustituyentes de la oxitetraciclina, lo que no concuerda con lo dicho por Joao Camargo (4), quien asegura lo contrario. El uso de la penicilina también es reportado por Ziabkin y Boltov en 1952 (32), quienes manifiestan que 900,000 U.I. de penicilina por litro de jarabe de azúcar, curan completamente la loque europea cuando se les da a las colonias enfermas de 3 a 5 veces con intervalos de 7 a 10 días, lo que no puede darse por aceptado en nuestro medio debido a la respuesta negativa de este antibiótico. La ampicilina, es un tipo de penicilina, razón por la cual se explica su respuesta negativa. Por otra parte, la eritromicina tampoco resultó eficaz en este caso, aunque ningún autor la menciona en el tratamiento de la loque europea.

El éxito obtenido por la tetraciclina y la oxitetraciclina, se debe a que son antibióticos de amplio espectro, dando buen resultado contra el agente causal de loque europea que es grampositivo. También Fritzsich (11), al referirse a la tetraciclina asegura que es la más conveniente de utilizar porque tiene mayor tiempo de acción en el organismo y está de acuerdo, por otro lado, en que el sulfatiazol no produce efecto en loque europea.

6. CONCLUSIONES

- En la Región Central de El Salvador, durante los meses de enero a mayo de 1991, se comprobó la presencia de loque americana en un 94.14% y de loque europea en 6,07%, observándose un aumento de 86.81% de loque americana desde los últimos datos reportados por el M.A.G. en agosto de 1989.
- La Tetraciclina y Oxitetraciclina pueden ser alternativas para el control de loque europea.
- La proliferación de las loques se extiende por falta de manejo adecuado y asesoría técnica a los apicultores.
- Las técnicas de laboratorio utilizadas para el aislamiento e identificación de los agentes causales de las loques fueron efectivas.

7. RECOMENDACIONES

- Ampliar la investigación sobre las loques a las demás regiones del país para obtener un dato de su incidencia a nivel nacional durante la época seca y continuarla en la época lluviosa.
- Aislar el Melissococcus pluton de las otras regiones del país y realizar las pruebas de sensibilidad con otros antibióticos, además de los utilizados en la presente investigación.
- Probar en forma directa en panales enfermos de loque europeo, productos comerciales de fácil obtención, que contengan como ingrediente activo Tetraciclina y Oxitetraciclina.
- Alternar el uso de los antibióticos recomendados en la investigación, con el medicamento usado tradicionalmente, para evitar resistencia a éstos.
- Proporcionar asistencia técnica a los apicultores para que puedan reconocer las enfermedades y hacer un buen uso de los medicamentos, evitando así, pérdidas económicas y gastos innecesarios.

8. BIBLIOGRAFIA

1. BECTON, D. 1974. Manual de procedimientos de laboratorio y productos.. 6 ed. México, D.F. Editores Asociados. p. 6,35.
2. BLANCO, G. 1989. Enfermedades de las abejas melíferas y sus crías en Costa Rica. Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación en Salud Animal CENDEISA. Boletín de divulgación apícola # 1. p. 11-16.
3. CABEZAS, G. s.f. Usos y beneficios de la miel de abeja. Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería. p. 5.
4. CAMARGO, J. 1972. Manual de apicultura. Sao Paulo, Brasil. Agronómica Ceres. p. 215-234.
5. CONVENIO DE COOPERACION TECNICA BID/OIRSA. 1988. Anatomía y fisiología de la abeja melífera. Curso Regional de Parasitología Animal. Cuernavaca, Morelos, México. p. 67.
6. _____. 1988. Informe de la cuarta asesoría del programa en la especialidad de patología apícola aplicada. México, D.F. p. 5-6, 11-13.
7. DADANT, C.; DADANT, C.P. 1924. La abeja y la colmena. Trad. por M. Pons Fábregues. 2a. ed. Barcelona, España. Gustavo Gilli. p. 523-526, 532-535.
8. DE VIDAL, D.A. 1989. Enfermedades de las abejas; prevención y tratamiento. Soyapango, El Salvador. Ministe

- rio de Agricultura y Ganadería. p. 10-14.
9. DIRECCION GENERAL DE RECURSOS NATURALES Y RENOVABLES.
1975. Mapa ecológico de El Salvador. Ministerio de Agricultura y Ganadería. San Salvador, El Salvador. Memoria explicativa; documento de trabajo # 6 p. 37-46.
 10. DIVISION DE INVESTIGACION VETERINARIA. 1983. Censo y encuesta apícola del Departamento de La Libertad. Centro de Desarrollo Ganadero. El Salvador. Ministerio de Agricultura y Ganadería. p. 1-2.
 11. FRITZSCH, W.; BREMER, R. 1975. Higiene y profilaxis en la apicultura. Trad. por José Romero Muñoz. Zaragoza, España. Acribia. p. 16-24.
 12. GEBHARDT, L.P. 1972. Microbiología. Trad. por Dr. Homero Vela Treviño. 4a. Ed. México, D.F. Interamericana. p. 75-77, 98-105.
 13. GUEVARA M., J.A. 1985. El Salvador. Perfil ambiental; estudio de campo San Salvador, El Salvador. División de consultoría EMTECSA. p. 2-9, 33-36, 159.
 14. GRANDE Z., M.I. 1987. Situación actual de la producción y comercialización de la miel y cera de abejas en El Salvador. San Salvador, El Salvador. Dirección General de Economía. p. 2-3.
 15. HANDALL, S. 1980. Fomento de la picultura. Programa de cooperación técnica de las Naciones Unidas para la Agricultura y Ganadería. p. 7-16.

16. HANSEN, H. 1981. Enfermedades de la cría de las abejas. Trad. por M.V.Z. Ernesto Guzmán Novoa. Dinamarca. s.n. p. 13-20.
17. HARRISON, A.G. 1976. Cría de las abejas, su miel y sus enfermedades. Zaragoza, España. Aedos. p. 148-160.
18. HOLDRIDGE, L.R. 1982. Ecología basada en las zonas de vida. Trad. por Humberto Jiménez. San José, Costa Rica. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura; serie de libros y materiales educativos # 34. p. 82.
19. INSTITUTO GEOGRAFICO NACIONAL. 1973. Diccionario geográfico de El Salvador. San Salvador, El Salvador. Tomo 1. p. 50-54, 334.
20. LAGOS, L.A. 1983. Compendio de botánica sistemática. 2a. Ed. San Salvador, El Salvador. Ministerio de Educación. p. 19-29.
21. LA COLMENA. 1941. Buenos Aires, Argentina. Atlántida. p. 69-74.
22. LEIVA DE PAZ, G.A. 1983. Las abejas, su explotación racional. El Salvador. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Escuela Nacional de Agricultura. p. 162-168.
23. MARCENARO, E. 1986. Plagas y enfermedades. El Salvador. Ministerio de Agricultura y Ganadería; abeja africanizada, boletín # 7. p. 7.
24. MEDINA SOLIS, J.A. 1985. Enfermedades de la etapa larval. s.l. Ministerio de Agricultura y Ganadería. P.8.

25. OIRSA. 1988. Programa regional para el manejo y control de la abeja africanizada. San Salvador, El Salvador. p. 129-134.
26. _____. 1990. Programa regional para el manejo y control de la abeja africanizada. San Salvador, El Salvador. p. 21-31, 103-107.
27. _____. 1990. Determinación de la presencia o ausencia y de los niveles de incidencia de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas en El Salvador. San Salvador, El Salvador; carta informativa # 13. p. 1-16.
28. _____. 1989. Programa regional para el manejo de la abeja africanizada; resultados del taller de evaluación final. San Salvador, El Salvador. p. 14-18.
29. ROOT, A.I. 1978. Abc y xyz de la apicultura moderna. 37 Ed. Trad. por Virginia McCormick. Buenos Aires, Argentina. Hemisferio sur. p. 213-238.
30. SALLE, A.J. 1965. Bacteriología. Trad. por Ignacio Rodrigo García. 2a. Ed. Barcelona, España. Gustavo Gili. p. 75-109, 232-243, 796-798.
31. SEPULVEDA GIL, J.M. 1983. El mundo de las abejas. Barcelona, España. Aedos. p. 148-160.
32. SERVICIO METEOROLOGICO NACIONAL. 1987. Almanaque salvadoreño. San Salvador, El Salvador. Ministerio de Agricultura y Ganadería. p. 46.

33. SMITH, D. 1960. Bacteriología de Zinsser. Trad. por Antonio Capella Bustos. 2a. Ed. México, D.F. Hispanoamericana. p. 23-37, 92-112.
34. STEFFERUD, A. 1965. Enfermedades de los animales. Trad. por Ramón Palazón. México, D.F. Centro Regional de Ayuda Técnica. p. 123-140.
35. TERCER INFORME semestral de proceso; julio-diciembre de 1987. 1988. San Salvador, El Salvador. BID/OIRSA. p. 18-25.
36. THE USE of antibiotics in controlling european foulbrood of honeybees. 1954. Colorado. Agricultural Experiment Station. p. 8-10.
37. TOPLEY, M.A. 1949. Bacteriología e inmunidad. 2a. Ed. Barcelona, España. Salvat Tomo I. pp. 297-300.
38. WOYKE, J. 1981. La apicultura en El Salvador. El Salvador. Programa de Cooperación Técnica FAO/MAG. pp. 2-3, 7.

9. A N E X O S

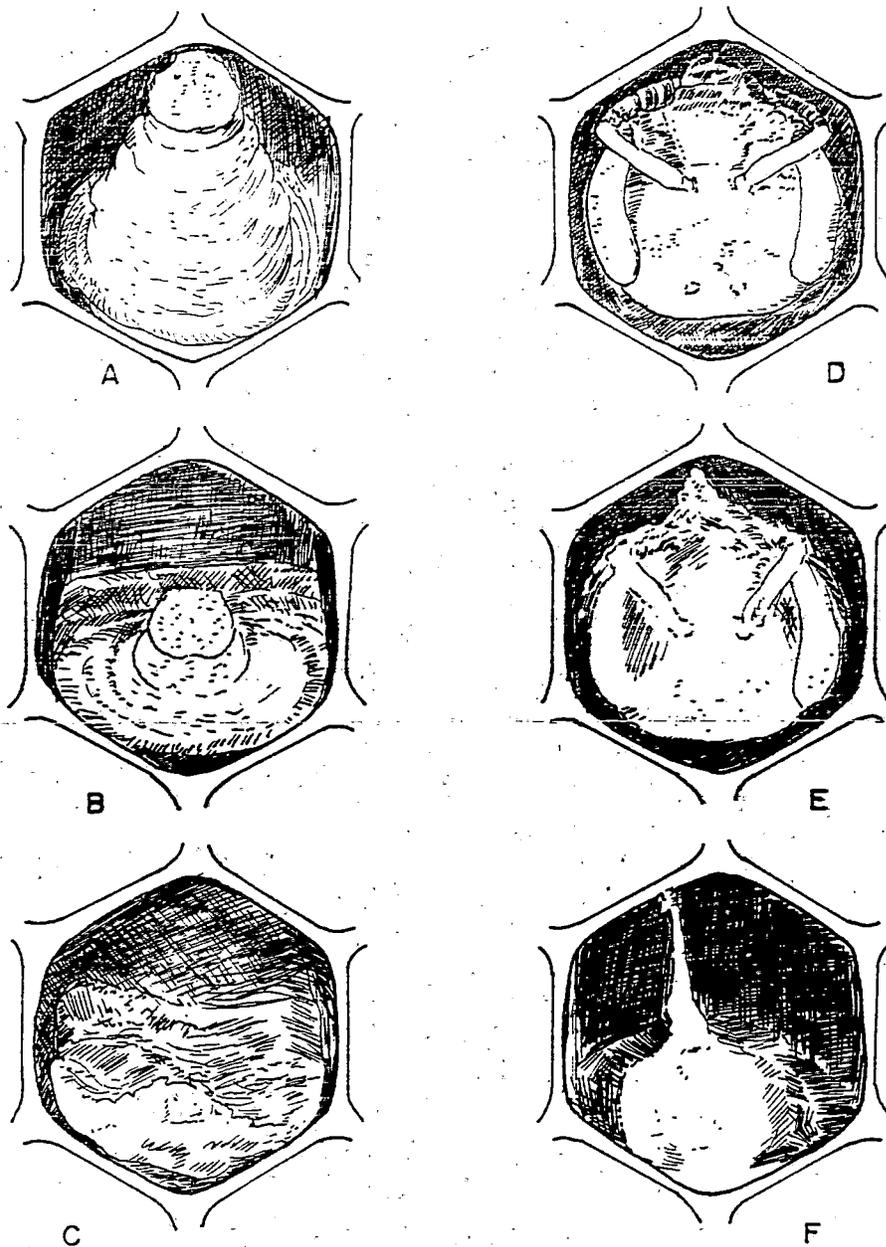


Fig. A-I - Estadios de pudrición de la cría con loque americana

A, B y C - ALGUNOS ESTADOS DE EVOLUCION DE LA DOLENCIA CUANDO LA MUERTE OCURRE EN LA FASE LARVAL. D, E y F - CUANDO LA MUERTE OCURRE EN LA FASE DE PUPA. (BASADO EN SHIMANUKI, 1967 y TOWNSEND, 1950)

FUENTE : CAMARGO, J., 1972 (4).

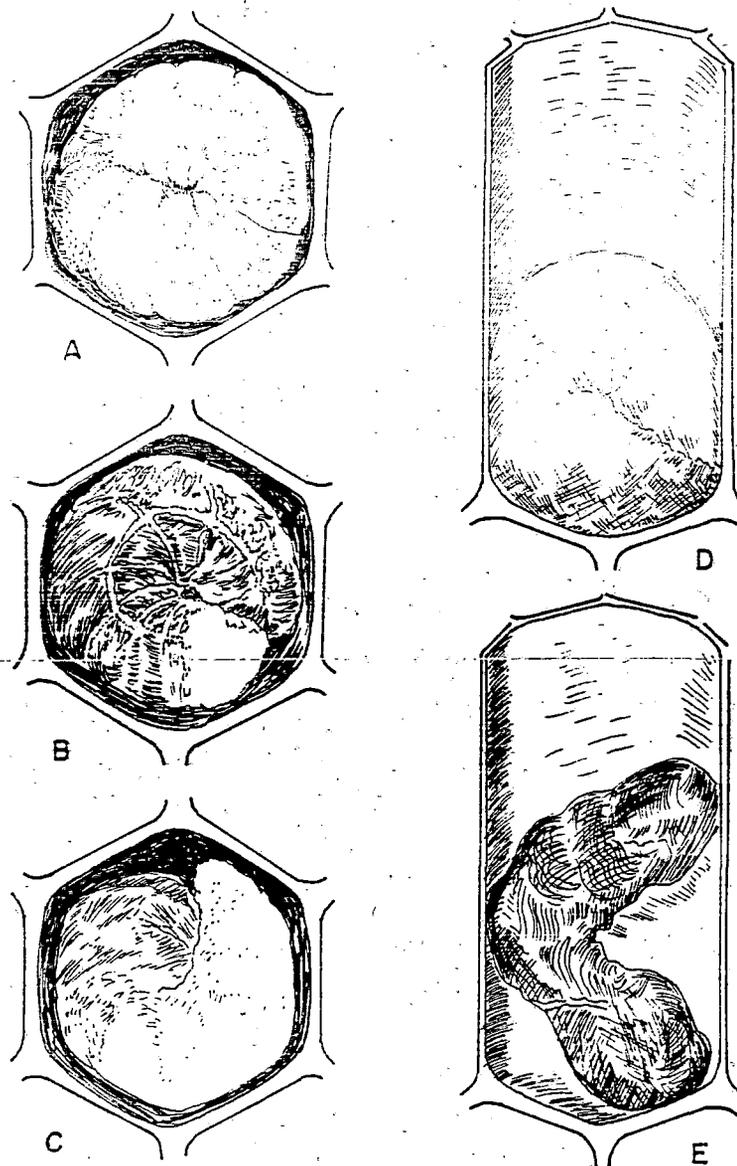


Fig. A-2 - Estadios de pudrición de la cría conloque europea

A - LARVA EN LA FASE INICIAL DE DOLENCIA. B - CON INFECCION EN ESTADO BIEN ADENTRADO, SE CARACTERIZA POR UNA COLORACION OSCURA DEL CUERPO. C, D - POSICION QUE LA LARVA ADQUIERE ANTES DE LA MUERTE. E - VISTA LONGITUDINAL DE LA LARVA DESPUES DE LA MUERTE. (BASADO EN SHIMANUKI, 1967 y TOWNSEND, 1950)

FUENTE : CAMARGO, J., 1972 (4).

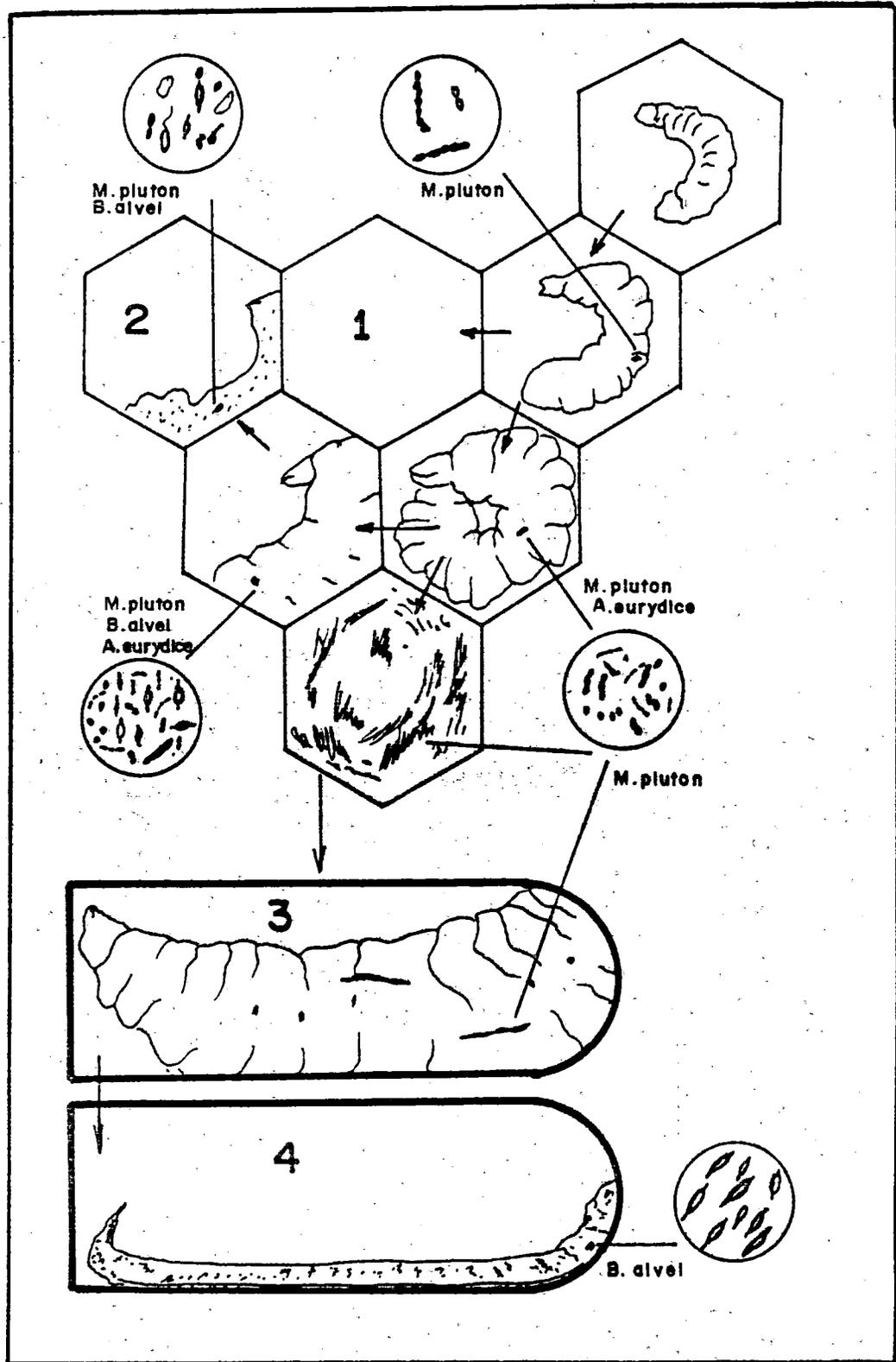
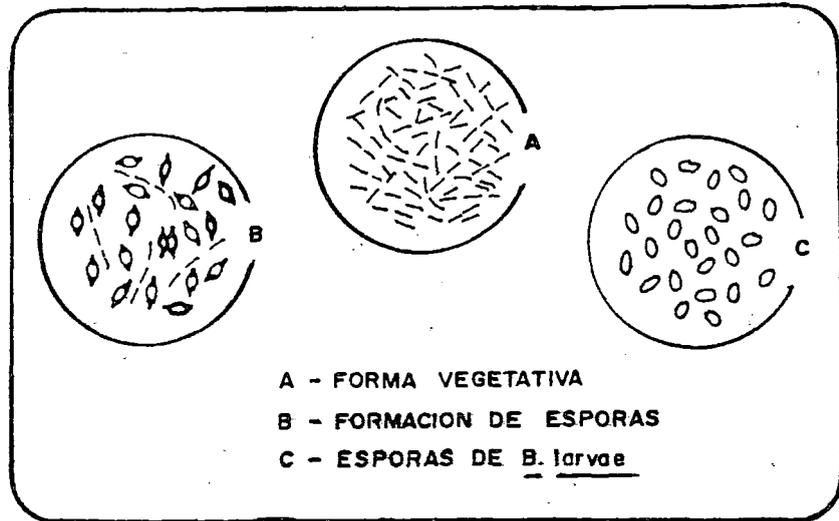


Fig. A-3 — Ciclo natural de infección de Loque europea.

Fuente : HANSEN, H. 1981 (16)



Estados de la bacteria (Bacillus larvae) causante de la Loque Americana
(Dibujos no hechos a escala)

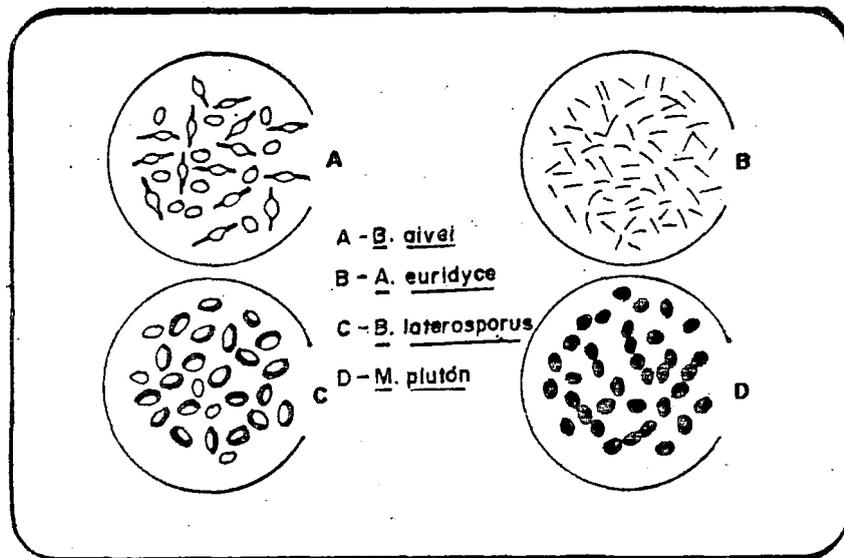


Fig. A:4. Dibujos esquemáticos (sin escala) de bacterias asociadas con enfermedades de la cría de la abeja melífera

Cuadro A-1. Ubicación geográfica de los municipios muestreados en el Departamento de San Salvador.

MUNICIPIO	ALTITUD msnm	TEMPERATURA (°C) PROM. ANUALES	COORDENADAS GEOGRAFICAS
Aguilares	305	25,8	13°57'23" LN, 89°11'18" LWG
Nejapa	455	24,8	13°48'50" LN, 89°13'49" LWG
Tonacatepeque	620	23,0	13°46'46" LN, 89°07'00" LWG
San Martín	720	21,8	13°44'16" LN, 89°03'20" LWG
Soyapango	625	23,0	13°42'12" LN, 89°09'00" LWG
Ciudad Delgado	620	23,0	13°43'08" LN, 89°10'10" LWG
Mejicanos	630	23,0	13°43'17" LN, 89°11'18" LWG
San Salvador	658	23,0	13°42'00" LN, 89°11'35" LWG
Santo Tomás	700	22,7	13°38'22" LN, 89°07'40" LWG
Panchimalco	575	23,8	13°36'36" LN, 89°10'42" LWG
Rosario de Mora	520	23,8	13°34'23" LN, 89°12'26" LWG
Santiago Texa cuangos	780	22,0	13°38'38" LN, 89°07'04" LWG

Cuadro A-2. Ubicación geográfica de los municipios muestreados en el Departamento de Chalatenango.

MUNICIPIO	ALTITUD msnm	TEMPERATURA (°C) PROM. ANUALES	COORDENADAS GEOGRAFICAS
Citalá	715	18,6	14°22'24" LN y 89°12'52" LWG
San Ignacio	1010	20,0	14°20'18" LN y 89°10'41" LWG
Nueva Concepción	325	24,8	14°07'41" LN y 89°17'27" LWG
La Reina	410	24,6	14°11'39" LN y 89°08'57" LWG
Tejutla	350	24,8	14°10'12" LN y 89°06'02" LWG
El Paraíso	270	25,1	14°06'19" LN y 89°04'09" LWG
San Rafael	360	25,2	14°08'00" LN y 89°07'40" LWG
Chalatenango	390	25,2	14°06'19" LN y 89°56'15" LWG
La Palma	1000	20,5	14°18'59" LN y 89°10'19" LWG

Cuadro A-3. Ubicación geográfica de los municipios muestreados en el -
Departamento de La Libertad.

MUNICIPIO	ALTITUD msnm	TEMPERATURA (°C) PROM. ANUALES	COORDENADAS GEOGRAFICAS
La Libertad	10	26,4	13°19'19" LN y 89°19'18" LWG
Zaragoza	600	22,8	13°35'28" LN y 89°17'28" LWG
Santa Tecla	920	20,6	13°40'18" LN y 89°17'18" LWG
Tamanique	595	22,8	13°35'47" LN y 89°25'07" LWG
Chiltiupán	725	23,8	13°35'27" LN y 89°28'03" LWG
Sacacoyo	670	23,8	13°44'05" LN y 89°28'17" LWG
San Juan Opico	505	24,0	13°52'40" LN y 89°21'37" LWG
San Pablo Tacachico	305	24,8	13°58'32" LN y 89°20'14" LWG
Ciudad Arce	575	24,6	13°50'16" LN y 89°26'48" LWG
Quezaltepeque	415	24,8	13°50'00" LN y 89°16'20" LWG
Antiguo Cuscatlán	840	21,8	13°40'23" LN y 89°14'26" LWG

Cuadro A-4. Ubicación geográfica de los municipios muestreados en el Departamento de Cuscatlán.

MUNICIPIO	ALTITUD msnm	TEMPERATURA (°C) PROM. ANUALES	COORDENADAS GEOGRAFICAS
Suchitoto	390	25,7	13°56'18" LN y 89°01'41" LWG
Cojutepeque	870	21,8	13°43'19" LN y 88°56'04" LWG
El Carmen	680	23,8	13°43'17" LN y 88°54'14" LWG
San Rafael Cedros	716	23,8	13°43'56" LN y 89°53'14" LWG

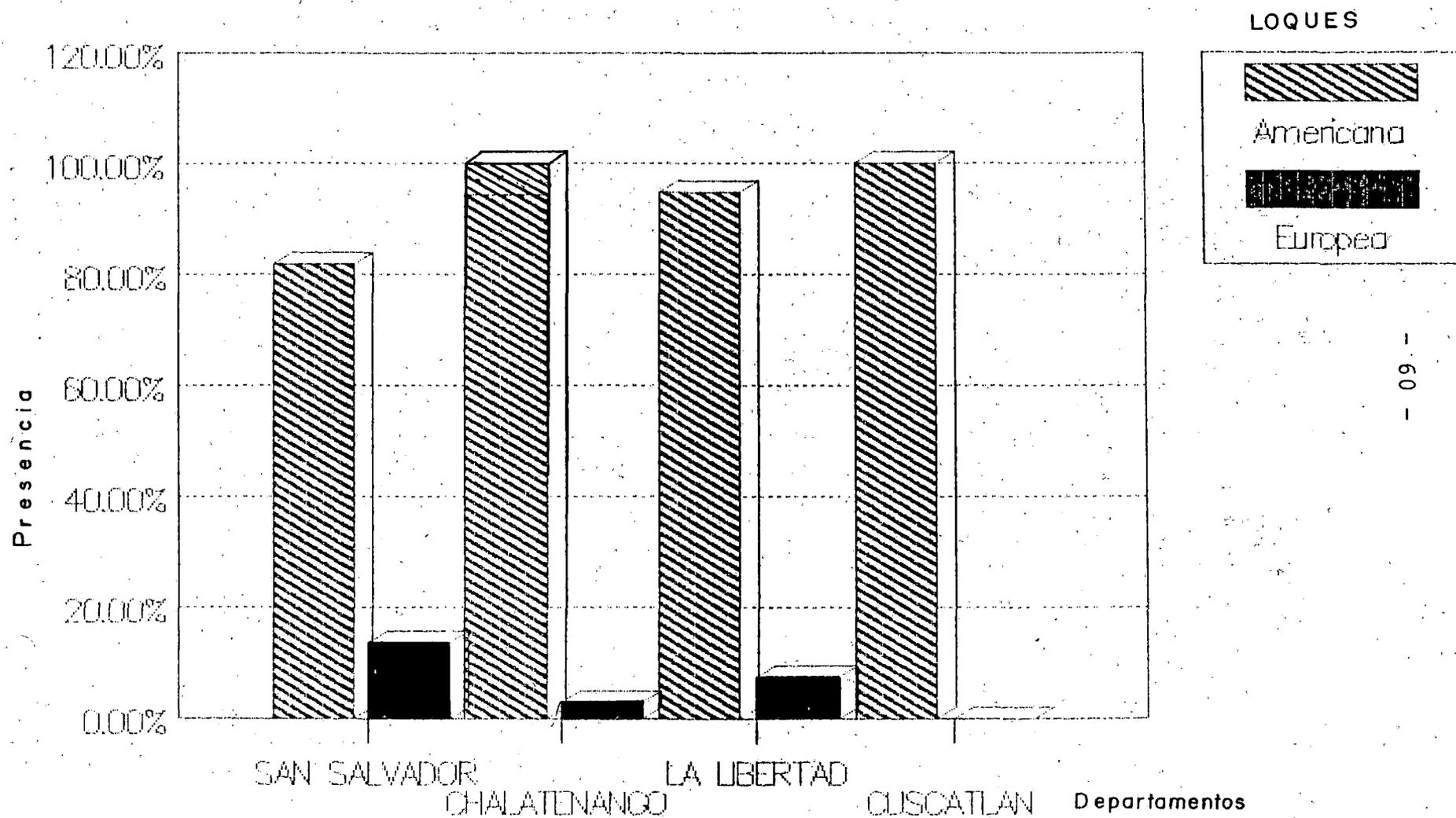


Fig. A5 : Presencia de loques en época seca, en la región central de El Salvador.

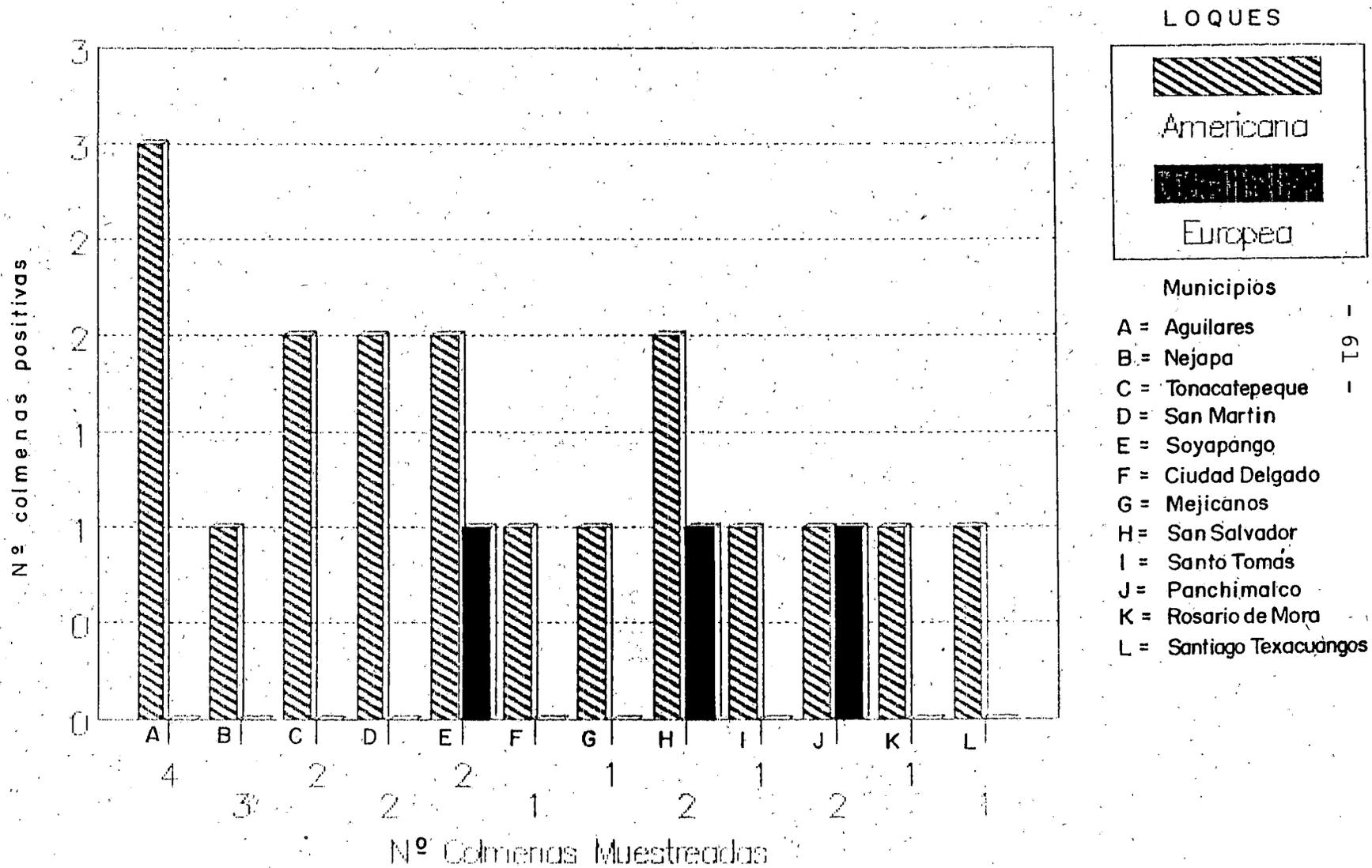


Fig. A6 : Presencia de loques en época seca, en el departamento de San Salvador

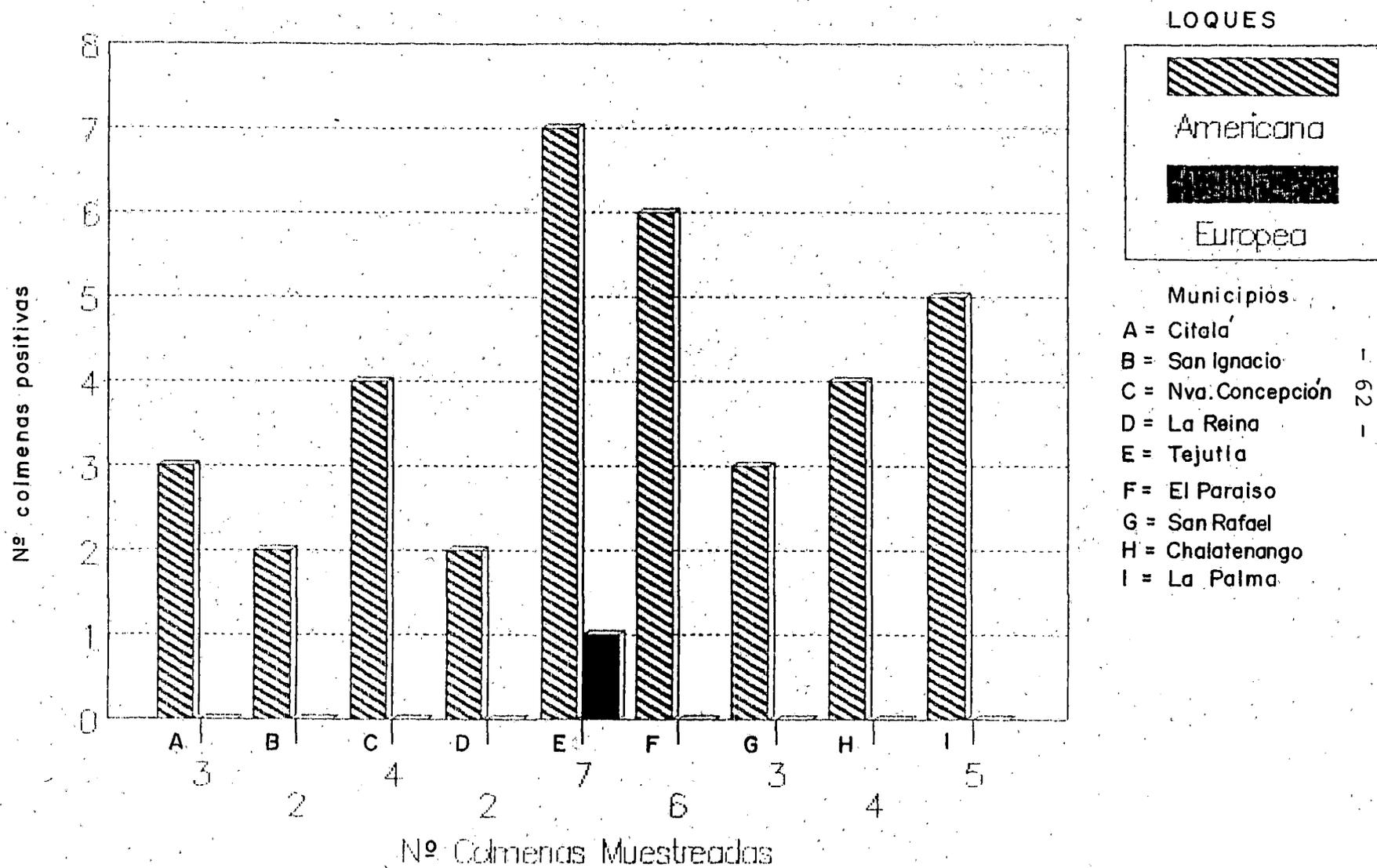


Fig. A7 : Presencia de loques en época seca, en el departamento de Chalatenango.

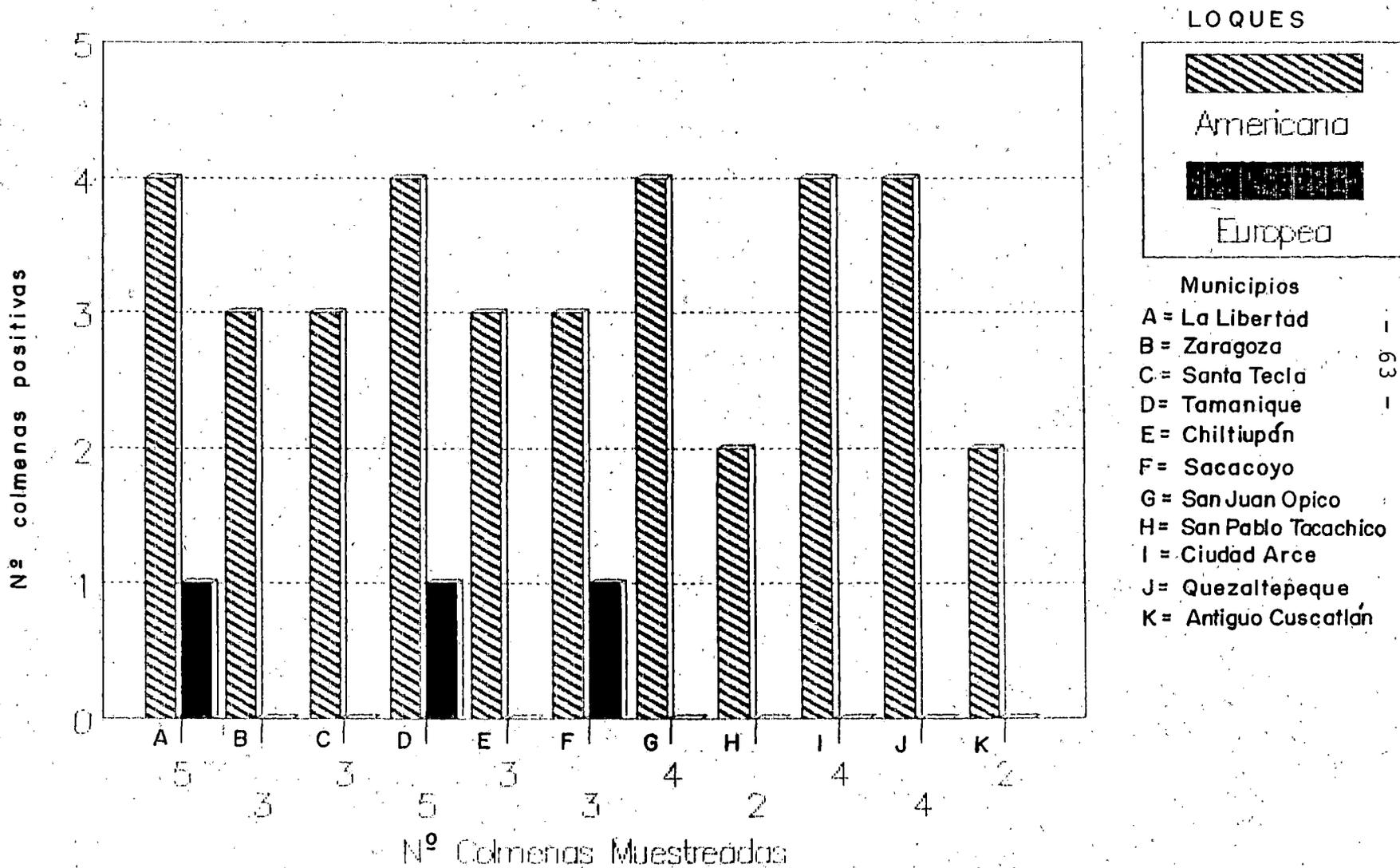


Fig. A 8 : Presencia de loques en época seca, en el departamento de La Libertad .

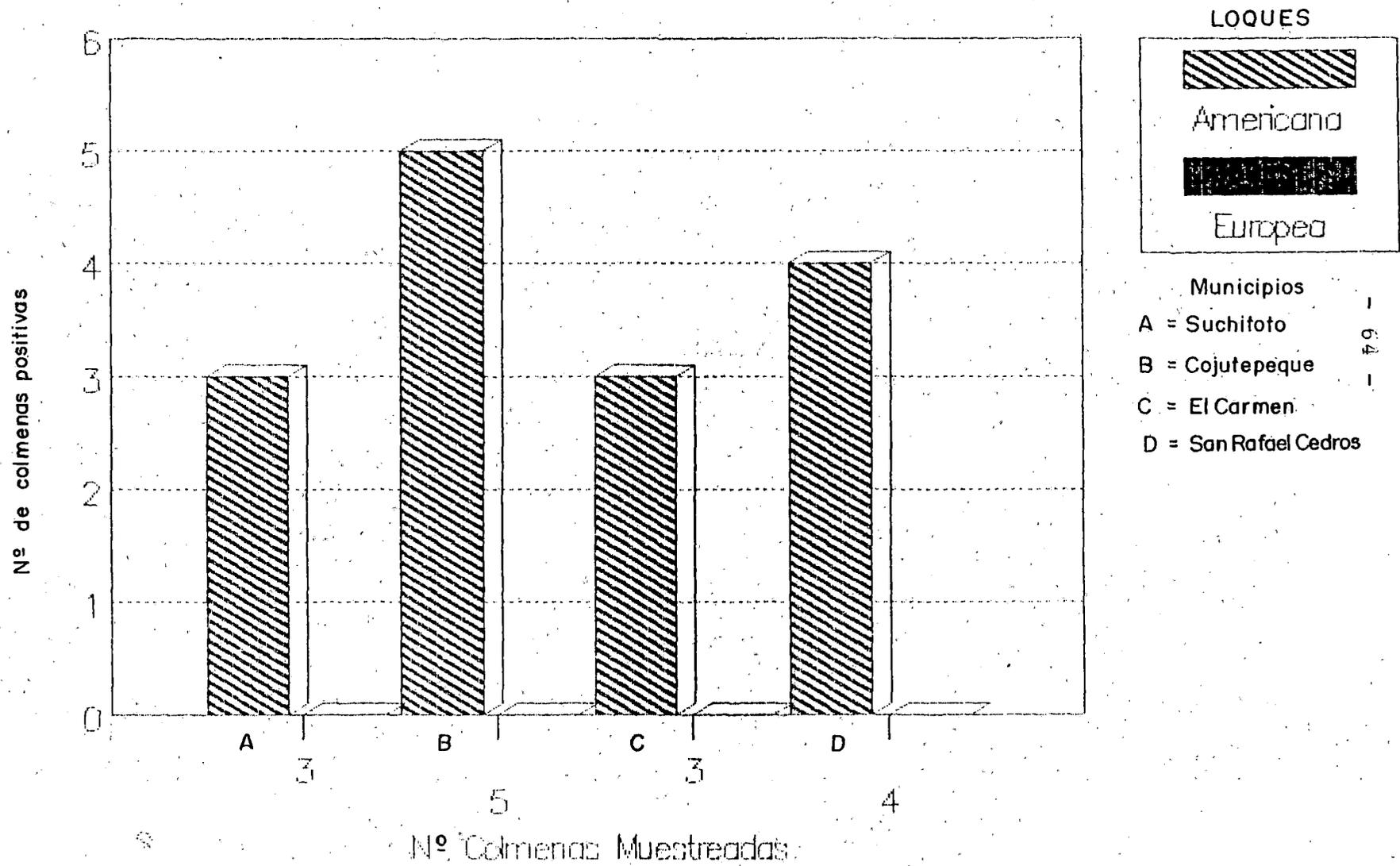


Fig. A 9 : Presencia de loques en época seca, en el departamento de Cuscatlán

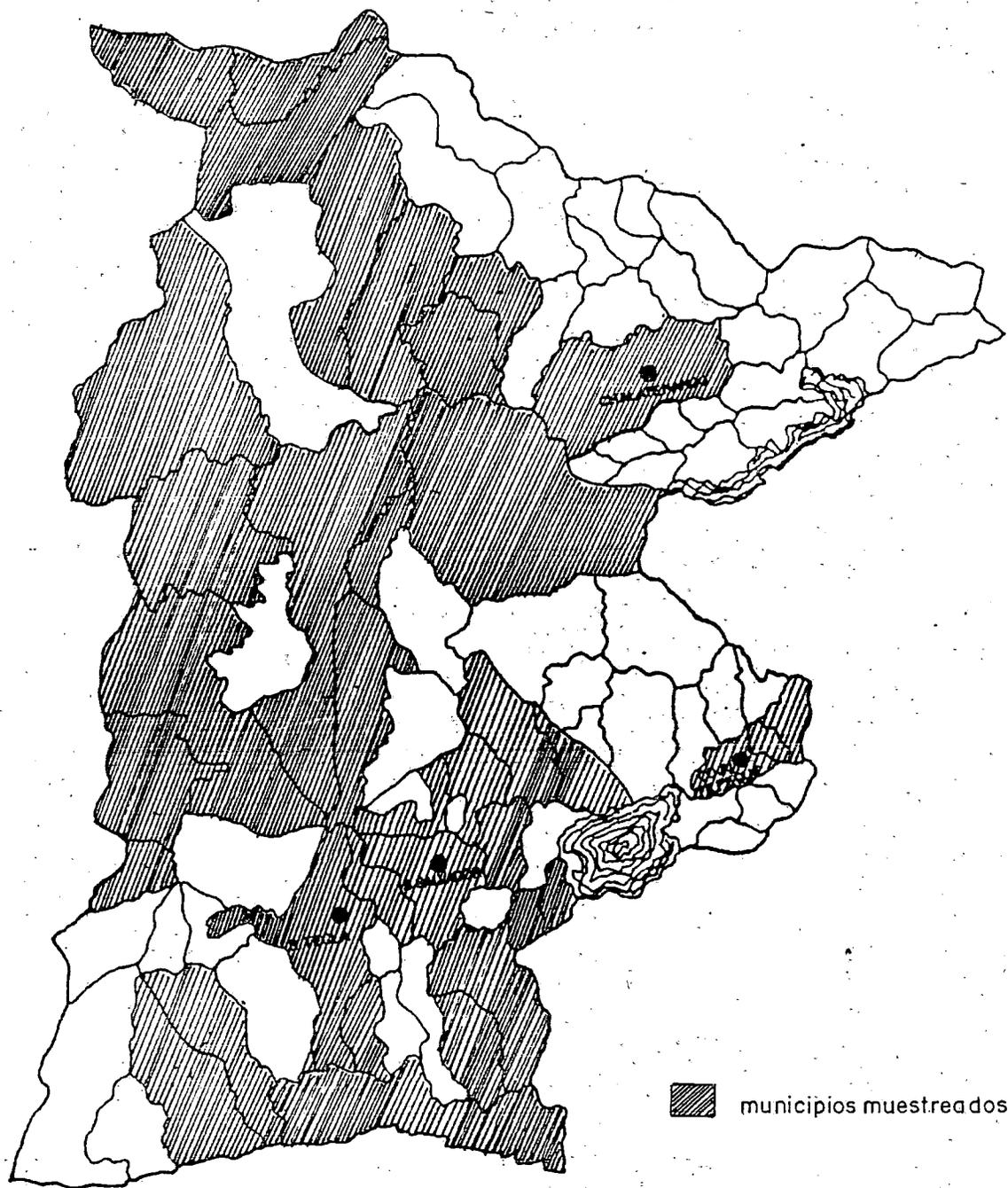


Fig. A -10 - Zona Central con sus limites municipales .

FUENTE : Ministerio de Agricultura y Ganadería. Sistema de Vigilancia
Epidemiológica - M. A. G. - O. P. S.

REPUBLICA DE EL SALVADOR
MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA
SISTEMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA- M.A.G. - O.P.S.

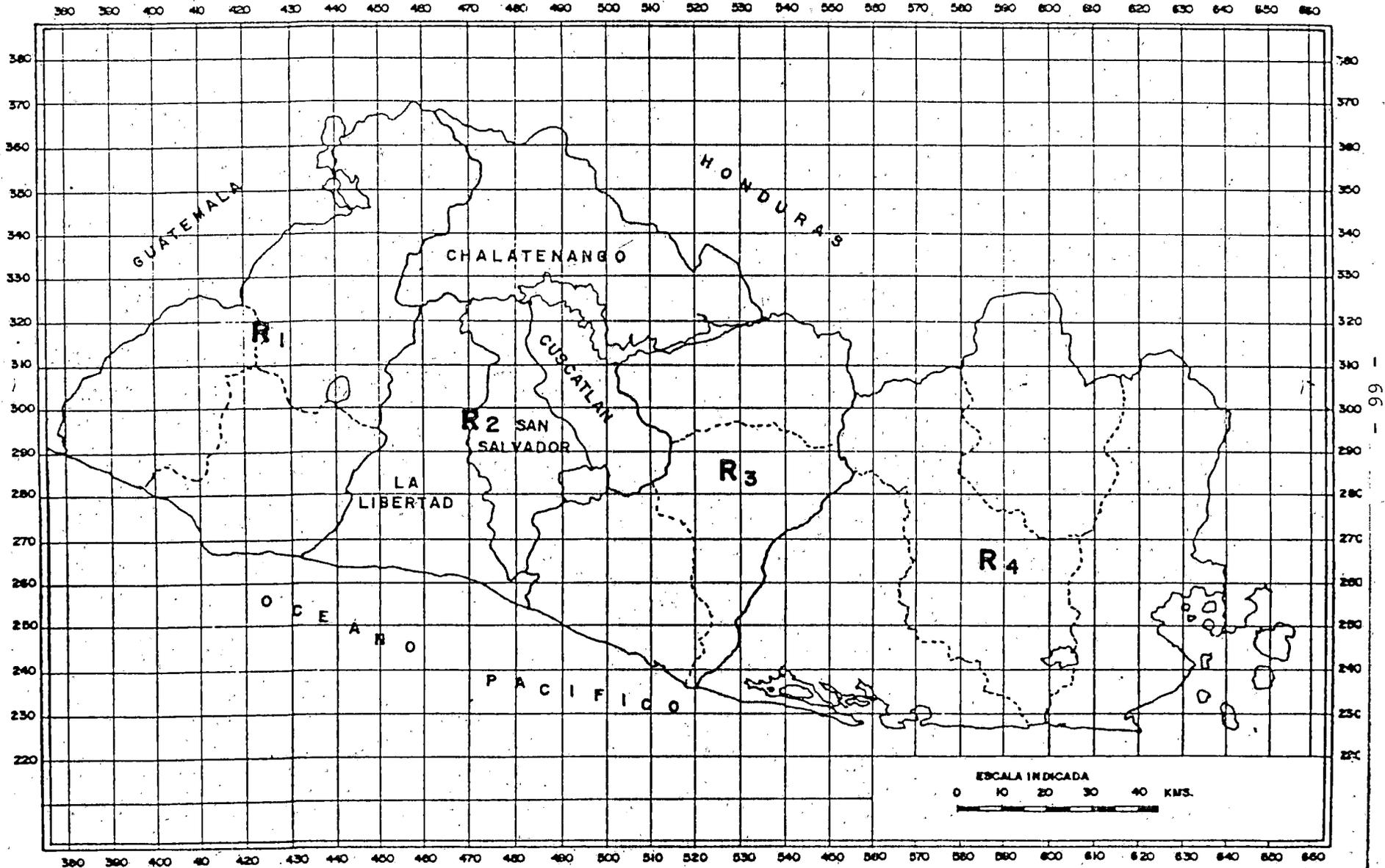


Fig. A - II - Mapa de El Salvador por regiones .



A-5. Costo total de la investigación

<u>E Q U I P O</u>	<u>CANTIDAD</u>	<u>COSTO UNI TARIO (¢)</u>	<u>COSTO TO TAL (¢)</u>
- Overoles	3	180,00	Aporte CDG
- Velos apícolas	3	45,00	Aporte CDG
- Guantes (pares)	3	15,00	Aporte CDG
- Ahumador	1	100,00	Aporte CDG
- Espátula	1	25,00	Aporte CDG
- Cepillo	1	20,00	Aporte CDG
<u>MATERIALES</u>			
- Lámina porta-objeto (3x1)	2	45,00	90,00
- Lámina cubre-objeto (22 x 50) (Onz.)	2	25,00	50,00
- Cajas Petri	20	20,00	400,00
- Tubos de ensayo	15	5,00	75,00
- Desecador de vidrio	1	4 000,00	Aporte Fac. CC. AA.
- Rollos fotográficos	3	35,00	105,00
- Revelados	3	60,00	180,00
- Discos de antibióticos (Magazine de 50)	7	37,00	259,00
- Agar base	200 gr	275,00	550,00
- Agar nutritivo	200 gr	325,00	650,00
- Reactivos	-	-	200,00
- Leche descremada	454 gr	15,00	15,00
- Vaseline	1	10,00	10,00
- Gastos de papelería	-	-	500,00
		SUB-TOTAL	¢ 3 085,00
<u>TRANSPORTE</u>			
- Combustible (galones)	150	7,60	1 140,00
- Imprevistos (10%)			422,40
TOTAL :			¢ 4 646,40