

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

“SITUACIÓN DE LA ACARAPISOSIS (*Acarapis woodi* R.) EN APIARIOS DE
ZONAS CON ANTECEDENTES DE LA ENFERMEDAD”

POR

VILLALBA SUAREZ, Valeria '



TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias

Orientación: Producción animal



MODALIDAD: estudio poblacional

MONTEVIDEO
URUGUAY
2011

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de Mesa:



Lic. Oscar Castro

Segundo Miembro (Tutor):



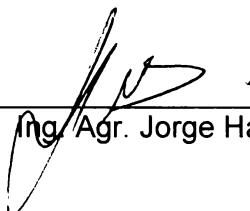
Dr. José Piaggio

Tercer Miembro:



Dr. Ciro Invernizzi

Cuarto miembro (Co tutor):




Ing. Agr. Jorge Harriet

Fecha: 9/12/11

Autor:

Br. Valeria Villalba



AGRADECIMIENTOS

- A los apicultores que colaboraron cediendo muestras de sus abejas y por su tiempo dedicado a las encuestas.
- A mi tutor Dr. José Piaggio y mi co- tutor Ing. Agr. Jorge Harriet por el tiempo dedicado a este trabajo.
- A Oscar Castro y sus compañeros por permitirme procesar mis muestras en su laboratorio.
- A la Sección Apicultura de la DILAVE “Miguel C. Rubino”-MGAP por el apoyo y la información brindada.
- A mi familia y amigos por el apoyo durante toda la carrera.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Página de aprobación.....	II
Agradecimientos.....	III
Lista de cuadros y figuras.....	IV
Resumen.....	1
Summary.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Generalidades.....	4
2.2. Antecedentes de la enfermedad.....	5
2.2.1. Antecedentes internacionales.....	5
2.2.2. Antecedentes en Uruguay.....	6
2.3. Taxonomía.....	8
2.4. Morfología y ciclo biológico.....	8
2.4.1. Morfología.....	8
2.4.2. Ciclo biológico.....	9
2.5. Epidemiología.....	11
2.5.1. Susceptibilidad.....	11
2.5.2. Transmisión.....	11
2.5.3. Ambiente.....	12
2.6. Síntomas.....	13
2.7. Patogenia.....	13
2.8. Diagnóstico.....	15
2.9. Control de <i>Acarapis woodi</i>	15
2.9.1. Químico.....	15
2.9.2. Cultural.....	16
2.9.3. Selección de líneas de abejas resistentes.....	16
3. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS.....	17
3.1. Objetivo general.....	17
3.2. Objetivos específicos.....	17
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
4.1. Elección de las zonas de muestreo.....	18
4.2. Colecta de muestras de abejas.....	18
4.3. Técnica de diagnóstico.....	18
4.4. Encuesta.....	19

5. RESULTADOS Y DISCUSION	20
5.1. Resultados.....	20
5.2. Discusión.....	23
6. CONCLUSIONES	24
7. BIBLIOGRAFÍA	25
8. ANEXOS	28

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro I. Evolución de la Acarapisosis en el período 1968-1989.....	6
Cuadro II. Cadena epizootiológica de la Acarapisosis.....	12
Figura 1. Ubicación de las distintas especies de <i>Acarapis</i>	4
Figura 2. Macho y hembra de <i>A. woodi</i>	8
Figura 3. Principales tráqueas torácicas de la abeja melífera en donde suele encontrarse <i>A. woodi</i>	9
Figura 4. Ciclo biológico de <i>Acarapis woodi</i>	10
Figura 5. Estadios de infección de las tráqueas torácicas.....	14
Figura 6. Procedimiento de manipulación y disección de la abeja.....	18
Figura 7. Cortes de tórax.....	19
Figura 8. Experiencia en producción apícola.....	20
Figura 9. Conocimiento de las características de la Acarapisosis.....	21
Figura 10. Opinión sobre la importancia de la Acarapisosis.....	22

RESUMEN

La Acarapisosis es una parasitosis interna de las abejas melíferas adultas (*Apis mellifera* L.) producida por el ácaro microscópico *Acarapis woodi* (Rennie) (OIE, 2009).

En Uruguay fue detectada por primera vez en Paysandú en 1953. Durante muchos años (décadas del 60 al 90 del siglo XX) fue considerada una enfermedad de importancia económica.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la situación de la Acarapisosis en los departamentos de Colonia, Soriano, San José y Flores, en regiones que contaban con antecedentes de la enfermedad; y relevar el conocimiento y la opinión de los apicultores sobre esta enfermedad.

Se obtuvieron dos muestras por seccional policial de los departamentos mencionados, totalizando 76 muestras.

El diagnóstico se realizó mediante la disección de la abeja y posterior observación de las tráqueas en una lupa estereoscópica. Las muestras de abejas procesadas resultaron ser negativas, lo que significa que no se constató la presencia de *A. woodi* en los apiarios estudiados.

Se realizó una encuesta a 30 apicultores pertenecientes a los Departamentos mencionados para evaluar sus conocimientos y opinión sobre la enfermedad.

El nivel de conocimiento de los apicultores varió según los años de experiencia que poseen. El 28,5% de los apicultores consideró a la Acarapisosis una enfermedad importante, el 28,5% cree que es una enfermedad que debe ser considerada, mientras que el resto cree que no es importante ya que hoy en día otras enfermedades producen mayores daños.

En conclusión, no se detectaron muestras positivas a la enfermedad por lo cual, con las muestras procesadas podemos afirmar con un nivel de confianza del 95% que si está presente, la Acarapisosis afecta menos del 3,84% de los apiarios de la población muestreada. La mayoría de los apicultores mostró preocupación por esta parasitosis manifestando que es un problema sanitario importante (28,5%) o que al menos debe considerarse por tratarse de una enfermedad con antecedentes en nuestro país (28,5%).

SUMMARY

The Acarapisosis is an internal parasitosis of adult bees (*Apis mellifera* L.) produced by a microscopic mite named *Acarapis woodi* (Rennie) (OIE, 2009).

In Uruguay it was first detected in Paysandú in 1953. For many years (sixties to nineties of XXth century) it was considered a disease with economic relevance.

This work aimed to study the current situation of the Acarapisosis in departments such as Colonia, Soriano, San Jose and Flores, in regions where the disease was once present. The main purpose was to gather knowledge and opinion of several beekeepers in the area about this disease.

Two samples were taken from each police station at the departments mentioned above, total 76 samples.

The diagnosis was done through bee dissection and the subsequent observation of their tracheas using a stereomicroscope. Bee samples resulted negative, which means the presence of *A. woodi* was not detected.

Was performed a survey of 30 beekeepers owned by these departments to evaluate their knowledge and opinion about the disease.

The level of knowledge of the bee-keepers varies according to the number of years they have practiced this activity. 28,5% of them consider Acarapisosis a very important matter. 28,5% think the disease should be taken into account, while the rest believe it is not important because of the existence of other diseases which produce more relevant losses.

In conclusion, no positive samples were obtained. Therefore we can affirm, with a confidence level of 95%, that *Acarapis woodi* is present in no more of 3.84% of apiaries in the sample. Most bee-keepers believe it is an important matter because it represents a serious sanitary problem (28,5%). They also suggested it should be at least considered due to its precedents in Uruguay (28,5%).

1. INTRODUCCIÓN

Los parásitos que afectan a las abejas pueden llegar a provocar problemas importantes, tanto para la sobrevivencia de las abejas como para la producción apícola, así como también pueden afectar el rol de las abejas en la polinización de algunos cultivos agrícolas. *Acarapis woodi*, *Varroa destructor* y *Tropilaelaps clareae* son los principales, pero más de 100 especies de ácaros más inofensivos están asociados con las abejas (Sammataro y col., 2000).

La Acarapisosis es una parasitosis interna de las abejas melíferas adultas (*Apis mellifera* L.) producida por el ácaro microscópico *Acarapis woodi* (Rennie) (OIE, 2009). Es una enfermedad de distribución mundial. Disminuye la población de individuos adultos de la colonia y por ende la potencialidad productiva, no produciendo síntomas típicos.

En Uruguay se consideró durante muchos años (décadas del 60 al 90 del siglo XX) una enfermedad de importancia económica (Toscano y col., 1991).

El presente trabajo tuvo como objetivo detectar colonias de abejas con Acarapisosis en zonas con antecedentes de la enfermedad. Complementariamente se relevó el conocimiento y la opinión que tienen los apicultores sobre ésta parasitosis.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades

La Acarapisosis es una enfermedad de las abejas melíferas adultas (*Apis mellifera* L.), ocasionada por un ácaro parásito microscópico que se nutre y reproduce en las tráqueas torácicas de las abejas, denominado *Acarapis woodi* R. (Wilson y col., 1997).

Sammataro y col. (2000) lo denomina ácaro traqueal de la abeja melífera (HBTM, del inglés Honey Bee Tracheal Mite).

Existen ácaros muy similares morfológicamente con *A. woodi* que deben considerarse al realizar el diagnóstico. Dichos ácaros se ubican en la superficie externa del cuerpo de la abeja. La primera especie descubierta fue *A. externus*, que se localiza en el área membranosa entre la región posterior de la cabeza y el tórax o en la región ventral del cuello. *A. dorsalis* se localiza en el surco en forma de V entre el mesoscutum y mesoscutellum, y *A. vagans*, se ubica principalmente en la base de las alas y eventualmente en el abdomen (Bailey, 1984).

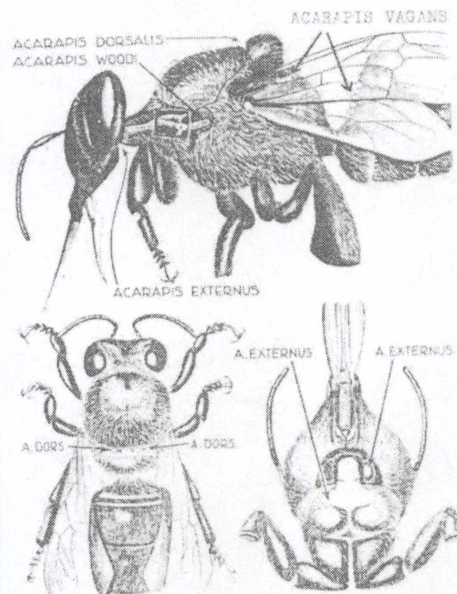


FIG. 196

Figura 1. Ubicación de las distintas especies de *Acarapis* (Chauvin, 1968).

2.2. Antecedentes de la enfermedad

2.2.1. Antecedentes internacionales

El ácaro traqueal *A. woodi* (Rennie) fue identificado en colonias de abejas *A. mellifera* por Rennie en 1919 (Mc Mullan y Brown, 2009).

Inicialmente se consideró que era la causa de la “enfermedad de la Isla de Wight” (costa sur de Inglaterra), donde en 1906 las colonias de abejas morían sin ninguna causa aparente; este fenómeno se había dispersado por todo Gran Bretaña e Irlanda, Europa, Asia, América del Sur y del Norte. Posteriormente se demostró que el ácaro traqueal no era la causa de la enfermedad de la “Isla de Wight”, y reportes posteriores indicaron que *A. woodi* no era una enfermedad tan seria como se creía.

A principios de los 80', *A. woodi* fue diagnosticado en México (Wilson y col., 1997), y en 1984 en diferentes zonas de los Estados Unidos (Texas, Louisiana, Florida, Dakota Sur y Norte, Nueva York y Nebraska) (Denmark y col., 2011). De acuerdo a Denmark y col. (2011) *A. woodi* se encontraba en cualquier sitio en que hubiera abejas con excepción de Australia, Nueva Zelanda, Escandinavia y Canadá.

Observaciones realizadas en 1951 en la Estación Experimental de Rothamsted (Inglaterra) mostraron que el ácaro está asociado con una disminución de la vida de los individuos afectados y la muerte de colonias severamente infestadas al final del invierno (Bailey, 1999). Trabajos más recientes indican que la infección parasitaria está asociada a una disminución del área de cría y de la población, aumento del consumo de miel y menor producción de la misma, y por último muerte de la colmena (Sammataro, 2006).

En Estados Unidos, desde la introducción del ácaro *V. destructor* en 1987, los esfuerzos de estudio se han orientado más hacia la Varroasis que a la Acarapisosis. No obstante, la Acarapisosis continúa presente en las abejas y probablemente sea la responsable de algunas pérdidas de colonias (Sammataro, 2006).

Ya a principios del siglo XXI, se reportan grandes pérdidas de colmenas en Estados Unidos y Europa de etiología desconocida, denominado Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (del inglés CCD). En los trabajos de investigación orientados al diagnóstico de diferentes enfermedades se determinó que en Estados Unidos, en el 24% de las muestras analizadas, se encontró *A. woodi* R. sólo o asociado con otros patógenos. Sin embargo, no se puede atribuir a la Acarapisosis como causa del CCD (Mc Mullan y Brown, 2009).

A nivel regional, solamente en Chile se han reportado trabajos sobre la ocurrencia de Acarapisosis en 2001 y 2002 (Campano, 2004 citado en Delannoy, 2006). De acuerdo a los datos de la OIE, en 2010 ni Argentina ni Brasil reportaron casos de Acarapisosis. No obstante, Chile presentó casos en el primer semestre de 2010 (división administrativa De Los Lagos) y en el primer semestre de 2011 (división administrativa Libertador General Bernardo O'Higgins). De Paraguay no se registra información (OIE, 2011).

2.2.2. Antecedentes en Uruguay

En 1939 se crea la Sección Apicultura de la DILAVE con el fin de apoyar el desarrollo de la Apicultura, especialmente en los aspectos sanitarios. En los primeros años los diagnósticos se realizaban en base a la sintomatología de las colmenas, y en la década del 50 se comienzan a realizar diagnósticos de laboratorio. La rutina de diagnósticos comprende las enfermedades más importantes de ese momento: Acarapisosis, Nosemosis (*Nosema apis* y *Nosema ceranae*), Loque Europea (*Melissococcus plutonius*) y Americana (*Paenibacillus larvae*); las de menor importancia eran controladas manteniendo una vigilancia sanitaria (Toscano y col., 1991).

La Acarapisosis es detectada por primera vez en Paysandú, en 1953, por el Dr. Manuel Muniz Suárez del Ministerio de Ganadería y Agricultura, en busca del agente causal de grandes pérdidas de colmenas (Muniz Suárez, 1955).

Durante la décadas de 1950 a 1980, se atribuyó a este ácaro la responsabilidad de cuantiosas pérdidas (Invernizzi y col., 2011).

A continuación se presentan los diagnósticos positivos de la enfermedad entre 1968 y 1989.

Año	Muestras analizadas	Muestras positivas <i>A. woodi</i>	(%)= (Muestras positivas/muestras analizadas) x 100
1968	172	4	2.3
1969	150	9	6.0
1970	183	7	3.8
1971	229	39	17.0
1972	413	26	6.3
1973	Sin datos	Sin datos	Sin datos
1974	Sin datos	Sin datos	Sin datos
1975	Sin datos	Sin datos	Sin datos
1976	2087	42	2.0
1977	2166	42	2.0
1978	3081	24	0.8
1979	1470	21	1.4
1980	2105	27	1.3
1981	2888	10	0.3
1982	1178	8	0.7
1983	1023	6	0.6
1984	805	14	1.7
1985	1087	6	0.6
1986	1002	14	1.3
1987	151	5	0.7
1988	950	25	2.5
1989	2156	55	2.5

Cuadro I. Evolución de la Acarapisosis en el período 1968-1989.

Fuente: Toscano y col., 1991

Para el período 1985 a 1997, según un informe de la Sección Apicultura de la DILAVE, las muestras positivas de Acarapisosis representaron un 1.4% del total de muestras analizadas (Harriet, datos no publicados). En dichos informes se hace énfasis en la aparición de muestras positivas en las zonas de mayor densidad de colmenas, que incluye a los Departamentos de Colonia y en menor medida Soriano.

En 1978 es detectada en el país la Varroasis, cuyo agente causal es *V. destructor* (Toscano y col., 1991). A diferencia de *A. woodi* se ubica externamente en el cuerpo de la abeja (en las etapas inmaduras y en la abeja adulta) y por sus características macroscópicas se puede diagnosticar a simple vista. Este ácaro se nutre de la hemolinfa de la abeja, disminuyendo su masa corporal y produciendo muertes individuales que pueden llegar a matar la totalidad de la colmena si no se toman medidas de control (Wilson y col., 1997).

Debido a los daños y pérdidas que ocasiona *V. destructor* se utilizan distintos principios activos para su control, pudiendo ser de contacto (Fluvalinato, Amitraz, Cumafós y Flumetrina) o de sublimación (Timol). Para la aplicación de estos productos se sugiere la rotación, pudiendo utilizarse durante un máximo de 2 años. De esta manera se evita que la varroa desarrolle resistencia (Campá y col., 2009).

La dificultad de la técnica de diagnóstico de la Acarapisosis utilizada en el país, junto con la aparición de nuevas enfermedades con efectos más nocivos sobre las colmenas (Varroasis, Loque americana), determinó que a partir de 1998 la rutina de diagnóstico de *A. woodi* quedara restringida únicamente a los casos en que existe sospecha de la presencia de esta enfermedad. El último caso reportado en Uruguay según la Sección de Apicultura de la DILAVE-MGAP fue en 2001.

En Uruguay la mortandad de colmenas está asociada, en algunos casos, a la Varroasis, la Loque americana, el hambre e intoxicación con agrotóxicos; sin embargo aún existe un porcentaje de colonias de abejas que los apicultores manifiestan no conocer la causa de su muerte (Com. pers. Harriet, J.2009).

En los últimos años se han intensificado las investigaciones como consecuencia de la importante pérdida de colonias que se ha constatado en muchos países del mundo, especialmente en el Hemisferio Norte (Neumann y Carreck, 2010; van Engelsdorp y Meixner, 2010).

En suma, la ausencia de información actualizada sobre el diagnóstico de Acarapisosis a nivel nacional y regional, asociado a la mortandad de colmenas por causa desconocida, justifica la realización de estudios de Acarapisosis en el Uruguay.

2.3. Taxonomía

Phylum: Arthropoda

Clase: Arachnida

Orden: Acarina

Sub orden: Trombidiformes

Se caracterizan por tener un par de estigmas situados en la base de los quelíceros.

Este sub orden puede sub dividirse en 3 grupos:

- 1) Tetrapodili
- 2) Tarsonemini
- 3) Prostigmata

A. woodi pertenece al grupo Tarsonemini (Lapage, 1971).

2.4. Morfología y ciclo biológico

2.4.1. Morfología

Hembra: largo= 143 a 174 μm ; ancho= 77 a 81 μm ,

Macho: largo= 125 a 136 μm ; ancho= 60 a 77 μm .

Ambos son semejantes morfológicamente, diferenciándose por sus órganos sexuales externos (Wilson y col., 1997).

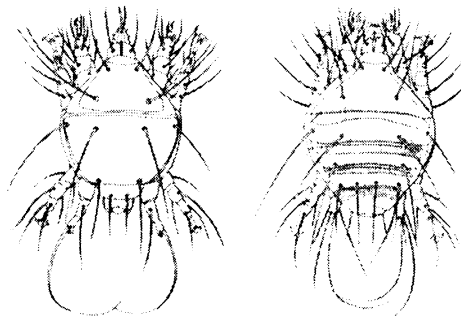


Figura 2. Macho y hembra de *A. woodi* (Llorente Martínez, 1990)

El macho tiene las patas más largas que la hembra, y presenta en la parte dorsal de su cuerpo tres segmentos, mientras que la hembra presenta cinco segmentos.

En la hembra, a cada lado de sus piezas bucales adaptadas para picar y succionar se inicia el aparato respiratorio. Disponen de pelos olfativos, que se encuentran en los extremos de los dos primeros pares de patas y en el macho, también en el cuarto par, estando más desarrollados en éste para la búsqueda de las hembras en las tráqueas (Llorente Martínez, 1990).

Los diferentes estadios de *A. woodi* se localizan en el sistema respiratorio de las abejas (Wilson y col., 1997). El mismo está compuesto por 10 espiráculos que se abren al exterior, troncos traqueales y traqueolas (ramificaciones de menor diámetro) (Snodgrass, 1956).

Pueden encontrarse ocasionalmente en los sacos aéreos de la cabeza y el tórax (Wilson y col., 1997).

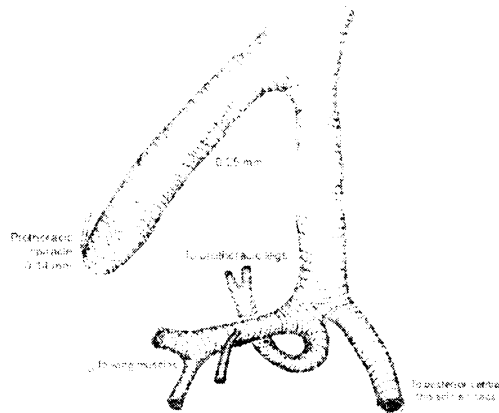


Figura 3. Principales tráqueas torácicas de la abeja melífera en donde suele encontrarse *A. woodi* (OIE, 2009).

2.4.2. Ciclo biológico

La hembra ingresa en el primer espiráculo torácico de una abeja adulta, generalmente menor de tres días de edad (preferencia por características de la cutícula, van Engelsdorp y Otis, 2001) pudiendo también infestar abejas más viejas. Los parásitos son atraídos por la corriente de aire espirado desde el primer espiráculo torácico, ignorando el segundo y tercero, que son usados para inspirar (Wilson y col., 1997).

La hembra fecundada ingresa en la tráquea de la abeja y a los 4-5 días realiza la puesta de huevos (5-6 huevos). Estos eclosionan a los 4 días, dando como resultado larvas con forma de saco y con sólo el primer par de patas desarrollado. Se alimentan de la hemolinfa del hospedador y pasados 6-7 días se convierten en deuto ninfas con cuatro pares de patas, que posteriormente dan lugar a los ácaros adultos.

La duración total del desarrollo del ácaro desde la eclosión del huevo hasta la formación del adulto es de 11-12 días para los machos y de 13-16 para las hembras.

Una vez fecundadas, las hembras abandonan la tráquea y salen al exterior donde se instalan en un pelo corporal de la abeja hasta entrar en contacto con otra abeja. Cuando establece contacto con una nueva abeja, busca y penetra por el espiráculo

del primer segmento torácico. Como las abejas infestadas no vuelan, aumentan las posibilidades de propagación de la enfermedad por mayor contacto abeja-abeja (Cordero Del Campillo y Rojo Vázquez, 1999).

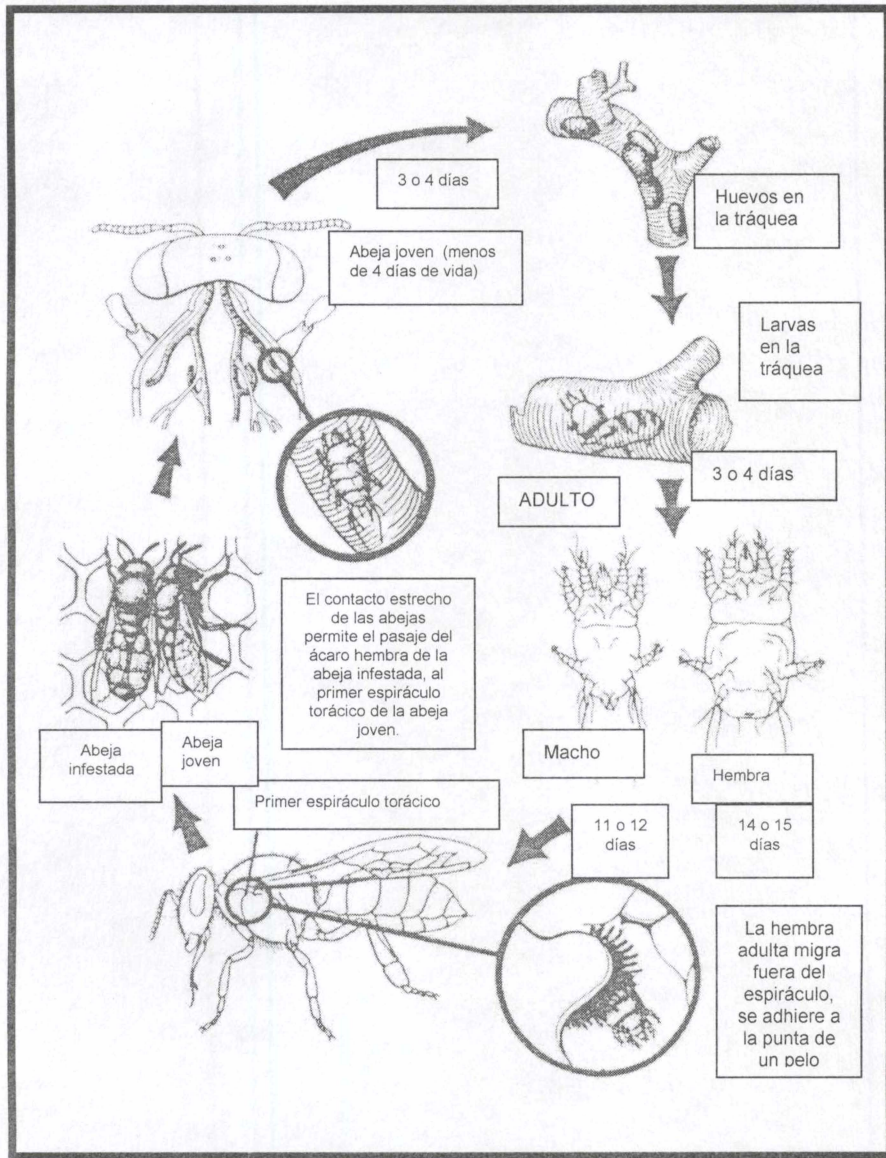


Figura 4. Ciclo biológico *Acarapis woodi*
Adaptado y traducido de Wilson y col., 1997.

2.5. Epidemiología



2.5.1. Susceptibilidad

El ácaro traqueal puede infestar a todos los individuos de la colmena. Sin embargo, en el momento de examinar los efectos del ácaro traqueal en las colmenas, las obreras son las más afectadas ya que son las que se encuentran en mayor número en la colonia.

Las reinas, debido a su longevidad, sirven como reservorio del ácaro. Es improbable que la reina soporte más de dos generaciones del ácaro debido a los daños en la tráquea y al efecto expoliativo (Wilson y col., 1997).

2.5.2. Transmisión

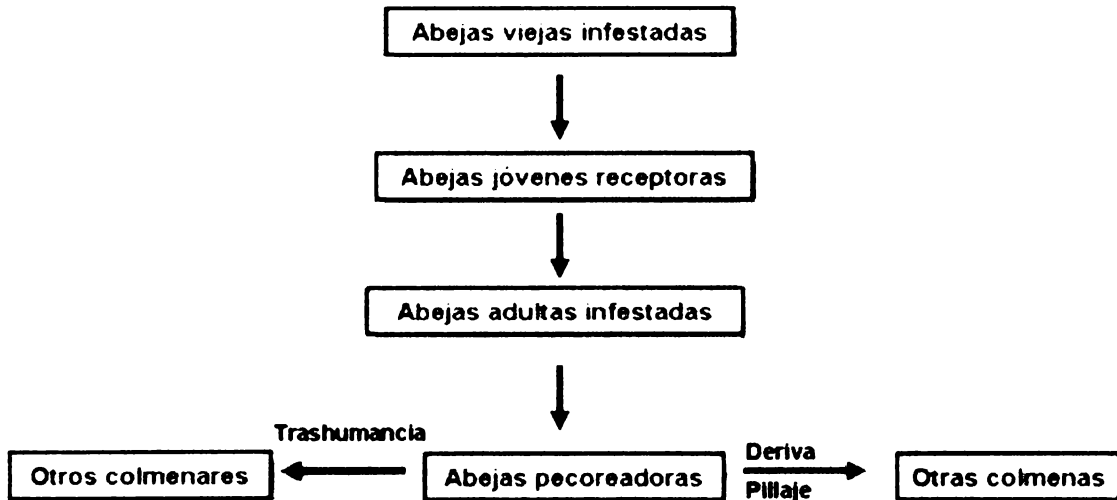
La Acarapisosis puede transmitirse entre individuos de la misma colmena, de colmenas diferentes de un mismo apiario, o bien de colmenas de diferentes apiarios.

En el primer caso, las abejas viejas dispersan las hembras del ácaro traqueal hacia las abejas jóvenes de menos de tres días. Esta transferencia, que es esencial para el ciclo de vida de *A. woodi*, es el único período en el que el ácaro se encuentra fuera del sistema traqueal y expuesto a las condiciones ambientales.

En el segundo caso se presentan tres maneras de transmisión: por el pillaje (acto mediante el cual las abejas roban miel de otras colmenas), por la deriva (intercambio de abejas entre colmenas por confusión, Root, 2004), u obreras o zánganos infestados de *A. woodi* que caminan en el apiario y entran en colmenas vecinas sanas (Cordero Del Campillo y Rojo Vázquez, 1999).

En el caso de transmisión entre apiarios, la misma se realiza por el pillaje, los errores de manejo del apicultor (intercambio de material), por la enjambrazón natural, por la transhumancia no controlada y por las transacciones comerciales (Cordero Del Campillo y Rojo Vázquez, 1999).

CADENA EPIZOOTIOLÓGICA DE ACARAPISOSIS



Cuadro II. Cadena epizootiológica de la Acarapisosis. (Llorente Martínez, 1990)

2.5.3. Ambiente

El ácaro tiene menor resistencia a las bajas temperaturas que a las altas: a 15° C sus movimientos son lentos, siendo normales a 30-34° C. La baja humedad ambiente es desfavorable y la alta favorece su desarrollo (Cordero Del Campillo y Rojo Vázquez, 1999)

En regiones templadas, la población del ácaro aumenta durante el invierno cuando las abejas se encuentran confinadas, y en verano cuando la población de abejas es mucho mayor, el ácaro se encuentra más disperso por lo que es más difícil de identificar (Sammataro, 2006). Los efectos del ácaro son mayores durante el invierno debido a que hay muchas abejas parasitadas en relación a la cría, y las pocas que nacen tienen altas probabilidades de ser infectadas. La colonia de abejas naturalmente reduce su población por las bajas temperaturas ambientales y la menor disponibilidad de alimento.

2.6. Síntomas

La Acarapisosis no presenta síntomas específicos que caractericen a la enfermedad. Las abejas infectadas presentan dificultad para volar y trasladarse y se observan caminando con dificultad en las cercanías de la colmena; también está asociado a incrementos de la mortalidad de colmenas después del invierno (Wilson y col., 1997; Bruno, 2003).

Cuando la infestación es leve, no se manifiestan síntomas y las abejas continúan sus trabajos de forma habitual. Si la enfermedad se agrava y la obstrucción traqueal es importante, se produce una perturbación más o menos neta del vuelo del insecto. En climas templados, los síntomas del ácaro traqueal pueden pasar desapercibidos o no ser reconocidos debido a que las abejas no forman el racimo de invierno (Sammataro, 2006).

También se aprecian abejas muertas en el entorno de la colmena, que no pudieron regresar.

Estos síntomas pueden confundirse con abejas afectadas por intoxicaciones, Varroasis, Nosemosis, pillaje u otras causas (Com. pers. Harriet, J 2009).

2.7. Patogenia

Los ácaros, larvas, huevos, restos de muda y deyecciones, provocan la obstrucción de la tráquea, con reducción de su permeabilidad y elasticidad (se hacen quebradizas) generando dificultad respiratoria o disnea en las abejas; a su vez, la liberación de toxinas en la hemolinfa puede provocar una septicemia en el hospedador (Cordero Del Campillo y Rojo Vázquez, 1999). Los ácaros se nutren de la hemolinfa, perforando la pared traqueal mediante su fuerte aparato bucal.

A medida que aumenta la población de parásitos, las paredes traqueales, que normalmente son blancas y translúcidas, se vuelven opacas y descoloridas con manchas eruptivas negras (OIE, 2009). Esta apariencia se debe a que las deyecciones de los ácaros al contactar con el aire que circula por las tráqueas se oxidan y toma el color oscuro que les da el aspecto manchado (Cornejo y Rossi, 1974).

La zona muscular existente en la articulación de las alas también es dañada y se produce una degeneración muscular. Así es que las alas pueden presentar una posición anormal, perpendiculares al cuerpo y caídas, como dislocadas por alteración de los músculos de la zona traqueal (Cordero del Campillo y Rojo Vázquez, 1999).

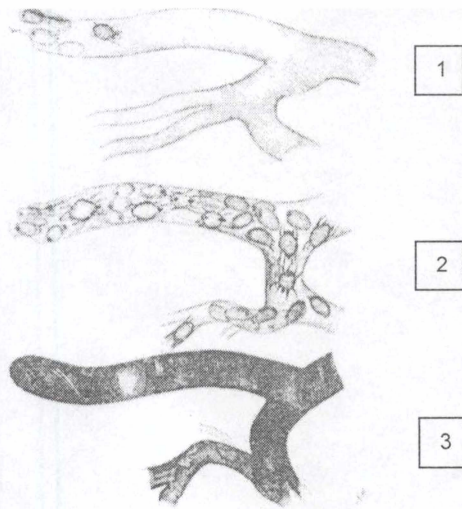


Figura 5. Estados de infección de las tráqueas torácicas (Chauvin, 1968).

La figura 5 muestra diferentes estadios de invasión del ácaro:

Estadio 1: se observan cuatro huevos y una larva eclosionada, correspondiente al 6to o 7mo día de infección. Dos semanas después la larva completará su desarrollo y formará la nueva generación.

Estadio 2: aspecto de la tráquea seis a ocho semanas post- infección. Ácaros de segunda y tercera generación ocupando toda la tráquea.

Estadio 3: en esta etapa se observan las paredes traqueales negras y su luz obstruida por los ácaros (la mayoría muertos) y restos de la muda (Chauvin, 1968).

Los daños ocasionados por la Acarapisosis son aquellos que derivan de la dificultad de volar debido a la reducida oxigenación de los músculos del vuelo. De aquí que las abejas afectadas tampoco pueden cumplir con la actividad de pecorea, reduciendo la capacidad de producción y acopio de miel y polen; esto determina una disminución de la expectativa de vida de las abejas afectadas y de toda la colmena, incluso provocando la muerte de la colonia ya que se ha observado una correlación entre el número de ácaros y la mortalidad de colmenas (Wilson y col., 1997).

2.8. Diagnóstico



El diagnóstico se realiza mediante la disección y examinación cuidadosa de la tráquea, para determinar la presencia de ácaros (Shimanuki y Knox, 2000).

La muestra se obtiene de abejas que se encuentren moribundas y caminantes en el terreno del apiario (Shimanuki y col, 1992).

De acuerdo a Robinson y col., (1986) el lugar de donde se extrae la muestra no tiene influencia en los valores de prevalencia del ácaro (citado por Scott-Dupree y Otis, 1992)

En el anexo 1 se presentan las distintas técnicas de diagnóstico.

2.9. Control de *A. woodi*

Los tratamientos para *A. woodi* deben realizarse después de un diagnóstico positivo, y fuera de los períodos de ingreso de flujo de néctar para evitar la eventual contaminación de los productos de la colmena.

Los métodos de control son los siguientes:

2.9.1. Químico:

El producto más difundido es el Mentol (aceites esenciales de *Mentha arvensis*), cuyos vapores son altamente volátiles. El mismo actúa por aromaterapia y logra despistar al ácaro en su etapa forética; de esta manera no puede subir a un nuevo hospedero y así se interrumpe el ciclo biológico. El Mentol se puede dispensar por sublimación de cristales, o por impregnación de diferentes soportes absorbentes con extractos alcohólicos. Un mes antes de la cosecha de miel debe retirarse todo el Mentol para evitar la contaminación de la miel (Sammataro y Avitabile, 2005).

De diferentes moléculas estudiadas, el Amitraz y el Bromopropilato fueron efectivas para los ácaros adultos pero no las fases inmaduras (Shimanuki y col, 1992). Otros trabajos pudieron determinar que el Amitraz es efectivo ante *V. destructor* y *A. woodi*, mientras que el Fluvalinato y Cumafós no resultaron eficaces contra éste último ácaro (Cox y col., 1986; Pettis y col., 1988). Por otro lado la formulación y la forma de aplicación del Amitraz deben ser las adecuadas para lograr buenos resultados (Henderson 1988; Moffet y col., 1988; Wilson y Collins 1993 citados por Wilson y col., 1997).

No obstante, otros estudios donde se probaron diferentes acaricidas naturales y sintéticos (Mentol, Amitraz, Fluvalinato y Cimazol), no obtuvieron una reducción significativa de la prevalencia de *A. woodi*; pero afirman que deben realizarse más estudios en climas templados, durante diferentes épocas del año y corrigiendo las dosificaciones, que mejoren la eficacia de los productos (Scott-Dupree y Otis, 1992). De acuerdo a García Fernández (1999), el uso de productos alternativos (orgánicos: ácido Fórmico, Mentol, aceites vegetales) contra *V. destructor*, también fueron eficientes contra *A. woodi*.

En Uruguay, el acaricida más utilizado para tratar colmenas con Acarapisosis es el Salicilato de Metilo. Esta sustancia, fuertemente volátil, tiene la ventaja frente al Mentol de liberar sus vapores a temperaturas más bajas, lo que permite aplicar tratamientos desde otoño hasta la primavera temprana (Invernizzi y col., 2011). Tanto con el Mentol como con el Salicilato de Metilo, la condición necesaria para su efectividad, es la presencia de vapores en el interior de la colmena durante al menos ocho semanas en forma continua, y asegurar que, durante una generación de abejas nuevas las mismas no sean parasitadas. Se asume que en ese período ocurre un cambio de la población adulta de abejas. Las abejas infestadas (dadoras) con *A. woodi* morirán, y las abejas potencialmente receptoras o libres del parásito estarán protegidas.

Estos tratamientos poseen como desventaja que provocan una alteración del comportamiento de las abejas, debido al fuerte olor de las sustancias aromáticas que afecta la atmósfera interna de la colmena. Por otro lado existe la dificultad de lograr evaporadores eficientes durante al menos 8 semanas (Invernizzi y col., 2011)

Otros autores recomiendan tratamientos de menor duración (14 a 28 días) cuyo objetivo es evitar la infestación de las abejas nacidas durante ese período. Debe esperarse una eficiencia menor desde el momento en que no se logra eliminar todas las abejas infectadas presentes en la colmena (Shimanuki y col, 1992; Sammataro y Avitabile, 2005).

2.9.2. Cultural o artesanal: otra alternativa no contaminante es aplicar manteca vegetal con azúcar a la colmena. Se coloca la pasta en el dorso de los cuadros de la colmena, de preferencia en la zona de la cámara de cría, donde estarán en contacto gran número de abejas que podrían ser infectadas. Aparentemente, la manteca interrumpe la búsqueda de un nuevo huésped por parte de las hembras foréticas de *A. woodi*.

Como las abejas jóvenes emergen continuamente, la mezcla debe permanecer por un período considerable. Lo ideal es aplicarlo en primavera cuando el número de ácaros tiende a crecer (García Fernández, 1999).

2.9.3. Selección de líneas de abejas resistentes: se han desarrollado varias líneas resistentes a los ácaros traqueales a partir de las abejas de Buckfast del Hermano Adam. Algunas de estas poblaciones son criadas y comercializadas a los apicultores (Sammataro y col., 2000).

Dada la ausencia de estudios sistemáticos de Acarapisosis en nuestro país así como la ocurrencia de mortandad de colmenas por causas desconocidas, el presente trabajo permite actualizar en parte el estatus sanitario de colonias de abejas en zonas del Uruguay con antecedentes de ocurrencia *A. woodi*.

3. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS

3.1. Objetivo general

Realizar una actualización de la situación de la Acarapisosis en apiarios de zonas con antecedentes de la enfermedad en el Uruguay.

3.2. Objetivos específicos

3.2.1. Determinar la presencia de Acarapisosis en apiarios de zonas con antecedentes de la enfermedad.

3.2.2. Realizar un relevamiento del conocimiento sobre la Acarapisosis mediante entrevistas a productores apícolas de zonas con antecedentes de la enfermedad en el Uruguay.

4. MATERIALES Y MÉTODOS



4.1. Elección de las zonas de muestreo

Las muestras (una por apiario) se solicitaron a productores de los departamentos de Soriano, Colonia, San José y Flores por ser las zonas con antecedentes más abundantes de Acarapisosis, procurándose la obtención de dos muestras por cada seccional policial de dichos departamentos, descartándose algunas seccionales que, de acuerdo al “Registro Nacional de Apicultores” (obtenido con autorización de DIGEGRA- MGAP), carecen de apiarios.

4.2. Colecta de muestras de abejas

Las muestras analizadas fueron obtenidas por los propios apicultores. Se les instruyó que recogieran de 35-50 abejas vivas obtenidas del interior de la colmena, de preferencia de la cámara de cría y posteriormente conservadas en formol al 10%. Las muestras fueron identificadas con el número de colmena, la ubicación del apiario (seccional policial) y el número de registro del apicultor. El formol genera un endurecimiento de la quitina del exoesqueleto, facilitando la manipulación de la muestra.

El período de obtención de muestras se realizó entre noviembre de 2010 a marzo de 2011.

4.3. Técnica de diagnóstico

Las muestras se procesan siguiendo el protocolo del Método de Milne (Toscano y col., 1991). El mismo es una adaptación del recomendado por la OIE y consiste en la disección de la abeja.

Se realizó un entrenamiento y puesta a punto de la técnica en un laboratorio oficial (Sección Apicultura de la DILAVE-MGAP), y posteriormente las muestras del relevamiento fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Veterinaria (UdelaR).

Se tomaron 35 abejas a las cuales se las examinó individualmente mediante el siguiente procedimiento:

Colocar la abeja sobre su dorso y remover la cabeza y el primer par de patas con un bisturí, realizando un movimiento hacia abajo y hacia delante.

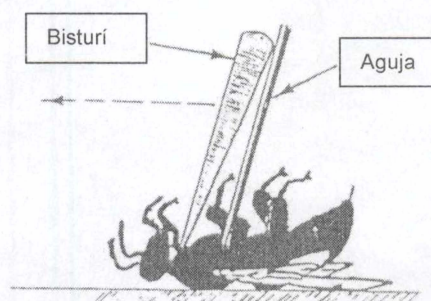


Figura 6. Procedimiento de manipulación y disección de la abeja. (Tomado de Shimanuki y col, 1992).

Una vez retirada la cabeza y el primer par de patas, se realiza un corte transversal de la parte anterior del tórax aproximadamente 1mm; la pieza obtenida se denomina “disco torácico” o “anillo torácico”. Mediante observación bajo lupa estereoscópica y con agujas histológicas, se remueven los músculos y eventualmente una zona quitinosa llamada collar, hasta visualizar el par de tráqueas torácicas (Shimanuki y col, 1992).

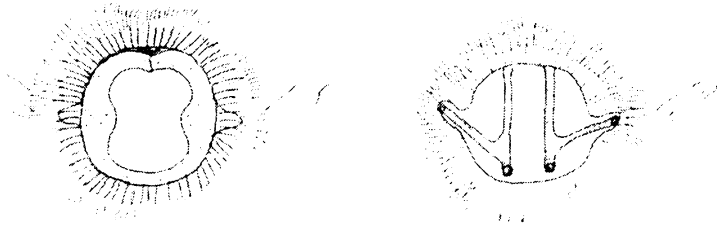


Figura 7. Corte de tórax. Izquierda: sin la cabeza y con el anillo intacto. Derecha: sin el collar y con las tráqueas expuestas. (OIE, 2009)

Posteriormente la tráquea se retira cuidadosamente y se coloca sobre un portaobjetos con una gota de ácido láctico al 85% o glicerol. Se coloca un cubreobjetos y se examina en microscopio a mayor aumento (400 x) (Shimanuki y col, 1992).

El procedimiento diagnóstico utilizado en este trabajo ocupó un tiempo promedio de 45 minutos por muestra.

4.4. Encuesta

Fue realizada sobre una muestra de conveniencia formada por 27 apicultores de las localidades de las que fueron tomadas las muestras para los diagnósticos y 3 apicultores que contaban en su apiario con antecedentes de diagnósticos en la década del 80. Los apicultores accedieron en forma voluntaria a participar de la encuesta, y sus datos fueron proporcionados por otros productores o se obtuvieron de registros de la DILAVE. (El formulario con las preguntas se encuentra en el anexo).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Resultados

Se obtuvieron 76 muestras que incluían aproximadamente 50 abejas cada una. De las mismas no se obtuvo ningún diagnóstico positivo. Todas las tráqueas observadas se encontraban normales, blancas y traslúcidas.

De acuerdo al número de muestras negativas, se puede afirmar con un nivel de confianza =95% (Distribución Hipergeométrica) que la Acarapisosis, si está presente, afecta a menos del 3,84% de los apiarios de la población estudiada, suponiendo una población de 6500 apiarios.

En relación a las encuestas los datos obtenidos luego de entrevistar a 30 apicultores fueron los siguientes:

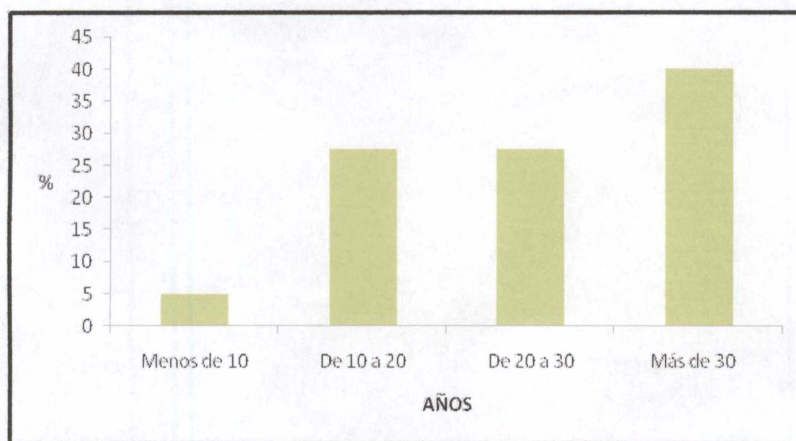


Figura 8. Experiencia en la producción apícola.

Enfermedades que reconocieron haber tenido en sus colmenas:

Todos los apicultores reconocieron haber tenido en sus colmenas Varroasis, el 78% de los encuestados manifestaron haber tenido Nosemosis, y tan sólo el 35% reconocieron haber tenido Acarapisosis.

Cómo confirmaron la presencia de la enfermedad:

Para Varroasis el diagnóstico siempre lo realizó el apicultor, para Nosemosis el 50% de los entrevistados envió muestras al laboratorio por sospechas y el otro 50% realizó el diagnóstico "clínico" por experiencia; para Acarapisosis todos los apicultores enviaron muestras al laboratorio por sospecha.

Características de la Acarapisosis:

La mayor parte de los entrevistados manifestaron no conocerlas.

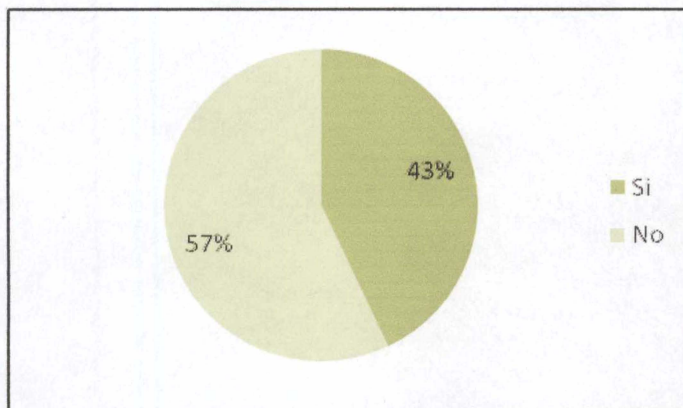


Figura 9 .Conocimiento de las características de la Acarapisosis

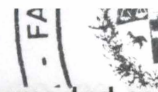
Aquellos que manifiestan conocer las características se les preguntó sobre la sintomatología, daños y medidas de control expresando lo siguiente:

- **SÍNTOMAS:** temblores, alas caídas, no volaban, subían por la piquera desde el pasto, la colmena disminuía su población y aparecían abejas muertas en la piquera.
- **DAÑOS:** se mencionaban despoblación y muerte de la colmena.
- **MEDIDAS DE CONTROL:** todos mencionaron al Salicilato de Metilo.

Tratamientos utilizados en la sanidad de las colmenas:

La mayoría de los encuestados ha utilizado con el objeto de controlar Varroasis los siguientes acaricidas: Amitraz, Cumafós, Flumetrina y ácido Oxálico. Estos productos son alternados todos los años para evitar que la varroa desarrolle resistencia a los mismos. Por otra parte, dos apicultores manifestaron realizar tratamientos orgánicos contra la Varroasis (con ácidos orgánicos débiles, aceites esenciales y la mezcla de microorganismos conocida como EM).

Opinión sobre la importancia de la Acarapisosis:



El 43% manifestó que no era importante, el 28.5% entiende que esta enfermedad es importante y el 28.5% cree que al menos debe ser considerada dentro de las enfermedades que afectan a las abejas.

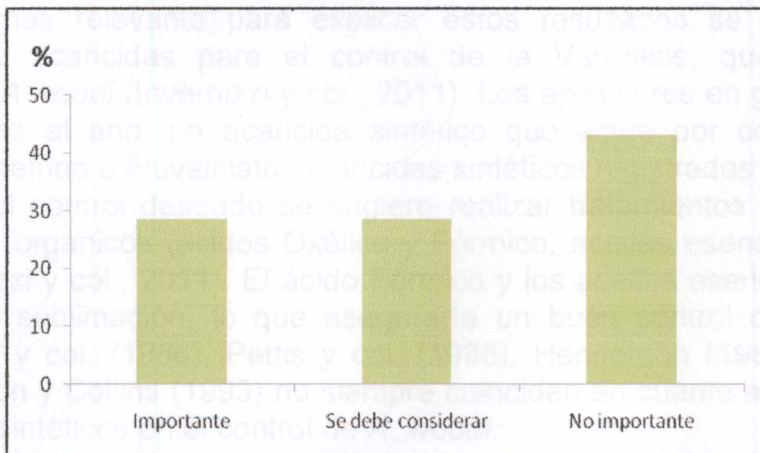


Figura 10. Opinión sobre la importancia de la Acarapisosis

Es destacable la opinión que la adjudican a la Acarapisosis como enfermedad de la colmena. Estos resultados son de gran importancia, ya que si bien no se encuentra entre las enfermedades actualmente más relevantes, el grado de información es relativamente bueno considerando que desde hace más de 10 años no se realizan diagnósticos en forma sistemática. En cuanto al conocimiento de las características de la Acarapisosis, poco menos de la mitad de los apicultores dijeron reconocerlas.

Sobre los detalles de la enfermedad, solo los apicultores más viejos que vivieron las épocas en que se registraban más casos positivos, recuerdan con mayor precisión los síntomas, daños y medidas de control. No así, los apicultores con pocos años de experiencia, que en algunos casos ni siquiera conocían la enfermedad.

5.2. Discusión

A pesar de no haber detectado ninguna muestra positiva en este estudio, no se puede afirmar que la enfermedad no se encuentra presente en el país, ni en la región estudiada.

La hipótesis más relevante para explicar estos resultados se basa en el uso prolongado de acaricidas para el control de la Varroasis, que indirectamente controlarían a *A. woodi* (Invernizzi y col., 2011). Los apicultores en general aplican al menos una vez al año, un acaricida sintético que actúa por contacto (Amitraz, Cumafós, Flumetrina o Fluvalinato, acaricidas sintéticos registrados en Uruguay).

Si no logran el control deseado se sugiere realizar tratamientos complementarios con acaricidas orgánicos (ácidos Oxálico y Fórmico, aceites esenciales de Timol y otros) (Invernizzi y col., 2011). El ácido Fórmico y los aceites esenciales actúan por evaporación y sublimación, lo que aseguraría un buen control de *A. woodi*. Sin embargo, Cox y col. (1986), Pettis y col. (1988), Henderson (1988), Moffet y col. (1988) y Wilson y Collins (1993) no siempre coinciden en cuánto a la efectividad de los acaricidas sintéticos en el control de *A. woodi*.

Es destacable la opinión de los apicultores encuestados en relación a la importancia que le adjudican a la Acarapisosis como enfermedad de la colmena. Estos resultados son de gran importancia, ya que si bien no se encuentra entre las enfermedades actualmente más relevantes, el grado de información es relativamente bueno considerando que desde hace más de 10 años no se realizan diagnósticos en forma sistemática. En cuanto al conocimiento de las características de la Acarapisosis, poco menos de la mitad de los apicultores dijeron reconocerlas.

Sobre los detalles de la enfermedad, sólo los apicultores más viejos que vivieron las épocas en que se registraban más casos positivos, recuerdan con mayor precisión los síntomas, daños y medidas de control. No así, los apicultores con pocos años de experiencia, que en algunos casos ni siquiera conocían la enfermedad.

6. CONCLUSIONES

En los apiarios muestreados en los departamentos de Colonia, Soriano, Flores y San José no se detectaron muestras positivas; sin embargo esto no permite afirmar que la enfermedad esté ausente en el país. Si bien Colonia y Soriano son departamentos con una gran cantidad de colmenas e históricamente han presentado la enfermedad, se cree que en la actualidad debido a la presencia de *V. destructor* y a las medidas de control utilizadas para ésta, indirectamente se ha controlado la presencia de *A. woodi*.

El nivel de conocimiento de los apicultores varió según los años de experiencia que tenían. Aquellos que se dedicaban a la actividad desde hace más de 10 años, manifestaron en su mayoría conocer las características de la enfermedad. No obstante, al preguntar puntualmente sobre síntomas, daños y medidas de control, sólo aquellos que tuvieron la enfermedad en sus colmenas pudieron describirlos.

En conclusión, no se detectaron muestras positivas a la enfermedad, por lo cual, con las muestras procesadas, podemos afirmar que la Acarapisosis afecta menos del 3,84% de los apiarios de la región muestreada.

El 57% de los apicultores cree que es importante o que al menos debe considerarse por tratarse de una enfermedad con antecedentes históricos.

En el presente otras enfermedades ocasionan mayores daños que la Acarapisosis, motivo por el cual no se realiza un seguimiento adecuado de la enfermedad.

No obstante la baja relevancia que se le otorga a la Acarapisosis, sería conveniente incluirla en el diagnóstico diferencial de afecciones con sintomatologías compatibles, en función de los datos históricos; así cómo también realizar un estudio epidemiológico a nivel nacional para evaluar si la enfermedad está presente en otra zona o por algún motivo se ha erradicado de nuestro país.

7. BIBLIOGRAFÍA

Bailey L (1984). Patología de las abejas. Zaragoza. Acribia. 139 p.

Bailey L (1999). The Century of *Acarapis woodi*. American Bee Journal. 139:541-542

Bruno S B (2003). Enfermedades de las abejas. Nociones prácticas. Buenos Aires. Ciencias y Abejas. 88 p.

Campá J; Harriet J; Mendoza Y (2009). Pautas sanitarias para manejar la correctamente la Varroosis. Cartilla N° 5. Montevideo, INIA, 2p.

Campano S (2004). Acaroposis, acariasis interna o acariosis traqueal de las abejas melíferas. Encuentro Apícola Regional. Contribución a la Sustentabilidad de la Apicultura de la X Región. Río Negro, Chile. 5p.

Chauvin R (1968) Traité de Biologie de l'Abeille. Vol. IV. Biologie Appliqué. Paris. Masson. 434 p.

Cox R L; Wilson W T; Maki D L; Stoner A (1986). Chemical control of the honey bee tracheal mite, *Acarapis woodi*. American Bee Journal 126: 828.

Cordero Del Campillo M; Rojo Vázquez F A; Martínez Fernández A R; Sanchez Acedo C; Hernández Rodríguez S; Navarrete López J; Díez Baños P; Quiroz Romero H; Carvalho Varela M (1999). Parasitología Veterinaria. Madrid. Mc Graw Hill- Interamericana. 968 p.

Cornejo L G; Rossi C O (1974) Enfermedades de las abejas, su profilaxis y prevención. La Plata. Ciencias y Abejas. 176 p.

Delannoy Cisterna D G (2006) Estudio de la incidencia del ácaro de las tráqueas (*Acarapis woodi* Rennie Acarina: Tarsonemidae) en abejas adultas (*Apis mellifera* L. Hymenoptera: Apidae) y asociación de los resultados a características del apicultor. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2006/fad337e/doc/fad337e.pdf>
Fecha de consulta: 15/1/11

Denmark H A; Cromroy H L; Sanford M T (2011). Honey bee tracheal Mite, *Acarapis woodi* (Rennie) (Arachnida: Acari: Tarsonemidae) Disponible en: <http://entomology.ifas.ufl.edu/creatures> . Fecha de consulta: 23/3/11

García Fernández P. (1999). Acarapidosis or tracheal acariosis. Disponible en: <http://ressources.ciheam.org/util/search/detail.php?type=auteur&mot=Garc%EDa+Fern%E1ndez+P.&langue=fr> Fecha de consulta: 30/3/11

Invernizzi C; Antúnez K; Campá J P; Harriet J; Mendoza Y; Santos E; Zunino P (2011). Situación sanitaria de las abejas melíferas en Uruguay. Veterinaria 47: 15-27

Lapage G (1971). Parasitología Veterinaria. México. Continental. 790 p.

Llorente Martínez J (1990). Principales enfermedades de las abejas. 2ª ed. Madrid. Servicio de Extensión Agraria. 135 p.

Mc Mullan J B; Brown M J F (2009). A qualitative model of mortality in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with tracheal mites (*Acarapis woodi*). Exp Appl Acarol 47: 225-234.

Muniz Suárez M (1955). Una terrible plaga de las abejas. Revista El Apicultor Americano. 1:4-7

Neumann P; Carrack N (2010). Honey bee colony losses. Journal of apicultural research. 49: 1-6.

OIE Código Sanitario para los Animales Terrestres 2009. Disponible en: http://www.oie.int/ESP/normes/mcode/es_chapitre_1.9.1.htm Fecha de consulta: 11/10/09

OIE (2011). Disponible en: http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_detail Fecha de consulta: 19/8/11

Pettis J S; Cox R L; Wilson W T (1988). Efficacy of fluvalinate against the honey bee tracheal mite, *Acarapis woodi*, under laboratory conditions. American Bee Journal 128: 806.

Root A I (2004). ABC y XYZ de la apicultura. Buenos Aires. Hemisferio Sur. 723 p.

Sammataro D; Gerson U; Needham G (2000) Parasitic mites of honey bees: Life, History, implications, and impact. Annu. Rev. Entomol. 45:519-548

Sammataro D; Avitabile A (2005). El manual del apicultor. Buenos Aires. Letemendia. 208 p.

Sammataro D (2006). An easy dissection technique for finding the tracheal mite, *Acarapis woodi* (Rennie) (Acari: Tarsonemidae), in honey bees, with video link. Internat. J. Acarol. 32(4):1-5.

Scott-Dupree C D; Otis G W (1992). The efficacy of four miticides for the control of *Acarapis woodi* (Rennie) in a fall treatment program. Apidologie 23: 97-106.

Shimanuki H; Knox D A (2000). Diagnosis of honey bee diseases. Disponible en: <http://www.ars.usda.gov/is/np/honeybeediseases/honeybeediseases.pdf> Fecha de consulta 30/3/11

Shimanuki H; Knox D A; Furgala B; Caron D M; Williams J L (1992) Diseases and pests of Honey Bees. En: Graham J M. (ed). The hive and the honey bees. Hamilton Dadant, p. 1083-1151.

Snodgrass R E (1956). Anatomy of the honey bee. Ithaca, Comstock. 334 p.

Toscano H; Harriet J; Campá J P (1991). Presencia y prevalencia de algunas enfermedades apícolas en Uruguay. Revista Apicultura Joven. 2:3-14.

van Engelsdorp D; Otis G W (2001) The role of cuticular compounds in the resistance of honey bees (*Apis mellifera*) to tracheal mites (*Acarapis woodi*) Exp App Acarol 25: 593–603.

van Engelsdorp P; Meixner M D (2010). A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. Journal of Invertebrate Pathology 103: S80-S95.

Wilson W T; Pettis J S; Henderson C E; Morse R A (1997) Tracheal mites en: Honey bee pests, predators & diseases. 3ª ed. Medina, Root. pp. 253- 277

8. ANEXOS

ANEXO 1. DIFERENTES MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE ACARAPISOSIS

1. Técnica clásica

Es la recomendada por la OIE y fue la utilizada en el presente trabajo descrita en detalle en la sección de Materiales y Métodos.

2. Examen rápido de pocas abejas

Se toma la abeja entre el pulgar y el dedo mayor, removiendo la cabeza y el primer par de patas con un movimiento hacia abajo y hacia delante. Luego con el bisturí, se corta una fina sección transversal desde la parte anterior del tórax de manera de obtener un disco. Este se coloca en un portaobjeto y se le agregan unas pocas gotas de ácido láctico. Este hace que el material se vea más transparente y ayuda a facilitar la disección. La tráquea se remueve cuidadosamente como ya fue descripto (Shimanuki, 2000).

3. Examen de gran número de abejas

Se cortan discos transversos de tórax de 50 abejas o más. Estos se colocan en hidróxido de potasio (KOH) al 5%, y se incuban a 37°C durante 24 horas. El hidróxido de potasio disuelve el músculo y la grasa dejando la tráquea expuesta. La suspensión disco-tráquea se examina en un microscopio (Shimanuki, 2000).

4. Técnica de tinción con azul de metileno

Este método requiere discos (n= 50) cortados en sección transversa. Se lleva a ebullición una solución de KOH al 8% para disolver y aclarar los tejidos, se filtra y se lava con agua, se tiñe con una solución de azul de metileno modificado, se lava con agua destilada y finalmente se enjuaga con etanol al 70%. Los discos se examinan en un microscopio observando los ácaros teñidos dentro de la tráquea (Shimanuki y col, 2003).

5. Diferenciación de ácaros vivos y muertos

Este es el método elegido para evaluar acaricidas utilizados para el control del ácaro traqueal. Abejas vivas son anestesiadas con dióxido de carbono y los abdómenes son removidos con el bisturí para evitar ser picados. La cabeza y el primer par de patas de cada abeja, son removidos poniendo la abeja sobre su dorso, realizando un movimiento hacia abajo y hacia delante. Mientras están en esta posición se ponen bajo el microscopio, y el primer anillo del tórax es removido con finas pinzas exponiendo la tráquea fijada en la pared traqueal. Las tráqueas que aparentan estar anormales son removidas con pinzas y transferidas a un porta objeto con una fina capa de glicerol. Las tráqueas son disecadas utilizando un par de agujas histológicas. Los ácaros son considerados muertos cuando están decolorados y disecados y además no se mueven. Los ácaros vivos tienen un color gris o perlado y se mueven unos pocos segundos después de haber empezado la disección (Shimanuki y col, 2003).

6. Homogenización de tórax

Se remueve la cabeza, el abdomen, las alas y las patas de 20-200 abejas y se colocan en una homogenizador con 25 ml de agua. Se homogeniza 3 veces por algunos segundos a 10000 rpm y luego se enjuaga el interior del recipiente con suficiente agua. La suspensión obtenida se filtra con una malla de 0.8 micras y se cuela con agua. El volumen obtenido deberá ser alrededor de 50 ml. Esto se centrifuga y se descarta el sobre nadante. A la solución restante se le agregan unas gotas de ácido láctico y se le permite reposar durante 10 minutos. Finalmente, se coloca el sedimento en un porta objetos y se examina en microscopio con objetivo de inmersión, necesario para poder identificar correctamente a *A. woodi*, ya que existen ácaros similares morfológicamente (Shimanuki, 2000).

7. Método de flotación

Se obtienen los tórax de 25-100 abejas y son triturados en una mezcladora. La mezcla resultante es colocada en tubos donde el material más denso queda en el sedimento mientras la tráquea y los sacos aéreos flotan. La fracción flotante (tráquea puede contener los ácaros) es examinada en el microscopio (Shimanuki y col, 2003).

8. Serodiagnóstico

Se produce un antisuero con el extracto de tráqueas infectadas con *Acarapis woodi*, para ser utilizado como el anticuerpo primario en forma directa en el enzimoimmunoensayo (ELISA) (Shimanuki, 2000).

ANEXO 2.- ENCUESTA DE INVESTIGACIÓN DE PRESENCIA DE ACARAPISOSIS EN URUGUAY

CUESTIONARIO PARA APICULTORES

- 1) AÑO DE INICIO DE LA ACTIVIDAD:
- 2) QUE ENFERMEDADES DE LAS ABEJAS ADULTAS RECONOCE HABER TENIDO EN SUS COLMENAS:
- 3) ¿COMO CONFIRMO LA PRESENCIA DE ESAS ENFERMEDADES?

ENFERMEDAD	RECONOCIMIENTO		
	LABORATORIO		PROPIO
	RUTINA	SOSPECHA	
VARROASIS			
NOSEMOSIS			
ACARAPISOSIS			

4) ¿CONOCE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA ACARAPISOSIS? SI NO

SINTOMAS: SI NO

DAÑOS: SI NO

MEDIDAS DE CONTROL: SI NO

5) RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS CONTRA VARROASIS, QUE UTILIZÓ EN LOS ÚLTIMOS DOS AÑOS?

6) CONSIDERA IMPORTANTE LA ACARAPISOSIS?

SI SE DEBE CONSIDERAR NO