



Muestreo de Nosema

Procedimiento de recuento de esporas para controlar el nivel de infestación de los microsporidios de Nosema

Nosema es un microsporidio que puede afectar gravemente la salud y el rendimiento de una colonia de abejas melíferas. Esta enfermedad puede provocar un aumento de la mortalidad invernal, y la supresión del sistema inmunitario y, en consecuencia, tendrá un efecto negativo en la productividad de la colonia. Nosema afecta las glándulas hipofaríngeas de las abejas melíferas provocando una disminución de la producción de alimento larvario y, a su vez, una reducción de la cantidad de cría. El conteo de esporas de Nosema permite conocer el nivel de infestación que es un indicador de la salud de la colonia.

Material de análisis de laboratorio

1. Microscopio (compuesto o de fase)
2. Etanol al 70%
3. Pipeta Pasteur
4. Hemocitómetro con cubreobjetos
5. Bolsa de plástico
6. Rodillo
7. Equipo de medición de líquidos (p. ej. vaso de precipitados)
8. Agua filtrada

Suministros para muestreo de campo

1. Frascos de muestreo
2. Etanol al 70% (o líquido limpiaparabrisas de invierno)
3. Cubeta/tina pequeña (p. ej. cubeta lavavajillas)
4. Taza medidora de 1/4 de taza

PASO 1

Elegir un bastidor

Seleccione un bastidor con abejas maduras, ya que es muy probable que tengan la mayor cantidad de esporas de Nosema. Estas abejas pueden encontrarse en cualquier bastidor de un alza de miel o en un bastidor de miel en los extremos de la cámara de cría. Asegúrese de que la reina no esté presente en el bastidor.

PASO 2

Toma de muestra

Sacuda el bastidor seleccionado en la cubeta. Junte las abejas en una esquina y saque 1/4 de taza. Alternativamente, puede raspar suavemente 1/4 de taza de abejas directamente del bastidor. Vierta las abejas en un frasco lleno hasta 1/3 de etanol (o líquido limpiaparabrisas). Cierra bien el frasco con la tapa cuando hayas terminado.

PASO 3

Preparación de la muestra

Tome 60 abejas de la muestra y colóquelas en una bolsa de plástico. Macere las abejas en la bolsa con un rodillo para aplastarlas y convertirlas en pequeños trozos (cuanto más pequeños sean los trozos, mejor). Añada a la bolsa 1 ml de agua filtrada por abeja (en este caso 60 ml) y mezcle apretando la bolsa.

PASO 4

Preparación del hemocitómetro

Coloque el hemocitómetro sobre una superficie plana con el cubreobjetos encima. Pipetee lentamente una pequeña cantidad de la muestra preparada en cada pocillo del hemocitómetro. Si se derrama algo, utilice una toallita Kim o un pañuelo de papel para absorber cuidadosamente el exceso de líquido. Deje reposar la muestra durante aproximadamente 2 minutos para que el contenido se asiente.

PASO 5

Enfoque del microscopio

Coloque la muestra en la platina del microscopio. Enfoque el cuadro 1 con el objetivo 40X. Este es el aumento ideal para ver las esporas de Nosema.

PASO 6

Cómo reconocer una espora

Las esporas de Nosema tienen forma de grano de arroz y tienen un característico «halo» a su alrededor. Al contar las esporas, no las cuente a menos que pueda confirmar que son una espora. No cuente nada que esté deformado o en grandes grupos.

PASO 7

Contar las esporas

Cuente todas las esporas en los 16 cuadros más pequeños dentro del cuadro 1. Para contar las esporas que están sobre las líneas, asegúrese de contar sólo las esporas sobre las líneas superior y derecha (en amarillo), omita las esporas de las líneas izquierda e inferior, de esta manera evitará contar dos veces las mismas esporas. Cuente todas las esporas de las casillas 1-5 (ver foto del paso 5) y anote el número después de contar cada casilla.

PASO 8

Calcule la intensidad de su infestación

Para calcular el porcentaje de infestación, necesita saber la cantidad de líquido en cada cuadro de su hemocitómetro.

Hemocitómetro con un cuadro grande de 0.2x0.2x0.1

En 1 cuadro hay 0.000004 ml

Si ha contado 5 cuadros, el volumen total es de 0.000004 ml x 5 = 0.00002 ml

Tome el número total de esporas contadas en las 5 casillas/ 0.00002 ml = número de esporas/ml

Hemocitómetro con un cuadro grande de 0.2x0.2x0.02

En 1 cuadro hay 0.000008 ml

Si ha contado 5 cuadros, el volumen total es de 0.000008 ml x 5 = 0.00004 ml

Tome el número total de esporas contadas en las 5 casillas/ 0.00004 ml = número de esporas/ml

Notas:

- 1ml = 1 abeja, por lo que el valor calculado es también igual al número de esporas por abeja.
- El umbral económico para Nosema es de 1 millón de esporas por abeja.
- Si su hemocitómetro tiene un tamaño de cámara diferente a los dos indicados anteriormente, será necesario utilizar una fórmula diferente.

PRECAUCIONES ESTÁNDAR PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE NOSEMA

1. TENGA MUCHO CUIDADO AL MANIPULAR EL LÍQUIDO LIMPIAPARABRISAS O ETANOL CERCA DE UNA COLONIA VIVA.
2. ASEGÚRESE DE TOMAR LA MUESTRA DE CADA COLONIA POR SEPARADO.
3. ASEGÚRESE DE ENJUAGAR EL HEMOCITÓMETRO, EL CUBREOBJETOS Y LA PIPETA ENTRE CADA MUESTRA.