

Universidad de Guadalajara
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



V 135

“Incidencia de Fungosis en los
Apiarios del Estado de Colima”

T e s i s

que presenta

Carlos Morán Rodríguez

para obtener el Título de

Médico Veterinario y Zootecnista

Guadalajara, Jal., Junio de 1976

D E D I C A T O R I A S

A Mis Padres
que me formaron
y apoyaron moral
y económicamente

A mi Esposa
Dulce Compañera
y ayuda desinte
resada.

A mis Hermanos
Trinidad Guadalupe
María Concepción
Ana
María del Refugio
José Mercedes
Roberto

CONTENIDO.

1.- INTRODUCCION

MEDIO GEOGRAFICO

2.- REVISION DE LITERATURA

ABEJALERA

EL AGENTE

DRONE BROOD

PATHOGENIA

SINTOMAS DE LA COLMENA

CONTAMINACION NATURAL

CONTAMINACION EXPERIMENTAL

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

STONE BROOD.

EVOLUCION

SINTOMAS DE EL PANAL.

CONTAMINACION NATURAL

CONTAMINACION EXPERIMENTAL

SINTOMAS

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

PODER PATOGENO DE OTRAS ESPECIES DE HONGOS

3.- MATERIALES Y METODOS

METODOS DE RECOLECCION

TINCION

4.- RESULTADOS

5.- DISCUSIONES

6.- CONCLUSIONES

7.- RESUMEN

8.- BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

Las micosis día con día adquieren más importancia para la apicultura por ser una enfermedad prácticamente desconocida para la gran mayoría de los apicultores, por características naturales en los hongos y su medio de reproducción como son las esporas, nos resulta una enfermedad difícil que se nos presenta en forma persistente año con año.

Si agregamos a esto que el apicultor en su desconocimiento propicia la difución de la enfermedad dentro de su mismo apiario al hacer cambios de bastidores de una colmena a otra, ocasionando con ésto que colmenas sanas se vean invadidas por las esporas y esperando un factor de stress para presentarse en forma maligna ó asociada a otra enfermedad.

También tiene gran importancia el que se sabe que la apicultura migratoria dentro de el mismo estado y apicultores de otros estados que traen sus colmenas en las etapas críticas de los meses de marzo, abril y mayo "tiempo de secas" con ésto ya esparcieron en todo el país.



Área las esporas, tenemos otros factores que agravan un poco mas la situación ya tan crítica, la gran cantidad de colmenas rústicas, que son en su mayoría -- transmisores de muchas enfermedades entre ellas las -- micosis.

Las pérdidas ocasionadas al apicultor son -- gastos en medicamentos, escasa producción de miel, -- colmenas pobres, poca producción de nuevos núcleos -- y pérdidas totales de colonias completas tanto por -- enemigos naturales de las abejas como por la enfeme -- dad misma.

M E D I O G E O G R A F I C O .

El estado de Colima tiene la forma de un -- triángulo isóseles, teniendo como base el océano Pa -- cífico y como verticales el Volcán de Fuego Colima y los ríos Marabasco hacia el estado de Jalisco y el -- Coahuayana hacia el Estado de Michoacán.(11)

Limitando al Norte, al Este y Oeste con el -- Estado de Jalisco; al Este y Sureste con el Estado -- de Michoacán y al Sur con el Océano Pacífico (11).

La Capital del Estado está a 508 Mts. sobre el nivel del mar.(11)

Se encuentra ubicado en la región Suroeste de la República Mexicana entre los 18º 41' 10" y los 19º 27' 20" de latitud Norte y entre los 103º 30' 20" y los 104º 37' 10" de latitud oeste del Meridiano de Greenwich.(11)

La Superficie del Estado es de 5,205 Km2. ocupa el vigésimo octavo lugar en extensión territorial, sumándose a la anterior cantidad 221 Km2. que corresponden al archipiélago de Revillagigedo.(11)

HIDROGRAFIA.- Los principales ríos son:
El Coahuayana, El Armería, el Chacala ó Marabasco, El San Palmar, el San Jerónimo, el del Frijol, el de Colima, el Salado, el de la Estancia, las Grullas.(11)

Lagunas.- La de Cuyutlán, El Calabazo, La Joya, Las Cuatas, Alcuahue, Amela, San Pedrito, Ojo de Mar, El Obispo, Palo Alto, Pastores, Carrizalillo.(11)

OROGRAFIA.- Le recorre una importante derivación de la Sierra Madre Occidental, que entra en el Estado por un lugar llamado Barrancas, situado al Sureste, en el límite de los Estados de Jalisco, Michoacán y Colima, la cual se extiende hacia el Sur y Norte rodeando una gran extensión que se conoce como el Valle de Tecomán.(11)

Climas.

- Frío
- Templado
- Cálido
- Cálido ardiente (17)

Temperatura medio anual	24.90 C
Humedad media anual	70%
Evaporación media anual	6.25 m.
Vientos dominantes.	Mañana nor noreste Tarde Sur Sureste
Velocidad media del viento	0.9 mts/seg.
Precipitación pluvial media anual.	800-1400 mm
Precipitación pluvial máxima en 24 hrs.	250 mm
Promedio horas luz día	14 hrs.(17)

A S C O S P H E R A

HISTORIA.- El Agente es el hongo conocido antes con el nombre de *perocystis apis* y que se clasificó en 1955- dentro de la familia de *Ascospheraceas* por L.S.Olive y C.F. Spiltoir y que ahora ha sido llamado *ascosphaera apis* por Massen Ex Clauszen, Olive y Spiltoir.(19) (16)(21)

Hace morir exclusivamente la cría de las abejas.

La enfermedad fue observada por primera vez por -- Priess en 1911. El trabajo fue realizado también por -- Clauszen quien se tomó como meta identificar y estudiar- el hongo y su desarrollo.(21)

Desde el punto de vista sistémico Clauszen clasificó este hongo dentro de la categoría de *Entomophthoreas* - y por éste es también llamado *Pericystis Alvet*.(21)

Mas tarde Massen, Varitschak y Maurizio entre otros se ocuparon de su estudio científico...(21) (19) (14)

E L A G E N T E

La *ascosphaera apis* es heterotalico,, queriendo decir ésto que da un micelio masculino y otro femenino.(21)

Cuando dos micelios de sexos opuestos se encuentran, éstos se adhieren fuertemente el uno al otro y en su punto de contacto producen hifas laterales en las que se forman finalmente los elementos sexuales.

En el lado femenino de éstos están los Oogonies hinchados en forma de esfera y en el lado masculino los antheridies mas pequeños, cilíndricos y enrollados que vierten su contenido dentro de los Oogonies.-

(21)

Tan pronto como que el Oogonie también llamado-
cuiste ó cuerpo fructífero termina su desarrollo su cubierta se vuelve de un color café verdoso y grueso(21.)

Su contenido aparece como masas protoplasmáticas esféricas, rodeadas por membranas, los asques que encierran las esporas son distintos unos a otros. Dentro de cada oogonie y dentro de cada asque se encuentran 50% de esporas masculinas y 50% de esporas femeninas. Las esporas son de cubierta delgada, fuertemen

te refringentes, casi incoloras, apenas un poco cafosas dentro de la masa. Su forma es ligeramente alargada, su tamaño aproximadamente de 3.2 por 1.8-micras.(21)

Antes de la germinación, la espora se transforma en una esfera de 5.8 micras que después de 24 horas da un pequeño micelio de crecimiento rápido, raramente da lugar a dos (21)

MAURIZIO demostró que fuera de la forma de -- "pequeñas fructificaciones" descritas por Clauszenhay una forma de grandes fructificaciones, las dos no se distinguen el uno del otro, solamente por su forma ya reconocible por el ojo humano pero también porque tiene un desarrollo igualmente diferente des de muchos puntos de vista. En las dos formas, los cuerpos fructíferos maduros se encuentran hinchados por los asques, los cuales son de un color gris ver doso y muy redondos.(14)

Dentro de la forma de pequeñas fructificacioio

nes que en los otros (los grandes) que son ovales ó piriformes de color negro obscuro. La capacidad de producir estos cuerpos fructíferos parecen ser constante en las dos formas. Las dos pueden igualmente de forma primaria ó secundaria siendo la forma de pequeñas fructificaciones las que comunmente son las primarias.(14)

Las medidas comparativas del tamaño de los cuerpos fructíferos dentro de las dos formas son - las siguientes: para los pequeños; 49.6 micras a - 82.1 micras (promedio 65.9) y para los grandes 88.4 a 168.5 micras (promedio 128). Los experimentos -- cruzados entre las dos formas han fracasado. En - las dos formas las características de las dimensio- nes son totalmente diferentes para ambas. Los elementos cosechados de las momias de las larvas dan resultados un poco superiores a los de los culti- vos.(14)



Dentro de todas las fases de desarrollo, el factor temperatura juega un papel esencial. La temperatura óptima para la formación de los cuerpos fructíferos es diferente para los dos tipos, las células grandes de fructificación prefieren las temperaturas bajas (11 a 25 grados centígrados) con un óptimo de 20° C. mientras que el otro prefiere temperaturas muy elevadas entre los 15° y 37° C con un óptimo de 30° C. (14)

La temperatura causa influencia también en el tamaño de los cuerpos fructíferos, las pequeñas se forman mejor a la temperatura que reina en la colmena, mientras que las grandes se desarrollan más fácilmente a la temperatura ordinaria del local. Estas diferencias explican el hecho que dentro de los panales mandados al Laboratorio para la Investigación y diagnóstico, se han encontrado raramente en estas formas de grandes fructificaciones y por los que se ignoraba su existencia. Solo después de-

haber conservado el panal un cierto tiempo a la temperatura de el Laboratorio se descubrieron los cuerpos fructíferos grandes también llamados secundarios.
(14)

Las dos formas manifiestan igualmente cierta diferencia en su capacidad de fermentación.

C H A L K B R O O D

El organismo causal de la enfermedad se ha determinado en los EE.UU. solo desde 1968 (Hitchcock y Christensen, 1972) y en Canadá desde 1971(Gochnaver, hughes y corner, 1972) aunque es muy posible que la enfermedad no haya sido reportada durante algunos -- años antes de el diagnóstico laboratorial positivo.-
(1) (4) (6) (10) (12) (20)

El agente causal es el hongo ascosphaera apis (massen ex claussen) Olive E spiltoir.(19) (21)

Las enfermedades de tipo micoticas generalmente prevalecen en condiciones frescas y húmedas. Por-

esta razón, el chalk brood se encuentra mas comunmente en la primavera y en el verano en sus primeras semanas. En algunas colonias el chalk brood puede encontrarse durante todo el verano. (4) (12)

Las colonias raramente mueren de la enfermedad, pero en algunos casos la cantidad de miel producida puede reducirse. (1) (12)

La suceptibilidad al chalk brood está en su -- máximo cuando las larvas tienen más ó menos 4 días (bailey 1967) los restos de las larvas enfermas pueden encontrarse en celdillas operculadas ó sin opercular. Las larvas mas afectadas se encuentran en la etapa extendida, aunque algunas también en la etapa enrollada. (12)

El color de las larvas afectadas varía debido a la presencia de los cuerpos fructíferos de el hongo. -- Larvas blancas, momificadas son muy características en esta enfermedad, por lo tanto el nombre resultó en -- chalk brood. (12)

El color blanco es debido a los micelios de el hongo, si los cuerpos fructíferos se encuentran presentes, las larvas momificadas podrán aparecer moteadas -- con manchas grises ó negras .(4)

En algunos casos la larva entera puede ser negra. Las momias se retiran fácilmente de las celdillas y tienen una consistencia como de esponja.(1)

La enfermedad de chalk brood se encuentra mas comunmente en los bordes exteriores de el panal de crianza.(1) (4) (6) (10) (12) (20)

Por esta razón se creyó que los zánganos eran -- mas suceptibles a la enfermedad.(1) (4) (6) (10) (12) (20)

Ahora se cree que cuando se unen las colonias de bido al frío, la población de abejas adultas no es suficiente numerosa para mantener la temperatura de -- crianza ideal en los bordes exteriores de la cría.(20)

Consecuentemente la enfermedad aparecerá mas co-

munmente en la cría que no está protegida, en esta por lo general se incluyen los zánganos. (20) (12)

Cuando la enfermedad afecta grandes números de -- larvas, restos momificados pueden encontrarse a la entrada de la colonia. (12)

El chalk brood es trasmitido por vía de comida -- contaminada. (12) (20)

Ya infectada la colonia, las esporas de el hongo pueden permanecer viables en el panal sin causar enfermedad alguna. Cuando las condiciones para que las esporas germinen son favorables, la enfermedad puede reaparecer. (12)

El hongo también puede sobrevivir en la tierra y de alguna manera pasar a la comida y la miel de las abejas. (20)

El chalk brood raras veces es lo suficientemente serio para requerir tratamiento, no se ha registrado en los EE. UU. ningún agente químico terapéutico contra la --

enfermedad.(20)

En casos severos, el panal afectado puede retirarse.(20)

Sin embargo, en la mayoría de los casos, las larvas enfermas son quitadas por las abejas limpiadoras y la colonia aparentemente se recupera espontáneamente.--
(12)

Como el clima frío y húmedo favorece el desarrollo de la enfermedad, las colmenas deben colocarse de manera que se evite la acumulación de humedad en las tablas inferiores. A veces al hacer mas grande la entrada de la colonia, éstas pueden ayudar a la ventilación de la misma y también ayuda a secar la colonia, sobre todo después de la presencia de lluvia.(12)

P A T O G E N I A

Esta enfermedad existe espontáneamente de manera esporádica, a menudo asociada a lo que en sus dos formas de presentación, de cría hinchada en forma de saco. Los conocimientos que encontramos dentro de este tema -

dentro de la Literatura, no nos permiten saber cual es la extensión de la enfermedad, dentro de cuales condiciones se encuentran las colonias afectadas.(12) (20)

En lo que concierne a la estación, la enfermedad aparece de marzo a octubre, con un máximo de mayo ó al comienzo de el Verano.(12) (20)

La cría de aspecto enyesado puede como se explicó en las condiciones de desarrollo de las dos formas de fructificación, desaparecer aparentemente ó persistir en la colmena durante años (3)

Como el hongo inverna dentro del intestino medio de las abejas, tanto como en la miel, uno debe de contar con manifestaciones nuevas de la enfermedad al año siguiente.(3)

Su evolución es generalmente benigna, dentro de raros casos solamente, lleg₂ a debilitar las colonias- ó a causar daños serios, por lo contrario es raramente incidiosa y tenás. (3) (12) (20)

La cría de aspecto enyesado es una enfermedad --
transmisible, pero desde un punto de vista de contagio
no se puede comparar con otras enfermedades transmisi-
bles, tales como la loque, la ascariosis.(12) (20)

La consistencia semidura ó dura de las larvas --
muertas hace para las abejas de la limpieza mas fácil-
el trabajo de retirar las larvas que están muertas que
aquellas que murieron por loque, en la que los agentes
patógenos son infinitamente mas numerosos que aquellos
que se encuentran en una momia invadida por hongos. --
(12) (20)

Al momento que uno se encuentra examinando la--
cría momificada, el número de larvas atacadas por la -
enfermedad no permite el aprecio exacto de la misma en
la colonia.(12) (20)

Maurizio ha establecido que además de las larvas
que se encuentran alteradas, existen aún otras que ya
han sido atacadas por el hongo y que exteriormente apa-
recen normales.(14)

Estos casos de enfermedad llamados secundarios-

se hacen evidentes cuando uno conserva durante varios -- días, fuera de la colmena, a la temperatura de el Laboratorio, el panal mandado a examinar durante este tiempo - la cría de aspecto normal y sin operculo se ha momificado, uno puede también obtener cultivos de hongos al poner grandes larvas aparentemente sanas ó larvas jóvenes-vivas en agar lavadura de cerveza. Estos hechos pruebanque Ascosphaera Apis se encuentra en colonias que no manifiestan ningún signo de enfermedad y que son aparentemente mas extensivas de lo que uno pudiera suponer, por las manifestaciones primarias existentes. (14)

Aún así el panal limpiado por las abejas aparece normal y da la impresión de estar sana, uno debe de contar siempre con el hecho de que ésta que no ha sido tocada por las abejas limpiadoras podría haber gérmenes patógenos que "duermen" lo que quiere decir que las formas - de grandes fructificaciones, las cuales no son aparentes como enfermedades secundarias, excepto después de que la cría se encuentra por algún tiempo fuera de la colmena.-

Maurizio ha podido demostrar por medio de cultivos (agar levadura de cerveza) que se puede obtener de la miel ó de rasgados realizados en el contenido intestinal (especialmente en el intestino medio) de las abejas de las colonias contaminadas. La presencia de ascosphaera apis es constante aún cuando el panal ha dejado de aparecer como "panal enfermo", hace meses el hongo inverna de esta manera y la miel puede considerarse como una fuente directa de infestación y ésta no altera la capacidad de desarrollo del hongo.-
(14)

Borchert pudo demostrar que las esporas existentes en las larvas momificadas eran aún capaces de desarrollo después de 15 años de conservación, estas esporas resisten la acción del anhídrido sulfuroso ó la solución acuosa del formol.(15)

Las observaciones tomadas de esta práctica aparentemente prueban que la enfermedad es favorecida -- por la humedad en general, por ejemplo cuando el terreno está embebido de agua ó cuando se alimentan con

miel diluida. (15)

Las larvas momificadas, donde el volumen se disminuye entre tiempos a razón de la evaporación rápida de su agua de hidratación, para quedar finalmente duras como piedra. Como el hongo tiene dos sexos la enfermedad toma dos formas diferentes. Si la larva está invadida por micelios de un solo sexo, los cuerpos fructíferos no se pueden formar y la cría atacada se vuelve blanca ó blanco amarillento (15)

En el caso de invasión simultánea por micelio masculino y femenino, se formarán en la superficie y en el interior cuerpos fructíferos, quedando el insecto atacado en toda su superficie ó en algunos lugares un color verde sucio, sobre todo en las larvas mas viejas. (15)

La enfermedad ataca sobre todo a la cría masculina, probablemente por la razón de que el grado higrométrico y la temperatura son mas favorables para su desarrollo, en la parte exterior de el panel que en el interior que es donde se encuentran las crías femeninas, es raro que larvas de obreras ó de reinas se extingan solas. (15)

SINTOMAS DE LA COLMENA.

Las larvas jóvenes infestadas se encuentran en forma irregular en la colmena y aparecen aún sanas. Las larvas viejas se momifican dentro de las celdillas abiertas por las abejas ó aún cerradas con sus operculos, siendo éste generalmente normal. (21)

A veces, sin embargo se encuentran puenteadas ó ligeramente hundidas. Las que se encuentran momificadas han hecho por lo regular su capullo antes de morir y por el hecho de que éste no se adhiere al opérculo ni a la pared interior de la celdilla, uno puede sacarlos fácilmente con unas pequeñas pinzas. En las celdillas que no tienen opérculo abierto, las momias hacen al sacudir el panal un ruido como maracas (como un clinquino) y se caen de la colmena al quitar el opérculo. (21)

En el caso de las larvas que no tienen opérculo ó que lo tienen en forma incompleta, las hifas del micelio que llenan las celdillas, enseguida se extienden en forma importante, rayando la superficie de la-

estructura de el panal, formando capas para luego unirse y sobre las cuales los cuerpos fructíferos pueden hacerse en forma ordenada apareciendo como pequeñas playas. (21)

No produce aparentemente rotura del opérculo -- hasta ahora intacto ó de las paredes internas por las presiones de las hifas del micelio. (21)

Cuando en algún caso excepcional los huevecillos o larvas jóvenes son atacados por el hongo, una parte solamente de la celdilla se llena de micelios. Algunas veces las abejas encierran totalmente a las larvas infectadas con cera, para evitar que la enfermedad se extienda. (21)

CONTAMINACION NATURAL.

La contaminación natural se hace por medio de esporas. Existen dos vías de penetración a través de la superficie del cuerpo ó bien por la vía digestiva. Dentro de el segundo caso el micelio resulta de germinación de las esporas, atraviesan la pared intestinal y se ex-

tienden igualmente dentro de el cuerpo donde finalmente ataca la superficie. (21)

La muerte de la larva se produce según Angeloznicoud poco tiempo antes ó después de la operculación. (5)

Por Maurizio ésto hubiera sucedido solamente después de este hecho la transmisión natural del agente patógeno se hace a través de errores de orientación de las abejas, tanto como de el apicultor, -- cuando éste cambia de una colmena a otra los pisos donde deja los residuos de el panal. (14)

CONTAMINACION EXPERIMENTAL.

Al poner en colonias sanas la cría enferma -- alimentando al tener cultivos puros de hongos ó con larvas momificadas, uno puede provocar la enfermedad en el panal de las obreras. (21)

Las larvas enfermas y viejas son sin embargo precosmente retiradas en gran parte de las celdi- -

llas por abejas limpiadoras. Es notable que después de una contaminación efectuada en otoño, la colmena se ha enfermado en la primavera siguiente. En caso de experiencias de este tipo las celdillas deberán de observarse bien, especialmente los días siguientes a la operculación (21)

Maurizio ha demostrado por estudios histológicos la vía seguida por la infestación micótica.--
(14)

Esta es por medio de el alimento. En el cuerpo entero de las larvas.(14)

Maurizio pudo establecer que la colmena que no mostrara ninguna alteración de color ó comportamiento, pudo estar ya invadida por el parásito.(14)

En la fase inicial el hongo se limita primeramente a la luz de el intestino y luego se extiende en rayas alrededor de este órgano y en el cuerpo -- adiposo. (21)

Invade los onocitos los tubos de malpigio y termina por atravesar la cutícula y sale al exterior de la larva, su crecimiento no se hace en la parte anterior de la larva pero en su parte media (la luz intestinal) hacia su parte posterior . (21)

Aquí los elementos de el hongo aparentemente se acumulan en la parte baja de el intestino y es ahí que nuevamente invade el tejido y luego la superficie de el cuerpo.(21)

Así como en las larvas exteriormente sanas puestas en agar levadura de cerveza, uno puede observar los micelios que salen habitualmente primero de la parte posterior mientras que la cabeza se excluye, este proceso está en favor de una contaminación por medio de la alimentación.(21)

Maurizio distingue cuatro periodos en el tiempo que pasa entre la operculación de las celdas y el nacimiento de las últimas retardadas, la primera comprende los primeros 6 días que siguen a la operculación.(14)

La enfermedad se manifiesta sola y las abejas rompen precozmente el opérculo de la cría enferma, - estos 6 días corresponden a la larva el periodo de gran desenvolvimiento; las proninfas y los primeros dos días de la etapa ninfal durante el segundo periodo; para la cría hinchada del séptimo día al noveno hay muy pocas celdas operculadas que no son notadas por las abejas y de las que ellas eliminan su contenido. (6)

Durante el tercer periodo (doce días y para la cría hinchada el día catorce) la temperatura de la cría no invadida baja hasta 12° C y durante la cuarta (respectivamente los días 13 y 16) la apertura de más ó menos de las retardadas. (6)

Las celdas son limpiadas por las abejas. (6)

Estudios han comprobado que los huevecillos con aspecto enyesado es siempre la cría operculada - la que muere. (6)

Maurizio nunca ha encontrado larvas enfermas entre las jóvenes antes de la operculación, sin em--

bargo tampoco ha encontrado momias típicas de ninfas. (14)

Algunas ninfas muertas que no estaban invadidas exteriormente por el hongo pero que después provocaron presión en el agua levadura de cerveza se eliminaron regularmente. (14)

Las manifestaciones de la enfermedad se limitan por lo tanto al tiempo de los primeros días siguientes a la operculación de las celdas y de la muerte de la cría que aparentemente toma lugar en la forma general entre el momento de la elaboración del capullo y la última muda de las larvas. (14)

Solo en casos excepcionales se retrasa hasta la etapa ninfal. (14)

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO.

Este se hace por estudio microscópico de los cuerpos fructíferos que se encuentran en las larvas momificadas. (6)

En el caso de los microscópicos por los cuales, así como también se pueden reconocer los cuerpos que las envuelven y es aún más fácil si la enfermedad es reciente. (6)

En las mallas constituidas desde hace mucho tiempo las cubiertas de los huecos se han roto y ya no las encierran los agujeros ó las encierran un poco y éstos pueden igualmente ser desgarrados. (6)

En los casos dudosos uno debe comprobar la existencia del hongo mediante cultivos. (6)

STONE BROOD

Esta enfermedad causada por hongo es considerada de menor importancia, se encuentra raramente y se debe de diferenciar de otras enfermedades mas serias, varios hongos pertenecientes al género aspergillus -- pueden causar síntomas de stone brood aunque el organismo causal primario es aspergillus flavus. (20)

Como en el Chalk brood, la enfermedad causa la momificación de la cría. (20) (12) (15)

Las larvas y las pupas infectadas con *A. -- Flavus* se vuelven de un color verdoso en contraste con el blanco ó negro del chalk brood. (20)(12)(15)

El crecimiento verdoso es polvoso y puede verse claramente a simple vista.

Las esporas de los hongos se encuentran mas abundantemente cerca de la cabeza de la larva y -- las pupas afectadas.

Las larvas en el stone brood son momias sólidas y no como en el caso del chalk brood. (20) -- (12) (15)

El agente *A. Flavus* crece a temperaturas comprendidas entre 27º a 40º C (óptimo de 33º a 37º C) y el valor del Ph entre 2.8 y 7.4 (óptimo de 3.1 a 4.4) necesita mucho oxígeno pero poca luz. (15)

Provoca la fermentación de hidratos de carbono - notablemente aquellos de poli, di y monosacaridos. (15)

Licúa la gelatina y coagula la leche. (15)

Parece que la humedad acumulada en la colmena favorece el crecimiento del hongo y la extensión de la enfermedad. (15)

La resistencia de las esporas y las hifas al calor es débil porque a 60° C en adelante el hongo solo vive 30 minutos. (15)

Las esporas mueren por la sublimación de ácido-fénico al 1% y formol al 5%. (15)

Las conidiosporas del asp. flavus son incoloras y miden de 400 a 1000 por 5 a 15 micras aumentando en su parte superior; a veces son aparentemente granuladas y rugosas y se encuentran formadas por un hinchamiento (columnal) que se encuentra sobre su superficie ó solo en sus extremidades. (15)

Los Sterigmates son en forma rayada, como colonias pequeñas de 10 a 15 micras de longitud y 3 a 5-micras de grueso, las esporas que salen de los Spermigmates son irregularmente esféricas ó periformes; su superficie casi lisa, rugosa ó bien cubierta de espinas. (15)

E V O L U C I O N .

El aspergillus se distingue de otras enfermedades contagiosas desde el punto de vista de su posibilidad de diseminación por el hecho de que su agente patogénico, las esporas, no están protegidas están completamente libres y no se incluyen en el cuerpo de el animal como en el caso de la loque ó en el caso de el huevecillo con aspecto enyesado. (20) (15)

En los Asques éstos están recubiertos por una como cáscara de los cuerpos de fructificación.

La corriente misma del aire puede tumbarlos de las conidiosporas y transportarlas a todas partes de la colmena, en particular a las celdillas cubiertas de miel y polen. (15)

Esta gran diseminación de esporas en la colmena hace que las abejas, entren en contacto directo -- con ellos adheriéndose a la piel, la cabeza, los vellos, las piezas bucales, etc. (15)

Ellos las transmiten a las larvas y las dispersan por toda la colmena.(15)

SINTOMAS EN EL PANAL.

En las celdillas no operculadas, la cubierta hecha de micelios es mas ó menos visible.(15)

El hongo puede extenderse tan vigorosamente en los huevecillos y llenarse con fructificaciones verdosas, el espacio entre la larva y la celdilla de manera tan abundante que uno puede tener la impresión de que se trata de polen amarillo verdoso seguido, los micelios pasan mas allá de la apertura de la celdilla. (15)

Cuando las celdillas cerradas por un opérculo, éste se encuentra generalmente undido.(15)

A menudo, el parásito de la larva se disemina por el panal en grupos formando pequeñas playas. -
(15)

De la misma manera, la transmisión de las esporas a los sujetos sanos en el curso de la eliminación de las larvas muertas y la limpieza de las celdillas, debiera tenerse por este hecho una importancia mas grande que las otras circunstancias.
(15)

Dreher describe un caso de huevecillos petrificados que aparecieron espontáneamente y en que alcanzaron a 5 colmenas de abejas, progresando en dos etapas sucesivas, de principio solo una parte de huevecillos fueron atacados y murieron en estado de larva no desdoblado; luego, después en 2 ó 3 semanas, los síntomas se hicieron senciblemente mas graves. (22)

Las abejas adultas murieron igualmente en grandes números acabándose por morir la colonia. -
(22)

No fue posible producir una curación espontánea por el hecho de que las abejas no pudieron eliminar las momias fijas en las celdillas. (22)

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Se hace por examen microscópico de las partes de el cuerpo de la larva que está cubierta de esporas. (15)

Al hacer ésta se deberá de trabajar con suma cuidado para evitar que la persona se contamine (en vías respiratorias) se deberá de trabajar en donde no haya corriente y bajo campana de vidrio. (15)

En los casos dudosos, se recomienda hacer cultivos en los que uno reconoce mas fácilmente las conidiosporas en la forma de isopo con sus esporas dispuestas en pequeñas cadenas. (15)

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.

La invasión de los huevecillos por Penicillium:

las larvas momificadas son verdes negruscas y la disposición de las sterigmates y de las esporas es aequal de isopo (15)

Además las larvas muertas, cubiertas de esporas no se adhieren en general a la pared de las celdillas. (15)

CONTAMINACION NATURAL.

Como para los huevecillos se hace generalmente por vía digestiva. (15)

En seguida después de la germinación de las esporas, el micelio atraviesa la pared de el intestino - é invade los tejidos del abdomen y de el tórax.(15)

Atacan las fibras musculares que se descomponen volviéndose blandas y blanquesinas.(15)

Bajo el efecto de las toxinas producidas por el hongo, la muerte no es mas que la consecuencia de un encubrimiento de el intestino por la masa de micelios que no deja de aumentar (Vincens) pero resulta sobre todo por un envenenamiento de las toxinas.(15)

CONTAMINACION EXPERIMENTAL.

Vincenz ha dado dentro de jarabe, esporas de *Aspergillus flavus*, a las abejas mayores de 3 a 4 semanas que morían todas después de 24 horas. (15)

Massen tubo éxito solamente dando a la colonia del experimento, panales sobre los cuales el hongo se había desarrollado en una estufa para huevecillos hasta la formación de sus esporas. (21)

Brunside puso a las abejas en contacto directo con los cultivos de el hongo y les dio esporas en su alimentación. (10)

Según Taumanoff las esporas así administradas no germinan singularmente; la muerte de el insecto es provocada por las toxinas en un lapso variante de 24 horas y 6 días, es decir antes de que se produzca en el tubo digestivo un crecimiento importante de micelios y una formación de esporas. (3)

Los síntomas manifestados por las abejas atacadas - por la enfermedad natural ó envenenadas por las toxinas - del hongo son las mismas. (3)

Las investigaciones de Toumanoff justifican el punto de vista siguiente, según el cual como para otras especies de hongos patógenos para los insectos hay entre - el *aspergillus flavus* variaciones en el poder patógeno - (según las cepas) verdaderamente en razón de las diferen - cias en la producción de las toxinas, variaciones que -- tienen también por consecuencia los resultados inegables que se obtienen por las contaminaciones experimentales.- (3)

Es sin duda de esta manera que se pueden explicar - las experiencias poco concluyentes de Dreher en las cua - les él estaba indeciso de utilizar esporas, pareciendo - tener una vida latente ó bien de otra donde la virulen - - cia estaba acrecentada por el cultivo sobre el medio - - agar. (3)

Las esporas colocadas en la superficie del cuerpo - no provocaron la enfermedad pero una invasión por la vía sanguínea la provoca bien. (3)

S I M T O M A S

Son idénticos en la contaminación natural como en la artificial. (15)

Los primeros que se notan son de orden general las abejas están agitadas, se cambian de su lugar habitual, su vuelo se debilita rápidamente, se entorpecen y pronto les llega a ser imposible el volar, tratan de volar de una uriana de hierba a otra y caen a tierra con movimientos de patas, piezas bucales y segmentos abdominales. (15)

Finalmente mueren en algunas horas, exteriormente no se note nada sobre las abejas muertas, sino solamente una ligera inflamación de el abdomen que se hace duro rápidamente, así como el tórax. (15)

El micelio que ha invadido los diferentes órganos a partir del intestino y finalmente todo el cuer

po, atraviesa las partes pequeñas de los segmentos, las articulaciones, sale por las aberturas naturales -- y en una atmosfera húmeda forma en esos lugares una especie de pasto con esporas. (15)

Los esfuerzos que las abejas hacen para eliminarlos generalmente, en lugar de disminuir la enfermedad, contribuyen más que todo a la diseminación de las esporas del hongo a las abejas y los huevecillos. (15)

Brunside ha aislado y cultivado a partir de un gran número de abejas examinadas, muchas especies de aspergillus que se han revelado patógenas para las abejas y los huevecillos. (10)

El clasifica más de la mitad de entre ellas en el grupo de aspergillus flavus orizae, cuyas esporas son de color amarillo verde. (18)

El representante más frecuente y que posee el poder patógeno más elevado es el aspergillus flavus cuyas esporas son más notorias por su tamaño así como --

por el espesor de su cubierta. (10)

El *aspergillus orizae* tiene esporas cuya cubierta no tiene más que un espesor menor, más pequeño y no es patógeno más que de manera excepcional. (15)

De los representantes de el grupo de *aspergillus fumigatus* ha presentado un poder patógeno más debil que los del *aspergillus flavus*. (15)

El de *aspergillus nidulans* es aún más debil, al igual que para el *aspergillus glaucus* aislado igualmente de abejas y larvas momificadas. (15)

En lo concerniente a *aspergillus ochraceus*, --- Brunside habla de enfermedades graves que podrían ser determinadas para esta especie con mortalidad de 60 a 75% de las abejas. (10)

Tentativas de infección experimental no han dado resultados positivos, más que empleando cultivos -- añejados de algunos años de juvenes esporas que habian germinado bien en el cuerpo de la abeja, pero el hongo moria rápidamente. (15)

El aspergillus Niger merece una mención especial
Brunside ha clasificado y cultivado cepas provenientes
de abejas enfermas de manera espontanea, pero no ha pu-
dido provocar una micosis más que con algunos de ellos.
(10)

Margenthaller describe una enfermedad de los hue-
vecillos provocado por un hongo perteneciente al grupo
del aspergillus niger. (22)

La colonia en cuestión estaba debilitándose de mas
en mas en el curso de el verano, en el conjunto nido --
huevecillos y no habia huevecillos sanos, con excepción
de todas las larvas jovenes. (22)

La mayor parte de las celdillas aparecían cubier-
tas por un fino polvo café negrusco parecido a el tabaco
que se encontraba igualmente bajo los operculos de --
las celdas y que se estaba desarrollando sobre las lar-
vas de las abejas atacadas por el hongo. (22)

La mayor parte en el estado de larva desarrolla-
da (22).

Su costado que tocaba la pared de la celdilla estaba blanco y momificado por el micelio. (22)

Los cuerpos de las larvas se habían hundido conservando los flancos un poco elevado, lo que les daba la apariencia, de pequeños barcos cargados de un otivo negro, fragil, reemplazado el resto de la celdilla. (22)

El fondo estaba recubierto de una gran cantidad de restos constituidos sobre todo por cadáveres de larvas invadidas por las micosis y fragmentos de cera. (22)

Parecía que las abejas habían tratado en vano de desembarazarse de la colmena enferma. (22)

Una tentativa de contaminación de las larvas de una colonia sana, fracasó sin embargo (22)

PODER PATOGENO DE OTRAS ESPECIES DE HONGOS

Existen observaciones sobre la acción patológica de numerosos hongos que viven dentro de la colmena. (3)

Bruncide ha hecho tentativas de infestación experimental con muchas especies de penicillium provenientes de cadáveres de abejas momificadas penicillium corylophilum de dierles, Cyclopium de Westling, P. expansum de Linksithom, P. Comune de Thom y P. brevicaula de Sacardo S. Thom . (10) (23)

Los cultivos de hongos, colocados dentro de las colonias experimentales, no provocaron la muerte, de las abejas ni de los huevecillos, pero las esporas germinaron dentro de el intestino después de la muerte natural de los sujetos, donde los cadáveres ahora se muestran como aquellas momias formadas por el aspergillus. (23)

Una especie vecina provoca sin embargo la muerte de las abejas cuando se les inocula directamente las esporas que favorecen una enfermedad en los tegumentos. (23)

Las tentativas de infestación experimental sobre las abejas o los huevecillos por Fielitz con 2 cepas de P. Glaucum provinientes de sujetos momifi-

cados, condujeron igualmente en fracasos.

Turesson cultivó 2 especies de penicillium aislados de los intestinos de abejas muertas ó recogidas de los panales (*P. sp pstoloniferum* y *P. conditaneum*) y comprueba en las abejas un experimento donde el abdomen se infla, hay una agitación y manifestaciones de parálisis que él atribuye a la acción tóxica de sustancias de naturaleza fenólica. (23)

Las especies *Mucor* que se encuentran bastante esparcidas en las colmenas, parece no tener poder patógeno apreciable. (23)

Las contaminaciones realizadas por Brunside con cepas provenientes de abejas momificadas dieron siempre resultados negativos, sin duda por la razón de que la temperatura de la colmena no es generalmente favorable para el desarrollo de este hongo. (23)

Esto está comprobado por las experiencias hechas con *Mucor hiemalis* que está grandemente esparcido y -- que provoca a temperaturas vecinas a 20°C enfermedad y muerte a abejas jóvenes, pero deja a las viejas. (23)

El polen contaminado con *aspergillus niger* y *Mucor mucedo* dado como nutrimento a las abejas -- por A. Derevici, A. Popesco y N. Popesco provocó -- después de 5 días manifestaciones de disentería y -- la muerte. (22)

Los hongos pueden cultivarse de nuevo con -- el contenido intestinal. (22)

El propolis inhibe el desarrollo del hongo invitro pero no in vivo. (22)

Serbinoff encuentra dentro del "huevecillo-podrido" (loque) la especie de Actinomiceto apis, que se considera como un agente mortal sobre todo-- en los huevecillos operculados que parecen sin em-- bargo no momificados.(22)

Los hongos aislados en cultivos por Brunside a partir de abejas muertas, tales como *Rhizopus-nigricans* E y L y *syncephalastrum racemosum* f.c. -- mostraron no tener patogenia para las abejas en in-- festaciones experimentales. (22)

La *Trichoderma lignorum* que se encuentra - sobre todo en el suelo ó en extractos vegetales , no es considerado como patógeno para las abejas, - bien que Fielitz ha hecho una experiencia en la - que él acierta en obtener de una colonia poca re- sistencia a un ataque ligero, a pesar del hecho - de que las abejas limpiadoras han estado en con- tacto estrecho con el hongo y levantando su vege- tación de la superficie de los panales. (22)

El *cladosporium herbarum*, aislado del in- testino de abejas muertas, es considerado por Tur- sson como muy tóxico para las abejas. (22)

M A T E R I A L .

Ahumador

Cuña

Sombrero

Velo

300 Colmenas tipo Jumbo

Agujas de metal y de bambú para trasplante de lar-
vas.

Agujas de Metal

Tubos de ensaye con tapones de algodón

Cajas Petry

Agar dextrosado de saboureaud

Colorante de lacto fenol azul de metileno (variante'
~~de lactofeno-l azul de algodón)~~

Mortero

Microscopio

Autoclave

Masking tape

Papel de envoltura No. 16

Asa de platino punta redonda.

Mechero de bunsen

Lápiz graso

Porta objetos

Cubre objetos

Termo

Tubo de polietileno

Acido fénico 1%

Formol 5%

Espatula

Báscula

Matracas Earlen Mayer

M E T O D O S .

Se utilizaron 300 colmenas tipo Jumbo, se hicieron 3 muestras con intervalos de 15 días cada uno y dieron el siguiente resultado.

La suma de las 3 muestras da la incidencia total.

METODOS DE RECOLECCION.

Se utilizó las colmenas de los siguientes apia-
rios:

Coquimatlán	10
Cofradía de Suchitlán	30
El Centro	67
Nogueras	43
El Puente	45
El Rastro	30
Tecomán	25
El Banco	50

T o t a l = 300

Se hicieron 3 muestreos con intervalos de 15 días cada uno.

En las colmenas afectadas, se tomo una larva de apariencia sana y los bastidores afectados se eliminaban.

Las muestras se tomaron con aguja de trasplante de bambú y de metal y se introducían en un tubo de ensaye y de inmediato se tapaban con algodón. Se numeraban las muestras y se marcaba apariencia y sexo de la larva y se guardaban dentro de el termo para evitar su deshidratación.

Las agujas utilizadas para el trasplante se metieron en una solución de ácido fénico al 1% y formol al 5% durante una hora.

Se tuvo en observación 24, 48, 72 y 96 hrs. después se tomaban muestras para su tinción.

T I N C I O N.

Coloración de lacto fenol azul de metileno -
(variante de lactofenol azul de algodón)

FORMULA

CRISTALES DE FENOL 20 gr.
GLICERINA 40 gr.
ACIDO LACTICO. 20 gr.
AGUA DESTILADA. 20 gr.
AZUL DE METILENO 0.05 gr.

TECNICA DE PREPARACION DE EL COLORANTE.

Los cristales de fenol, la glicerina, el ácido láctico y el agua destilada se mezclan y se disuelven en baño maría, cuando están disueltos se añade el azul de metileno.

METODO DE TINCION.

A un porta objetos se le hace un círculo con un lápiz graso, se pone una gota de colorante, se toma una porción del micelio, se disgrega el micelio con agujas, colocando después un cubreobjetos sobre éste. (18)



RESULTADOS

De un total de 300 muestras se obtuvo 450 larvas de obrera con los siguientes resultados:

Se tuvieron en observación 24, 48, 72 y 96 horas.

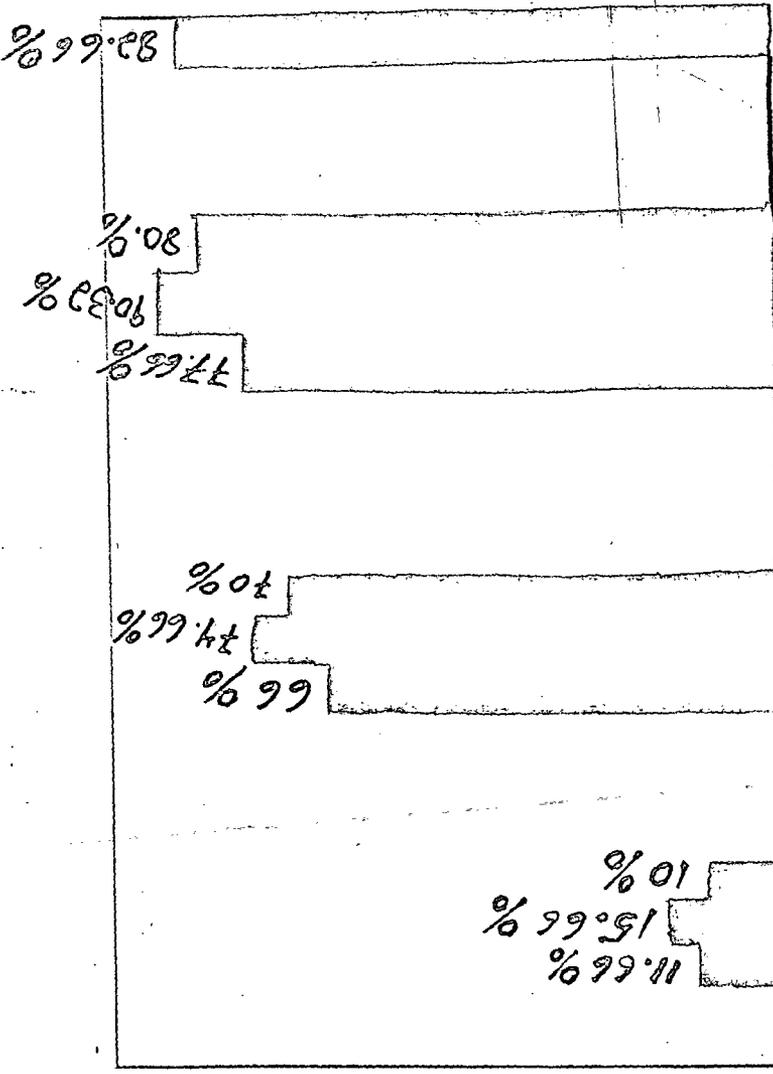
El mayor crecimiento fue a las 48 y 72 horas - correspondiendo *Aspergillus Flavus* y *Niger*, a las 96 horas tan solo 5 tubos con larvas (4 de obrera y 1 de zángano) *Ascosphera Apis*.

En el periodo correspondiente entre 24 y 48 horas se obtuvieron crecimientos de *Ascosphera Apis*, viéndose que su máximo desarrollo lo alcanzaban antes de las 72 horas.

A las 96 horas se veían en su mayoría los cuerpos fructíferos a simple vista como puntos negros sobre un fondo de algodón.

D I S C U S I O N E S .

Las 300 colmenas muestreadas por tres ocasiones, en un periodo de 45 días nos dio por resultado, 112 colmenas afectadas en forma clínica sien-



ECTADAS EN RMA CLINIC

ECTADAS EN RMA SUBCLINIC

TBI de Afectiva

SINDELS

DE LA INCIDENCIA

03-11-55

07C - KERR

do todas estas diferentes.

Si tomamos las 300 colmenas como un 100% darán 37.3% de afectadas en forma clínica.

En forma subclínica 54.6%.

Refractarias serían 17.3%

A diferencia de el caso que nos explica Dreher las colmenas que encontramos afectadas las larvas las encontramos en el estado de larvas erectas. (22) (23)

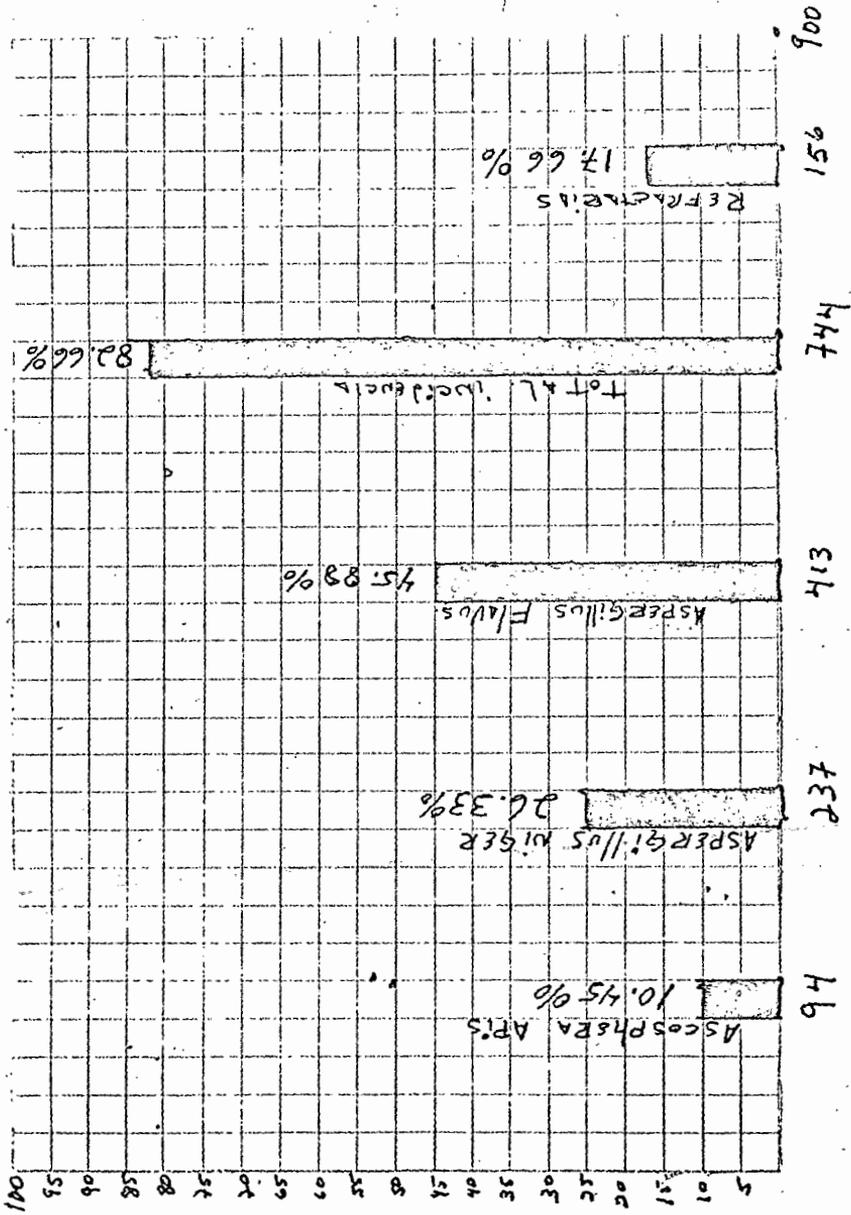
Maurizio encontró 2 formas de fructificaciones en *Ascosphera Apis*, en las observaciones directas de las momias de larvas no encontramos estos dos tipos, tan solo uno, no logrando, identificar cual de los tipos era, (14)

Massen Ex Clauzsen nos habla que las larvas -- desprotegidas son más susceptibles a *Ascosphera Apis*.-

(21)

Hitchcock y Christensen también nos hablan que las larvas de zángano son las más susceptibles, por el mismo hecho que se encuentra en las orillas externas de el panal de crianza siendo éste el más desprotegi-

4



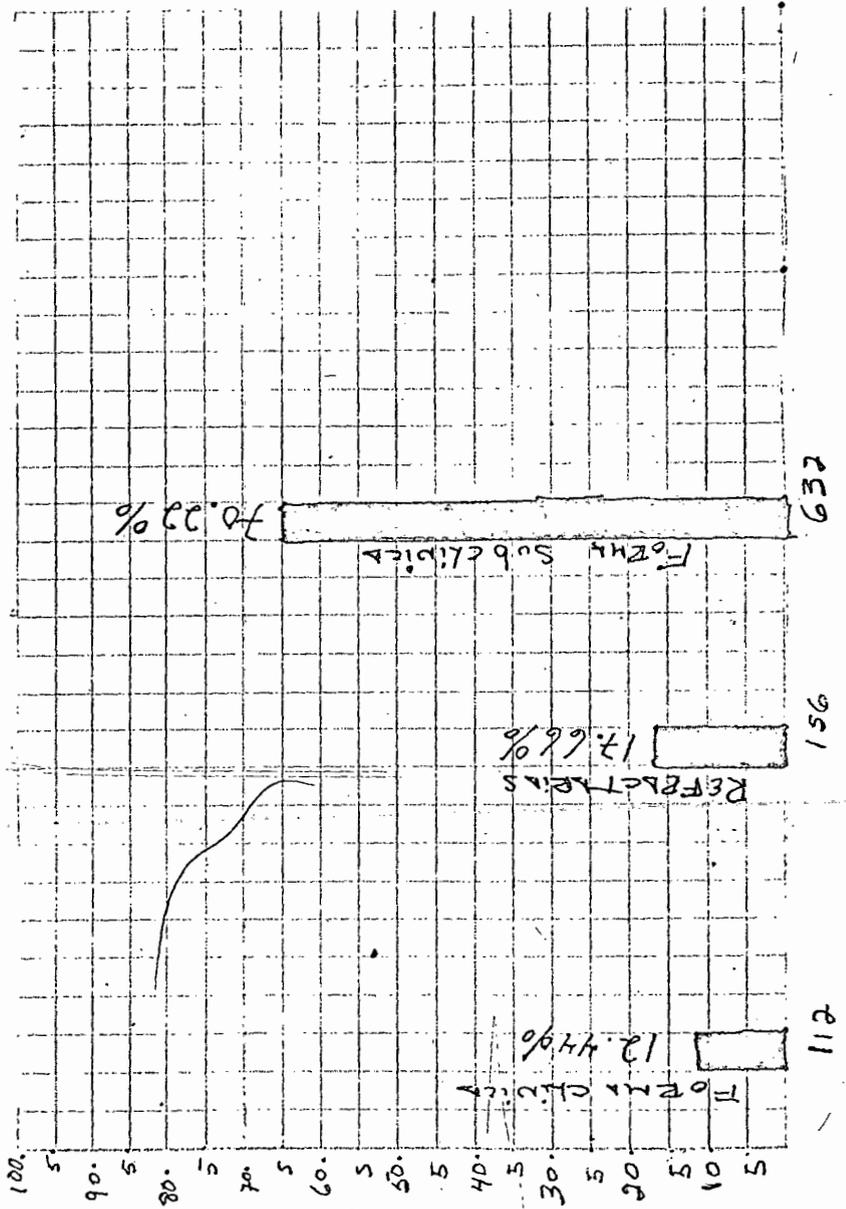
do, al tomar las muestras de larvas procure tomar larvas sin opercular de las partes más centrales de el panal encontrando el hongo en estos sitios.
(1) (4) (6) (1 0) (1 2) (2 0) |

Dadant nos habla del género aspergillus como uno de los agentes primarios de Stonebrood -- siendo aspergillus Flavus el causante, también -- nos dice que esta enfermedad es considerada de menor importancia, y que se encuentra raramente y -- se debe de diferenciar de otras enfermedades mas-serias. (20)

Encontramos al examinar las muestras y ver las colmenas afectadas en forma clínica que es de gran difusión, se transmite con gran facilidad y nos causa graves pérdidas en cuanto al número de larvas afectadas, rivalizando con Loque en cuanto mortandad de larvas en la colmena. (

Utilice la tinción de lactofenol azul de metileno (que es una variante de lactofenol azul

#5



de algodón) por lo siguiente azul de algodón coloreo las esporas en cambio con azul de metileno tan solo veo los contornos de esporas siendo más fácil el identificar de qué tipo de hongo se trata. (18)

CONCLUSIONES .

Las larvas de obreras son mas afectadas -- por los hongos, tanto de ascosphaera como aspergillus .

R E S U M E N .

La insidencia de las micosis en los apiaros de COLIMA es la siguiente:

45.88% Aspergillus Flavus

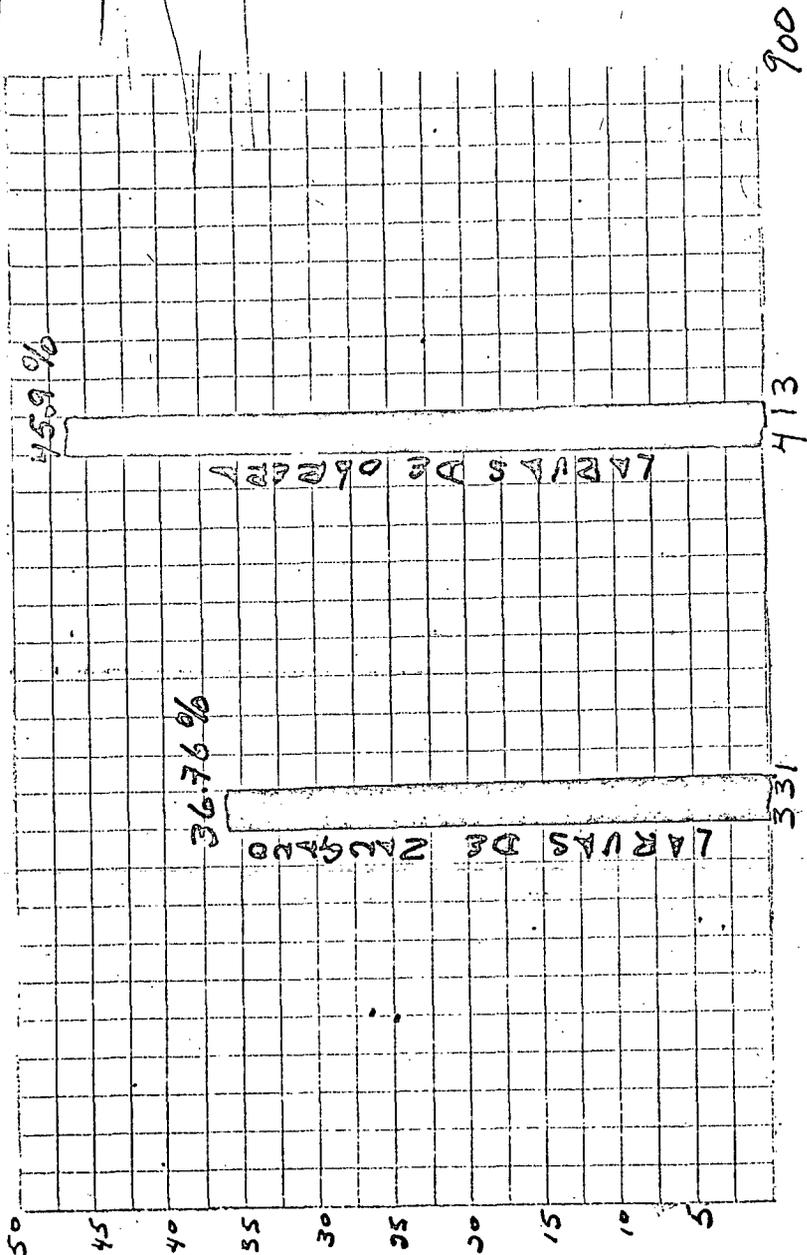
26.33% Aspergillus Niger

10.45% Ascosphaera Apis

82.66% Insidencia

Los mayores crecimientos se obtuvieron entre las 48 y 72 horas.

6



Las larvas de obrera resultaron mas afectadas que las de zángano en un 9.14%.

La forma subclínica de la enfermedad es la que predomina y es la mas peligrosa, en cuanto a trasmisión, el apicultor la traslada de una colmena a otra, puesto que aparentemente no se observa nada enorme., la forma clínica se observa a simple vista.

B I B L I O G R A F I A .

1).-A BEE HILL FUNGUS PERICYSTIS ALVEI

BETTS. A. D.

Genet. S. P. nov

Ann. Bot Lond. 26

1972

Pag. 795-799

2).-APIMIASIS MORTANDAL DE OTOISE

BRAUN. W

Apicultor Amer. No 2

1957

Pag. 9-14

3).-ARBEIN BIOL REICHSANST F LANDUND

CLAUSS EN P.

Entwicklungsgeschichtliche untersuchungen

Über der erregere de als "Kalkbrut" Bezeich

heten Krankheit der biene I

Forstwirtsch. 10

1971

4).-BEEKEEPING IN THE TROPICS

FRANCIS G. SMITH

Printed in Great Britain by Western
printing services.

L.T.D. Bristol 1960

5).-BULLETIN APICOLE DE DOCUMENTATION

SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE ET D'INFORMATION

Laboratoire de Recherches apicoles

(Recherches Veterinaires)

T.X 2e semestre No 2

1967

63 Av. des Arenes. 06 Nice

6).-CHALK BROOD AND HUNCHBACK FLIES

CLOUD. G. A.

Beeecraft. No 38

1956

7).-ENCICLOPEDIA APICOLA

ARTURO WALFRATH Y DR JUAN JOAQUIN SPECK

Editorial agrícola mexicana

Folleto No 25

8).- ENFERMEDADES DE LAS ABEJAS EN ITALIA

GIAVARINI. I

Ann Sper. Agr. No. 10

1956

9).- ENFERMEDADES DE LAS ABEJAS, SU PROFILA

XIS Y PREVENCION

LUIS G CORNEJO Y CARLOS O ROSSI

Editorial Ciencia y Abejas

La Plata Argentina

1974

10).- FUNGOUS DISEASES OF THE HONEY BEE

BURNSIDE .C.E

U.S Dep Agric. tech Bull No-149

1930

11).- GEOGRAFIA DE COLIMA

TORRES MARTINEZ

1973

12).- INFECTIOUS DISEASES OF THE HONEY BEE

LESLEY BAILEY M.A. PHD.

Tothamsted Experimental Station

Lan Book

13).- LA APICULTURA EN LOS ESTADOS UNIDOS

S.E. MC GREGOR

Jefe de la rama de investigaciones
apícola, división de investigaciones
agrícolas

Editorial Limusa

1974

14).- L'ABEILLE ANATOMIE, MALADIES, ENNEMIS

PAILLOT. A. KIRKOR, S. GRANGER. A.M.

Editorial Trvoux

1973

15).- LES MALADIES ET PARASITES DES ABELLES

ALFRED BORCHERT

Traducción del Aleman al Frances por

Jean Michelat M.V.

Cuarto Tomo,

Editorial Vigot Freres

1970

16).- MANUAL DE AGRICULTURA

JOAO N. V. CAMPELO

Editorial Agronomica Ceres.

1975

17).- OBSERVATORIO DE LA S.A.G. EN COLIMA

18).- PROCEDIMIENTOS DE DIAGNOSTICO EN BACTERIO
LOGIA Y MICROLOGIA VETERINARIAS G.P.CARTER.

Editorial Acribia

1967

19).- RECLASSIFICATION OF THE GENUS PERICYSTIS

BETTS

SMITHSONIAN INSTITUTION, WASHINGTON, D.C.

Micologia 47

1965

20).- THE HIVE AND THE HONEY BEE

DADANT

Edited By Dadant & Sons

1975

21).- TRAITE DE BIMALDIE DE L'ABEILLE
SOUS LA DIRECTION DE REMY CHAUVIN

Biologie appliquee No. 4

Masson et Cie.

1968 Paris

22).- ZUR STEINBRUT DER HONIG BIENE

DREHER

z.b.f. No. 2

1973

23).- ZUR STEINBRUT (aspergillus mykose)

DER HONIGBIENE

DREHER. K

Z. Bienenforsch No. 2

1953