UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“Calidad funcional y morfometría de espermatozoides del zángano expuestos a glifosato”

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

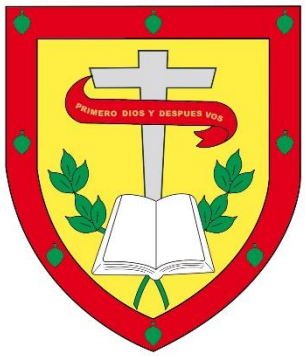
AUTORA: ERIKA NELLY ENCALADA ENCALADA

DIRECTOR: Dr. ESTEBAN MAURICIO MUÑOZ LEÓN

CUENCA - ECUADOR

2022

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“Calidad funcional y morfometría de espermatozoides del zángano expuestos a glifosato”

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

AUTORA: ERIKA NELLY ENCALADA ENCALADA

DIRECTOR: Dr. ESTEBAN MAURICIO MUÑOZ LEÓN

CUENCA - ECUADOR

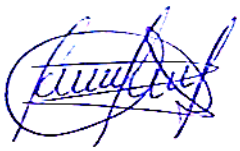
2022

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Erika Nelly Encalada Encalada portador(a) de la cédula de ciudadanía N.º 0106357023. Declaro ser el autor de la obra: **"Calidad funcional y morfometría de espermatozoides de zángano expuestos a glifosato"**, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **21 de abril del 2022**



F: .....

Erika Nelly Encalada Encalada

C.I. 0106357023

I. CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Erika Nelly Encalada Encalada bajo mi supervisión.21

_____

Dr. Esteban Mauricio Muñoz León

DIRECTOR

II. DEDICATORIA

Este trabajo de investigación se lo dedico primeramente a Dios y la Virgen quienes me guiaron durante toda mi vida, me ofrecieron salud y sabiduría hasta poder cumplir una meta más.

Con mucho cariño y amor a mis padres y hermanos quienes me apoyaron durante todo el transcurso de mi vida estudiantil, por creer en mis capacidades y ser los principales inspiradores de mis éxitos y victorias profesionales.

Eríka Nelly Encalada Encalada

III. AGRADECIMIENTO

Primeramente, mi agradecimiento a Dios por ser mi guía en mi vida diaria, por bridarme sabiduría, fortaleza, perseverancia y haberme otorgado una familia maravillosa, quienes han creído en mí siempre, dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio, permitiéndome lograr una meta más en mi vida profesional y por haber estado presente en los momentos que más lo necesitaba.

A la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas de su Institución para brindarme una educación de calidad engrandeciendo mis conocimientos día a día.

A cada uno de los docentes de la Carrera de Medicina Veterinaria por participar ampliamente de sus conocimientos y guiarme durante el progreso de la carrera. Y al Dr. Esteban Muñoz León por brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento, y su paciencia para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis, así mismo a cada una de las personas que participaron con la realización de mi proyecto.

A mis padres Icerio y Celia quienes fueron y siguen siendo el pilar fundamental en mi vida, por acompañarme durante este gran recorrido de mi vida; de igual forma a mis hermanos quienes también me manifestaron su apoyo incondicional cuando más lo necesite.

A mis amigas, compañeros por ofrecerme su bonita amistad, el apoyo absoluto tanto académico como moral y por cada una de las aventuras que vivimos juntas durante nuestra vida universitaria.

Erika Nelly Encalada Encalada

IV. ÍNDICE GENERAL

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad I
I. CERTIFICACIÓN IV
II. DEDICATORIA IV
III. AGRADECIMIENTO VI
IV. ÍNDICE GENERAL VII
V. ÍNDICE DE CUADROS X
VI. ÍNDICE DE FIGURAS XI
VII. Resumen XII
VIII. Abstract XIII
CAPITULO I 15
1.1. Introducción 15
1.2. Planteamiento del problema 17
1.3. Hipótesis 18
1.4. Antecedentes 19
1.5. Objetivos 20
1.5.1. Objetivo general 20
1.5.2. Objetivos específicos 20
1.6. Justificación 21
CAPITULO II 22
2. MARCO TEÓRICO 22
2.1. Apicultura 22
2.2. Abejas 22
2.3. Generalidades de las Abejas 22
2.4. Clasificación taxonómica de la Abeja 23
2.4.1. La abeja reina o madre 23
2.4.2. Las obreras 23

2.4.3. Los zánganos 23
2.5. Funciones del zángano 24
2.6. Ciclo biológico del zángano 24
2.7. Anatomía del zángano 24
2.8. Anatomía del aparato reproductor del zángano 26
2.8.1. Testículos 26
2.8.2. Vesículas seminales 27
2.8.3. Glándulas mucosas y órgano copulador 27
2.9. Fisiología reproductiva del zángano 27
2.10. Espermatogénesis en los zánganos 27
2.11. Espermatozoide 28
2.12. Características seminales 28
2.12.1. Concentración 28
2.12.2. Viabilidad 29
2.12.3. Motilidad 29
2.13. Glifosato 29
2.14. Efectos del glifosato en las abejas 29
CAPITULO III 30
3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN 30
3.1. Ubicación de ensayo 30
3.2. Materiales y métodos 30
3.2.1. Materiales de Campo 30
3.2.2. Biológicos 31
3.2.3. Equipos y materiales de laboratorio 31
3.2.4. Reactivos 32
3.3. Variables 32
3.3.1. Variables independientes 32

3.3.2. Variables dependientes 32
3.4. Diseño experimental 32
3.5. Procedimiento 33
3.5.1. Exposición de glifosato y supervivencia de zánganos 33
3.5.2. Exposición al glifosato y características espermáticas 34
CAPITULO IV 36
4. RESULTADOS 36
4.1. Descripción de resultados 36
4.2. Discusión 42
4.3. Conclusiones 44
4.4. Recomendaciones 45
IX. BIBLIOGRAFÍA 46
X. ANEXOS 51
XI. ANEXO 1: PERMISO DE AUTOR DE TESIS PARA SUBIR AL REPOSITORIO INSTITUCIONAL 57

V. ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Clasificación taxonómica de la abeja 23
Cuadro 2: Dosis establecidas de Glifosato 34
Cuadro 3: Tiempo de muerte de los zánganos 36
Cuadro 4: Tiempo de vuelo de los zánganos 37
Cuadro 5: Tiempo de caminar de los zánganos 38
Cuadro 6: Tiempo de detenimiento de los zánganos 39
Cuadro 7: Calidad espermática de los zánganos 41

VI. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Cabeza del zángano 25
Figura 2:Tórax del zángano 25
Figura 3: Abdomen del zángano 26
Figura 4: Patas y alas del zángano 26
Figura 5: Ubicación del ensayo 30
Figura 6: Tiempo de muerte de los zánganos 37
Figura 7: Tiempo de vuelo de los zanganos 38
Figura 8: Tiempo de caminar 39
Figura 9: Tiempo de detenimiento de los zánganos 40

VII. Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la exposición a glifosato de uso agrícola bajo ambientes controlados en la cinética y morfometría de espermatozoides de zánganos provenientes de colmenas instaladas sobre los 2.200 m.s.n.m.; para ello se utilizaron 16 zánganos de diferentes lugares: Tarqui, Paute y Cuenca; los tratamientos a evaluar fueron dosis 1 (0.25%), dosis 2 (0.15%), dosis 3 (0.10%) y dosis 4 (0.05%) de glifosato. Las variables estudiadas fueron tiempo de muerte, vuelo, caminar, detenimiento y morfología espermática (longitud, anchura, área de la cabeza, perímetro, elongación, rugosidad, regularidad, volumen, concentración, vitalidad y muerte) del zángano. Los resultados obtenidos demuestran que el lugar de ubicación de las colmenas frente a la aplicación del glifosato no afecta a las variables analizadas; sin embargo, el tiempo de muerte y tiempo de detenimiento de los zánganos si se vio afectado bajo las dosis de 0.25, 0.15, 0.10 y 0.05%; de la misma manera en cuanto al tiempo de vuelo y tiempo de caminar se encontró diferencia significativa bajo las dosis de 0.25 y 0.05% de glifosato; y finalmente en cuanto a la morfología espermática de los zánganos si se registró diferencia significativa viéndose afectados los parámetros de vitalidad y muerte espermática. Se concluye que la utilización de glifosato en la producción agrícola ayuda a controlar las malezas; no obstante, genera un efecto negativo en el medio ambiente, en este caso afectando a los insectos benéficos (zánganos) ocasionándoles problemas en la parte reproductiva y en casos más severos causándoles la muerte.

Palabras clave: morfología espermática, glifosato, zángano, cinética

VIII. Abstract

The objective of the study was to evaluate the effect of exposure to glyphosate for agricultural use under controlled environments on the kinetics and morphometry of spermatozoa from drones from hives installed above 2,200 m.a.s.l. For this purpose, 16 drones from different locations were used: Tarqui, Paute, and Cuenca. The treatments to be evaluated were dose 1 (0.25%), dose 2 (0.15%), dose 3 (0.10%) and dose 4 (0.05%) of glyphosate. The variables studied were the drone's time of death, flight, walking, stopping, and sperm morphology (length, width, head area, perimeter, elongation, roughness, regularity, volume, concentration, vitality, and death). The results obtained show that the location of the hives about the application of glyphosate does not affect the variables analyzed. However, drone's time of death and time of stopping were affected under 0.25, 0.15, 0.10, and 0.05% doses; in the same way, flight time and walking time were significantly different under amounts of 0.25 and 0.05% of glyphosate. Finally, the sperm morphology of the drones was quite different, being affected by the parameters of sperm vitality and sperm death. The conclusion is that the use of glyphosate in agricultural production helps control undergrowth; however, it negatively affects the environment, in this case affecting beneficial insects (drones), causing problems in the reproductive part and, in more severe cases causing their death.

Keywords: sperm morphology, glyphosate, drone, kinetics.

CAPITULO I

1.1. Introducción

El uso indiscriminado de herbicidas en cultivos agrícolas conlleva un riesgo latente sobre las diferentes poblaciones de insectos de la fauna local. Si bien, los herbicidas son usados eficientemente por los agricultores para controlar las malas hierbas, sin embargo, estos productos afectan indirectamente a insectos, ácaros, a himenópteros benéficos que ayudan a la polinización como es el caso de la abeja (*Apis mellifera*). En Europa se ha determinado que, el uso indiscriminado de glifosato, puede afectar a diferentes poblaciones de abejas durante la temporada de primavera y verano. Esto supone una reducción de la población de abejas obreras en mayor proporción, y al resto de individuos de las colmenas (Ej. zánganos y abeja reina). No obstante, en países que no poseen una temporalidad marcada en el año (ej. Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, etc.) el desarrollo de cultivos de ciclo corto y largo, así como el uso de glifosato se da durante todo el año. En consecuencia, el riesgo latente sobre la población de insectos benéficos es mayor (Jimenéz et al., 2016).

Por otro lado, en el Ecuador mediante su Constitución del año 2008 y su “Programa Nacional del Buen Vivir y Soberanía Alimentaria”, se ha promovido el uso de herbicidas amigables con el medio ambiente, y en cierta medida, ha restringido notablemente el uso de glifosato de sello azul, amarillo y rojo. En la actualidad, los pesticidas de sello verde son vendidos en diferentes comercios agropecuarios para el control de plagas y enfermedades de los cultivos de ciclo corto, medio y largo. Organismos gubernamentales como AGROCALIDAD son los encargados de verificar, regular y controlar el expendio de estos pesticidas en los diferentes comercios agropecuarios. No obstante, existe un control muy limitado o nulo sobre el uso de esta herbicida in situ en los cultivos de las diferentes regiones del Ecuador (Jimenéz et al., 2016).

La apicultura es una disciplina productiva que ha ganado un importante espacio entre los productores y practicantes en la región sierra sur del Ecuador. La instalación geográfica de los apiarios ha sido estratégica para establecer un equilibrio entre las colonias, fauna, cultivos y el humano. Esto ha generado un menor impacto en riesgos. Sin embargo, las abejas se movilizan kilómetros a la redonda para promover la polinización de cultivos locales y, en consecuencia, la producción de miel en las colmenas. Además, durante la reproducción, el vuelo nupcial que realizan los zánganos y la abeja reina se desarrolla en el mismo ambiente que puede estar expuesto a diferentes herbicidas (Jimenéz et al., 2016).

1.2. Planteamiento del problema

En la actualidad, el considerable incremento casi exponencial del uso de herbicidas para la detención de malezas y padecimientos en las siembras para obtener un desempeño con los requerimientos en aumento y eficacia sobre todo en exportación (Eden, 2020) Sin embargo, estas sustancias llegan a ser tóxicas alterando de tal manera las poblaciones de abejas en un claro daño colateral derivado del uso de herbicidas y consecuentemente son indicadores biológicos de su efecto nocivo a nivel ecológico y ambiental, de modo que la interacción del herbicida (glifosato) con los zánganos les ocasiona la muerte, de tal manera que en cantidades enormes pueden producir efectos letales capaces de deteriorar la salud de la colmena entera (Martin & Arenas, 2018).

Por otra parte, los herbicidas indudablemente representan un alto riesgo para las abejas en su totalidad. El glifosato actúa sobre el sistema nervioso de las abejas, produciendo de tal manera convulsiones o parálisis hasta el punto de ocasionar la muerte (Botías & Sánchez, 2015).

1.3. Hipótesis

Zánganos expuestos a herbicidas (glifosato) usados en actividades agrícolas en la región sierra sur ecuatoriana aplicada en dosis controladas son afectados en sus características espermáticas basadas en parámetros cinéticos y morfometría estructural.

1.4. Antecedentes

El glifosato es un herbicida de amplio espectro que se utiliza en la agricultura para controlar malezas. Desde su comercialización en 1974, el glifosato se ha convertido en el más utilizado en el mundo debido a su eficacia y su facilidad de aplicación, y que, ha dado como resultado rendimientos de cultivos considerables, su uso presenta una serie de inconvenientes ligados al impacto en los diferentes compartimentos ambientales, principalmente el suelo, repercusiones por el uso continuado en los cultivos (Tofiño et al., 2020).

Es un compuesto químico comúnmente utilizado en el herbicida no selectivo de amplio espectro, para matar principalmente plantas no deseadas tales como gramíneas anuales y perennes, especies leñosas. Este producto está compuesto principalmente por surfactantes que posterior a su almacenamiento ayudan a conservar su calidad y facilitan la mezcla con el agua. La ingestión de glifosato puede traer consigo una tasa de mortalidad del 3% al 30%, asimismo obtener resultados clínicos que van desde toxicidad para muchos con nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, efectos gastrointestinales y respiratorios (Campuzano, et al., 2017).

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto de la exposición a glifosato de uso agrícola bajo ambientes controlados en la cinética y morfometría de espermatozoides de zánganos provenientes de colmenas instaladas sobre los 2.200 msnm.

1.5.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la aplicación en zánganos expuestos a glifosato en diferentes medioambientes controlados.
- Comprobar las características del semen de zánganos expuestos a glifosato frente a zánganos de control.
- Analizar los valores cuantificados con la dosis de glifosato en el esperma.

1.6. Justificación

En la actualidad la apicultura es una actividad muy importante dentro de la agricultura industrial ya que las abejas son insectos capaces de recoger el polen y néctar de las plantas, sin embargo, al haber un incremento del uso inadecuado de productos agroquímicos que afectan directamente a estos insectos causándoles incoordinación y parálisis de los miembros, ya sea por contacto o consumo del polen, néctar o agua contaminada con estos químicos, también llega a afectar su comportamiento, reproducción y estado fisiológico (Cajamarca et al., 2020). Además, Pisa et al., (2015) expresan que estos plaguicidas y herbicidas fueron creados para combatir malezas, pero indirectamente afectan a insectos benéficos como son las polinizadores convirtiéndose estos productos en una amenaza para la salud de las mismas.

Los pesticidas son considerados una de las principales amenazas para los insectos polinizadores (*Apis mellifera*) debido a que posterior a su aplicación se genera efecto residual tanto en el polen como el néctar de las plantas que fueron tratadas, ocasionando efectos letales en las abejas (González et al., 2020); así mismo Woodcock et al., (2016) detallan un incremento de mortalidad de abejas polinizadoras convirtiéndose al mismo tiempo en un problema para la conservación de la biodiversidad. Por tal razón, la Unión Europea restringió la utilización de estos productos químicos en el año 2013 con la finalidad de proteger y conservar a estos insectos importantes como son las abejas (European Commission, 2013).

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Apicultura

La apicultura considerada una actividad productora de miel ha surgido conjuntamente con la civilización, desempeñando papeles importantes como; alimento, en lo religioso entregado como ofrenda, embalsamiento de cadáveres, preventivo de enfermedades y principalmente como antiséptico (Gonzalez et al., 2010). Además, esta actividad a nivel mundial es muy importante debido a que proporciona a la sociedad el edulcorante natural conocida como: la miel (Contreras & Magaña, 2018).

2.2. Abejas

Las abejas son uno de los insectos venenosos más importantes para el ser humano debido a su producción de miel, habitan generalmente en las zonas tropicales, son dóciles y comúnmente pican solo una vez ya que su aguijón que está en la parte posterior del insecto se encuentra en conexión con las glándulas del veneno las mismas que al provocar una picadura se atascan y ocasionan que una porción del intestino, el sistema glandular y el saco del veneno se desprendan del insecto provocando la muerte de la abeja (Peña et al., 2006)

2.3. Generalidades de las Abejas

La abeja productora de miel, (*Apis mellifera*) es un insecto social del orden Himenóptera de la clase *Insecta*, que corresponde a la familia *Apidae*. Se diferencian por tener glándulas de cera situadas en el abdomen, con las que construyen los panales o colmenas en cuyas celdas se almacena la miel, el polen y donde la reina coloca sus huevos (Simbaña, 2015).

Cuando surge de una celda la primera reina virgen esta se dirige hacia otras celdas reales para destruirlas y si en ocasiones nacen más reinas al mismo tiempo estas combaten entre si hasta quedar la triunfadora, la que conseguirá su madurez sexual al día 5 y posteriormente saldrá a su vuelo nupcial (vuelos de fertilización) con un promedio de 10 zánganos, dará inicio a la ovoposición y la colonia de abejas continuará su ciclo normal (Padilla et al., 2007).

2.4. Clasificación taxonómica de la Abeja

Cuadro 1: Clasificación taxonómica de la abeja

Clasificación Taxonómica	
Reino	*Animalia*
Tipo	*Arthrópodo*
Clase	Insecto que tiene respiración por tráquea, tres pares de patas y el cuerpo dividido en tres zonas: Cabeza, tórax y abdomen
Orden	*Hymenóptero* (posee cuatro alas membranosas), metamorfosis completa, aparato bucal lamedor y dos pares de alas membranosas.
Sub-orden	*Apoídea*
Familia	*Apidae*
Género	*Apis*
Especie	*A. mellifera*

Fuente: (Jaramillo & Rodríguez, 2012).

2.4.1. La abeja reina o madre

La abeja reina es la madre de toda la colonia y la única que fecunda la colmena, portadora del material hereditario, además es la que se encarga de regular y controlar muchas conductas como: el desarrollo de los ovarios en las abejas obreras, conexión de la colmena, recolección de alimento, cuidado de la cría y la construcción de panales (Alamilla et al., 2017).

2.4.2. Las obreras

Las abejas obreras son hembras que comprenden casi toda la población y desempeñan un papel importante en la colmena, son el principal elemento productor y directivo de la colmena. Se las conoce con este nombre debido a que son las que realizan el trabajo de producir la miel, cera, colectan polen, fabrican panales y mantienen limpia y en orden la colmena (Choque et al., 2017).

2.4.3. Los zánganos

El zángano es el insecto masculino del grupo de las abejas, tiene un vuelo poderoso y rápido, está dotado de ojos muy desarrollados y de un sistema olfativo que le permite detectar a las reinas a gran distancia, puede alejarse más de nueve

kilómetros de su colmena de origen e introducirse en otras colmenas sin ser cazado por las guardianas (Simbaña, 2015).

2.5. Funciones del zángano

El zángano un insecto que cumple con varias funciones comenzando primeramente con la de fecundar a la reina: proceso que sucede de los 12 a 24 días de edad, tiempo en el que ya están capacitados para el apareamiento y tienden a hacer grandes recorridos para buscar a la reina, durante el vuelo nupcial, donde el más fuerte fecundará a la reina y a su vez morirá, en segundo lugar, está la función de producir calor en lugar de las obreras las cuales están realizando otras actividades y finalmente la función de repartir el néctar es decir provee a las obreras y contribuye a la elaboración de la miel (Quero, 2004).

2.6. Ciclo biológico del zángano

El zángano surge a partir de un huevo sin fecundar dando lugar al proceso llamado partenogénesis que es cuando la reina pone huevos infértiles que dan lugar a los zánganos, del huevo nace la larva al día 4, posteriormente esta se desarrolla durante 7 días, la celdilla es operculada (sellada) al día 10 y finalmente después de varias transformaciones el insecto adulto nace al día número 24 (Polaino, 2006).

2.7. Anatomía del zángano

El cuerpo de la abeja doméstica se divide en el tórax y el abdomen, partes que están adheridas y se mueven entre sí, el esqueleto exterior compuesto de quitina, que le da la estabilidad necesaria, protege a los tres grandes partes del cuerpo de la abeja dividiéndose en; los dos primeros formando cajas rígidas y en el último de forma extensible. El exoesqueleto, tiene la característica de ser externo y por lo tanto de crecimiento definitivamente limitante, abriga al anterior blando, a diferencia de los animales superiores donde los blandos cubren el esqueleto.

- *Cabeza:* es una caja dura con forma de triángulo en donde se ubican los órganos de la visión, antenas y aparato bucal, está unido al tórax por un cuello membranoso estrecho (Llorente, 2008) como se observa en la Figura 1.

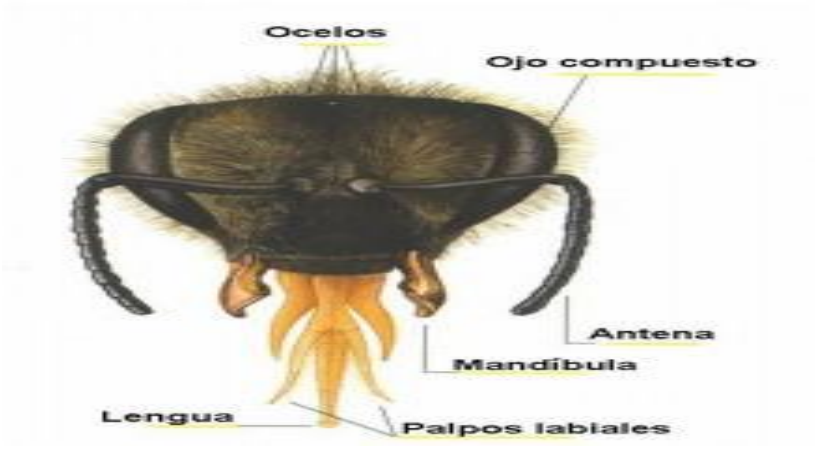


Figura 1: **Cabeza del zángano**
Fuente: (Ellis, 2015)

- *Tórax:* es conocido como el centro locomotor de la abeja, contiene tres segmentos adoptando los nombres de: prototórax, mesotórax, metatórax y además existe un segmento adicional llamado propodeo. Cada uno de los segmentos contienen un par de patas, en el segundo y tercer segmento se encuentran un par de alas membranosas, además, poseen espiráculos por medio de los cuales se airea para la oxigenación del tórax (Fernández, 2011) detallada en la Figura 2.

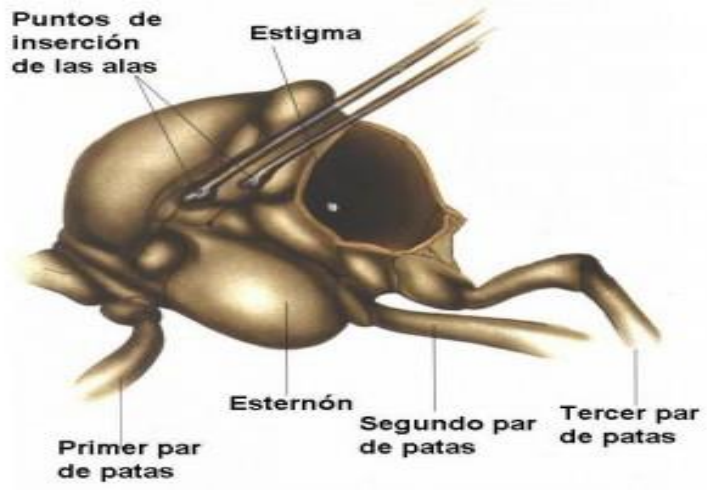


Figura 2:**Tórax del zángano**
Fuente: (Ellis, 2015)

- *Abdomen:* tiene una forma rectangular y consta de nueve (anillos) segmentos retractiles de los cuales solo siete se los puede divisar en el zángano (Figura 3), estos segmentos están unidos mediante membranas finas de gran flexibilidad que permite alargar o contraer el abdomen (Llorente, 2008).

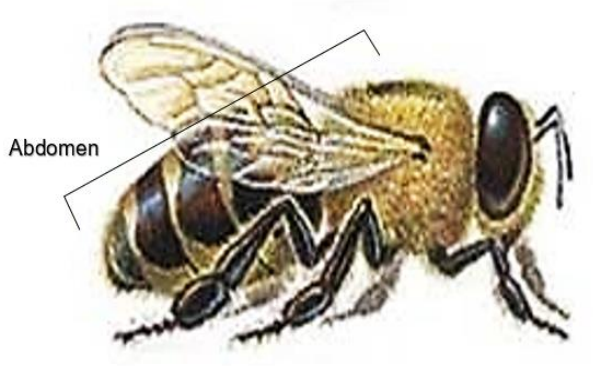


Figura 3: **Abdomen del zángano**
Fuente: (Matricardi, 2014)

- *Patas y alas:* las piernas están conformadas por seis articulaciones que van de la proximal a la distal: coxa, trocánter, fémur, tibia, tarso y pre tarso, este último tiene 2 clavos laterales, con los que se pueden fijar en superficies rugosas. Al mismo tiempo, entre las uñas hay un lóbulo llamado arolium o pulvillus, que les permite alisar superficies como cristales (Ellis, 2015) como se indica en la Figura 4.

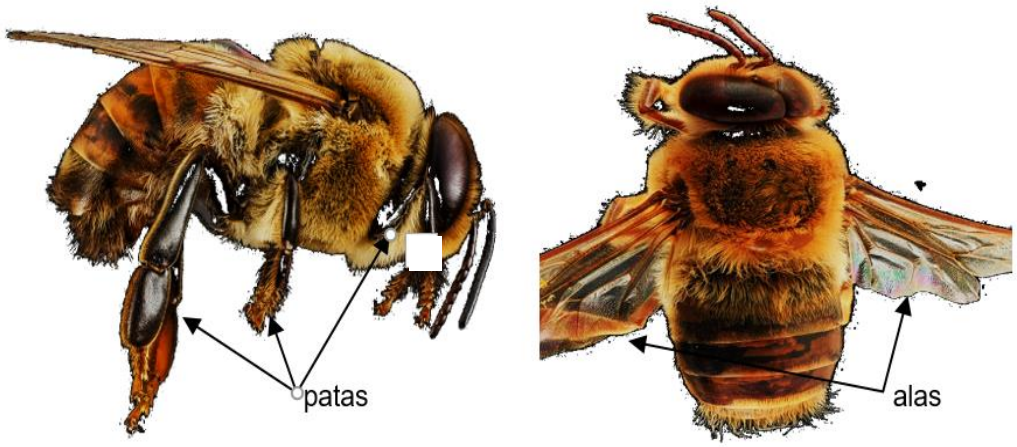


Figura 4: P**atas y alas del zángano**
Fuente: (Lara, 2019)

2.8. Anatomía del aparato reproductor del zángano

2.8.1. Testículos

En el zángano los testículos están formados por tubos testiculares, son órganos que durante la etapa de ninfa o pupa alcanzan su tamaño máximo, se ubican a los lados del abdomen donde se enlazan mediante los vasos deferentes con las vesículas

seminales y están compuestos por cuantiosos folículos lugar en donde se originan y maduran los espermatozoides (Llorente, 2008).

2.8.2. Vesículas seminales

Tienen la forma de un saco largo y sirve de almacenamiento para los espermatozoides originarios de los testículos hasta el momento de la cópula, esta función se desarrolla a los 36 días de edad (SAGARPA, 2013).

2.8.3. Glándulas mucosas y órgano copulador

Las glándulas mucosas son órganos accesorios grandes que están unidos por una base hacia la salida de las vesículas seminales y segregan una sustancia mucosa que cuando entra en contacto con el aire o el agua se solidifica y forma el espermatóforo, el mismo que en el proceso de eyaculación empuja hacia el exterior al semen (Castillo , 2019).

El órgano copulador es conocido también como endofalo, es una estructura tubular larga con varios apéndices y áreas con vellosidades, se encuentra dentro de la cavidad abdominal, formado por placas quitinosas, este se encuentra invaginado y se evagina al momento que se introduce la bolsa copulatriz de la reina, desprendiéndose así del zángano una vez que se introduce el semen y que a la final termina funcionando como un tapón (Llorente, 2008).

2.9. Fisiología reproductiva del zángano

El aparato reproductor ocupa parte del abdomen del macho, el testículo está compuesto por unos 200 tubos seminíferos, estos tubos seminíferos producen espermatozoides y se almacena en las vesículas seminales las mismas que se comunican con los testículos a través de los conductos deferentes (Lara, 2019).

2.10. Espermatogénesis en los zánganos

En primera instancia existe una división sin disminución cromosómica resultando la eliminación de una célula enucleada que acaba degenerándose y dándose una segunda división equitativa del material genético pero desigual del citoplasma resultando en la degradación de la célula más pequeña y en la trasformación de la más grande en un espermatozoide. El segundo sistema propone una división sin

reducción cromosómica resultando la eliminación de una célula enucleada que termina degenerándose y dando una segunda división totalmente ecuacional, resultando dos espermatozoides y finalmente el tercer sistema expone una primera división meiótica donde las cromátides hermanas originan espermatocitos idénticos, en la segunda división las cromátides se distribuye únicamente a una de las dos células hijas resultando en la eliminación de dos células enucleadas y la generación de dos espermatozoides, siguiéndose cualquiera de los tres sistemas, el producto final resulta ser un espermatozoide de zángano (Lago et al., 2020).

2.11. Espermatozoide

El espermatozoide es la célula germinal masculina producida luego del proceso de división de las espermatogonias, en el zángano ocurre un proceso denominado reproducción haplodiplóica (Sekiné et al., 2015).

El espermatozoide del zángano cuenta con una longitud de entre 250-270 µm, la cabeza consta de un acrosoma anterior y núcleo tiene un tamaño de 5µm de ancho y 0.3 µm de grosor y finalmente la cola abarca dos subunidades mitocondriales extendidas desde la base del núcleo hasta el final de la cola (Lino et al., 2000).

2.12. Características seminales

El semen está compuesto por los espermatozoides y el líquido de la vesícula seminal, en proporción de 1:1 hasta de 2:1, lo cual le da los distintivos de intensidad de color y viscosidad. El esperma del zángano tiene un pH de 6,8 a 7 y se mezcla con cualquier medio acuoso. Por desecación, los espermatozoides mueren en pocos minutos, así como tampoco resisten el enfriamiento (Taylor et al., 2009).

2.12.1. Concentración

Se refiere a la cantidad de espermatozoides presentes en el semen por cada eyaculado el mismo que permite pronosticar la concepción y los valores han sido variables siendo el más reciente de 2.2-3.4 X 10^6/µL de espermatozoides en el semen (Abdelkader et al., 2014).

2.12.2. Viabilidad

La evaluación de la viabilidad espermática consiste en la capacidad del espermatozoide de poder fecundar, siendo una característica importante para comprobar el éxito reproductivo en especies sexualmente promiscuas y en varios estudios manifiestan que la viabilidad mínima para una mayor fecundación es del 60-80% (Maalaps, 2014).

2.12.3. Motilidad

Es la que cumple un papel de suma importancia en el momento de la fertilización, considerada como una herramienta importante para la evaluación del potencial de la fertilidad en los machos, la misma que evalúa la velocidad y porcentaje de espermatozoides móviles (Tourmente et al., 2007).

2.13. Glifosato

El glifosato es un herbicida sistémico de amplio espectro que se produce para controlar malezas. Estudios nuevos manifiestan que el uso cada vez más intenso de este herbicida, siendo renovado por la introducción de cultivos transgénicos ahora resistentes a glifosato, puede ser la causa de efectos potenciales perjudiciales y graves afectaciones en la reproducción de organismos acuáticos, anfibios y aves, así como de una grave disminución en la diversidad de insectos, las abejas y otros polinizadores (Ruiz & Sánchez, 2014).

2.14. Efectos del glifosato en las abejas

El glifosato al estar en contacto con las abejas genera efectos negativos en el insecto debido a que: altera el comportamiento, disminuye el tamaño de la población, el aprendizaje olfativo y elemental, retención de la memoria a corto plazo y altera el microbiota intestinal haciéndolas susceptibles a enfermedades (Herrera, 2021); por lo que afecta la salud de las abejas y su actividad como polinizadoras (Motta et al., 2018).

El glifosato o también conocido como un herbicida resulta ser altamente tóxico para las abejas ya que causa efectos letales perjudicando principalmente su crecimiento y por ende la viabilidad de la colonia y además reduciendo su capacidad de polinizar (Eler et al., 2018).

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Ubicación de ensayo

La presente investigación se realizó en la Universidad Católica de Cuenca, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, la misma que está ubicada en la Provincia del Azuay, cantón Cuenca de la región interandina de Ecuador, Tarqui hacienda Gullanzhapa, situada al suroeste de El Valle y en la hoya del rio Paute, a una altitud de 2550 metros sobre el nivel del mar y con una temperatura promedio de 15°C (Figura 5).

Figura 5: Ubicación del ensayo
Fuente: (Glogle Maps, 2021)

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Materiales de Campo

- Parrillas para sustentación de colmenas (bases)
- Bases de metal
- Cámara de cría de colmenas Langstroth
- Tapas
- Entre tapas
- Alimentadores

- Bastidores
- Palanca tipo J
- Pinzas levanta cuadros
- Cepillo para desabejar
- Láminas de cera
- Ahumador
- Cuchillo
- Azadón
- Cartón
- Fósforos
- Cámara fotográfica
- Baldes
- Libreta de campo
- Letreros de identificación

3.2.2. Biológicos

- Colonia de abejas (Apis melífera), zánganos +/- entre 30 a 60 días.
- Alimentación (Jarabe)

3.2.3. Equipos y materiales de laboratorio

- Equipos de protección (velo, overol, guantes, botas).
- Computadora
- Sistema CASA, SCA®, versión 6.4.0
- Sonicador (MISONIX®)
- Baño de María
- Instrumental Schley
- Tubería de succión
- Puntas de succión
- Microscopio
- Plancha termorregulador
- Pipetas Pasteur de vidrio
- Mechero a gas

- Tubos Eppendorf
- Puntas de pipetas
- Gradillas
- Porta objetos
- Cubre objetos

3.2.4. Reactivos

- Diluyente Taylor
- Tinción Sperm Blue
- Tinción diff quick
- Yoduro de propilo

3.3. Variables

3.3.1. Variables independientes

- Dosis en base a glifosato (0,25%, 0,15%, 0,10% y al 0,05%).

3.3.2. Variables dependientes

- Exposición a glifosato (tiempo de muerte, vuelo, caminar y detenimiento).
- Morfología espermática (longitud, anchura, área de la cabeza, perímetro, elongación, rugosidad, regularidad, volumen, concentración, vitalidad y muerte).

3.4. Diseño experimental

El experimento se lo realizó en los meses de agosto del 2021 y enero 2022 en los cuales se utilizaron zánganos de diferentes localidades: Tarqui, Paute y Cuenca, con una edad comprendida entre 30 a 60 días, teniendo en cuenta que en esa edad son aptos para la fecundación mismos que fueron distribuidos bajo un diseño completamente al azar en 4 tratamientos y 3 repeticiones por cada tratamiento con su diferente dosis de glifosato de sello verde (Glyphosate isopropylamine salt) 480g/L, y aditivos (c.s.p. 1L).

- T1. Dosis del 0,25%
- T2. Dosis del 0,15%
- T3. Dosis del 0,10%

- T4. Dosis del 0,05%

Las variables evaluadas en tiempo fueron:

- Muerte
- Vuelo
- Caminar
- Detenimiento

En el cual fueron utilizados 4 zánganos por cada tratamiento en diferente dosis de aplicación y medidos parámetros ya mencionados.

En el muestreo para medir la calidad seminal, se utilizaron 14 zánganos que fueron divididos en 8 zánganos sin glifosato y 6 zánganos frente a la exposición del mismo midiendo así los siguientes parámetros:

- Morfología (longitud, ancho, área de cabeza, perímetro, elipticidad, rugosidad, regularidad)
- Volumen espermático
- Concentración espermática
- Vitalidad del esperma
- Muerte del espermatozoide

3.5. Procedimiento

3.5.1. Exposición de glifosato y supervivencia de zánganos

Los 16 zánganos utilizados de cada lugar; Tarqui, Paute y Cuenca, fueron colocados en 4 cajas de mantenimiento, con una dimensión de 40 x 40 x 40 cm, fueron perforadas con orificios de 3mm de diámetro en sus diferentes caras para la oxigenación. También se realizó una puerta de entrada y salida para los zánganos.

Se utilizó glifosato de sello verde (Glyphosate isopropylamine salt) 480g/L, y adictivos (c.s.p. 1L), que son manejados en la región, se prepararon 4 dosis decrecientes de acuerdo a las dosis recomendadas en los prospectos adjuntos en el producto (Agrahao & Afecor, 2022) Las dosis establecidas fueron realizadas de la siguiente manera;

Cuadro 2: Dosis establecidas de Glifosato

Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3	Dosis 4
0,25%	0,15%	0,10%	0,05%

En la cual fueron distribuidas de lo siguiente: primera hasta la cuarta caja de mantenimiento fueron colocados 4 zánganos en cada una de ellas. Este procedimiento fue repetido por 4 tratamientos de exposición a glifosato (Glyphosate isopropylamine salt) 480g/L y adictivos (c.s.p. 1L), midiendo parámetros de valoración de supervivencia. En las diferentes exposiciones a glifosato (Glyphosate isopropylamine salt) 480g/L y adictivos (c.s.p. 1L), se trabajó con un timer y se verifico el tiempo en la que los zánganos muestran el siguiente comportamiento que fue desde lo más grave (muerte) hasta movimientos. Se verifico de tal manera el tiempo de muerte, de vuelo, movimiento al caminar y detenimiento.

3.5.2. Exposición al glifosato y características espermáticas

Se utilizaron 14 zánganos que fueron expuestos a la dosis recomendada en el paso anterior durante un tiempo de 120 minutos, de ahí se procedió a la recuperación de zánganos y se realizó la extracción bajo un estereoscopio, y con una presión digital en el abdomen provocando de esta manera la eversión completa del endofalo (aparato reproductor del macho); con una pipeta Pasteur alargada de vidrio utilizando un mechero a gas se tomó una mínima cantidad de diluyente Taylor y se realizó punciones en el saco del endofalo para recuperar el semen por capilaridad, el contenido de cada muestra espermática fue colocado en tubo Eppendor de 1,5 ml, luego ser medido en volumen y concentración. La cinética fue medida en el sistema CASA, SCA versión 6.4.0. para este propósito se utilizó una fracción del esperma diluido en diluyente Taylor, de tal manera llevado a porta y cubre objetos; de la muestra diluido se tomó 5 ml y se colocó en un porta objetos para realizar el frotis; de igual manera el frotis se dejó secar en una platina térmica y después se sumergió en la tinción de SperBlue durante 10 minutos, las muestras se extrajeron de la tinción y se dejaron escurrir por 1 minuto. Posteriormente se lavaron durante 1 0 2 segundos sumergiendo las muestras teñidas en agua destilada y se dejaron secar. Las muestras secas fueron fijadas usando el medio montaje fluromont y un cubre objeto largo.

Finalmente se utilizó la tinción diff quick para observar la morfología de los espermatozoides.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS

4.1. Descripción de resultados

- **Tiempo de muerte**

Cuadro 3: Tiempo de muerte de los zánganos

Tiempo de muerte

Cuadro de Análisis de la Varianza SC tipo III

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	128320,42	5	25664,08	4,94	0,0387
DOSIS	93768,92	3	31256,31	6,02	0,0306
LUGAR	34551,5	2	17275,75	3,32	0,1067
Error	31177,83	6	5196,31		
Total	159498,25	11			

El análisis de varianza de tiempo de muerte determinó que el lugar de ubicación de las colmenas con la aplicación del glifosato no afecta a las variables analizadas, no encontrando diferencia significativa con un valor de (p=0,1067); sin embargo, la dosis de glifosato utlizada en las colmenas afectó (p=0,0306), esto se ve reflejado en el ADEVA (Cuadro 3) y en la Figura 6, donde se observa que bajo la dosis de 0,25% los zánganos mueren a 25 minutos, frente al 0,15% que muere a 43 minutos, a 0,10% mueren a 112 minutos y a 0,05% mueren a los 250 minutos.

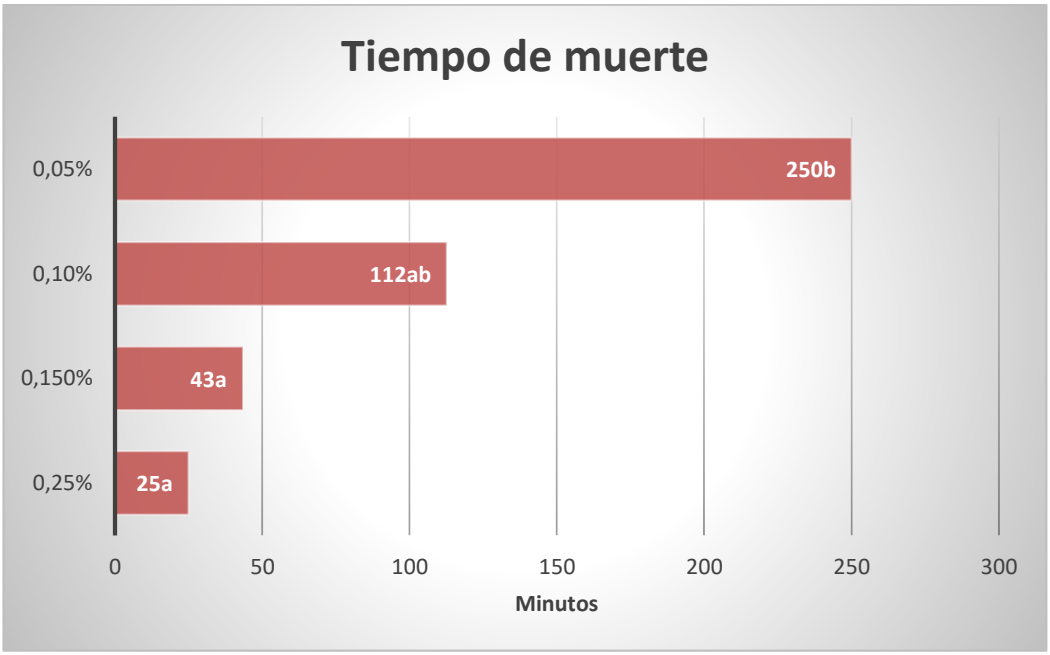


Figura 6: **Tiempo de muerte de los zánganos**

- **Tiempo de vuelo**

Cuadro 4: Tiempo de vuelo de los zánganos

Tiempo de vuelo					
Cuadro de Análisis de la Varianza SC tipo III					
F.V.	**SC**	**Gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	1001,83	5	200,37	5,25	0,0338
DOSIS	920,33	3	306,78	8,03	0,016
LUGAR	81,5	2	40,75	1,07	0,4014
Error	229,17	6	38,19		
Total	1231	11			

El Cuadro 4, refleja que tiempo de vuelo , el lugar de ubicación de las colmenas con la aplicación del glifosato, no determina diferencia significativa con un valor de (p=0,401), mientras tanto,se exhibe que en dosis de utilización de glifosato se comprueba diferencia;(p=0,016), dando a conocer en la Figura 7, que la dosis 0,25% los zánganos vuelan a 2,33 minutos estadisticamente diferente al 0,05% que vuela a los 25,33 minutos, tanto a 0,15% y 0,10% los tiempos de vuelo no reflejan diferencia estadistica.

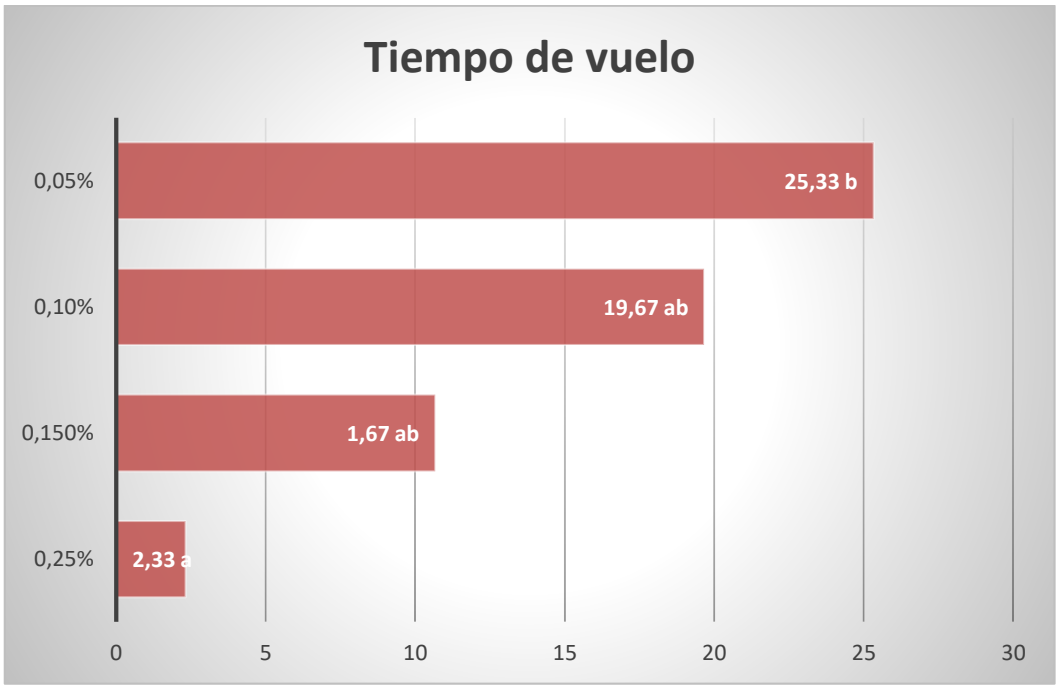


Figura 7: **Tiempo de vuelo de los zanganos**

- **Tiempo de caminar**

Cuadro 5: Tiempo de caminar de los zánganos

Tiempo de caminar

Cuadro de Análisis de la Varianza SC tipo III

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	104603,67	5	20920,73	4,64	0,0442
DOSIS	75069,67	3	25023,22	5,56	0,0363
LUGAR	29534	2	14767	3,28	0,1091
Error	27027,33	6	4504,56		
Total	131631	11			

El Cuadro 5, se observa que el análisis de varianza de tiempo de caminar no resgistra diferencia significativa en lugar de establecimiento de las colmenas con la aplicación del herbicida con valor de (p=0,1091);sin embargo, refleja en la tabla que en la dosis de utilización del herbicida muestra diferencia significativa (p=0,0363). Se observa en la Figura 8, que bajo la dosis de 0,25% el tiempo de caminar de los záganos es de 19,67 minutos frente a 0,05% que caminan por el lapso de 218,33 minutos. Tanto a 0,15% y 0,10% los tiempos de vuelo no difieren estadisticamente frente a 0,25 y 0,05%.

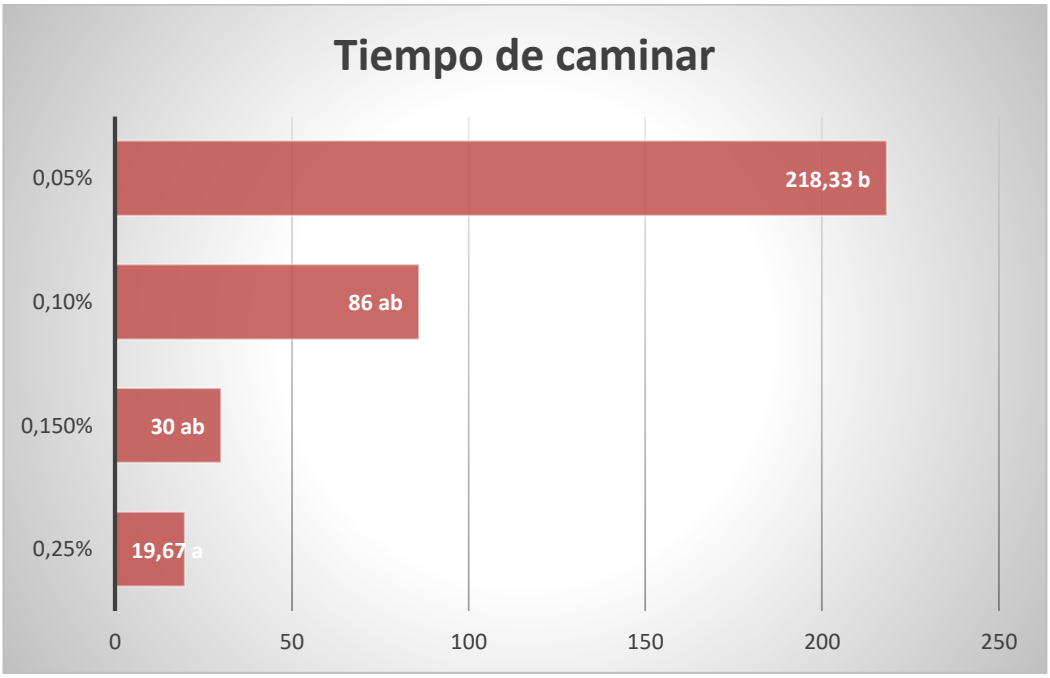


Figura 8: **Tiempo de caminar**

- **Tiempo de detenimiento**

Cuadro 6: Tiempo de detenimiento de los zánganos

Tiempo de detenimiento

Cuadro de Análisis de la Varianza SC tipo III

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	93,42	5	18,68	1,29	0,3774
DOSIS	44,92	3	14,97	1,03	0,442
LUGAR	48,5	2	24,25	1,68	0,2641
Error	86,83	6	14,47		
Total	180,25	11			

El Cuadro 6, se estima el tiempo de detenimiento, se observa que no hay diferencia significativa en el lugar de ubicación de las colmenas con utilización de glifosato con un valor (p=0,2641), sin embargo en porcentajes de dosis con utilización del glifosato se encuentra diferencia significativa con valor de (p=0,0442). En la figura 9, se observa que a dosis de 0,25% se detienen a los 3 minutos, 0,15% a los 2,67; observandose diferencias del 0,10% a los 7 minutos y al 0,05% a los 6,33 minutos.

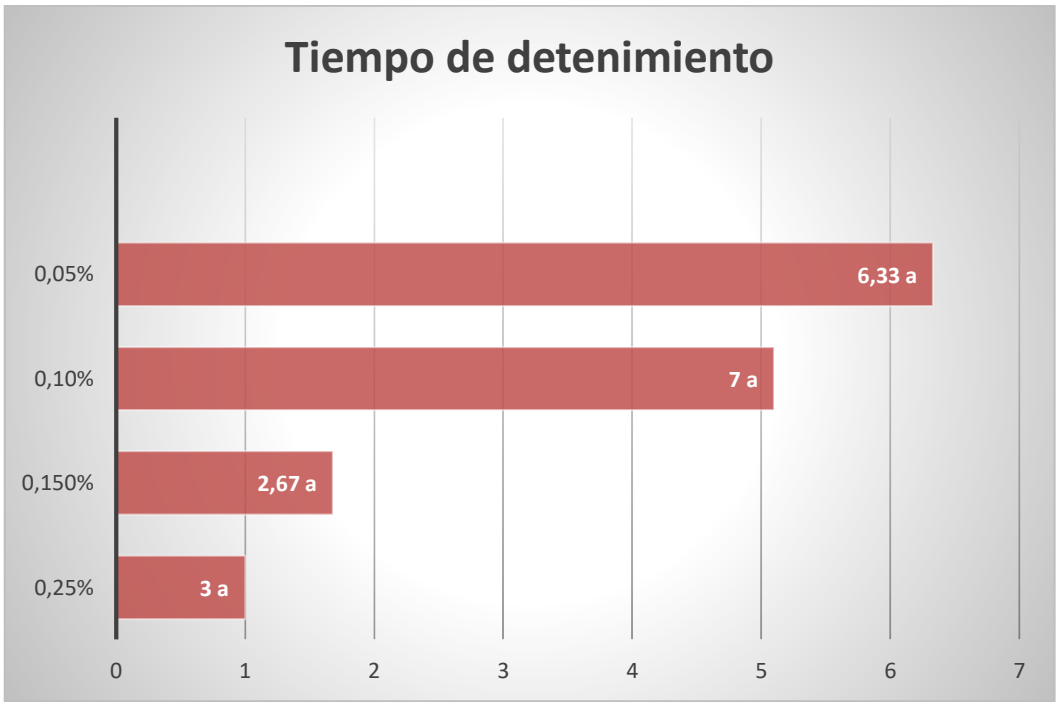


Figura 9: **Tiempo de detenimiento de los zánganos**

- **Calidad espermática de los zánganos**

Cuadro 7: Calidad espermática de los zánganos

Calidad espermática						
Clasificación	**Variable**	**(CON)n**	**(SIN)n**	**(CON)**	**(SIN)**	**p-valor**
Tratamiento	Longitud	6	8	7,02 (1,35)	6,99 (1,07)	0,9627
Tratamiento	Anchura	6	8	0,97 (0,16)	1,27 (0,33)	0,0574
Tratamiento	Cabeza	6	8	6,37 (0,94)	7,3 (0,77)	0,0641
Tratamiento	Perímetro	6	8	11,13 (1,19)	11,65 (0,84)	0,3605
Tratamiento	Elipticidad	6	8	5,99 (0,52)	5,95 (0,94)	0,9222
Tratamiento	Elongación	6	8	0,64 (0,08)	0,71 (0,11)	0,2003
Tratamiento	Rugosidad	6	8	0,64 (0,11)	0,72 (0,17)	0,363
Tratamiento	Regularidad	6	8	0,74 (0,07)	0,76 (0,08)	0,6019
Tratamiento	Volumen	6	8	0,44 (0,08)	0,45 (0,11)	0,7812
Tratamiento	Concentración	6	8	5,9 (3,77)	7,1 (4,32)	0,5983
Tratamiento	Vitalidad	6	8	43 (3,90)	76 (9,93)	< 0,0001
Tratamiento	Muerte	6	8	57,17 (4,17)	24,88 (9,01)	< 0,0001

En el Cuadro 7, exhibe que, las variables de longitud, anchura, cabeza, perímetro, elipticidad, elongación, rugosidad, regularidad, volumen, y concentración de las células espermáticas de zánganos bajo estudio (con y sin glifosato) no existe diferencia significativa (p>*0.05) según la prueba T de student*; mientras que las variables de vitalidad y muerte espermática registraron diferencia significativa (p< 0,0001).

4.2. Discusión

En el presente estudio ante la exposición de los zánganos a glifosato en niveles de 0.25, 0.15, 0.10 y 0.05% se demostró que, en las diferentes variables estudiadas como; tiempo de muerte, de vuelo, de caminar, de detenimiento y morfología espermática (vitalidad y muerte) se reporta diferencia significativa. Para la variable de tiempo de muerte se reporta que con la inclusión del 0.25, 0.15, 0.10 y 0.05% de glifosato se obtuvo un tiempo de muerte de 25, 43, 112, 250 minutos respectivamente, al igual que Abraham et al., (2018) en su estudio utilizaron herbicidas a base de glifosato (360g) rociado en las plantas, obteniendo como resultado que al momento de entrar en contacto las abejas con las plantas tenían una muerte inmediata; de la misma manera Zhu et al., (2017) utilizaron la mezcla de varios pesticidas entre ellos el glifosato obteniendo una mortalidad del 100%; sin embargo Díaz (2015) quien en su investigación manejó el oxifluorofeno y glifosato en las abejas, alcanzando una mortalidad a las 48 horas posterior a la aplicación.

Por otro lado, en cuanto a la variable del tiempo de vuelo del zángano se encontró diferencia significativa con la inclusión del 0.25 y 0.05% de glifosato obteniendo tiempos de 2.33 y 25.33 minutos correspondientemente; datos que se relacionan con Balbuena et al., (2015) quienes utilizaron el glifosato como alimento para las abejas con la inclusión de 10 mg, obteniendo como resultado un incremento en el tiempo que las abejas ocuparon para poder retornar a su colmena en comparación de los otros tratamientos; de la misma manera Straub et al., (2021) detallan en su estudio al utilizar tiametoxam, clotianidina afectó en su actividad de vuelo durante tres días provocando efectos subletales en lo que respecta al comportamiento de las abejas macho, sin embargo, Delkash S. et al., (2020) indican que al utilizar el glifosato a razón de 0,12 y 0,24 mgL -1 no obtuvo ningún efecto sobre el movimiento de la abeja.

Por otra parte, referente a la variable del tiempo de caminar se obtuvo diferencia significativa con la inclusión del 0.25 y 0.05% obteniendo valores de 19.67 y 218.33 minutos consecuentemente; datos similares expresan Luo et al., (2021) quienes emplearon el glifosato en las abejas (zánganos) obteniendo como resultado la afectación tanto en la capacidad de aprendizaje olfativo como en la capacidad de caminar.

De igual forma, en relación con la variable de tiempo de detenimiento se evidenció diferencia significativa entre todas las dosis de inclusión empleadas (0.25, 0.15, 0.10, y 0.05%); al igual que Farina et al., (2019) quienes expresan que el glifosato afecta directamente de forma negativa las habilidades sensoriales y cognitivas de la abeja; sin embargo Delkash et al., (2020) en su investigación compararon el glifosato ante otros pesticidas obteniendo como resultado que el glifosato no ejerce efecto negativo en cuanto al detenimiento o movimiento de las abejas.

Finalmente, con relación a la calidad espermática de los zánganos en el presente estudio se evidenció que en gran parte de los parámetros no obtuvieron diferencia significativa, sin embargo, en lo que respecta a la vitalidad y la muerte del espermatozoide si se vio afectado; datos que son apoyados González et al., (2018) quienes emplearon un herbicida (glufosinato) en ratones a razón de 5, 7.5 y 10 mg/kg/d, obteniendo como resultado que ejerció alteraciones sobre los parámetros de calidad espermática;

4.3. Conclusiones

- Se determinó que la inclusión del 0,25 y 0,5% no influye sobre los parámetros de tiempos en dosis de glifosato, ocasionando de tal manera la muerte de los zánganos, aunque se vean reflejados las diferencias en minutos.
- Con la dosis de 0,25% de glifosato en zánganos que fueron sometidos para medir calidad espermática frente a zánganos que fueron expuestos como control se puede verificar que no influye dentro de morfología; sin embrago, se ve reflejado que hay diferencia en vitalidad y muerte de los espermatozoides de los zánganos.
- Se cuantificó a 6 zánganos que fueron expuestos a glifosatos con dosis de 0,25% y medidos vitalidad y muerte.
- De todos estos parámetros estudiados concluyo que los herbicidas, (glifosatos) Glyfocor, son parte perjudicial para el medio ambiente sobre todo a los zánganos afecta directamente a la reproducción, de la misma manera incita a la población humana un déficit de alimento.

4.4. Recomendaciones

- Mantener un hábitat adecuado para la supervivencia de las abejas, evitando los herbicidas sistémicos, lo que hacen que todas las partes de la planta incluyendo néctar y polen sean tóxicos para las abejas.
- Incentivar a entidades como son, Agrosad, Agrocalidad, Bayer, etc., a la disminución de herbicidas a controlar las plantaciones, huertos entre otros cultivos, con productos orgánicos que no afectaran en los polinizadores con la toxicidad del producto.

IX. BIBLIOGRAFÍA

Abdelkader, F., Kairo, G., Tchamitchian, S., Cousin, M., Senechal , J., Crauser , D., . . . Brunet, J.-L. (2014). Semen quality of honey bee drones maintained from emergence to sexual maturity under laboratory, semi-field and field conditions. *Apidologie, 45*(2), 215-223. Obtenido de https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01234717

Abraham, J., Benhotons , G., Krampah , I., Tagba , J., Amissah , C., & Abraham , J. (2018). Commercially formulated glyphosate can kill non-target pollinator bees under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata, 166*(8), 695-702. doi:10.1111/eea.12694

Agrahao, & Afecor. (2022). Glyfocor herbicida Agricola. *Agrahao company Limitad*.

Aguero, J., Rollin, O., Torreta, J., Aizen, M., Requier, F., & Garibaldi, L. (2018). Impactos de la abeja melífera sobre plantas y abejas silvestres en hábitats naturales. *Revista Cientifica de ecología y medio ambiente, 27*(2), 60-69. doi:https://doi.org/10.7818/ECOS.1365

Alamilla, J., Pavón , C., Oreza, W., Caamal, J., & Aceves, E. (2017). Autoproducción de abejas reinas. *Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación*, 2-13. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/320434322_Autorpoduccion_de_abejas_reina

Balbuena, M., Tison, L., Hahn, M., Greggers, U., Menzel, R., & Farina, W. (2015). Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *Journal of Experimental Biology, 218*(17), 2799-2805. doi:10.1242/jeb.117291

Bedmar, F. (2011). Informe especial sobre plaguicidas agrícolas. *Revista Ciencia hoy, 21*(122), 10-16. Obtenido de http://www.cienciahoy.org.ar/ch/ln/hoy122/Plaguicidas%20-%20Bedmar.pdf

Botias, C., & Sánchez, F. (2018). Papel de los plaguicidas en la pérdida de polinizadores. *Revista Científica de Ecología y Medio Ambiente, 27*(2), 34-41. doi:http://dx.doi.org/10.7818/ECOS.1314

Campuzano, C., Feijoó, L., Manzur, K., Palacio, M., Rendón, J., & Zapata, J. (2017). Efectos de la intoxicación por glifosato en la población agrícola: revisión de tema. *Revista CES, 8*(1), 121-133. Obtenido de https://revistas.ces.edu.co/index.php/ces_salud_publica/article/view/4427/2824

Cancho, C. E. (2018). Evaluación de la actividad mitocondrial como parámetro de calidad espermática pre y post criopreservación en Apis mellifera de Pichanaki, Junín. *Universidad del Perú. Decana de América*, 22. Obtenido de https://hdl.handle.net/20.500.12672/10463

Castillo , J. (2019). *Efecto de dos crioprotectores sobre la viabilidad espermática de zánganos de abejas melíferas (Apis mellifera L.).* Lima: Repositorio de la Universidad Agraria la Molina. Obtenido de https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/4353/amen-castillo-joaquin-luis-ernesto.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Choque, D., Marza, R., & Waldir, C. (2017). *Manual práctico para el apicultor.* Obtenido de http://idr.umsa.bo/documents/545245/0/Manual+Practico+Apicultor/22057f0d-9415-4707-aad3-e0ee4c277096

Contreras, L., & Magaña, M. (2018). Análisis foda de la apicultura en pequeña escala en el Litoral centro de Yucatán. *Revista de El Colegio de San Luis, 3*(16), 295-310. Obtenido de https://www.redalyc.org/jatsRepo/4262/426259450002/426259450002.pdf

Delkash, S., Chicas, A., Goldansaz, S., Talebi, K., Ashouri, A., & Abramson, C. (2020). Assessment of lethal and sublethal effects of imidacloprid, ethion, and glyphosate on aversive conditioning, motility, and lifespan in honey bees (Apis mellifera L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety, 204*, 1-12. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.111108

Delkash, S., Chicas, A., Hossein, S., Talebi, K., Ashouri, A., & Abramson, C. (2020). Assessment of lethal and sublethal effects of imidacloprid, ethion, and glyphosate on aversive conditioning, motility, and lifespan in honey bees (Apis mellifera L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety, 204*, 1-43. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.111108

Díaz, R. (2015). *Efecto de seis plaguicidas sobre mortalidad en dos especies de abejas: Apis mellifera y Tetragonisca angustula (Hymenoptera: Apidae).* Honduras: Zamorano. Obtenido de https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4576/1/CPA-2015-029.pdf

Eler , V., Cupertino, R., Guedes, E. J., & Pereira , M. A. (2018). Glyphosate is lethal and Cry toxins alter the development of the stingless bee Melipona quadrifasciata. *Environ Pollut, 243*, 1854-1860. doi:10.1016/j.envpol.2018.10.020.

Ellis, J. (2015). La anatomía externa de las abeja Melífera. *American Bee Journal*, 1912-1938. Obtenido de https://americanbeejournal.com/the-components-of-a-honey-bee-nest/

Encalada, E. (15 de Marzo de 2021). Introduccion de calidad de zangano. (Erika, Ed.) *Calidad del semen, 1*(1), 1.

Farina, W., Balbuena, M., Herbert, L., Goñalons, C., & Vázquez, D. (2019). Effects of the herbicide glyphosate on honey bee sensory and cognitive abilities: Individual impairments with implications for the hive. *Insects, 10*(10), 1-16. doi:10.3390/insects10100354

Fernández, P. (2011). *Dones del cielo abeja y miel en el Mediterráneo antiguo.* Madrid, España: Universidad Nacional de Educación a Distancia – UNED. Obtenido de https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=566882

Glogle Maps. (2021). Recuperado el 12 de Enero de 2020, de https://www.google.com.ec/maps/@-2.881172,-78.9598203,329m/data=!3m1!1e3

González , C., Moreno, M., Maruris, M., Hernández, M., Quintanilla, B., & Uriostegui, M. (2018). El Glufosinato de amonio altera la calidad y el ADN de los espermatozoides de ratón. *Rev. Int. Contam. Ambie.*, 7-15. doi:10.20937/RICA.2018.34.esp01.01

Gonzalez Rodríguez, L. E., Mora Olivo, A., Guerra Pérez, A., Garza Torres, H., & Castro Martínez, G. F. (2010). La apicultura en Tamaulipas, una actividad muy dulce y nutritiva. *CienciaUAT, 4*(4), 8-12. Obtenido de https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=441942920001

Herrera, L. (12 de Marzo de 2021). *Glifosato, el herbicida enemigo de las abejas.* Obtenido de Reporte Índigo: https://www.reporteindigo.com/reporte/glifosato-el-herbicida-enemigo-de-las-abejas/

Jaramillo, M., & Rodríguez, G. (2012). Implementación, mejoramiento y desarrollo en la producción y comercialización de Miel de Abeja en la Parroquia de Puellaro Provincia de Pichincha. *Repositorio Digital*, 1-217. Obtenido de http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/1557

Jimenéz Cristian, Pantoja, A., & Ferney, H. (2016). Riesgos en la salud de agricultores por uso y manejo de plaguicidas, microcuenca "La Pila". *Artículo de investigación científica y tecnológica, 18*(3), 417-431. doi:http://dx.doi.org/10.22267/rus.161803.48

Lago, D., Martins, J., Dallacqua, R., Santos, D., Bitondi, M., & Hartfelder, K. (2020). Testis development and spermatogenesis in drones of the honey bee, Apis mellifera L. *Apidologie, 51*(6), 953-955. doi:10.1007/s13592-020-00773-2

Lara, J. M. (2019). Biologia, Toxinoligia y terapeutica de especies venenosas de interes veterinaria en Nicaragua. *Repositorio Institucional*, 1-277. Obtenido de http://repositorio.una.edu.ni/id/eprint/3925

Lino, J., Báo , S., & Dolder, H. (2000). Sperm ultrastructure of the honey bee (Apis mellifera) (L) (Hymenoptera, Apidae) with emphasis on the nucleus-flagellum transition region. *Tissue Cell., 32*(4), 322-7. doi:10.1054/tice.2000.0119

Llorente, J. (10 de Octubre de 2008). *Anatomia externa de la abeja.* Obtenido de Fundación amigos de las abejas: https://abejas.org/anatomia-externa-de-las-abejas/

Loeza, H., Dominguez, A., Copas, K., Vivas, J., Escalera, F., & Ramon, J. (2019). Efecto de la yema de huevo sobre la criopreservación espermática de zángano

(Apis mellifera). *Abanico Veterinario, 9*, 1-11. doi:http://dx.doi.org/10.21929/abavet2019.921

Luo, Q., Gao, J., Guo, Y., Liu, C., Ma , Y., Zhou, Z., . . . Diao, Q. (2021). Effects of a commercially formulated glyphosate solutions at recommended concentrations on honeybee (Apis mellifera L.) behaviours. *Scientific Reports, 11*(1), 1-8. doi:10.1038/s41598-020-80445-4

Maalaps, K. (2014). *Sperm management in honey bees: Counting sperm on honey bee eggs to measure queen fertility.* Tartu: Estonian University of life sciences. Obtenido de https://dspace.emu.ee/xmlui/bitstream/handle/10492/1717/Kristiina_Maalaps_MA2014.pdf?sequence=3&isAllowed=y

Martin, N., & Arenas, N. (2018). Daño colateral en abejas por la exposición a pesticidas de. *Ciencias Agrícolas, 14*(1), 232-240. doi:http://dx.doi.org/10.18041/entramado.2018v14n1.27113

Matricardi, L. (2014). *Efecto de la alimentación con yogurt sobre el conteo de quistes de Malphigamoeba mellificae y esporas Nosema apis en la abeja (Apis mellifera).* Guatemala: Repositorio de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Obtenido de http://www.repositorio.usac.edu.gt/1894/1/Tesis%20Med%20Vet%20Luci%20Matricardi.pdf

Motta, E., Raymann, K., & Moran, N. (2018). Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS), 115*(41), 10305-10310. Obtenido de https://doi.org/10.1073/pnas.1803880115

Padilla, F., Flores, J., & Pérez, A. (2007). *El comportamiento de apareamiento en las abejas de la miel.* Córdoba: El colmenar. Obtenido de http://www.uco.es/dptos/zoologia/Apicultura/trabajos_libros/2007_Apareamiento_El_Colmenar.pdf

Peña, L., Pineda , M., Hernández, M., & Rodríguez , A. (2006). Toxinas naturales: abejas y su veneno. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica, 25*(1), 6-10. Obtenido de https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=55925101

Polaino, C. (2006). *Manual práctico del apicultor.* (1° edición ed.). Madrid, España: Cultural S.A. Obtenido de https://fama.us.es/discovery/fulldisplay?vid=34CBUA_US:VU1&tab=LibrariesSearch&docid=alma991009340359704987&lang=es&context=L&virtualBrowse=true

Quero, A. (2004). *Las abejas y la apicultura.* Oviedo. Obtenido de https://www.mieldemalaga.com/data/Las_abejas_y_la_apicultura.pdf

Ruiz, J., & Sánchez, D. (2014). Efecto de la concentración de glifosato presente en cuerpos de agua cercanos a campos de soya transgénica sobre la abeja Apis mellifera y la abeja sin aguijón Tetragonisca angustula. *Acta Zoológica*

Mexicana, 30(2), 408-413. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/pdf/azm/v30n2/v30n2a14.pdf

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SAGARPA). (13 de Junio de 2013). *Anatomía del aparato reproductor del zángano.* Obtenido de Apicultors Gironins Associats: http://www.aga.cat/index.php/es/articulos/articulos-de-interes/varios/75-anatomia-del-aparato-reproductor-del-zangano

Sekiné, K., Furusawa, T., & Hatakeyama, M. (2015). The boule gene is essential for spermatogenesis of haploid insect male. *Developmental Biology, 399*(1), 154-163. Obtenido de https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.12.027

Simbaña, H. (2015). Evaluacion de tres mètodos de reproduccion de abejas reinas de la especie(Apies mellifera) en el Canton Pedro Moncayo. *Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana* , 1-82. Obtenido de https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/9837

Taylor, M., Guzmán , E., Morfin, N., & Buhr, M. (2009). Improving viability of cryopreserved honey bee (Apis mellifera L.) sperm with selected diluents, cryoprotectants, and semen dilution ratios. *Teriogenología, 72*(2), 149-159. doi:10.1016 / j.theriogenology.2009.02.012

Tofiño , A., Carbono, R., & Melo, A. (2020). Effect of glyphosate on microbiota, soil quality and biofortified bean crop in Codazzi, department of Cesar, Colombia. *Revista Argentina de Microbiología, 52*(1), 61-71. doi:https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.01.006

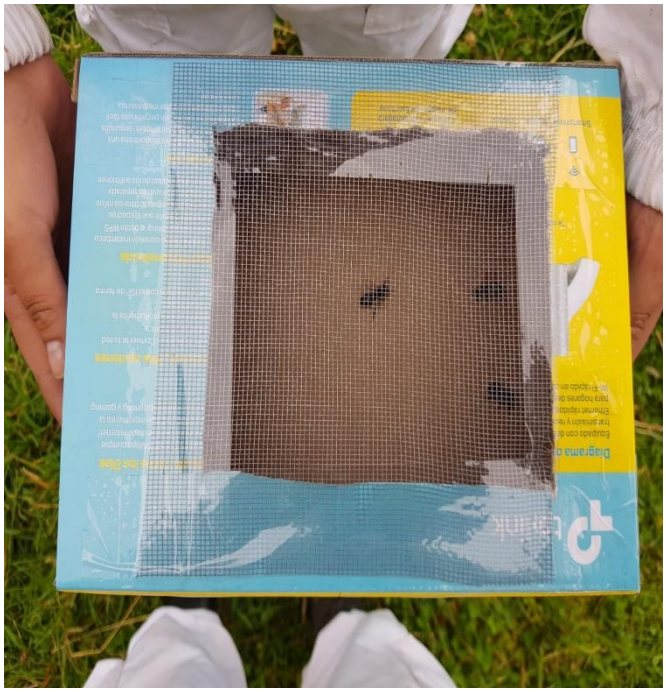
Tourmente, M., Cardozo, G., Guidobaldi, H., Giojalas, L., Bertona, M., & Chiaraviglio, M. (2007). Sperm motility parameters to evaluate the seminal quality of Boa constrictor occidentalis, a threatened snake species. *Res Vet Sci., 82*(1), 93-8. doi:10.1016/j.rvsc.2006.06.001

Villar, G., Hefetz, A., & Grozinger, C. (2019). Evaluating the Effect of Honey Bee (Apis mellifera) Queen Reproductive State on Pheromone-Mediated Interactions with Male Drone Bees. *Revista de ecología química, 45*(7), 588-597. doi:10.1007 / s10886-019-01086-0

Zhu , Y., Yao , J., Adamczyk , J., & Luttrell , R. (2017). Synergistic toxicity and physiological impact of imidacloprid alone and binary mixtures with seven representative pesticides on honey bee (Apis mellifera). *PLoS ONE, 12*(5), 1-16. doi:10.1371/journal.pone.0176837

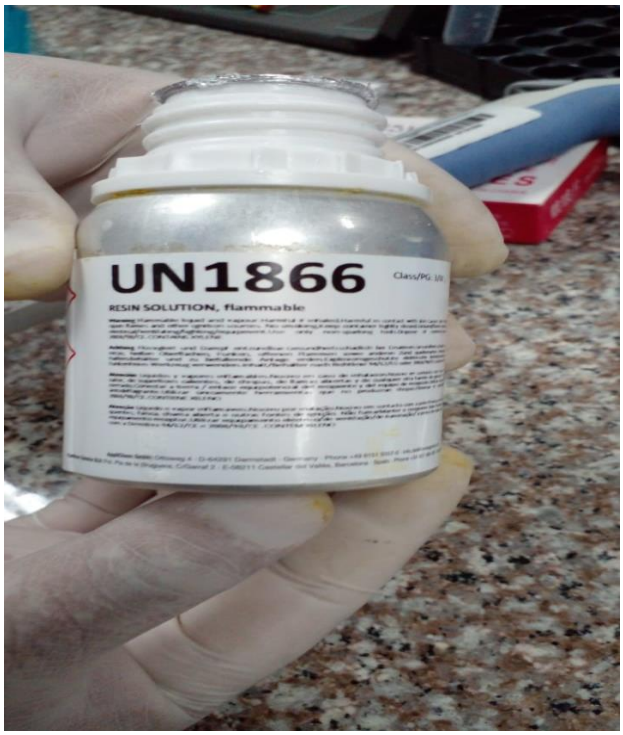
X. ANEXOS

- Recaudación y traslado de los zánganos

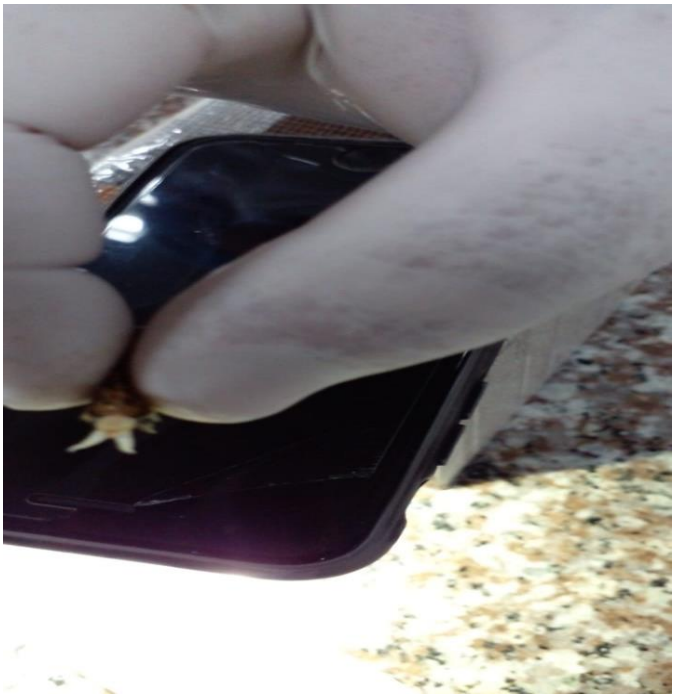


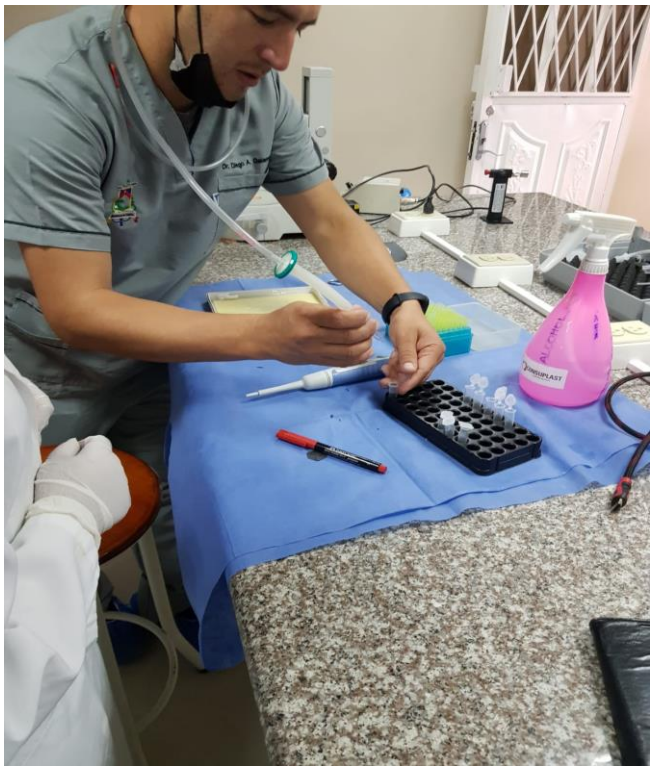
- Aplicación del producto químico (glifosato) a los zánganos

- Utilizacion de la toincion de Tinción diff quick y Sperm Blue

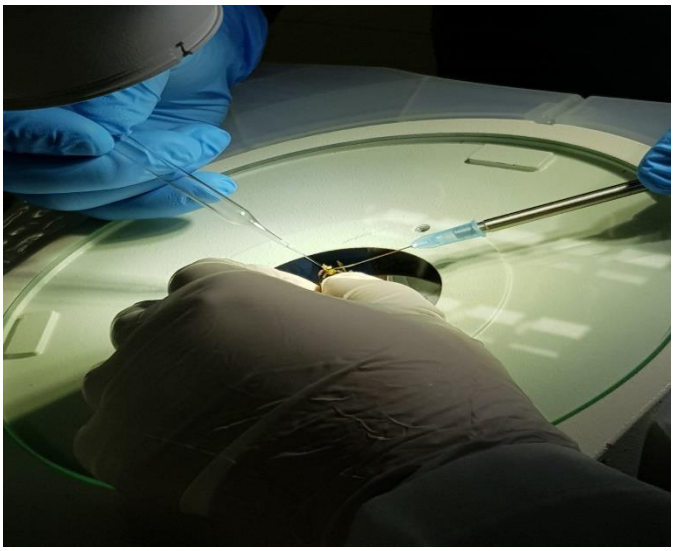


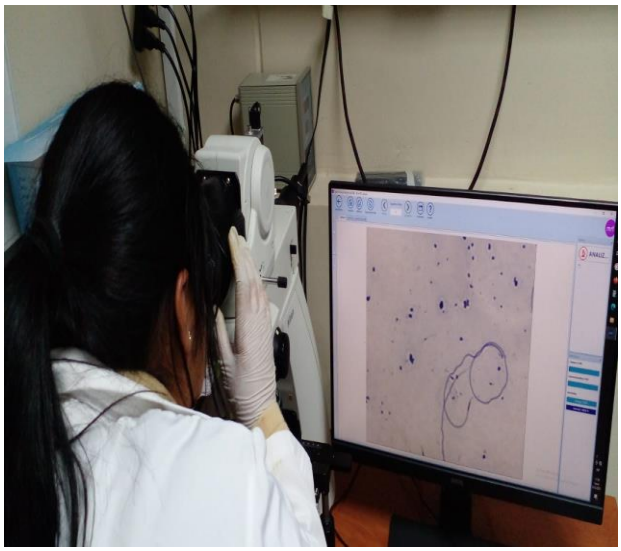
- Extracción y análisis del semen del zángano



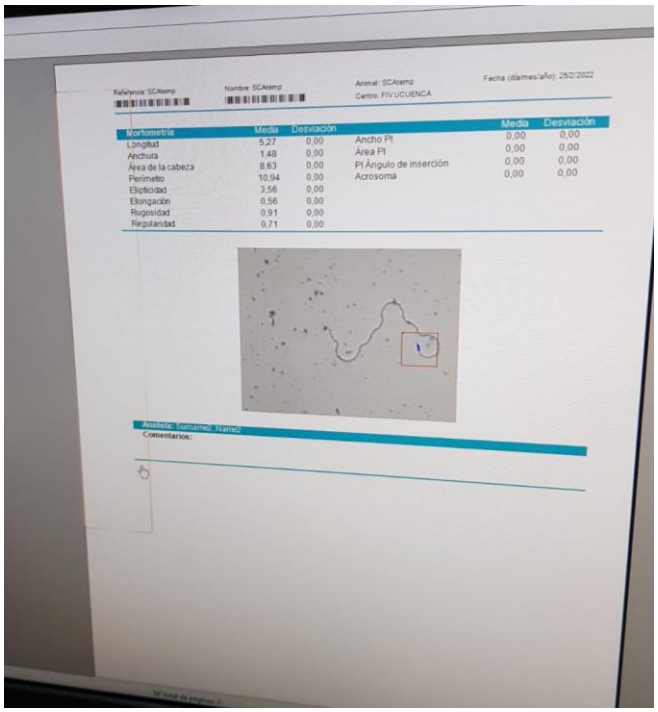


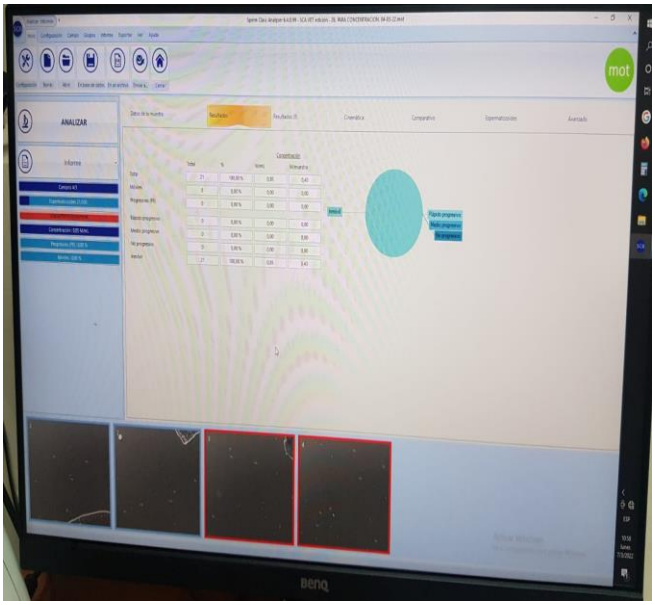
- Utilizacion del Sistema CASA, SCA®, versión 6.4.0





- Resultados de las variables analizadas

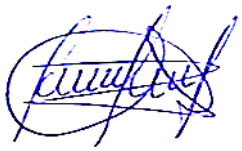



ANALIZAR
mot
BenQ

XI. ANEXO 1: PERMISO DE AUTOR DE TESIS PARA SUBIR AL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Erika Nelly Encalada Encalada portador(a) de la cédula de ciudadanía N.º 0106357023. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **"Calidad funcional y morfometría de espermatozoides de zángano expuestos a glifosato"** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 21 de abril del 2022



F: .....

Erika Nelly Encalada Encalada
C.I. 0106357023