



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

Facultad de Ciencias Agrarias
Escuela de Agronomía

Evaluación del efecto acaricida de timol sobre *Varroa destructor* Anderson & Trueman en colonias de *Apis mellifera* L.

Tesis presentada como parte de
los requisitos para optar al grado
de Licenciado en Agronomía

Carlos René Uribe Valenzuela

Valdivia Chile 2002

PROFESOR PATROCINANTE

Miguel Neira C.
Ing. Agr.

PROFESORES INFORMANTES

Roberto Carrillo LI.
Ing. Agr., M. Sc., Ph. D.

Juan Fuentealba A.
Prof. Biol. y Quím., M. Sc.

INSTITUTO DE PRODUCCION Y SANIDAD VEGETAL

PATROCINIO

Este experimento se realizó bajo el financiamiento del SERVICIO AGRICOLA y GANADERO (SAG), con su Proyecto N° 71, el que tiene por objetivo realizar: ***“Acciones sanitarias de prospección, control y vigilancia como bases para un programa de estrategias de manejo integrado de enfermedades en abejas para incrementar la producción de miel en la IX y X regiones de Chile”***.

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a aquellas personas que de forma directa e indirecta ayudaron a la culminación de esta etapa.

En general sólo tengo palabras de aprecio hacia las personas del Laboratorio de Entomología, en particular a Alex por su aporte en la parte en terreno del experimento, a don Roberto Carrillo por su paciencia y consejos tanto en la parte estadística como en el desarrollo mismo del trabajo en Tesis, a don Miguel Neira por su confianza para la realización de esta Tesis y por sus consejos en la parte técnica.

No puedo dejar de lado a mis compañeros y amigos que durante estos años de estudio me dieron su apoyo en las diferentes situaciones propias del que hacer universitario.

Y finalmente agradecer sinceramente a mis padres y hermanos por su esfuerzo y apoyo que a la postre dio sus frutos.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Varroasis	3
2.1.1	Identificación de ácaros causantes de la varroasis	4
2.2	Referencias históricas de <i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman	6
2.3	Distribución mundial de varroasis	7
2.4	Situación de la varroasis en Chile	7
2.5	Clasificación taxonómica	8
2.6	Morfología de varroa	8
2.7	Ciclo biológico de varroa	9
2.7.1	Entrada de las varroas en la cría	10
2.7.2	Postura de huevos de varroa	11
2.7.3	Desarrollo de las varroas	11
2.7.4	Apareamiento de la descendencia de varroa	12
2.7.5	Salida y diseminación de varroa	13
2.8	Daños producidos por varroa sobre <i>Apis mellifera</i> L.	14
2.8.1	Acción directa	14
2.8.2	Acción indirecta	15
2.9	Métodos de control	16
2.9.1	Tratamientos químicos	18

Capítulo		Página
2.9.2	Control biológico	18
2.9.3	Tratamientos orgánicos	20
2.9.3.1	Acidos orgánicos	20
2.9.3.2	Aceites esenciales	20
2.9.3.2.1	El potencial de los aceites esenciales	21
2.9.3.2.1.2	Fuente, historia, y preparación del timol	22
2.9.3.2.1.3	Descripción	23
3	MATERIAL Y METODO	24
3.1	Localización del ensayo	24
3.2	Materiales utilizados en el ensayo	24
3.2.1	Material biológico	24
3.2.2	Material no biológico	24
3.2.2.1	Material apícola	24
3.2.2.2	Otros materiales	24
3.2.2.3	Equipos	25
3.2.3	Productos químicos	25
3.3.	Metodología del ensayo	25
3.3.1	Período experimental	25
3.3.2	Diseño experimental	26
3.3.3	Descripción de los tratamientos	26
3.3.4	Método de aplicación de los tratamientos	26
3.3.5.	Parámetros a evaluar	27
3.3.5.1	Caída de varroas	27
3.3.5.2	Mortalidad de abejas	27
3.3.5.3	Nivel de infestación de varroa	28

Capítulo		Página
3.3.5.4	Pillaje de la colmena	28
3.3.5.5	Ventilación en la colmena	28
3.3.5.6	Registros meteorológicos	28
3.3.6	Observaciones y mediciones	29
3.3.7	Análisis estadístico de los datos	29
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	30
4.1	Alteraciones producidas en <i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman debido a la acción de timol en polvo	30
4.1.1	Caída de ácaros	30
4.1.2	Nivel de infestación en abejas adultas	36
4.2.	Alteraciones producidas en <i>Apis mellifera</i> L.	39
4.2.1	Pillaje en colmenas	39
4.2.2	Abejas muertas	44
4.2.3	Intensidad de ventilación de las colmenas	49
5	CONCLUSIONES	55
6	RESUMEN	57
	SUMMARY	59
7	BIBLIOGRAFIA	61
	ANEXOS	70

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Número de ácaros caídos en el ensayo 1, promedio para las diferentes dosis usadas, en las distintas horas de evaluación post aplicación	30
2	Número de ácaros caídos en el ensayo 2, promedio para las diferentes dosis usadas, en las distintas horas de evaluación post aplicación	31
3	Número de ácaros caídos en el ensayo 3, promedio para las diferentes dosis usadas, en las distintas horas de evaluación post aplicación	31
4	Número promedio de ácaros caídos, para las evaluaciones post aplicación en los diferentes ensayos	35
5	Nivel de infestación (%) en abejas adultas, promedio para las evaluaciones realizadas	36
6	Pillaje promedio, para cada tratamiento en el ensayo 1, en las distintas horas de evaluación post aplicación	40
7	Pillaje promedio, para cada tratamiento en el ensayo 2, en las distintas horas de evaluación post aplicación	40
8	Pillaje promedio, para cada tratamiento en el ensayo 3, en las horas de evaluación post aplicación	41
9	Número de pillajes, promedio para las evaluaciones post aplicación de los diferentes ensayos	44
10	Abejas muertas en el ensayo 1, promedio para los diferentes tratamientos, según las horas evaluadas post aplicación	45

Cuadro	Página
11 Abejas muertas en el ensayo 2, promedio para los diferentes tratamientos, según las horas evaluadas post aplicación	45
12 Abejas muertas en el ensayo 3, promedio para los diferentes tratamientos, según las horas evaluadas post aplicación	46
13 Abejas muertas, promedio para las horas evaluadas post aplicación, en los diferentes ensayos	49
14 Intensidad de ventilación, promedio de las colmenas, para los distintos periodos post aplicación del ensayo 1	50
15 Intensidad de ventilación, promedio de las colmenas, para los distintos periodos post aplicación del ensayo 2	50
16 Intensidad de ventilación, promedio de las colmenas, para los distintos periodos post aplicación del ensayo 3	51
17 Evaluación de la intensidad de ventilación, promedio para las horas post aplicación de los diferentes ensayos	54

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Vista dorsal de hembra de varroa	3
2	Abeja adulta y cría de abeja infestada por varroa	4
3	Diferencias morfológicas entre varroas hembras adultas de <i>V. jacobsoni</i> (a,b) haplotipo de Java y <i>V. destructor</i> haplotipo de Corea (c,d)	6
4	Esquema de una hembra adulta en vista ventral (a la izquierda) y dorsal (arriba), y de un macho (abajo) de varroa	9
5	Abejas adultas con severos daños por ataque de varroa	15
6	Forma de aplicación de timol en polvo	27
7	Caída promedio de ácaros, provocada por las diferentes dosis de timol en el ensayo 1	34
8	Caída promedio de ácaros, provocada por las diferentes dosis de timol en el ensayo 2	34
9	Caída promedio de ácaros, provocada por las diferentes dosis de timol en el ensayo 3	35
10	Variación del nivel de infestación (%), promedio según las diferentes dosis de timol	38
11	Número promedio de pillajes, ocurridos post aplicación de las diferentes dosis de timol, en el ensayo 1	42
12	Número promedio de pillajes, ocurridos post aplicación de las diferentes dosis de timol, en el ensayo 2	42
13	Número promedio de pillajes, ocurridos post aplicación de las diferentes dosis de timol, en el ensayo 3	43

Figura		Página
14	Número promedio de abejas muertas, según las diferentes dosis de timol utilizadas en el ensayo 1	47
15	Número promedio de abejas muertas, según las diferentes dosis de timol utilizadas en el ensayo 2	48
16	Número promedio de abejas muertas, según las diferentes dosis de timol utilizadas en el ensayo 3	48
17	Intensidad de ventilación, promedio según las dosis aplicadas en el ensayo 1	52
18	Intensidad de ventilación, promedio según las dosis aplicadas en el ensayo 2	52
19	Intensidad de ventilación, promedio según las dosis aplicadas en el ensayo 3	53

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Distribución de haplotipos de <i>V. destructor</i> a nivel mundial	71
2	Ubicación de los contenedores de timol en la colmena	72
3	Trampa utilizada en el ensayo para capturar varroa	72
4	Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 24 h post aplicación en el ensayo 1	73
5	Análisis de varianza para la caída de ácaros ,a las 48 h post aplicación en el ensayo 1	73
6	Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 72 h post aplicación en el ensayo 1	73
7	Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 24 h post aplicación en el ensayo 2	74
8	Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 48 h post aplicación en el ensayo 2	74
9	Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 72 h post aplicación en el ensayo 2	74
10	Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 24 h post aplicación en el ensayo 3	75
11	Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 48 h post aplicación en el ensayo 3	75
12	Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 72 h post aplicación en el ensayo 3	75
13	Análisis de varianza para la caída de ácaros post aplicación, en el ensayo 1 a través del tiempo	76

Anexo		Página
14	Análisis de varianza para la caída de ácaros post aplicación, en el ensayo 2 a través del tiempo	76
15	Análisis de varianza para la caída de ácaros post aplicación, en el ensayo 3 a través del tiempo	76
16	Análisis de varianza del porcentaje de infestación, previo a la aplicación de timol	77
17	Análisis de varianza del porcentaje de infestación , post aplicación de timol	77
18	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 1	77
19	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 1	78
20	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 1	78
21	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 2	78
22	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 2	79
23	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 2	79
24	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 3	79
25	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 3	80
26	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 3	80
27	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje post aplicación, en el ensayo 1, a través del tiempo	80

Anexo		Página
28	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje post aplicación, en el ensayo 2 a través del tiempo	81
29	Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje post aplicación, en el ensayo 3 a través del tiempo	81
30	Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 24 h post aplicación para el ensayo 1	81
31	Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 48 h post aplicación para el ensayo 1	82
32	Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 72 h post aplicación para el ensayo 1	82
33	Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 24 h post aplicación para el ensayo 2	82
34	Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 48 h post aplicación para el ensayo 2	83
35	Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 72 h post aplicación para el ensayo 2	83
36	Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 24 h post aplicación para el ensayo 3	83
37	Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 48 h post aplicación para el ensayo 3	84
38	Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 72 h post aplicación para el ensayo 3	84
39	Análisis de varianza de abejas muertas post aplicación, en el ensayo 1 a través del tiempo	84
40	Análisis de varianza de abejas muertas post aplicación, en el ensayo 2 a través del tiempo	85
41	Análisis de varianza de abejas muertas post aplicación, en el ensayo 3 a través del tiempo	85

Anexo		Página
42	Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 1	85
43	Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 1	86
44	Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 1	86
45	Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 2	86
46	Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 2	87
47	Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 2	87
48	Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 3	87
49	Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 3	88
50	Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 3	88
51	Análisis de varianza para la intensidad de ventilación post aplicación, en el ensayo 1 a través del tiempo	88
52	Análisis de varianza para la intensidad de ventilación post aplicación, en el ensayo 2 a través del tiempo	89
53	Análisis de varianza para la intensidad de ventilación post aplicación, en el ensayo 3 a través del tiempo	89
54	Registros meteorológicos recopilados durante el ensayo	90
55	Tabla de datos de los parámetros recopilados durante la investigación	91

Anexo	Página
56 Tabla con los niveles de infestación inicial y final, promedio por tratamiento en abejas adultas	94

1. INTRODUCCION

El vuelco de las necesidades humanas por preferir el consumo de productos que sean tratados mínimamente con plaguicidas o que tengan la ausencia de éstos, ha llevado a la agricultura a cambios en los métodos de producción, con el propósito de minimizar los riesgos de contaminación por plaguicidas, en el ambiente y en la alimentación.

La apicultura no ha escapado a estos cambios de métodos y criterios, no sólo por las razones ya señaladas, sino que además, muchos de los productos utilizados en sanidad apícola han ido perdiendo eficacia, debido a la resistencia que han adquirido muchos patógenos.

Una de las enfermedades que presenta resistencia a los plaguicidas comúnmente utilizados en la apicultura: es la varroasis, cuyo agente causal es *Varroa destructor* Anderson & Trueman, debido principalmente al mal manejo de tales productos. Por lo tanto, para mantener bajos niveles de infestación de varroa y que no interfieran con la productividad, es necesario ir alternando métodos de control no tradicionales, para disminuir paulatinamente el uso de plaguicidas.

Entre los métodos de control alternativo, se puede mencionar el uso de aceites esenciales, específicamente el uso de cristales de timol para el control de varroa.

La hipótesis nula de la investigación es que el timol no produce efectos en el comportamiento de las abejas, ni tampoco, lograría modificar el comportamiento de varroa.

El objetivo general del presente estudio, es determinar el efecto acaricida del timol, bajo las condiciones climáticas reinantes en la zona sur de Chile.

Como objetivos específicos se plantean los siguientes:

- Evaluar la acción acaricida de timol sobre varroa, considerando los parámetros de caída de varroa y nivel de infestación de este ácaro.
- Determinar qué dosis de timol utilizada en el ensayo es la más eficaz, para controlar el parásito varroa.
- Analizar los efectos del timol sobre la conducta de las abejas, en los parámetros: mortalidad de abejas, pillaje e intensidad de ventilación.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Varroasis.

El agente causal de esta enfermedad es un ácaro del género *Varroa* (Figura 1), que se puede encontrar parasitando estados adultos de abejas reinas, obreras y zánganos, además de los estados inmaduros (Figura 2), es decir, larvas y pupas en celdillas operculadas (NEIRA, 1999).

Varroa es un ácaro parásito externo de las abejas *Apis cerana* Fab. y de *Apis mellifera* L., que se alimenta de la hemolinfa de abejas, tanto en su estado de cría como de adulto (HARBO y HARRIS, 1999).

La varroosis se extiende por casi todo el mundo y constituye el principal problema para la apicultura (COBEY, 2001), no sólo por los efectos directos que ocasiona, sino también por su participación en la diseminación de otras enfermedades (APINET, 1996).



FIGURA 1 Vista dorsal de hembra de varroa.

FUENTE: DENMARK y SANDORF (2000).

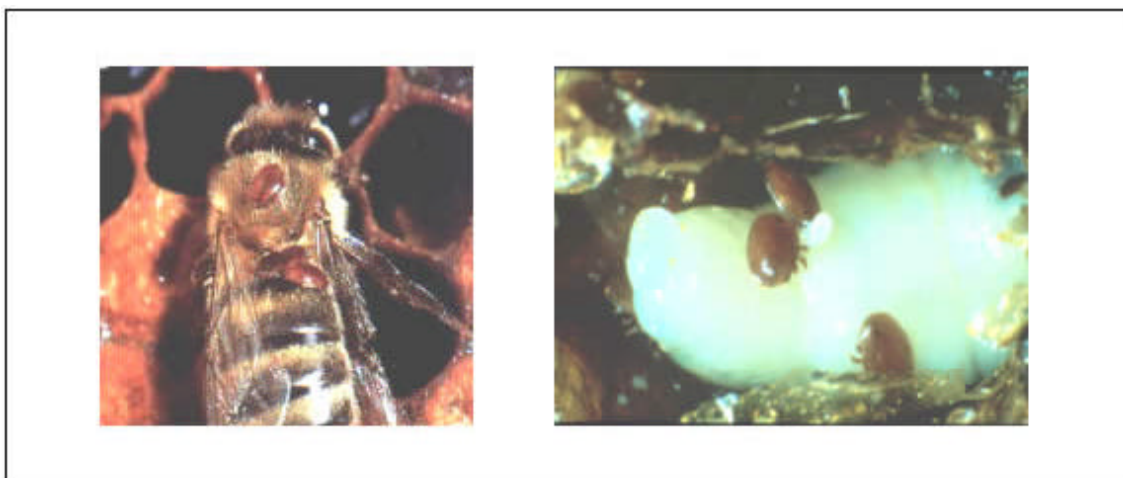


FIGURA 2 Abeja adulta y cría de abeja infestada por varroa.

FUENTE: HONEYFARM (s.f.).

2.1.1 Identificación de ácaros causantes de la varroosis. *Varroa jacobsoni* Oud. fue descrita inicialmente como un ectoparásito natural de *Apis cerana* Fab. en Asia, que posteriormente se hospedó en *Apis mellifera* L. Estudios recientes han reportado que existen variaciones genotípicas, fenotípicas y reproductivas entre *Varroa jacobsoni* Oud. que infesta a *Apis cerana* Fab., demostrando que es un complejo de especies que causan la varroosis, con dos especies diferentes como mínimo (ANDERSON y TRUEMAN 2000).

En una nueva clasificación *Varroa jacobsoni* Oud. fue redefinida en nueve haplotipos (ácaros con distinta secuencia de genes en el DNA mt), que infestan *Apis cerana* Fab. en la región de Malasia – Indonesia, incluido el haplotipo de Java, espécimen que fue usado para la descripción inicial de *Varroa jacobsoni* Oud. a comienzos del siglo anterior (ANDERSON y TRUEMAN 2000).

La otra especie corresponde a *Varroa destructor* Anderson & Trueman, anteriormente conocido como *Varroa jacobsoni* Oud., la que fue causante de la

destrucción total de poblaciones de la abeja melífera europea no manejadas, durante los últimos 15 años (UNIVERSITY OF MICHIGAN, s.f.).

Varroa destructor Anderson & Trueman, posee seis haplotipos que infestan *A. cerana* en el continente asiático, además existen tres haplotipos más que infestan *A. cerana* en las Filipinas, cuya posición taxonómica es incierta y requieren un estudio adicional (SANFORD, 2000).

Otros estudios divulgaron que solamente dos de los 18 diversos haplotipos dentro del complejo mundo de estos ácaros (*V. jacobsoni* y *V. destructor*) que infestan *A. cerana*, se han convertido en parásitos de *A. mellifera* por todo el mundo. Ambos pertenecen a *V. destructor*, ya que *V. jacobsoni* no puede utilizar *A. mellifera* para su reproducción y sólo puede habitar temporalmente en sus colonias. El más común es un haplotipo de Corea que fue identificado en *A. mellifera* en Europa, el Oriente Medio, África, Asia, y las Américas, menos común es un haplotipo de Japón – Tailandia, ver Anexo 1 (Anderson (1994); Anderson y Sukarsih (1996); Anderson y Fuchs (1998); citados por ANDERSON y TRUEMAN 2000).

Las hembras adultas de *V. destructor* son significativamente más grandes y menos esféricas en forma que las hembras de *Varroa jacobsoni* (Figura 3), además de diferenciarse reproductivamente. Investigaciones realizadas sobre *V. jacobsoni* en el pasado parasitando a *A. mellifera* son aplicables a *V. destructor* (ANDERSON y TRUEMAN 2000).

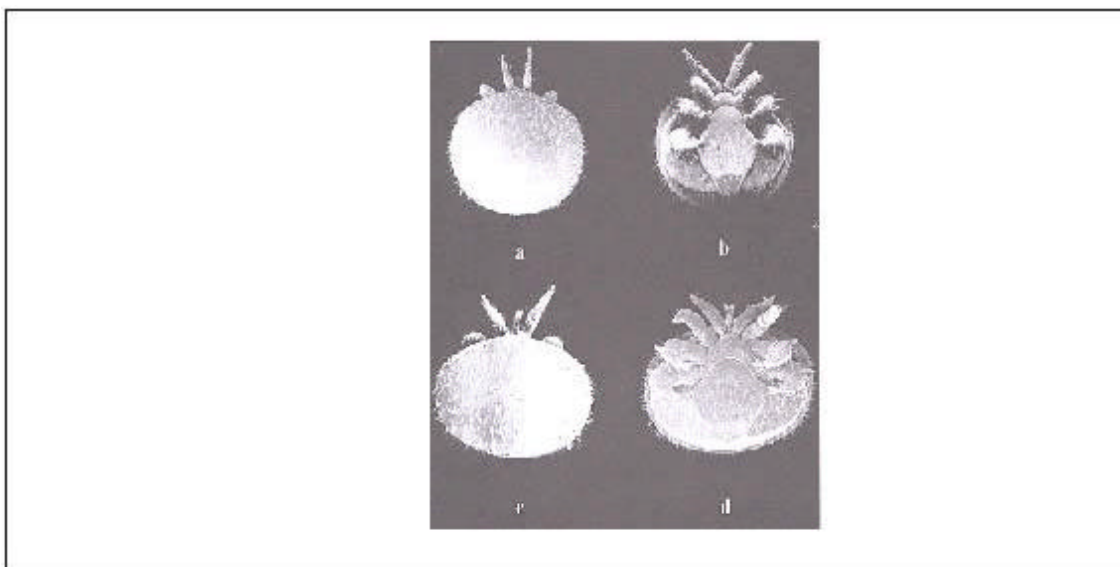


FIGURA 3 Diferencias morfológicas entre varroas hembras adultas de *V. jacobsoni* (a,b) haplotipo de Java y *V. destructor*, haplotipo de Corea (c,d).

FUENTE: Anderson y Trueman (2000), citados por AUSTRALIAN NATIONAL UNIVERSITY (2001).

2.2 Referencias históricas de *Varroa destructor* Anderson & Trueman.

Inicialmente descubierta en la isla de Java por Jacobson en 1904, posteriormente fue descrita por Oudemans (DIETZ y HERMANN, 1988).

Varroa al principio estaba confinada al sudeste de Asia donde parasitaba la abeja asiática *Apis cerana* Fab., esta abeja probablemente coevolucionó con el parásito, ya que está adaptada para mantener a varroa bajo control (SAMMATARO *et al.*, 2000). Considerándose esta relación parásito-huésped balanceada ya que el huésped no es destruido (CASTILLO, 1992).

2.3 Distribución mundial de la varroasis.

Posterior a la segunda guerra mundial se produjo un incremento en el comercio internacional que facilitó la dispersión de varroa (SAMMATARO *et al.*, 2000).

LIELLE (1994), señala que a mediados de siglo XX fueron llevadas abejas *Apis mellifera* L. desde Afganistán a Siberia y el norte de China, lugares donde se inicia una relación descontrolada entre abeja y ácaro, reportándose los primeros casos en 1960. Rápidamente se produce un veloz avance desde China hacia India y restantes países del sur de Asia, de Siberia hacia Europa Occidental y desde Japón hacia América, vía comercio de reinas. Este mismo mecanismo determinó la invasión del continente africano con material genético importado de Rumania, luego de ser invadida con varroa.

En América Latina, se observó a varroa por primera vez en Paraguay en el año 1973 y al igual que en Europa, su propagación fue sorprendentemente rápida. Actualmente esta plaga afecta a todos los países del continente americano (LIELLE, 1994).

En la actualidad se encuentran libre de esta enfermedad Australia, Nueva Zelanda y el estado de Hawaii (SAMMATARO *et al.*, 2000).

2.4 Situación de la varroasis en Chile.

En marzo de 1992, se diagnostica la presencia de varroa, en abejas nativas de colmenares de la VI Región, esto conllevó a realizar un estudio para cuantificar el grado de infestación. El estudio realizado por el Servicio Agrícola y Ganadero para diagnosticar varroasis en Chile, mostró que de 632 apiarios inspeccionados, el 18,2% presentó varroa (PELDOZA, 1992).

Ayudado por el hombre, mediante el movimiento de colmenas para la polinización y aprovechar la floración del bosque valdiviano, varroa alcanzó una amplia distribución en Chile, detectándose su presencia en la mayoría de las regiones de importancia apícola (CONGRESO NACIONAL DE CIENCIA y TECNOLOGÍA APÍCOLA, 4º, 1994).

2.5 Clasificación taxonómica.

Según la adaptación de BARRIGA y NEIRA (1988), la clasificación taxonómica de varroa es la siguiente:

Phylum	: Artropoda.
Sub Phylum	: Chelicerata.
Clase	: Aracnida.
Sub Clase	: Acari.
Orden	: Mesostigmata.
Familia	: Varroidae.
Género	: <i>Varroa</i> .
Especie	: <i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman (anteriormente <i>V. jacobsoni</i> Oud.).

2.6 Morfología de *V. destructor*.

La hembra adulta es de color marrón o café rojiza, de forma ovalada y plana. Sus dimensiones son en promedio 1 mm de largo por 1.6 mm de ancho. Los machos de color pálido aperlado, son menores en tamaño (0.7 mm por 0.7 mm) y no sobreviven, ni se encuentran fuera de las celdas de cría (DE FELIPE y VANDAME, 1999).

PELDOZA (1992), señala que este parásito posee cuatro pares de patas, las que están provistas de ventosas, que le permiten adherirse fuertemente y desplazarse con mucha facilidad y agilidad sobre el cuerpo de las abejas, además indica que el borde corporal de la varroa está armado de cerdas, que permiten su firme anclaje cuando se ubica entre los segmentos abdominales de las abejas, determinando la imposibilidad de que este se desprenda. El aparato bucal posee un par de pedipalpos con cerdas táctiles y quimiorreceptores. Las características antes mencionadas se pueden apreciar en la Figura 4.

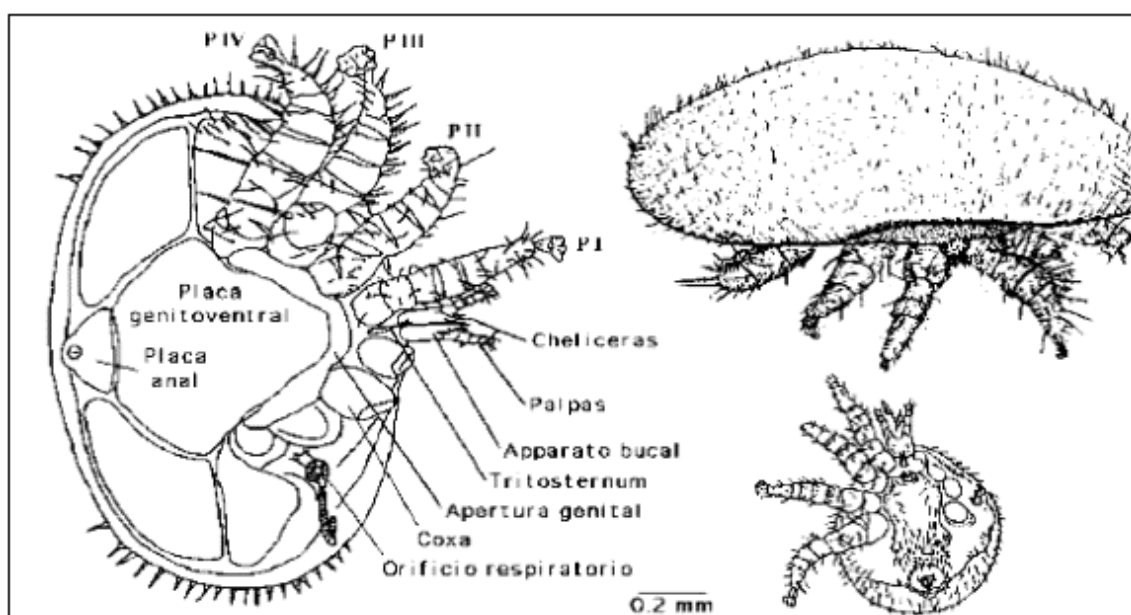


FIGURA 4 Esquema de una hembra adulta en vista ventral (a la izquierda) y dorsal (arriba), y de un macho (abajo) de varroa.

FUENTE: VANDAME (2000).

2.7 Ciclo biológico de *V. destructor*.

El ciclo de vida de varroa presenta una fase forética y una fase reproductiva. La fase forética sólo es llevada a cabo por las hembras adultas,

que se localizan sobre las obreras y zánganos para colonizar nuevas colmenas (APINET, 1996).

El mismo autor, indica que durante su viaje forético la hembra de varroa puede alimentarse de la hemolinfa de la abeja y vivir por varios meses. El tiempo en que el ácaro permanece en foresia sobre la abeja depende de numerosas variables, dentro de las cuales la presencia de cría y el clima presentan fundamental importancia. La fase reproductiva puede ocurrir solamente durante el período en que existe cría de abejas en las colmenas.

En las abejas adultas, los ácaros se encuentran comúnmente en el abdomen por debajo de los esternitos abdominales donde se sostienen de las membranas intersegmentales usando sus patas y partes bucales (VANDAME, 2000).

Según VANDAME *et al.* (1998), el ciclo biológico de varroa se puede dividir en las siguientes fases:

2.7.1 Entrada de los varroos en la cría. La hembra adulta de varroa o “fundadora” se reproduce de forma exclusiva en una celdilla de cría, generalmente después de un período forético. La entrada debe ocurrir a una edad de larva precisa y constituye un punto crítico en la vida de varroa, ya que entrar temprano significa un riesgo de ser detectada y retirada por las abejas antes de opercular la celdilla, por el contrario una entrada tarde no es posible ya que la celda está operculada, o sea herméticamente cerrada (VANDAME *et al.*, 1998).

Las fundadoras infestan la cría de obreras cuando las larvas pesan más de 100 mg, es decir, durante las 15 horas anteriores a la operculación. En cambio en el zángano, la cría es infestada cuando las larvas pesan más de 200

mg aproximadamente, durante las 45 horas anteriores a la operculación. Estas edades larvales corresponden todos a larvas en su quinto estadio de desarrollo larval, o estadio L5. Los factores que provocan e influyen en la entrada de varroas foréticas en la cría todavía no son todos conocidos. La atracción química de la cría parece ser el factor esencial que provoca la infestación, a causa de ferómonas emitidas por la larva (VANDAME, 2000).

Como los zánganos tienen una fase operculada 3 días más larga que las obreras, los ácaros tienen una mayor preferencia por la cría de zánganos para sus posturas, ya que de ellos salen más hembras fecundadas (CONGRESO NACIONAL DE CIENCIA y TECNOLOGIA APICOLA, 4º, 1994).

2.7.2 Postura de huevos de varroa. Inmediatamente después de la operculación de la celda y durante 36 horas, la larva se alimenta, pues empieza a tejer su capullo. La primera alimentación de la larva constituye una señal para la varroa madre, quien sale de la fase inmóvil, sube sobre la larva y se alimenta por primera vez. Durante el tejido del capullo, la varroa madre se desplaza rápidamente sobre la larva, para evitar de ser aplastada contra la pared de la celda, mientras empieza a alimentarse y a defecar (VANDAME, 2000).

El primer huevo es depositado en las paredes de la celdilla aproximadamente 60 horas después de la primera alimentación de hemolínfa, los subsecuentes son puestos a intervalos de 30 horas. El primer huevo da origen a un macho y los demás a hembras (VITA (EUROPE) LIMITED, s. f.).

2.7.3 Desarrollo de las varroas. Algunas horas después de la puesta, una larva de varroa aparece dentro del huevo. Esta larva se desarrolla sucesivamente en protoninfa (la hembra tiene un cuerpo esférico y de pequeño tamaño), deutoninfa (la hembra tiene el cuerpo típicamente elipsoidal y

aplastado del adulto, pero es de color blanco), y finalmente en adulto (VANDAME *et al.*, 1998).

La hembra adulta joven tiene el cuerpo café claro, mientras que la hembra de más de 24 horas de edad tiene el cuerpo café oscuro. La deutoninfa y el adulto macho se parecen a la protoninfa hembra, pero se distinguen de ella por su cuerpo más anguloso y de color ligeramente verde. El desarrollo completo tarda alrededor de 130 horas para una hembra, 150 horas para un macho. Este desarrollo es muy afectado por una mortalidad juvenil muy fuerte, particularmente de las deutoninfas. En promedio, sólo 1.45 hembras llegarán a la edad adulto en una celda, contra 2.2 en el caso de los machos (VANDAME *et al.*, 1998).

VANDAME *et al.* (1998), señalan que el número de descendientes que puede producir dependerá de la duración del desarrollo de la abeja; se ha observado que en las celdas de obreras, la fundadora pone seis huevos, contra siete en las de zánganos.

2.7.4 Apareamiento de la descendencia de varroa. Cuando la celda es infestada con una sola fundadora, el apareamiento sólo puede ocurrir entre el macho y sus hermanas y es entonces consanguíneo. El macho se aparea con la primera hembra tan pronto como llega a la fase adulta. El apareamiento puede ser repetido hasta nueve veces. Cuando la segunda hija llega a ser madura, el macho abandona la primera hija para aparearse con ella. Si una tercera hija llega a ser adulta, se repite el mismo escenario (VANDAME *et al.*, 1998).

Según VANDAME *et al.* (1998), al contrario de lo que se creía hasta hace poco, una hembra varroa puede ser fecundada únicamente en la celda donde nace. Luego, una parte de su aparato genital se destruye, lo que impide todo

apareamiento. En las celdas donde el macho muere antes del apareamiento, las hembras quedaran estériles e infecundas para siempre; esto puede ocurrir en 10% a 46% de las celdas.

2.7.5 Salida y diseminación de varroa. En el momento que emerge la abeja una gran parte de la descendencia de varroa se queda en la celda, las hijas fecundadas tan pronto como salen de la celda tratan de subir sobre las abejas y así se vuelven foréticas. Las hijas inmaduras y el macho, privados de un aparato bucal que les permita alimentarse de las abejas, sobrevivirán poco tiempo (VANDAME, 2000).

Las hembras de varroa tienen una preferencia muy alta por las abejas nodrizas, más susceptibles de acercarse a la cría, lo que ofrece más oportunidades a los ácaros para entrar en esta. Las demás varroas foréticas que se encuentran en las abejas cosechadoras, constituyen el factor principal de la diseminación de la especie, ya que aprovechan la deriva (las obreras se equivocan de colonia) de las abejas cosechadoras y del pillaje para invadir nuevas colmenas. De esta manera, durante un día de gran actividad, hasta 70 varroas por día pueden llegar a una nueva colmena (VANDAME *et al.*, 1998).

Según APINET (1996), otros mecanismos de diseminación pueden ser:

- A través de los zánganos que pueden acceder libremente a las distintas colmenas.
- Por causa de enjambres silvestres que se encuentran cerca del apiario e incluso por la captura de enjambres por el propio apicultor.
- Debido al manejo del apicultor, en el traslado de núcleos de un apiario a otro o con el intercambio de cuadros de cría entre colmenas.

2.8 Daños producidos por varroa sobre *Apis mellifera* L..

En las primeras etapas de infestación es difícil detectar cambios que ocurran en las abejas, en el segundo año ya es posible apreciar un descenso en la producción de las colonias (CASTILLO,1992).

Sin la intervención del apicultor, la probabilidad de mortalidad es 10-15% el primer año, 20% a 30% el segundo año, y quizás 100% en el tercer año. A lo sumo, una colonia no tratada es improbable que viva más de cinco años después de la infestación (VEERKAMP, 1996).

Varroa ocasiona sobre las abejas diversos tipos de alteraciones que se pueden agrupar en dos categorías: de acción directa o indirecta.

2.8.1 Acción directa. El daño inicial por el ácaro de varroa tiene lugar en la cría, un ácaro que parasita la cría es capaz de influir negativamente en la vida futura de la abeja. La cría parasitada produce abejas que no se integran totalmente como un miembro productivo del sistema de división del trabajo, que es de importancia esencial en la colonia de abejas (RITTER, 1999).

Cuando la prevalencia del ácaro en la colmena es alta, las abejas parasitadas al emerger de las celdas de cría presentan diversos tipos de malformaciones (Figura 5). Las más comunes se presentan en las alas, patas (donde generalmente disminuyen el número de artejos) y abdomen. Otro de los efectos perjudiciales ocasionados por el parásito es una disminución en la vida media de los hospederos (APINET, 1996).

Además este mismo autor señala que la parasitosis disminuye la longevidad de obreras y reinas, afectando su postura; los zánganos reducen y hasta pierden su capacidad reproductiva. La presencia del parásito provoca en las abejas una actividad más intensa, ya que las mismas tratan de

desprenderse de los ácaros. En invierno en caso de infecciones medias y fuertes, son incapaces de formar el racimo invernal y mueren.



FIGURA 5 Abejas adultas con severos daños por ataque de varroa.

FUENTE: HONEYFARM (s.f.).

Una abeja parasitada reduce su posibilidad de vida al 50% por lo menos, por cada ácaro que la parasita pierde el 10% de su peso y sufre una disminución de proteínas de un 60%. Si una celda es parasitada por más de 6 ácaros la abeja muere a los pocos días de nacer o cuando aún está en su celda (CASTILLO,1992).

2.8.2 Acción indirecta. Las alteraciones que varroa puede ocasionar en forma indirecta, están ligadas fundamentalmente a la acción inoculativa de diversos tipos de microorganismos. Se ha comprobado que el ácaro, es capaz de inocular bacterias y diversos tipos de virus. Existen evidencias, de que varroa crea dentro de una colmena, las condiciones ideales para el desarrollo del hongo patógeno *Ascosphaera apis* Maassen Claussen (APINET, 1996). Lo

anteriormente descrito, es corroborado por ALIPPI *et al.* (1995), quienes señalan entre los patógenos transmitidos por varroa; el virus del ensacado (SBV) y el virus de la parálisis aguda (APV), a través de la inoculación de partículas de estos virus a la hemolinfa de las abejas, pero que el ácaro no es capaz de transmitir loque americana (*Paenibacillus larvae* White), como se creía con anterioridad.

Además NEIRA (1999), indica que como consecuencia de las pérdidas de proteínas, las abejas presentan menor resistencia a la acción de plaguicidas y al ataque de algunas micosis, sumado a la acción del ácaro como vector o agente de transmisión de otros patógenos como virus y bacterias.

2.9 Métodos de control.

NEIRA (1999), señala que para realizar un efectivo control de los ácaros, es necesario detectarlos y realizar un diagnóstico que permita su identificación oportuna.

Según VANDAME (2000), existen algunas sencillas pruebas de diagnóstico, que permiten decidir si una colonia necesita o no tratamiento:

- Colocar una cartulina o lámina de aluminio grasosa en la piquera de la colonia, posteriormente contar el número de varroas pegadas a la cartulina. Si caen menos de 10 varroas en 24 horas, la colonia no necesita tratamiento de urgencia. Si caen mas de 10 varroas en las 24 horas, la colonia de abejas requiere tratamiento.

- Tomar una muestra de aproximadamente 100 abejas en frascos de alcohol o agua jabonosa, sacudir bien, vaciar en un recipiente, contar el número de abejas y de varroas. Si la tasa de infestación es menor que un 5% (5 varroas

en 100 abejas), la colonia no requiere un tratamiento urgente. En cambio si la tasa de infestación es mayor a 5%, se requiere un tratamiento.

- Sacar un panal de cría, del cuál se abren 100 celdillas, para sacar con cuidado las larvas. Si existe una tasa de infestación inferior a un 10% (10 varroas por 100 larvas), la colonia no necesita ser tratada en urgencia, pero si el valor de infestación supera el 10% la colonia requiere tratamiento.

NEIRA (1999), señala que los acaricidas deben cumplir los siguientes requisitos:

- El producto debe ser mortal para los ácaros sin dañar las abejas.
- No tienen que quedar residuos ni en la miel ni en la cera o bien estar presentes en trazas o cantidades no detectables.
- El producto debe estar autorizado por el país de destino como medicamento veterinario, si la miel va ser exportada a dicho país.
- Debe ser fácilmente utilizable por el apicultor sin que le provoque ningún trastorno de salud.

Se ha observado que al aplicar un compuesto altamente efectivo contra varroa mueren casi todos los ácaros, pero la población se recupera a los 10 días post aplicación, debido al nacimiento de nuevas abejas desde larvas parasitadas que se encontraban operculadas a la fecha de aplicación del acaricida (PELDOZA, 1992).

Por lo tanto el tratamiento contra varroa hay que procurar hacerlo cuando las abejas tienen poca cría, es decir, después de la última cosecha de miel del año en la entrada de invierno o bien a la salida de esta época (GOMEZ, 1998). Esta situación no siempre se puede llevar a la práctica, debido a que en situaciones con un alto nivel de infestación es necesario controlar en presencia

de cría, hasta un nivel soportable para las colonias, garantizando su supervivencia hasta el período otoño-invernal (BARBERO *et al.*, 1997).

2.9.1 Tratamientos químicos. Los tratamientos más usados a escala mundial son quimioterápicos, existen acaricidas evaporantes, fumigantes, sistémicos y de contacto. De todos estos los más efectivos han resultado ser los sistémicos y los de contacto (CASTILLO, 1992).

En presencia de cría se logran mejores resultados al aplicar productos mediante mecanismos que garanticen una lenta liberación, para mantener dosis constantes durante 24 días lo que asegura el quiebre del ciclo de la infestación que ataca a la colmena (PELDOZA, 1992).

En el año 1998, el uso de fluvalinato pareció proveer una herramienta eficaz y de largo plazo para el control de varroa. Desde entonces se generalizó el uso de este producto (VANDAME *et al.*, s.f.).

Sin embargo, en mucho lugares de Europa, varroa ha desarrollado resistencia a dos piretroides (fluvalinato y flumetrina) y un organofosforado (coumafos). También existe documentación de resistencia al fluvalinato en Estados Unidos (IMDORF *et al.*, 1999).

Además muchos productos químicos que se han empleado, muestran efectos colaterales indeseables, algunos son tóxicos, mientras que otros son cancerígenos y mutagénicos. Otro de los problemas con los productos sintéticos, es que en su mayoría presentan consecuencias adversas de contaminación de miel, cera y polen (CALDERONE y SPIVAK, 1995).

2.9.2 Control biológico. La mayor ventaja del control biológico sobre el método químico, para el control de varroa, es la ausencia de contaminación de los

productos de la colmena: miel, polen, cera y propóleos (DIETZ y HERMANN, 1988). Además se puede señalar que el efecto de los microorganismos utilizados como agentes de control, puede ser más persistentes a lo largo del tiempo que los productos químicos (TERRALIA, s.f.).

FAUCON (1999), señala que una de las posibilidades para luchar contra la varroasis se basa en la selección de abejas cuyo comportamiento pueda modificar el nivel de infestación.

Este autor indica que existen características que son investigadas en diversas partes del mundo, para desarrollar abejas resistentes contra varroa, algunas de estas son las siguientes:

Comportamiento de limpieza entre abejas: las abejas parasitadas son despojadas de varroas por otras abejas, mediante el uso de las mandíbulas.

Comportamiento de limpieza con relación a la cría: este comportamiento consiste en la extracción más o menos rápida por las abejas limpiadoras de la cría parasitada, enferma o muerta.

Duración del periodo de operculado: la duración del desarrollo del parásito es ligeramente inferior al tiempo de operculación, una disminución de seis horas en el tiempo de operculado es relevante para reducir el número de varroas.

Según DIETZ y HERMANN (1988), la introducción de patógenos (bacterias, hongos, virus) que causen la muerte del ácaro pero no de las abejas pueden ayudar al control de varroa. Examinando a través de microscopía electrónica se ha observado varios tipos de microorganismo en la cutícula de la varroa hembra: conidias de hongos parecidos a *Aspergillus* y esporas de *Ascospaera*.

2.9.3 Tratamientos orgánicos. MUNN (1996), señala que los problemas de resistencia del ácaro al fluvalinato y flumetrina y los residuos en miel y cera de abejas, han incitado a apicultores para buscar nuevas alternativas: como ácidos orgánicos, entre los que se encuentran el ácido fórmico, oxálico y aceites esenciales como mentol, timol y otros.

2.9.3.1 Ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos son productos presentes en los alimentos de forma natural, que han tenido un excelente comportamiento para el control de la varroa. Su eficacia es muy variable en función del método de aplicación, del período estacional, del tipo de colmena y del compuesto que se trate, pero en todos los casos se puede hablar de ausencia de toxicidad a abejas, excepto para el ácido oxálico que presenta cierta toxicidad a corto, medio y largo plazo, pero con aceptable eficacia (SUAREZ, s. f.).

2.9.3.2 Aceites esenciales. Es el término genérico para designar a las sustancias altamente volátiles que componen las plantas, caracterizados por un intenso y característico olor. Están presentes en casi todas las plantas, pero sólo el 0.1% de los aceites pueden ser llamados aceites esenciales (IMDORF *et al.*, 1999).

Los aceites esenciales y los componentes de los aceites esenciales ofrecen una atractiva alternativa en relación con los acaricidas sintéticos. Estos son generalmente más baratos y presentan pocos riesgos para la salud (IMDORF y BOGDANOV, 1999).

Los terpenos son los componentes principales de los aceites esenciales (principalmente monoterpenos) y comprenden aproximadamente el 90% del total (IMDORF y BOGDANOV, 1999).

Entre los aceites utilizados para el control de varroasis se pueden mencionar entre otros: eucaliptol, mentol, timol (AMRINE *et al.*, 1996).

2.9.3.2.1 El potencial de los aceites esenciales. IMDORF y BOGDANOV (1999), señalan que en ensayos realizados, muchos aceites presentan una actividad acaricida significativa. Algunos de estos aceites pueden ser repelentes, otros son atractivos y algunos causan la mortalidad de varroa.

De los más de 150 aceites esenciales y sus componentes, sólo algunos han demostrado ser eficaces, cuando se aplicaron a colmenas en ensayos de campo, debido a las concentraciones usadas, a la forma de aplicación y a las mezclas empleadas (IMDORF y BOGDANOV, 1999).

El timol sólo y en mezclas, se han utilizado ampliamente en Europa, para el control de varroa y en la mayoría de los casos su eficacia como acaricida es mayor al 90% (IMDORF y BOGDANOV, 1999). El timol es uno de los productos alternativos más usados a nivel internacional, además de estar permitido en agricultura ecológica por su inocuidad (FLORES *et al.*, 1997).

IMDORF *et al.* (1996), indican que problemas de residuos en miel, desde el punto de vista toxicológico, no son importantes. Pero según lo señalado por RITTER (1993), una desventaja es el fuerte olor que puede adherirse a la miel, dependiendo de la dosis, aún después que el tratamiento ha concluido.

BOGDANOV *et al.* (1998), consideran como valores límites, para la sensibilidad organoléptica de la miel, niveles de 1,1 a 1,6 mg/kg de residuos de timol. Este mismo autor señala que en estudios que tuvieron por finalidad cuantificar el contenido de residuos en miel y cera al aplicar Apilife VAR[®] (mezcla de aceites esenciales con timol al 76%), los niveles de timol en miel variaron de 0,02 a 0,48 mg/kg, considerablemente bajo el límite de sensibilidad

organoléptica. En la evaluación de cera, al aplicar 4 años consecutivos el producto mencionado anteriormente, no se incrementaron los niveles de residuos de este aceite esencial.

Según lo señalado por Eischen (1996), citado por CAMPOS (2000), los vapores de los diferentes compuestos aromáticos matan al ácaro, pero se desconoce su modo de acción.

Además KRAUS *et al.* (1994), indican que los aromas de los aceites esenciales pueden alterar la orientación por el olfato de varroa.

Estos mismos autores señalan que una de las principales desventajas de estos compuestos, son las mínimas diferencias entre las dosis letales, tanto para las abejas como para varroa.

2.9.3.2.1.2 Fuente, historia, y preparación del timol. El timol es un producto natural, extracto de la planta aromática llamada tomillo (*Thymus vulgaris* L.). Esta planta es tradicionalmente usada en la cocina mediterránea, de modo que sus residuos no se consideran tóxicos (DE FELIPE y VANDAME, 1999). FLORES *et al.* (1997), indican que entre los productos alternativos más investigados a nivel internacional y que sean permitidos en agricultura ecológica por su inocuidad; se encuentran el ácido fórmico, el timol y la rotenona.

Fue descubierto por Caspar Neumann en 1719. Fue purificado, en 1853, por M. Lallemand que le dio el nombre timol y le atribuyó la fórmula $C_{20}H_{14}O_2$ (anotación antigua), actualmente se toma como correcto $C_{10}H_{14}O$. El timol es un fenol (iso-propil-meta-cresol), y es isómero con carvacrol (iso-propil-orto-cresol) (WICKES y URI, s.f.).

El timol puede ser obtenido destilando el aceite puro de tomillo fraccionadamente y después puede ser purificado por cristalización de alcohol (WICKES y URI, s.f.).

2.9.3.2.1.3 Descripción. El timol presenta la forma de cristales grandes, descoloridos, translúcidos de forma hexagonal, presenta un aroma a tomillo con un olor y un sabor picante, produce un efecto cáustico en los labios. Su peso molecular es de 149.66, su gravedad específica como un sólido es de 1.069 en 15° C. (59° F.), pero cuando es licuado por fusión es más ligero que el agua. Funde a 50° a 51° C. (122° a 123.8° F.), permaneciendo líquido a temperaturas considerablemente más bajas (WICKES y URI, s.f.).

3. MATERIAL Y METODO

3.1 Localización del ensayo.

El experimento se realizó en el Campus experimental Santa Rosa, ubicado aproximadamente a 5 km del centro de la ciudad de Valdivia y cuya propiedad pertenece a la Universidad Austral de Chile. Geográficamente está ubicado 39° 48' latitud sur y 73° 14' longitud oeste a una altitud de 10 m.s.n.m. (PFEIFFER, 1998).

3.2 Materiales utilizados en el ensayo.

Los materiales usados para realizar el ensayo se pueden clasificar como se indican a continuación.

3.2.1 Material biológico. Este corresponde a 12 colonias de abejas (*Apis mellifera* L.), que se encuentran infestadas en forma natural con *Varroa destructor* Anderson & Trueman.

3.2.2 Material no biológico. El material no biológico se puede subdividir en:

3.2.2.1 Material apícola. Corresponde a 12 colmenas tipo Langstroth, las que están formadas por marcos, pisos, entretapas y techos. Además para realizar las labores apícolas, se utilizó traje apícola, ahumador, palanca Root y acículas de pino como combustible para producir humo.

3.2.2.2 Otros materiales. Para poder establecer el nivel de infestación de cada colmena con varroa, se utilizaron frascos plásticos de 200 cc, cápsulas Petri,

contenedores plásticos, tamices, pinzas, lápices, plumón, cinta para pegar, detergente líquido Quix[®] y agua.

Además para la confección de las trampas se usaron 12 pliegos de cartón piedra de dimensiones de 36*45 cm, papel cuadriculado, 12 rejillas plásticas (malla mosquitera), varillas de madera, 12 bolsas de nylon, pegamento en barra Stick Fix[®], cuchillo cartonero, regla, vaselina.

3.2.2.3 Equipos. Se requirió una lupa estereoscópica marca Zeiss con un aumento de 20x, una balanza de precisión marca Sartorius[®]. Para la conservación de las muestras se utilizó un refrigerador marca Philco[®] a una temperatura de 3° C.

3.2.3 Productos químicos. El producto que se utilizó corresponde a cristales de timol con un porcentaje de pureza de 99%. El timol es un fenol (iso-propil-meta-cresol), isómero del carvacrol (iso-propil-orto-cresol). Su fórmula química corresponde a C₁₀H₁₄O y su peso molecular es de 149.66 (WICKES y URI, s.f.).

Los cristales fueron triturados en un mortero hasta conseguir cristales de tamaño homogéneo.

3.3 Metodología del ensayo.

La metodología que fue empleada es la siguiente:

3.3.1 Período experimental. El ensayo fue iniciado el 24 de noviembre, para finalizar el 19 de diciembre del año 2000. El día 24 del mes de noviembre se realizó la extracción de muestras para medir el nivel inicial de infestación de pre aplicación, de cada una de las colmenas usadas en el ensayo; la aplicación de timol se realizó el día 25 del mismo mes. El 13 de diciembre, término del

ensayo, se realizó la extracción de muestras, para evaluar el nivel de infestación post aplicación de los tratamientos.

3.3.2 Diseño experimental. Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar, de 3 dosis de timol y 4 repeticiones, cada repetición era una colmena.

3.3.3 Descripción de los tratamientos. Debido a que se realizaron 3 aplicaciones cada 6 días a cada una de las colmenas, se produjeron 3 ensayos con sus respectivas dosis por tratamiento, las que se detallan a continuación:

Para el *ensayo 1* corresponde:

Tratamiento 1: testigo, sin aplicación del producto.

Tratamiento 2: 2 gramos de timol por colmena.

Tratamiento 3: 3 gramos de timol por colmena.

Para el *ensayo 2* corresponde:

Tratamiento 1: testigo, sin aplicación del producto.

Tratamiento 2: 4 g de timol por colmena.

Tratamiento 3: 6 g de timol por colmena.

Para el *ensayo 3* corresponde:

Tratamiento 1: testigo, sin aplicación del producto.

Tratamiento 2: 6 g de timol por colmena.

Tratamiento 3: 9 g de timol por colmena.

3.3.4 Método de aplicación de los tratamientos. El timol en cristales se colocó en 2 contenedores plásticos de 10 cm de diámetro, ubicados en 2 esquinas de las cabeceras de los marcos, siguiendo la metodología de DE FELIPE y VANDAME (1999), ver Figura 6 y Anexo 2. Cada cápsula contiene la mitad de la dosis para cada tratamiento.

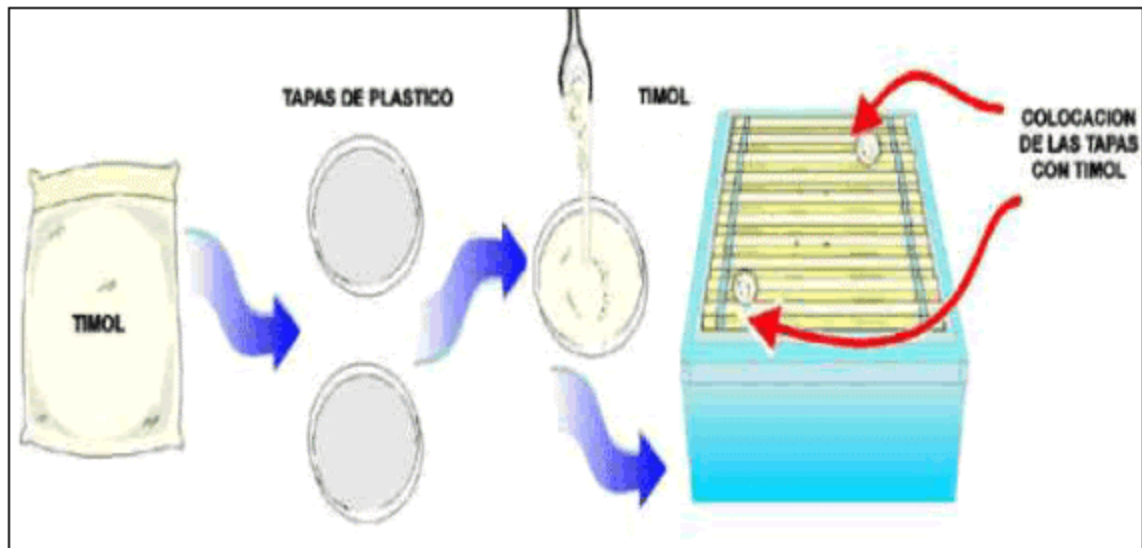


FIGURA 6 Forma de aplicación de timol en polvo.

FUENTE : DE FELIPE y VANDAME (1999).

3.3.5 Parámetros a evaluar. Previo al análisis de los parámetros que se mencionaran posteriormente, se evaluaron las colonias, eligiendo aquellas colmenas con un alza y un porcentaje de infestación de varroa sobre 5% en abejas adultas, para su posterior utilización en el experimento. A continuación se enumeran los parámetros medidos en el transcurso del ensayo:

3.3.5.1 Caída de varroas. La recolección y medición se realizó sobre una trampa que está formada por un cartón envuelto en nylon, el que se impregnó de vaselina para evitar el desplazamiento de aquellos ácaros que pudieron quedar vivos. Para impedir el contacto de las abejas con las varroas, se dió una elevación al cartón con palitos de maqueta, más una malla mosquitera de separación entre las abejas y las varroas caídas. Las características y tipo de trampa se puede apreciar en el Anexo 3.

3.3.5.2 Mortalidad de abejas. Las abejas muertas fueron recolectadas sobre la malla de las trampas colocadas en cada colmena para la captura de los ácaros.

3.3.5.3 Nivel de infestación de varroa. Siguiendo la metodología oficial de CHILE, SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO (SAG) (1994), se extrajeron aproximadamente 200 abejas de la cámara de cría, las que se colocaron en un frasco plástico con agua, más detergente líquido (Quix[®]) formando una solución al 2%. El contenido fue agitado fuertemente, por 1 minuto y luego fue colocado en un doble tamiz, para ser expuesto a un chorro de agua, de manera de desprender los ácaros de las abejas y poder cuantificar el número de varroas. Una malla mosquitera retiene en primer lugar las abejas y dejar pasar los ácaros, que serán retenidos por un tamiz más fino de color blanco, que facilita la identificación de varroa. El nivel de infestación se obtiene, dividiendo el número de varroas encontradas en la muestra por el número de abejas extraídas.

3.3.5.4 Pillaje de la colmena. Para determinar este parámetro se realizó un conteo de aquellas abejas que deseaban ingresar a la piquera, pero que eran retiradas por las abejas guardianas de la colmena. La medición tuvo una duración de 5 minutos, para cada una de las colmenas.

3.3.5.5 Ventilación en la colmena. Siguiendo la metodología de ROSAS (1997), la medición del flujo de aire que proviene del interior de la colmena, se hizo colocando una tira de papel en los bordes y en el centro de la piquera por un lapso de 60 segundos para cada colmena. Para ello se creó una escala de intensidad según el movimiento del papel, la que se clasifica de la siguiente manera:

1=Nula

2=Leve

3=Moderada

4=Alta

3.3.5.6 Registros meteorológicos. Se registraron la temperatura mínima, media y máxima diaria (° C), además de la humedad relativa (%). Los datos se

obtuvieron de mediciones realizadas por la Estación Meteorológica del Instituto de Geociencias de la Universidad Austral de Chile.

3.3.6 Observaciones y mediciones. Las mediciones y observaciones se llevaron a cabo a las 24-48-72 horas de iniciado el ensayo, para todos los parámetros, excepto para el nivel de infestación el que se midió al comenzar y al finalizar cada tratamiento. Todas las observaciones y mediciones se realizaron después del mediodía, para disminuir el estrés de las abejas.

3.3.7 Análisis estadístico de los datos. Para los datos recopilados en el transcurso del ensayo, se procedió a realizar el test de homogeneidad de varianza.

Los parámetros analizados cumplieron con la prueba antes descrita, por lo que se les realizó un análisis de varianza para probar la hipótesis nula, usando un intervalo de confianza del 95% (CANAVOS, 1990).

Todos los datos obtenidos durante el ensayo fueron analizados en el programa estadístico computacional Statgraphics Plus 2.0.

4. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

El análisis de cada uno de los parámetros sometidos a evaluación durante el experimento, serán discutidos en el presente capítulo.

4.1 Alteraciones producidas en *Varroa destructor* Anderson & Trueman debido a la acción de timol en polvo.

Las alteraciones ocasionadas sobre varroa, para los parámetros caída de ácaros y variación del porcentaje de infestación antes y después de aplicar las dosis de timol, se detallan a continuación.

4.1.1 Caída de ácaros. Tras cada aplicación de los tratamientos, se procedió al conteo de ácaros caídos dentro de la trampa ubicada en el piso de la colmena a las 24, 48 y 72 h, para cada uno de los ensayos realizados.

CUADRO 1 Número de ácaros caídos en el ensayo 1, promedio para las diferentes dosis usadas, en las distintas horas de evaluación post aplicación.

Tratamiento	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	70,0a	53,5a	68,0a
Timol 2 g	68,0a	50,0a	74,5a
Timol 3 g	108,0a	95,8a	107,0a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

CUADRO 2 Número de ácaros caídos en el ensayo 2, promedio para las diferentes dosis usadas, en las distintas horas de evaluación post aplicación.

Tratamiento	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	64,3a	56,5a	57,5a
Timol 2 g +2 g*	62,0a	69,3a	60,3a
Timol 3 g + 3 g*	80,5a	97,8a	96,5a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

*Aplicado cada 6 días

CUADRO 3 Número de ácaros caídos en el ensayo 3, promedio para las diferentes dosis usadas, en las distintas horas de evaluación post aplicación.

Tratamiento	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	68,00a	72,00a	68,50a
Timol 2 g +2 g* + 2 g*	66,00a	68,50a	49,75a
Timol 3 g + 3 g* + 3 g*	127,30a	134,50a	140,25a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

*Aplicado cada 6 días

Al observar los Cuadros 1 al 3, se desprende que no existen diferencias estadísticamente significativas para la caída de varroa entre los tratamientos en los días evaluados (Anexos 4 al 12), lo que gráficamente puede observar en la Figuras 7 al 9.

KRAUS *et al.* (1994), indican que la acción de los aceites esenciales producen una alteración en la orientación del olfato de *V. destructor*, además

COLIN *et al.* (1994), señalan que el aceite timol y otros aceites esenciales presentan un efecto repelente sobre el parásito varroa, situación que no se habría producido en esta investigación.

Los resultados del presente ensayo no concuerdan con lo señalado anteriormente, ni con los obtenidos en laboratorio por BARRIA (2000), quien utilizó como acaricidas timol y mentol en solución al 4 y 10%, alcanzando altos niveles de caída de varroa cercanos al 96%, estadísticamente diferentes al testigo. La razón de esta discrepancia puede radicar en que las condiciones de trabajo en laboratorio, permiten un manejo controlado de las variables que inciden en la acción del producto, situación que no ocurre a nivel de campo.

FLORES *et al.* (2000), al utilizar el producto comercial Apilife VAR[®] (74% timol, 16% eucaliptol, 3,6% mentol, 3,6 alcanfor y 2,8% vermiculita) obtuvieron un efectivo control de varroa, logrando una eficacia media de 81,26% de caída de varroa. Similar situación ocurrió a utilizarse un gel de lenta liberación que contiene un 25% de timol, el que demostró una alta eficacia al reducir la población de varroa en colonias de abejas tratadas (COLOMBO y SPREAFICO, 1999).

En experiencias de campo realizados en España por FLORES *et al.* (1997), utilizando timol en polvo se lograron niveles de eficacia cercanos al 85% en caída de varroa con marcadas diferencias en relación al testigo, la diferencia de resultados con respecto al presente ensayo, se puede deber a que las condiciones climáticas existentes en aquella zona, sean más favorables que las reinantes en la zona sur de Chile para el uso del producto en cuestión.

La baja respuesta de caída de varroa a la acción del timol, estaría ligada a los rangos de temperatura ambiental alcanzados durante la realización del experimento, las cuales variaron de 12,6°C a 16,7°C de promedio, con mínimas

y máximas de 4.8 y 26.5°C respectivamente (Anexo 54). APICOLTURA ONLINE (s.f.), considera que el rango de temperatura para la acción del timol debe variar entre los 10 y 25° C, pero además, según BARBERO *et al.* (1997), señalan como óptimo que la temperatura mínima no descienda de 18 °C a 20 °C.

Con relación a lo expuesto anteriormente, se puede inferir que si bien las temperaturas se mantienen dentro de los rangos de utilización del timol, nunca se alcanzaron las temperaturas mínimas óptimas para una efectiva evaporación del producto (Anexo 54). Además PAJUELO (2000), indica que si la temperatura ambiente es inferior a 13 a 15° C, el producto no se evapora bien y el tratamiento no es del todo efectivo, situación que ocurrió frecuentemente durante la realización del experimento, excepto el día 26 de noviembre. Lo anterior es corroborado por MATTILA *et al.* (1999), indican que bajo los rangos de 15 a 20°C de temperatura ambiente, el timol evapora lentamente y el resultado es poco efectivo en el control de ácaros.

Esto es confirmado por FLORES *et al.* (1997), quienes señalan que la evaporación o sublimación del timol (que es la forma mayoritaria de acción de este producto), se encuentra definida por dos parámetros: la temperatura interior de la colmena, que a su vez fluctúa dependiendo de la temperatura exterior y la naturaleza y dimensiones de la superficie de evaporación del dosificador utilizado (parámetro no sometido a análisis en este ensayo).

Los resultados muestran la ausencia de un efecto aditivo en la caída de varroa, al aumentar las dosis de timol espaciadas en el tiempo, la ausencia de este efecto posiblemente ocurrió por la necesidad de abrir las colmenas y poder realizar la siguiente aplicación del aceite esencial, para continuar con la experimentación. Por lo tanto, se produciría una modificación de la atmósfera interna de la colmena, suprimiéndose la acción de la aplicación anterior.

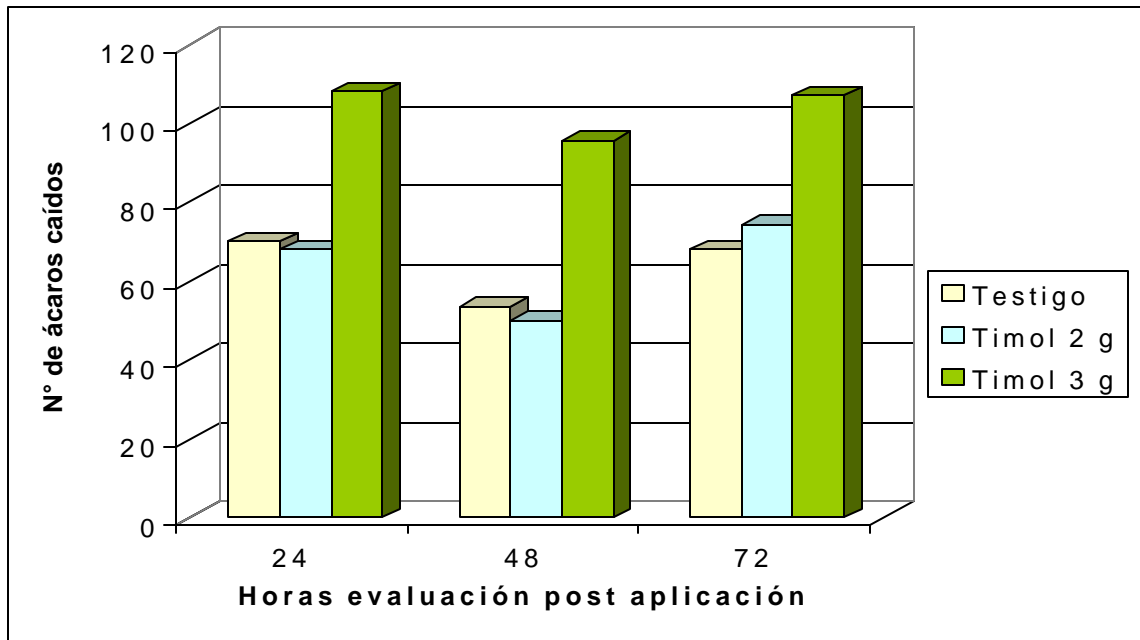


FIGURA 7 Caída promedio de ácaros, provocada por las diferentes dosis de timol en el ensayo 1.

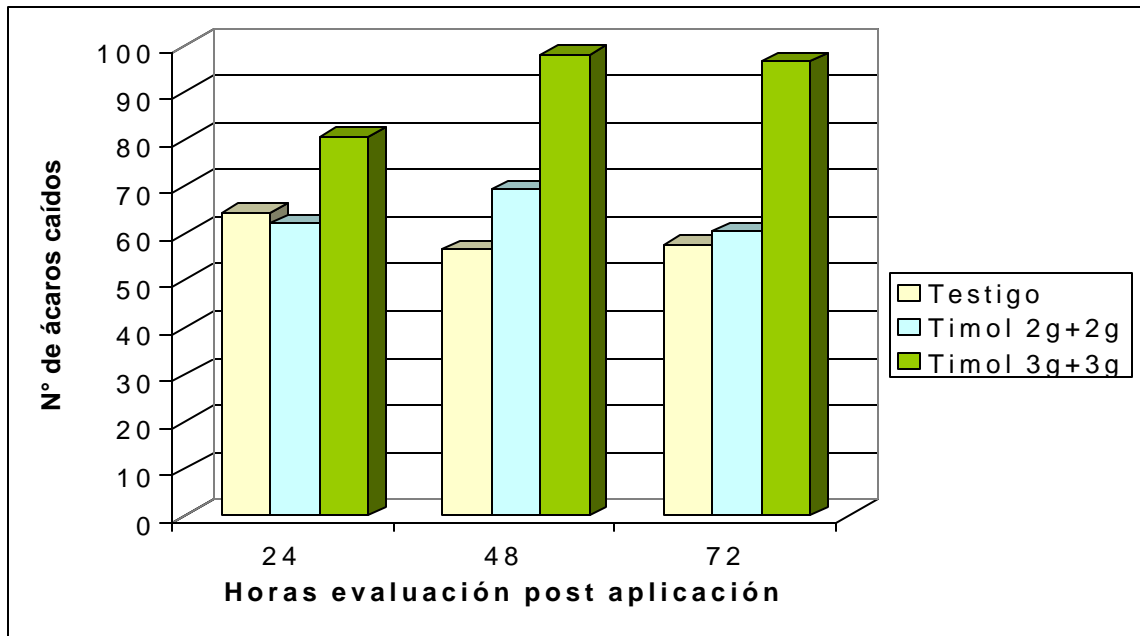


FIGURA 8 Caída promedio de ácaros, provocada por las diferentes dosis de timol en el ensayo 2.

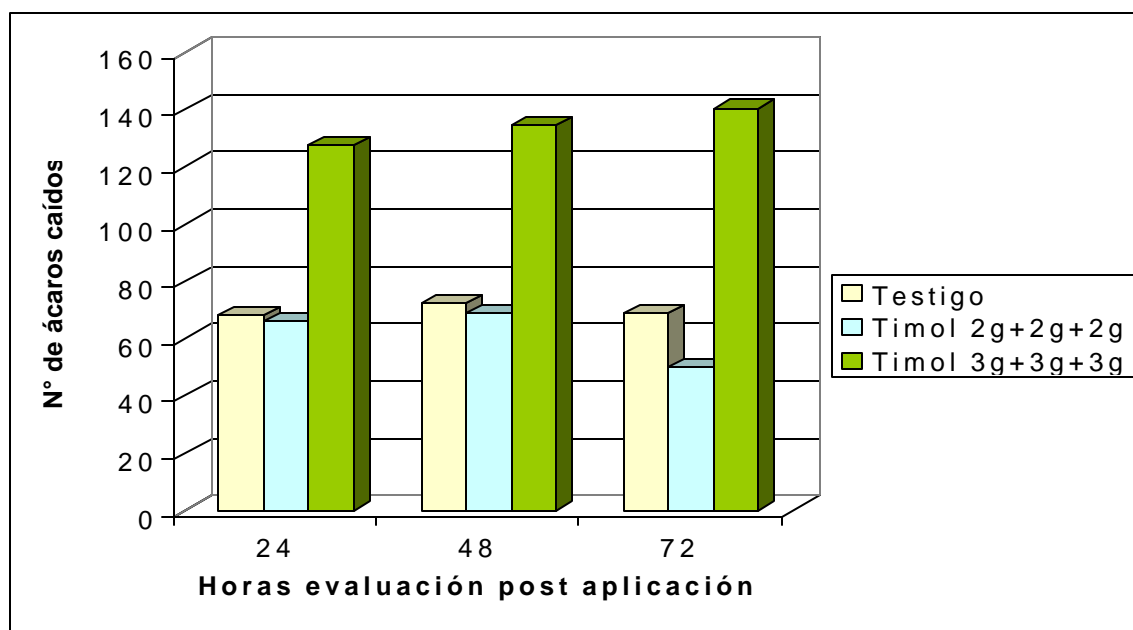


FIGURA 9 Caída promedio de ácaros, provocada por las diferentes dosis de timol en el ensayo 3.

CUADRO 4 Número promedio de ácaros caídos, para las evaluaciones post aplicación en los diferentes ensayos.

	Número de ácaros caídos (horas post aplicación)		
	24 h	48 h	72 h
Ensayo 1	82,00a	66,42a	83,17a
Ensayo 2	68,92a	74,50a	71,42a
Ensayo 3	87,08a	91,67a	86,17a

Letras distintas en cada fila denotan HSD al 5% entre niveles.

El análisis del Cuadro 4, permite observar que no hay variaciones estadísticamente significativas en la caída de ácaros, entre las horas evaluadas posterior a la aplicación de timol, en cada uno de los ensayos. Ello indicaría una

estabilización de la acción del aceite esencial en el período evaluado con relación a la toxicidad del timol sobre el ácaro.

4.1.2 Nivel de infestación en abejas adultas. Para conocer si la población de ácaros que se encuentra infestando las colonias se modificó, se procedió a evaluar el porcentaje de infestación inicial y final dependiendo de las dosis usadas en este experimento.

Los resultados presentes en el Cuadro 5, demuestran que no existieron diferencias significativas en los niveles de infestación entre los tratamientos, en los diferentes periodos de evaluación (Anexos 16 y 17). Esta situación se observa en la Figura 10.

CUADRO 5 Nivel de infestación (%) en abejas adultas, promedio para las evaluaciones realizadas.

Tratamientos	Nivel infestación (%)	
	Inicial	Final
Testigo	12,19a	12,21a
Timol 2g + 2g*+ 2g*	8,95a	6,73a
Timol 3g +3g*+ 3g*	10,11a	7,16a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

* Aplicado cada 6 días

Estos resultados son avalados por las conclusiones encontradas anteriormente, en el parámetro caída de ácaros, en el cuál no existió diferencias entre las diferentes dosis de timol, por lo tanto, al no variar la caída de varroa entre los tratamientos, los niveles de infestación no se modificaron al final de la evaluación.

Los datos obtenidos se asemejan a los encontrados por CADAGAN (1999) y ROSAS (1997), quienes tampoco encontraron diferencias entre las dosis usadas de diferentes compuestos de aceites esenciales.

Sumado a la temperatura bajo el óptimo de evaporación, alcanzada durante la realización del experimento, entre las variables que pudieron haber influido para no obtener una mayor eficacia del producto, se podría señalar que las dosis utilizadas en el ensayo no serían las óptimas para alcanzar mejores resultados en esta zona. Existen dosis disímiles con respecto a la aplicación de timol en polvo en experiencias foráneas, así APICOLTURA ON LINE (s. f.), señala que las dosis pueden variar de 0,25 g a 2,5 g, dependiendo de la condición de la familia, a una mayor cantidad de abejas una dosis más alta.

Otros autores como DE FELIPE y VANDAME (1999), proponen dosis aún mayores de timol, aplicando 8 g por colmena. Para este ensayo, se decidió utilizar dosis cercanas a las usadas por APICOLTURA ON LINE (s.f.), debido a que no se conocía como podían afectar dosificaciones altas de timol a las abejas y por ende, causar un efecto no deseado en ellas, bajo las condiciones de la zona en que se realiza el ensayo.

Además FLORES *et al.* (2000), señalan que para exista una mejor eficacia del producto Apilife VAR[®] (ingrediente activo mayoritario timol), este debe estar en contacto con las abejas para que puedan distribuirlo por toda la colmena. Situación que no se produce en este experimento, al actuar el producto sólo por evaporación debido a que se encuentra en contenedores plásticos, esta condición produce una disminución de la eficacia del timol que puede variar desde un 15 a 25%. En otras palabras la forma de aplicación es una variable que puede modificar la eficacia acaricida del producto sobre el parásito, más aún DE FELIPE y VANDAME (1999), afirman que no sólo es necesario el contacto, sino el tipo de soporte del producto, pues es de gran

importancia que las abejas desagreguen este y lo repartan en toda la colonia, condición que cumple la vermiculita.

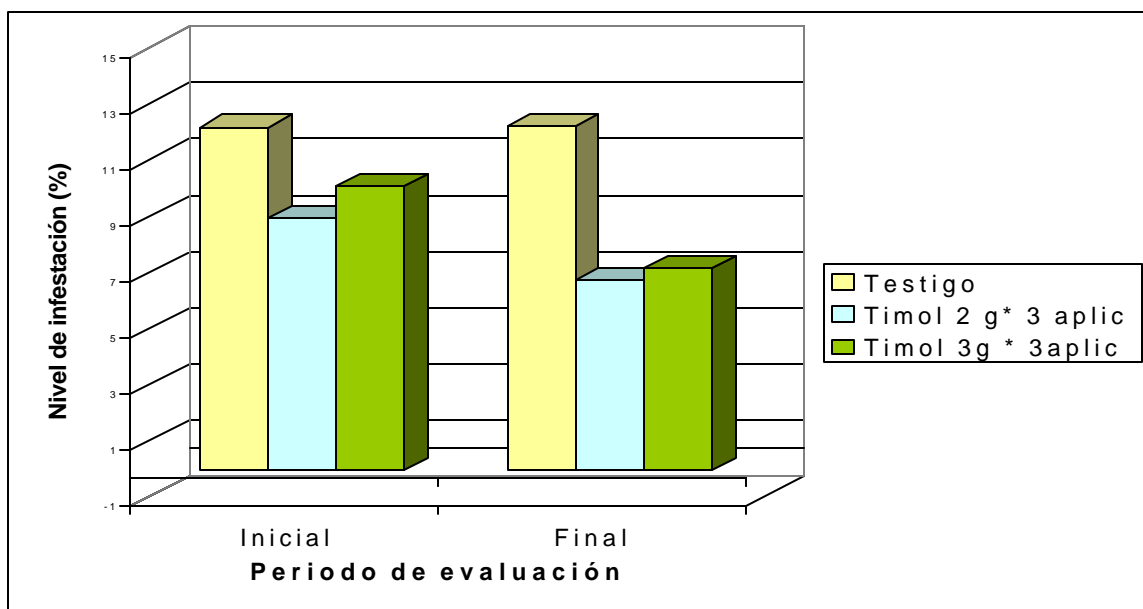


FIGURA 10 Variación del nivel de infestación (%), promedio según las diferentes dosis de timol.

Una situación que tal vez influyó en la ausencia de diferenciación entre los tratamientos al final de la aplicación, se deba a la necesidad de abrir las colmenas para poder realizar las respectivas aplicaciones, modificando la atmósfera interna de la colmena y por ende, el efecto de la aplicación anterior no se demuestra, este hecho también es observado por CADAGAN (1999). Además se puede mencionar que la molécula de timol posee una vida activa corta, lo que afectaría su eficacia acaricida a nivel de campo (COLOMBO y SPREAFICO, 1999).

Otra condición que produciría una disminución de los niveles de efectividad del aceite esencial, fue el grado de propolización observado en los contornos de las placas plásticas, fenómeno que posiblemente evitó que los

vapores de timol se difundieran de una manera constante en la colmena. Esta situación es descrita por RITTER (1993), como una manera de rechazo al aroma extraño introducido al ambiente de la colmena. Sin embargo, este factor no fue sometido a evaluación en el ensayo.

Para finalizar, se puede mencionar que al aplicar en presencia de cría se produce una reducción de la eficacia contra varroa, ya que este ácaro se reproduce dentro de la celdilla evitando así el contacto con los vapores del timol (CALDERONE *et al.*, 1997).

4.2 Alteraciones producidas en *Apis mellifera* L..

Si bien es de interés conocer el efecto que puede causar el acaricida sobre el parásito, no menos importante es determinar los cambios que pueda producir en el hospedero. Lo ideal es que la colonia de abejas no sea alterada o bien que los cambios sean lo más tenues posibles.

Como consecuencia de lo antes expuesto, se procedió a realizar un análisis de la influencia del timol sobre los parámetros: pillaje en las colmenas, mortalidad de abejas e intensidad de ventilación de las colmenas.

4.2.1 Pillaje en colmenas. El timol al ser un aceite esencial que actúa por evaporación, tiende a enmascarar los olores de la colonia, por lo tanto, puede potencialmente favorecer fenómenos de pillaje (BARBERO *et al.*, 1997).

Al interpretar los Cuadros 6 al 8, se observa que no existen diferencias estadísticas entre las dosis utilizadas en los distintos días post aplicación evaluados (Figuras 11 al 13 y Anexos 18 al 26). Estos resultados concuerdan con ROSAS (1997) y CADAGAN (1999), que al usar otros compuestos de aceites esenciales tampoco encontraron modificación de esta conducta. En

cambio en otras experimentaciones, si se comprobó un aumento de pillaje en las colmenas tratadas, así lo señalan IMDORF *et al.* (1996), quienes utilizaron una mezcla de eucaliptol y mentol que provocó un aumento en la conducta de pillaje durante la época primaveral.

CUADRO 6 Pillaje promedio, para cada tratamiento del ensayo 1, en las distintas horas de evaluación post aplicación.

Tratamientos	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	0,25a	0,50a	0,75a
Timol 2 g	0,50a	2,75a	1,25a
Timol 3 g	0,25a	2,00a	1,25a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

CUADRO 7 Pillaje promedio, para cada tratamiento del ensayo 2, en las distintas horas de evaluación post aplicación.

Tratamientos	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	1,00a	0,50a	0,50a
Timol 2 g +2 g*	1,50a	1,00a	1,75a
Timol 3 g + 3 g*	0,00a	0,75a	0,75a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

*Aplicado cada 6 días

CUADRO 8 Pillaje promedio, para cada tratamiento del ensayo 3, en las distintas horas de evaluación post aplicación.

Tratamientos	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	0,50a	0,25a	0,25a
Timol 2 g +2 g* + 2 g*	0,75a	0,50a	0,50a
Timol 3 g + 3 g* + 3 g*	0,75a	0,75a	0,25a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

*Aplicado cada 6 días

Una de las razones que se puede señalar para que no se produjera el fenómeno de pillaje, podría ser que los niveles de timol usados en el ensayo no son los que se requieren para desencadenar este fenómeno. Además como se mencionó anteriormente, las temperaturas alcanzadas no fueron las necesarias para obtener una concentración suficiente del aceite esencial en la colmena y posiblemente influyó en la no modificación de esta conducta de las abejas.

Según BARBERO *et al.* (1997), otra de las condiciones que pudo haber neutralizado el fenómeno de pillaje, es que las colmenas presentaran similares condiciones en su estructura poblacional, es decir, constituidas por colonias de similar condición. Ya que las colmenas más débiles tienden a ser las primeras en ser saqueadas por las abejas.

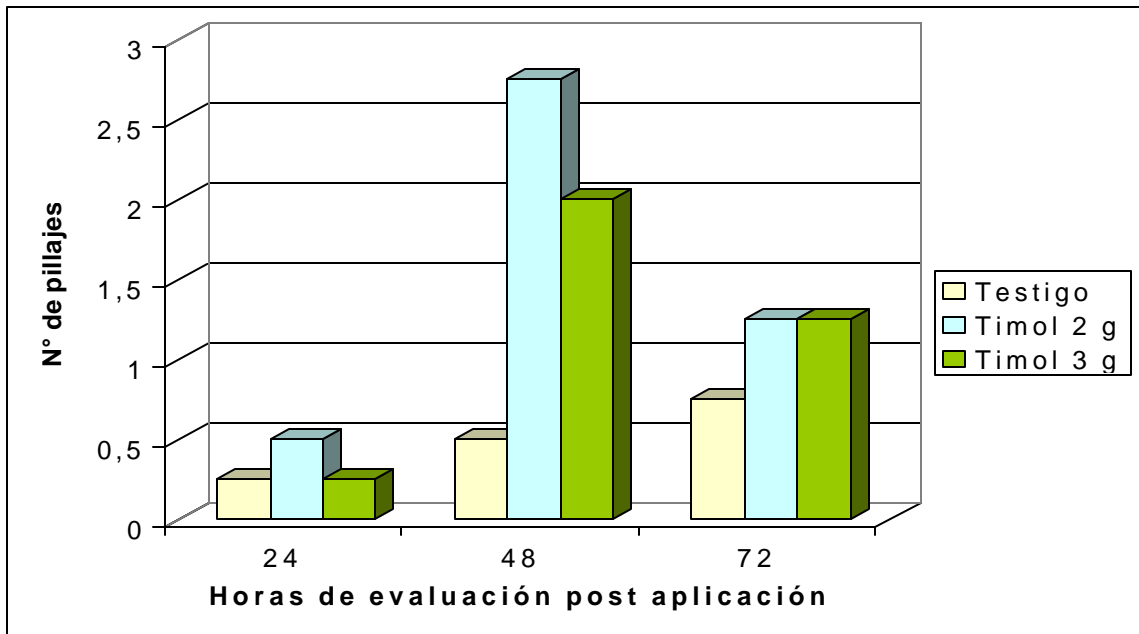


FIGURA 11 Número promedio de pillajes, ocurridos post aplicación de las diferentes dosis de timol, en el ensayo 1.

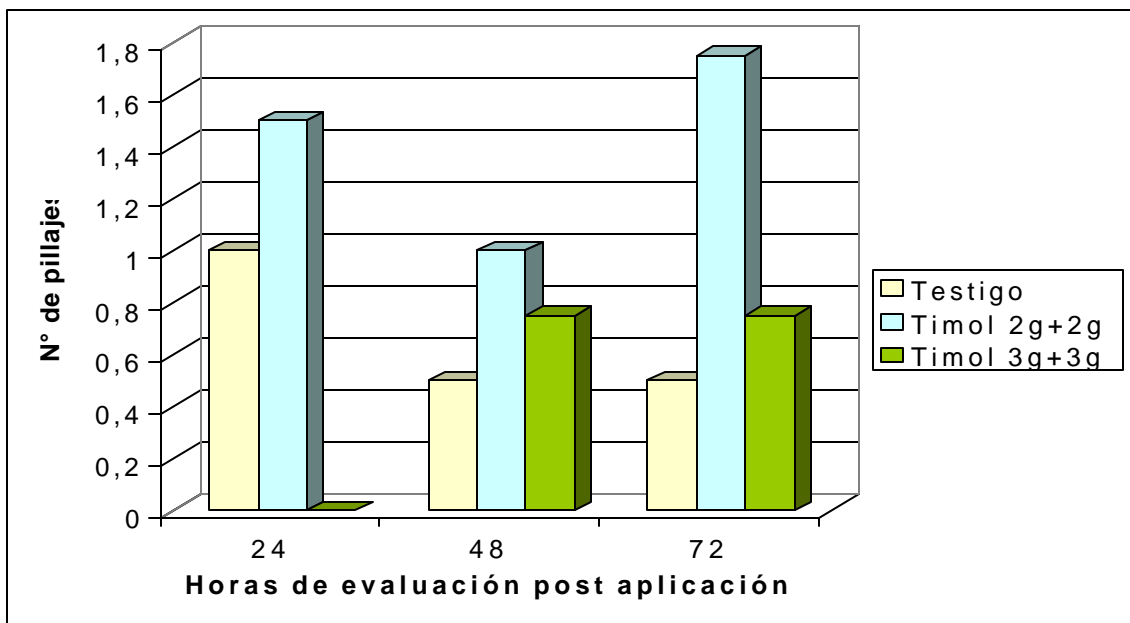


FIGURA 12 Número promedio de pillajes, ocurridos post aplicación de las diferentes dosis de timol, en el ensayo 2.

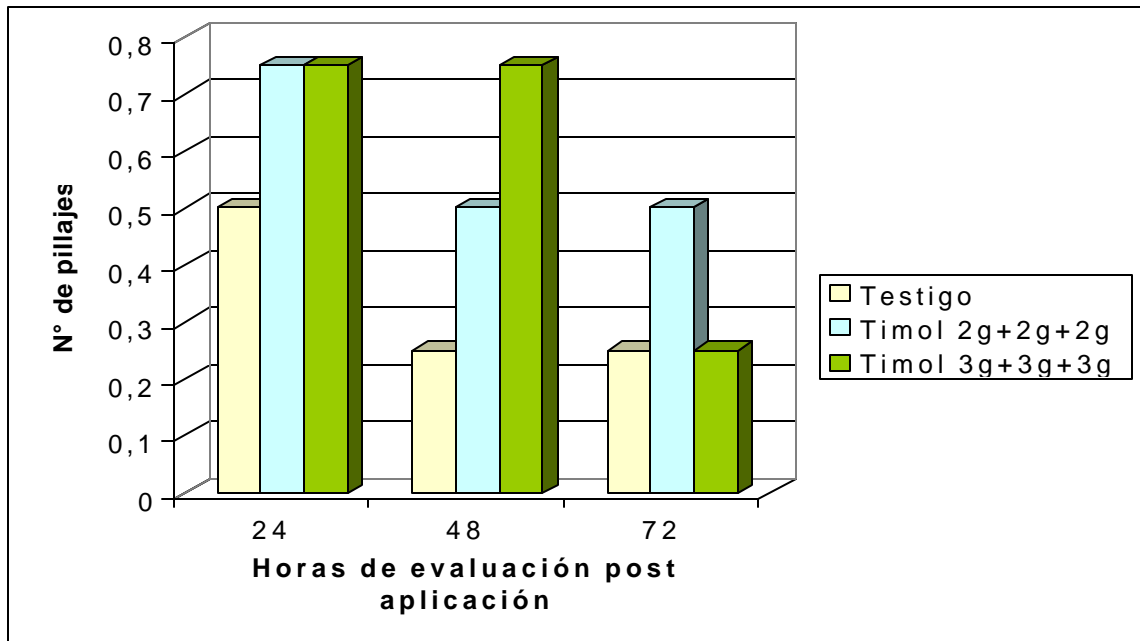


FIGURA 13 Número promedio de pillajes, ocurridos post aplicación de las diferentes dosis de timol, en el ensayo 3.

El no encontrar la acción de pillaje para las dosis en estudio, se presenta como una condición favorable desde el punto de vista de sanidad dentro del colmenar, ya que según MILANI *et al.* (1993), señalaron al pillaje como la principal causa de reinfestación de varroa, debido a que las abejas al ingresar y robar recursos alimenticios de una colmena ajena, pueden entrar en contacto con abejas infestadas (WINSTON, 1987).

Lo anterior es confirmado por AMRINE *et al.* (1996), quienes indican como crucial para el futuro de la diseminación de la varroasis el movimiento del ácaro, frecuentemente en alto número, desde colonias infestadas a colonias vecinas, otro factor importante que ayuda en la diseminación de varroa a otras áreas es el movimiento de apicultores migratorios con colonias infestadas. El proceso de pillaje juega un rol clave en incrementar los niveles de infestación, la invasión de ácaros puede ocurrir en cualquier época del año, pero sucede

normalmente a fines de verano, cuando colonias fuertemente infestadas están colapsando y son robadas (pillaje) por abejas de otras colonias.

CUADRO 9 Número de pillajes, promedio para las evaluaciones post aplicación de los diferentes ensayos.

	Pillajes según horas evaluadas		
	24 h	48 h	72 h
Ensayo 1	0,33a	1,75 b	1,08ab
Ensayo 2	0,83a	0,75a	1,00a
Ensayo 3	0,67a	0,50a	0,33a

Letras distintas en cada fila denotan HSD al 5% entre niveles.

Al analizar el Cuadro 9 y Anexos 27 al 29, se puede apreciar que en el ensayo 1 existen diferencias estadísticas, lo cuál coincidió con las temperaturas mínimas más altas del experimento (Anexo 54), lo que probablemente permitió una mayor evaporación de producto, pero que no significó modificación en ninguna de las demás conductas de las abejas ni de los ácaros. Esta situación debería ser investigada, pues el pillaje podría aumentar al aplicar timol en épocas con temperaturas más altas.

4.2.2 Abejas muertas. Para analizar este parámetro, se contabilizó el número de abejas que se encontraron muertas sobre la malla de la trampa colocada en el piso de la colmena.

Al apreciar los resultados de los Cuadro 10 al 12, se concluye que el efecto de la dosis y la aplicación de tratamientos repetitivos sobre este

parámetro no causó efectos significativos en las colonias de abejas (Anexos 30 al 38), situación que se puede observar gráficamente en las Figuras 14 al 16.

Similar situación se encontró en otros ensayos de laboratorio y terreno. A nivel de laboratorio KARACHON (1996), aplicando diferentes dosis de solución de eucaliptol y BARRIA (2000), utilizando timol y mentol al 4% y 10%. En terreno CADAGAN (1999), usando mentol y eucaliptol tampoco encontró diferencias significativas.

CUADRO 10 Abejas muertas en el ensayo 1, promedio para los diferentes tratamientos, según las horas evaluadas post aplicación.

Tratamiento	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	0,25a	0,25 a	0,25a
Timol 2 g	0,25a	0,00 a	0,25a
Timol 3 g	0,00a	0,25 a	0,50a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

CUADRO 11 Abejas muertas en el ensayo 2, promedio para los diferentes tratamientos, según las horas evaluadas post aplicación.

Tratamiento	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	0.25a	0.25a	0,00a
Timol 2 g +2 g*	0,25a	0.25a	0,25a
Timol 3 g + 3 g*	0,25a	0,00a	0,25a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

*Aplicado cada 6 días

CUADRO 12 Abejas muertas en el ensayo 3, promedio para los diferentes tratamientos, según las horas evaluadas post aplicación.

Tratamiento	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	0,25a	0,25a	0,25a
Timol 2 g +2 g*+ 2 g*	0,25a	0,00a	0,25a
Timol 3 g + 3 g* + 3 g*	0,25a	0,25a	0,00a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

*Aplicado cada 6 días

En ensayos con mezclas de timol más otros aceites esenciales realizados por CALDERONE y SPIVAK (1995); CALDERONE *et al.* (1997), no se observaron efectos aparentes en la mortalidad de las abejas, ya que estos datos no fueron cuantificados.

Entre los factores que se podrían exponer para explicar la inexistencia de diferencias significativas entre los tratamientos; incidiría que las dosis usadas en este ensayo no alcanzarían a desencadenar efectos tóxicos sobre *A. mellifera*, en segundo lugar se puede inferir que las abejas de por si, poseen una tolerancia natural a los productos que contienen aceites esenciales. Lo anterior se ratifica con estudios de AMRINE *et al.* (1996), quienes indican que las abejas no son afectadas por los aceites esenciales, ya que en la naturaleza el néctar y polen aprovechado por *Apis mellifera* contienen dichos aceites.

Otra situación que afecta la mortalidad de abejas al aplicar el aceite esencial de timol, es la ocurrencia de temperaturas sobre 30° C, las que producen una alta volatilización del ingrediente activo, trayendo como consecuencia un aumento de la mortalidad de abejas Chiesa (1991); Gal *et al.*

(1992), citados por MATTILA *et al.* (1999), según SCHULZ (1993), llegando a causar daños en crías de abejas en un experimento con Apilife VAR[®], en un tercio de las colmenas tratadas. Este rango de temperatura, no se alcanzó durante la realización del experimento, por lo tanto, su incidencia en el grado de mortalidad de abejas sería nulo.

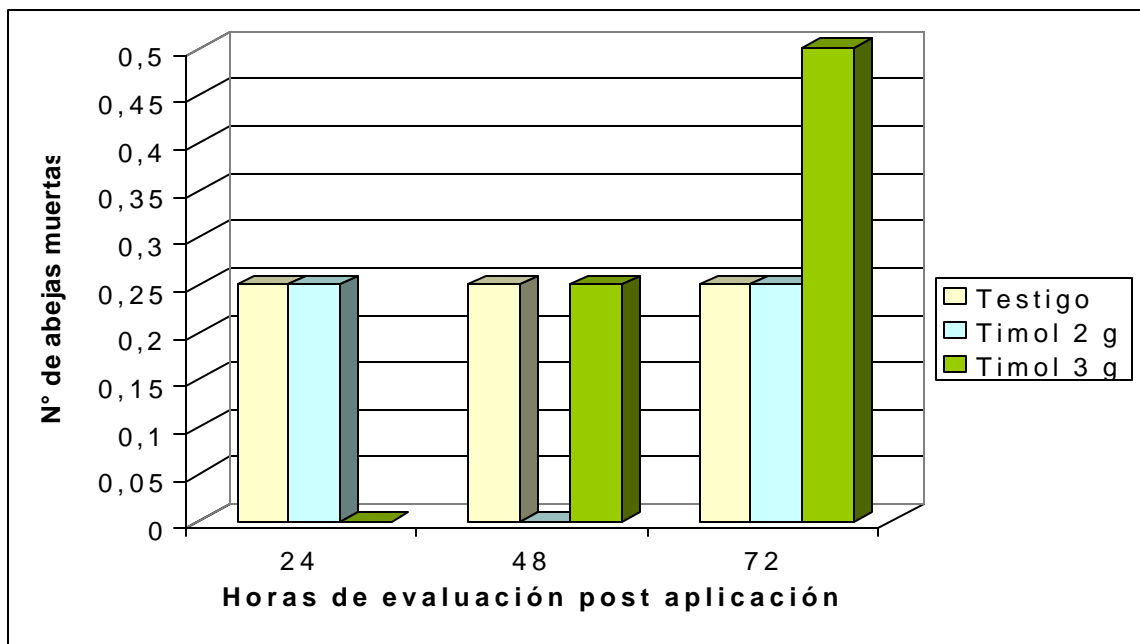


FIGURA 14 Número promedio de abejas muertas, según las diferentes dosis de timol utilizadas en el ensayo 1.

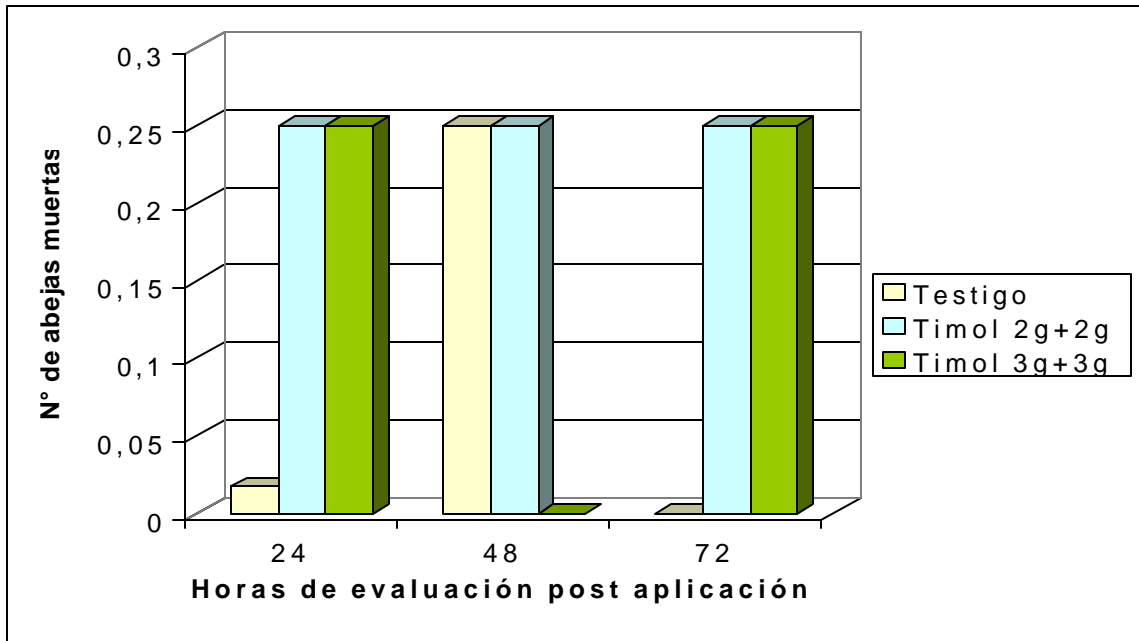


FIGURA 15 Número promedio de abejas muertas, según las diferentes dosis de timol utilizadas en el ensayo 2.

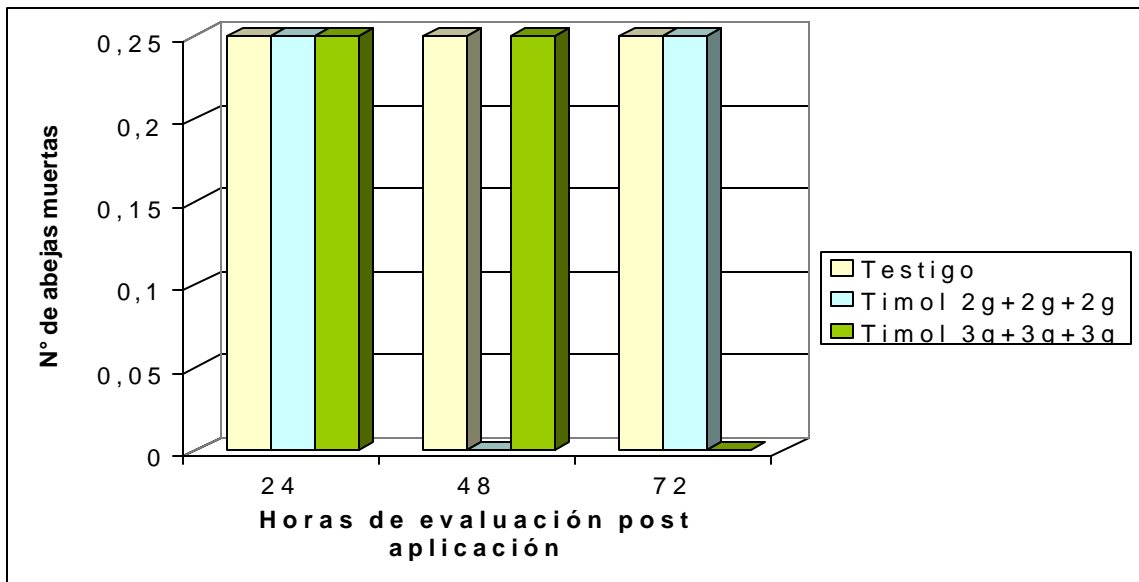


FIGURA 16 Número promedio de abejas muertas, según las diferentes dosis de timol utilizadas en el ensayo 3.

CUADRO 13 Abejas muertas, promedio para las horas evaluadas post aplicación, en los diferentes ensayos.

	Abejas muertas (horas evaluadas)		
	24 h	48 h	72 h
Ensayo 1	0,17a	0,17a	0,33a
Ensayo 2	0,25a	0,17a	0,17a
Ensayo 3	0,25a	0,17a	0,17a

Letras distintas en cada fila denotan HSD al 5% entre niveles.

No se observaron diferencias en las horas evaluadas en los ensayos realizados (Cuadro 13 y Anexos 39 al 41), debido a que los rangos de temperaturas obtenidos durante la experimentación, no serían lo suficientemente altos como para causar un efecto tóxico sobre *A. mellifera* con las dosis utilizadas.

4.2.3 Intensidad de ventilación de las colmenas. Se puede inferir que la acción de los aceites esenciales, supondría un aumento de la intensidad de ventilación debido a la modificación del ambiente interior de las colmenas, lo que provocaría una menor permanencia del aceite esencial al interior de la colmena y por ende, un menor contacto entre el parásito con los vapores del timol, con la correspondiente disminución en su capacidad acaricida.

Al observar los datos para este parámetro (Cuadros 14 al 16 y Anexos 42 al 50), según las dosis usadas en los diferentes ensayos a las diferentes horas post aplicación, se puede inferir que no existen diferencias de intensidad de

ventilación entre las dosis, es decir, los niveles del aceite esencial dentro de la colmena no fueron suficientes para modificar esta conducta de las abejas. Los niveles de intensidad de ventilación para los 3 ensayos, se observan gráficamente en las Figuras 17 a la 19.

CUADRO 14 Intensidad de ventilación, promedio de las colmenas, para los distintos períodos post aplicación del ensayo 1.

Tratamientos	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	1,50a	2,00a	2,25a
Timol 2 g	2,00a	2,50a	2,00a
Timol 3 g	2,25a	2,50a	3,00a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

CUADRO 15 Intensidad de ventilación, promedio de las colmenas, para los distintos períodos post aplicación del ensayo 2.

Tratamientos	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	2,00a	2,75a	2,25a
Timol 2 g +2 g*	2,00a	2,25a	1,75a
Timol 3 g + 3 g*	2,50a	2,50a	2,75a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

*Aplicado cada 6 días

CUADRO 16 Intensidad de ventilación, promedio de las colmenas, para los distintos períodos post aplicación del ensayo 3.

Tratamientos	Evaluaciones post aplicación (horas)		
	24	48	72
Testigo	2,25a	2,75a	1,75a
Timol 2 g +2 g* + 2 g*	2,25a	2,5a	2,0a
Timol 3 g + 3 g* + 3 g*	2,5a	3,0a	2,25a

Letras distintas en cada columna denotan HSD al 5% entre niveles.

*Aplicado cada 6 días

Las respuestas de ventilación de *A. mellifera* a distintos aceites esenciales ha sido variable, esta variación de resultados se puede deber a la diferencia de evaporación propia de ser distintos compuestos y a las dosis usadas. ROSAS (1997), encontró diferencias estadísticas entre los tratamientos en el total de días post aplicación, utilizando ácido fórmico, eucaliptol, mentol y una mezcla de eucaliptol más lavanda.

CADAGAN (1999), no obtuvo diferencias en la intensidad de ventilación al aplicar mentol y eucaliptol en la estación invernal, debido a la falta de temperatura para alcanzar mayores niveles de evaporación. Como el presente ensayo con timol se realizó en época primaveral; se esperaría un aumento de evaporación del ingrediente activo de este aceite esencial, debido a una mayor temperatura con relación al invierno, sin embargo, los niveles de evaporación aún no serían los suficientes para modificar esta conducta de las abejas, a las dosis usadas en los ensayos.

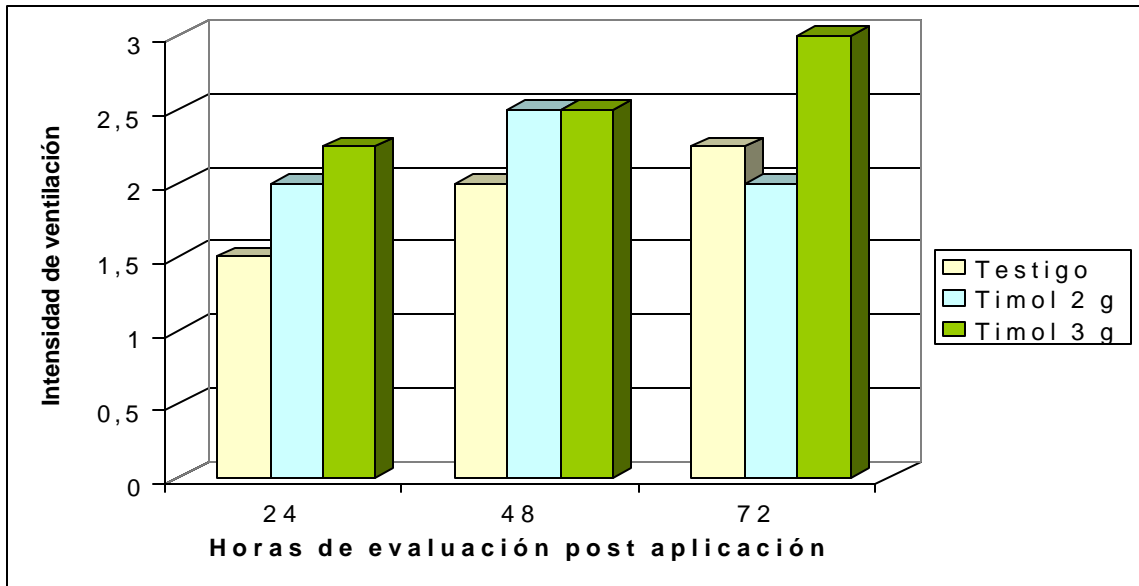


FIGURA 17 Intensidad de ventilación, promedio según las dosis aplicadas en el ensayo 1.

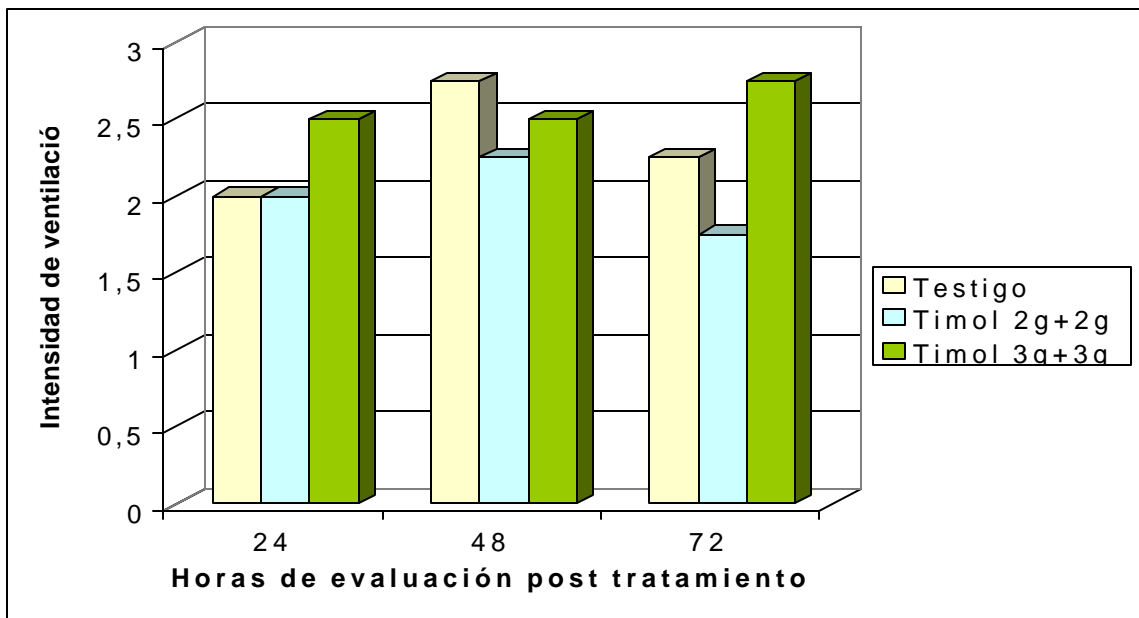


FIGURA 18 Intensidad de ventilación, promedio según las dosis aplicadas en el ensayo 2.

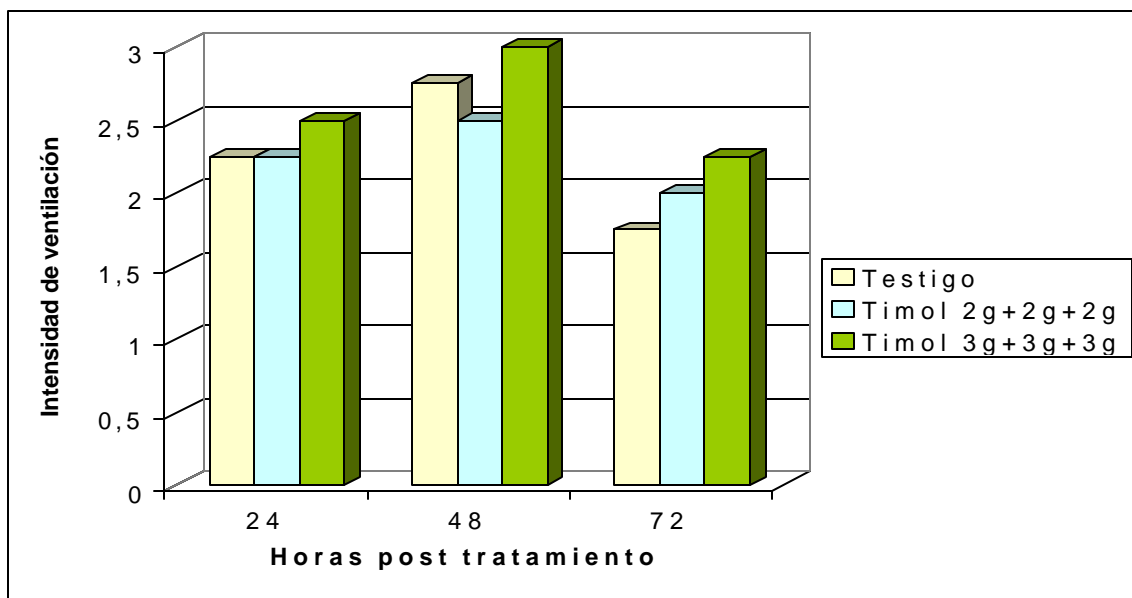


FIGURA 19 Intensidad de ventilación, promedio según las dosis aplicadas en el ensayo 3.

Un factor que no fue analizado en el presente estudio y que supondría otra condición para que no se manifestara la conducta de ventilación entre los tratamientos en los días evaluados, sería el grado de propolización de los contenedores plásticos que tenían en su interior el timol en polvo. Lo anteriormente descrito es afirmado por RITTER (1993), quien señala entre las conductas que poseen las abejas para reaccionar frente a olores extraños, están las conductas de ventilación de la colmena y la obstrucción de la fuente de evaporación con una cubierta de propóleos. Por lo tanto, al no manifestarse una diferencia en la ventilación, el efecto de sellado de los propóleos disminuiría el nivel de los vapores del aceite esencial de timol.

CUADRO 17 Evaluación de la intensidad de ventilación, promedio para las horas post aplicación de los diferentes ensayos.

	Intensidad de ventilación (horas)		
	24 h	48 h	72 h
Ensayo 1	1,92a	2,33a	2,42a
Ensayo 2	2,17a	2,50a	2,25a
Ensayo 3	2,33ab	2,75 b	2,00a

Letras distintas en cada fila denotan HSD al 5% entre niveles.

Al apreciar el Cuadro 17 y Anexos 51 al 53, se observó en el transcurso del experimento diferencias estadísticamente significativas para el ensayo 3, que corresponde a la mayor dosis de aplicación del producto y quizás los tratamientos con menor dosis no alcanzan el nivel umbral para provocar modificaciones de esta conducta, aunque las temperaturas fueron mayores (Anexo 54). El máximo de intensidad ocurre a las 48 h post aplicación ,aunque no coincide con la mayor temperatura ambiental del ensayo 3, por lo tanto, esta variación dentro del ensayo se produciría por alguna variable que no estaba contemplada en las mediciones del experimento, ya que la ventilación además de enfriar la colmena, también cumple el objetivo de concentrar la miel, disminuir la humedad, CO₂ u otros compuestos (WINSTON, 1987).

5. CONCLUSIONES

En función del análisis de los resultados obtenidos, bajo las condiciones ocurridas durante el experimento y de acuerdo a los objetivos planteados, las conclusiones son las siguientes:

El timol demostró que no posee efecto acaricida, medido a través de la caída de varroas, a las dosis usadas en los ensayos y a las temperaturas alcanzadas durante el experimento.

El nivel de infestación de abejas adultas no presentó diferencias entre las dosis ensayadas al finalizar el experimento.

Para el fenómeno de pillaje en las colmenas tratadas de los distintos ensayos, no se apreciaron diferencias entre las dosis, a las diferentes horas post tratamiento evaluadas.

El aceite esencial de timol no mostró efectos negativos en la mortalidad de las abejas, en los tratamientos utilizados para los diferentes ensayos.

En relación con la intensidad de ventilación, no se apreció que las dosis de timol produjeran diferencias de esta conducta en ninguno de los ensayos realizados.

Para finalizar, se propone la continuación de las investigaciones con este aceite esencial, aunque los resultados no fueron del todo satisfactorios, debido a que quizás las dosis fueron insuficientes o tal vez, el método de aplicación no es el más conveniente para la zona donde se realizó el presente experimento.

Los aceites esenciales son aceptados en agricultura orgánica, por lo tanto, adquieren gran importancia en mercados más exigentes favoreciendo económicamente a los productores que los utilizan.

6. RESUMEN

Durante la primavera del año 2000, entre los días 24 de noviembre y 13 de diciembre, se realizaron experimentos en el Campus Experimental Santa Rosa, propiedad de la Universidad Austral de Chile, ubicado a 5 km de la ciudad de Valdivia, para evaluar la capacidad acaricida de cristales de timol para el control de *Varroa destructor* Anderson & Trueman, sobre colonias de *Apis mellifera* L..

Para los ensayos se utilizaron 12 colmenas del tipo Langsthoth, se aplicaron 3 dosis de timol con 4 repeticiones, cada repetición era equivalente a una colmena. El diseño estadístico consistió, en un experimento completamente al azar. Se realizó un número de 3 aplicaciones con intervalos de 6 días, distribuido en 2 contenedores de plástico, con la mitad de la dosis cada uno, ubicados en 2 esquinas opuestas sobre los cabezales de las colmenas. Se obtuvieron 3 ensayos, en el ensayo 1 las dosis usadas fueron de 0 (control), 2 y 3 g de timol en polvo, en el ensayo 2 las dosis fueron de 0 (control), 4 y 6 g de timol y en el ensayo 3, las dosis fueron de 0 (control), 6 y 9 g de timol en polvo.

Los parámetros analizados, correspondieron a caída de ácaro, intensidad de ventilación, fenómeno de pillaje y mortalidad de *A. mellifera* con evaluaciones post tratamiento a las 24 – 48 y 72 h. Además se evaluó la variación del nivel de infestación de varroa (%) sobre *A. mellifera* antes y después de la aplicación de las dosis del aceite esencial.

Los resultados obtenidos demuestran que el timol aplicado de acuerdo a la metodología de DE FELIPE y VANDAME (1999), no provocó una caída de

varroa estadísticamente diferente en relación al testigo y entre dosis en los distintos ensayos. El producto no produjo alteraciones en la mortalidad y el pillaje de las abejas, pero si existieron diferencias en la evaluación horas post tratamiento para el pillaje en el ensayo 1. Al analizar la variación del nivel de infestación de varroa en abejas, no se apreciaron diferencias entre los tratamientos al final del período de evaluación. En el análisis de la intensidad de ventilación, no se encontraron diferencias entre las dosis, pero si existió diferenciación en el ensayo 3 a las 48 h post tratamiento. Este estudio puede ser usado como base para posteriormente seguir realizando más experimentos con dosis mayores de timol u otras formas de aplicación, que se adapten a la zona sur de Chile, ya que este producto es usado en agricultura orgánica y se obtienen resultados eficaces en otras zonas.

SUMMARY

During the spring of the year 2000, between the days 24 of November and 13 December, were carried out experiments at the Experimental Campus Santa Rosa, property of the Universidad Austral of Chile, located to 5 km of the city of Valdivia, to evaluate the acaricide effect of thymol crystals for the control of *Varroa destructor* Anderson & Trueman on *Apis mellifera* L. colonies.

For the experiments were used 12 beehives of the type Langsthoth, 3 timol doses were applied with 4 repetitions, each repetition was equivalent to a beehive. A random experimental design was used. Were carried out 3 applications with intervals of 6 days, distributed in two containers of plastic, with half of the dose each one, located in two opposed corners on the bolsters of the beehives. 3 assays were obtained, in the assay 1 the used doses were of 0 (control), 2 and 3 g of powdered thymol, in the assay 2 the doses were of 0 (control), 4 and 6 g of powdered thymol and in the assay 3, the doses were of 0 (control), 6 and 9 g of powdered thymol.

The analyzed parameters, were number of mites falled, ventilation intensity, robbing and mortality of *A. mellifera* with evaluations post treatment at 24 - 48 and 72 h. The variation of the level of varroa infestation was also evaluated on *A. mellifera* before and after the application of the essential oil.

The obtained results demonstrated that the thymol applied according the methodology of DE FELIPE y VANDAME (1999), did not increase stastically the fall of varroa in any the treatments. The product did not produce alterations in the mortality and robbing of *A. mellifera*, but differences existed in the evaluation

hours post treatment for robbing in the first assay. When the level of varroa infestation of bees, was analyzed no differences were appreciated for the treatments at the end of the period of evaluation. The analysis of the ventilation intensity, did not show differences among the doses, but differences existed in the assay 3 to the 48 h post treatment. This study can be used as base for to continue carrying out more experiments with higher doses for thymol or other application forms for the product better adapted to the condition of southern Chile, since this product it is used in organic agriculture and effective results are obtained in other countries to control varroa infestations.

7. BIBLIOGRAFIA

ALIPPI, A.; ALBO, G.; MARCAGELI, J.; LENIZ, D. y NORIEGA, A. 1995. The mite *Varroa jacobsoni* does not transmit American foulbrood from infected to healthy colonies. *Experimental and Applied Acarology* (Holanda) 19: 607-613.

AMRINE, J.; NOEL, B.; MALLOW, H.; STASNY, T. y SKIDMORE, R. 1996. Essential oils used to control mites in honey bees. <<http://www.wvu.edu/~agexten/varroa/oils.htm>>(10 agosto 2000).

ANDERSON, D. y TRUEMAN, J. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* (Holanda) 24: 165-168.

APICOLTURA ONLINE . s.f. Timolo in polvere. <www.apicolturaonline.it/timolo.htm> (21 julio 2001).

APINET, 1996. Workshop sobre control de varroasis en la República Argentina. <<http://www.inta.gov.ar/apinet/WORKSHOP.HTM>>(09 agosto 2000).

AUSTRALIAN NATIONAL UNIVERSITY. 2001. Recent successes from the Bioinformatics Lab. <<http://www.anu.edu.au/BoZo/trueman/labsite/successes.htm>> (6 julio 2001).

- BARBERO, R.; PANELLA, F. y BONIZZONI, L. 1997. Apilife VAR[®] y el plan de lucha contra la varroasis en Italia. *Vida Apícola (España)* 84:56-59.
- BARRIA, M. 2000. Efectos de la aplicación de timol y mentol sobre *Varroa jacobsoni* y su hospedero *Apis mellifera* L. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 80 p.
- BARRIGA, J. y NEIRA, M. 1988. *Varroa jacobsoni*, peligro potencial para las abejas en Chile. **In.** Seemann, P. y Neira, M. (eds). Tecnología de la producción apícola. Valdivia, Chile. pp 31-45.
- BOGDANOV, S.; IMDORF, A. y KILCHENMANN, V. 1998. Residues in wax and honey after Apilife VAR[®] treatment. *Apidologie (Francia)* 29: 513-524.
- CADAGAN, C. 1999. Aplicación invernal de aceites esenciales para el control de *Varroa jacobsoni* Oud. en *Apis mellifera* L. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 97 p.
- CALDERONE, N. y SPIVAK, M: 1995. Plant extracts for control of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the western honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology (E.E.U.U.)* 88 (5): 1211-1215.
- _____; TILSON, W. y SPIVAK, M. 1997. Plants extracts used for control of the parasitic mites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology (E.E.U.U.)* 90 (5): 1080-1086.

- CAMPOS, P. 2000. Efecto del aceite esencial mentol y de los ácidos orgánicos fórmico y láctico sobre *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata: Varroidae) y su hospedero *Apis mellífera* L. (Hymenoptera: Apidae). Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 70 p.
- CANAVOS, G. 1990. Probabilidad y estadística. Aplicaciones y métodos. Litográfica Ingramex. México. 651p.
- CASTILLO, R. 1992. Varroasis, grave amenaza para la apicultura y la agricultura de nuestro país. Chile Hortofrutícola (Chile) 5 (26): 18-22.
- CHILE, SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO (SAG), DEPARTAMENTO DE PROTECCION PECUARIA. 1994. Control de la varroasis de las abejas. Santiago, Chile. 20 p.
- COBEY, S. 2001. The varroa species complex. Identifying *Varroa destructor* and new strategies of control. Bee Culture (E.E.U.U.)129 (2): 26-28.
- COLIN, M.E.; CIAVARELLA, F.; OTERO COLINA, G. y BELZUNCES, L.P. 1994. A method for characterizing the biological activity of essential oils against *Varroa jacobsoni*, In: Matheson, A. (Ed.) News perspectives on varroa, International Bee Research Association. England. pp:109-114.
- COLOMBO, M. y SPREAFICO, M. 1999. Esperienze di lotta a *Varroa jacobsoni* Oud. con un nuovo formulato a base di timolo. La Selezione Veterinaria (Italia) 7: 473-478.

CONGRESO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA APICOLA. 4º. Olmué, Julio 28-30. 1994. Asociación de apicultores V Región. Universidad Católica de Valparaíso. 40 p.

DE FELIPE, M. y VANDAME, R. 1999. Curso de capacitación sobre control alternativo de Varroa en la apicultura. <http://www.beekeeping.com/articulos/control_varroa/> (26 mayo 2000).

DENMARK, H. y SANDORF, M. 2000. Varroa mite - *Varroa jacobsoni* Oudemans (Arachnida: Acari: Varroidae). <http://www.ifas.ufl.edu/~insect/misc/bees/varroa_mite.htm> (24 agosto 2000).

DIETZ, A. y HERMANN, H. 1988. Biology, detection and control of *Varroa jacobsoni*: a parasitic mite on honey bees. Lei-Act Publishers. Georgia, USA. 82 p.

FAUCON, J. 1999. Mecanismos de resistencia de la abeja. Vida Apícola (España) 97: 57-59.

FLORES, J.; RUIZ, J.; RUZ, J.; PUERTA, F. y CAMPANO, F. 1997. Control de varroasis. Investigaciones sobre tratamientos alternativos en el sur de España. Vida Apícola (España) 84: 45-49.

_____ ; CUNHA, S.; RUZ, J.; PUERTA, F.; CAMPANO, F.; GARCIA, E. y GALLEGO, O. 2000. Situación actual y perspectivas de los tratamientos en el control de *Varroa jacobsoni* Oud. en Andalucía. Vida Apícola (España) 104: 26-31.

GOMEZ, A. 1998. Nosemiasis, varroasis. Situación actual. Vida Apícola (España) 88: 51-54.

HARBO, J. y HARRIS, J. 1999. Heritability in Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) of characteristics associated with resistance to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). Journal of Economic Entomology (E.E.U.U.) 92 (2): 261-265.

HONEYFARM. s.f. *Varroa destructor*. <<http://www.honeyfarm.ch/Varroa.html>> (23 septiembre 2001).

IMDORF, A., CHARRIERE, J., MAQUELIN, C., KILCHENMANN, V., y BACHOFEN, B. 1996. Alternative varroa control. American Bee Journal (E.E.U.U.) 136(3): 189-193.

_____. y BOGDANOV, S. 1999. Use of Essential Oils for the Control of *Varroa jacobsoni*. <<http://www.hereintown.net/~rnoel/eotreatments.htm>> (10 agosto 2000).

_____, IBAÑEZ, R. y CALDERONE, N. 1999. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. Apidologie (Francia) 30: 209-228.

KARACHON, A. 1996. Respuesta de *Varroa jacobsoni* y *Apis mellifera* a la aplicación de eucaliptol. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 65 p.

KRAUS, B., VELTHIUS, H. y TINGEK, S. 1994. Screening of substances for their effect on *Varroa jacobsoni*: attractiveness, repellency, toxicity and

masking effects of ethereal oils. Journal of Apicultural Research (Inglaterra) 33 (1): 34-43.

LIELLE, A. 1994. Varroasis: Jaque a la Apicultura. Frontera Agrícola (Chile) 2: 74-77.

MATTILA, H.; OTIS, G.; DELEY, J. y SCHULZ.1999. Trials of Apiguard, a Thymol-Based Miticide Part 2. Non-target Effects on Honey Bees. American Bee Journal (E.E.U.U.) 140(1): 68-70.

MILANI, N.; NAZZI, F. y GREATTI, M. 1993. La reinfestazione degli apiari trattati: una frequente causa di insuccesso nella lotta contro *Varroa jacobsoni*. Ape Nostra Amica (Italia) 15(5): 4- 9.

MUNCH, H. s.f. Varroa als Bienenschädlinge. <<http://www.echterhonig.de/Bienen/Varroa/Varroa.htm#Varroamilben>> (18 junio 2001).

MUNN, P. 1996. Varroa! Fight the mite: meeting a success. <<http://www.cardiff.ac.uk/ibra/varroa.html>> (11 mayo 2000).

NEIRA, M. 1999. Apicultura. In Amtmann, C.; Mujica, F. y Vera, B. (eds). Pequeña agricultura en la Región de Los Lagos. Universidad Austral de Chile. pp: 261-295.

PAJUELO, A. 2000. La varroasis en España, situación actual. Vida Apícola (España) 102: 49-53.

- PELDOZA, J. 1992. Varroasis de las abejas presencia en Chile. *El Campesino* (Chile) 123(8): 47-58.
- PFEIFFER, P. 1998. Efecto de diferentes dosis de fósforo y potasio en el rendimiento de chalota (*Allium cepa* var. *Aggregatum*). Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 49 p.
- RITTER, W. 1993. Chemical control, options and problems. **In:** Living with varroa. International Bee Research Association. London, England. p 17-25.
- _____. 1999. Coordination in Europe of research on integrated control of Varroa mites in honey bee colonies. <<http://www.entom.slu.se/res/bi/proj16b.html>> (11 mayo 2000).
- ROSAS, L. 1997. Aplicación otoñal de aceites esenciales y ácido fórmico para el control de *Varroa jacobsoni* Oud. en *Apis mellifera* L. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 85 p.
- SAMMATARO, D., GERSON, U., y NEEDHAM, G. 2000. Parasitic mites of honey bees: Life history, implications and impact. *Annual Review of Entomology* (E.E.U.U.) 45: 519-548.
- SANFORD, M. 2000. *Varroa destructor*: a new name for an old parasite. <<http://www.ceris.purdue.edu/napis/pests/shb/newsapis/apis0007.html>> (3 agosto 2001).
- SCHULZ, S. 1993. Treatment of varroatosis with essential oils depending on the Apilife/VAR dosage. *Apidologie* (Francia) 24 (5): 497-499.

SUAREZ, M. s.f. Varroasis: situación actual y tratamientos.
<<http://www.vidaapicola.com/tecnica/varroa1.html>> (25 mayo 2000).

TERRALIA. s.f. Biotecnología. <<http://www.terralia.com/revista8/pagina34.htm>>
(29 abril 2002).

UNIVERSITY OF MICHIGAN, s.f. Lecture 17 - Acari III
–Parasitiformes: Dermanyssoidea (cont.).
<<http://www.ummz.lsa.umich.edu/curators/bmoc/bio341/bio341-17.html>>
(10 agosto 2001).

VANDAME, R.; COLIN, M. y OTERO, G. 1998. Tolerancia a varroa. Vida
Apícola (España) 88: 45-50.

_____. 2000. Control Alternativo de varroa en Apicultura.
<http://www.beekeeping.com/articulos/control_varroa/curso2.htm#1_1>(10
julio 2001).

_____, COLIN, M. y OTERO, G. s.f. Abejas europeas y africanizadas
en México: la tolerancia a *Varroa jacobsoni*.
<http://www.beekeeping.com/articulos/vandame/vandame1_sp.htm> (10
julio 2001).

VEERKAMP, H. 1996. The Varroa mite, *Varroa jacobsoni*.
<<http://web.inter.nl.net/hcc/beenet/varroa.htm>> (24 noviembre 2000).

VITA (EUROPE) LIMITED. s.f. Varroa Mites. <<http://www.beekeeping.com/vita/>>
(24 marzo 2001).

WICKES, H y URI, J. s. f. Thymol (U. S. P.)—Thymol.
<<http://metalab.unc.edu/herbmed/eclectic/kings/thymol.html>> (11 mayo
2000).

WINSTON, M. 1987. The biology of the honey bee. Harvard University Press.
Massachusetts, USA. 281 p.

ANEXOS

ANEXO 1 Distribución de haplotipos de *V. destructor* a nivel mundial:**R: Tipo ruso/coreano****J: Tipo japonés/tailandés****FUENTE: MUNCH (s.f.).**

ANEXO 2 Ubicación de los contenedores de timol en la colmena.**ANEXO 3 Trampa utilizada en el ensayo para capturar varroa.**

ANEXO 4 Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 24 h post aplicación en el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	4064,0	2	2032,0	1,41	0,2938
Dentro del grupo	12990,0	9	1443,33		
Total (corregido)	17054,0	11			

ANEXO 5 Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 48 h post aplicación en el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	5187,17	2	2593,58	2,46	0,1407
Dentro del grupo	9497,75	9	1055,31		
Total (corregido)	14684,9	11			

ANEXO 6 Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 72 h post aplicación en el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	3492,67	2	1746,33	1,04	0,3921
Dentro del grupo	15103,0	9	1678,11		
Total (corregido)	18595,7	11			

ANEXO 7 Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 24 h post aplicación en el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	815,167	2	407,583	0,31	0,7407
Dentro del grupo	11819,7	9	1313,31		
Total (corregido)	12634,9	11			

ANEXO 8 Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 48 h post aplicación en el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	3568,5	2	1784,25	1,38	0,3002
Dentro del grupo	11638,5	9	1293,17		
Total (corregido)	15207,0	11			

ANEXO 9 Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 72 h post aplicación en el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	3790,17	2	1895,08	1,26	0,3298
Dentro del grupo	13558,8	9	1506,53		
Total (corregido)	17348,9	11			

ANEXO 10 Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 24 h post aplicación en el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	9688,17	2	4844,08	1,72	0,2327
Dentro del grupo	25318,7	9	2813,19		
Total (corregido)	35006,9	11			

ANEXO 11 Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 48 h post aplicación en el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	11032,7	2	5516,33	1,35	0,3081
Dentro del grupo	36898,0	9	4099,78		
Total (corregido)	47930,7	11			

ANEXO 12 Análisis de varianza para la caída de ácaros, a las 72 h post aplicación en el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	18253,2	2	9126,58	2,27	0,1591
Dentro del grupo	36178,5	9	4019,83		
Total (corregido)	54431,7	11			

ANEXO 13 Análisis de varianza para la caída de ácaros post aplicación, en el ensayo 1 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	2099,06	2	1049,53	0,69	0,5096
Dentro del grupo	50334,6	33	1525,29		
Total (corregido)	52433,6	35			

ANEXO 14 Análisis de varianza para la caída de ácaros post aplicación, en el ensayo 2 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	187,722	2	93,8611	0,07	0,9339
Dentro del grupo	45190,8	33	1369,42		
Total (corregido)	45378,6	35			

ANEXO 15 Análisis de varianza para la caída de ácaros post aplicación, en el ensayo 3 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	208,389	2	104,194	0,03	0,9753
Dentro del grupo	137369,0	33	4162,7		
Total (corregido)	137578,0	35			

ANEXO 16 Análisis de varianza del porcentaje de infestación, previo a la aplicación de timol.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	21,5595	2	10,7797	0,22	0,8035
Dentro del grupo	432,658	9	48,0731		
Total (corregido)	454,217	11			

ANEXO 17 Análisis de varianza del porcentaje de infestación, post aplicación de timol.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	74,3521	2	37,176	1,53	0,2689
Dentro del grupo	219,342	9	24,3714		
Total (corregido)	293,694	11			

ANEXO 18 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,17	0,8490
Dentro del grupo	4,5	9	0,5		
Total (corregido)	4,66667	11			

ANEXO 19 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	10,5	2	5,25	4,02	0,0565
Dentro del grupo	11,75	9	1,30556		
Total (corregido)	22,25	11			

ANEXO 20 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,666667	2	0,333333	0,21	0,8140
Dentro del grupo	14,25	9	1,58333		
Total (corregido)	14,9167	11			

ANEXO 21 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	4,66667	2	2,33333	1,00	0,4053
Dentro del grupo	21,0	9	2,33333		
Total (corregido)	25,6667	11			

ANEXO 22 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,5	2	0,25	0,29	0,7548
Dentro del grupo	7,75	9	0,861111		
Total (corregido)	8,25	11			

ANEXO 23 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	3,5	2	1,75	0,95	0,4208
Dentro del grupo	16,5	9	1,83333		
Total (corregido)	20,0	11			

ANEXO 24 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,30	0,7479
Dentro del grupo	2,5	9	0,277778		
Total (corregido)	2,66667	11			

ANEXO 25 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,5	2	0,25	0,50	0,6224
Dentro del grupo	4,5	9	0,5		
Total (corregido)	5,0	11			

ANEXO 26 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,30	0,7479
Dentro del grupo	2,5	9	0,277778		
Total (corregido)	2,66667	11			

ANEXO 27 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje post aplicación, en el ensayo 1 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	12,0556	2	6,02778	4,75	0,0153
Dentro del grupo	41,8333	33	1,26768		
Total (corregido)	53,8889	35			

ANEXO 28 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje post aplicación, en el ensayo 2 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,388889	2	0,194444	0,12	0,8882
Dentro del grupo	53,9167	33	1,63384		
Total (corregido)	54,3056	35			

ANEXO 29 Análisis de varianza para el fenómeno de pillaje post aplicación, en el ensayo 3 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,666667	2	0,333333	1,06	0,3564
Dentro del grupo	10,3333	33	0,313131		
Total (corregido)	11,0	35			

ANEXO 30 Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 24 h post aplicación para el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,50	0,6224
Dentro del grupo	1,5	9	0,166667		
Total (corregido)	1,66667	11			

ANEXO 31 Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 48 h post aplicación para el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,50	0,6224
Dentro del grupo	1,5	9	0,166667		
Total (corregido)	1,66667	11			

ANEXO 32 Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 72 h post aplicación para el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,30	0,7479
Dentro del grupo	2,5	9	0,277778		
Total (corregido)	2,66667	11			

ANEXO 33 Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 24 h post aplicación para el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,0	2	0,0	0,0	1,0
Dentro del grupo	2,25	9	0,25		
Total (corregido)	2,25	11			

ANEXO 34 Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 48 h post aplicación para el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,50	0,6224
Dentro del grupo	1,5	9	0,166667		
Total (corregido)	1,66667	11			

ANEXO 35 Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 72 h post aplicación para el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,50	0,6224
Dentro del grupo	1,5	9	0,166667		
Total (corregido)	1,66667	11			

ANEXO 36 Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 24 h post aplicación para el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,0	2	0,0	0,0	1,0
Dentro del grupo	2,25	9	0,25		
Total (corregido)	2,25	11			

ANEXO 37 Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 48 h post aplicación para el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,50	0,6224
Dentro del grupo	1,5	9	0,166667		
Total (corregido)	1,66667	11			

ANEXO 38 Análisis de varianza de las abejas muertas, a las 72 h post aplicación para el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,50	0,6224
Dentro del grupo	1,5	9	0,166667		
Total (corregido)	1,66667	11			

ANEXO 39 Análisis de varianza de abejas muertas post aplicación, en el ensayo 1 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,222222	2	0,111111	0,61	0,5488
Dentro del grupo	6,0	33	0,181818		
Total (corregido)	6,22222	35			

ANEXO 40 Análisis de varianza de abejas muertas post aplicación, en el ensayo 2 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,0555556	2	0,0277778	0,16	0,8493
Dentro del grupo	5,58333	33	0,169192		
Total (corregido)	5,63889	35			

ANEXO 41 Análisis de varianza de abejas muertas post aplicación, en el ensayo 3 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,0555556	2	0,0277778	0,16	0,8493
Dentro del grupo	5,58333	33	0,169192		
Total (corregido)	5,63889	35			

ANEXO 42 Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	1,16667	2	0,583333	3	0,1004
Dentro del grupo	1,75	9	0,194444		
Total (corregido)	2,91667	11			

ANEXO 43 Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,666667	2	0,333333	1,50	0,2740
Dentro del grupo	2,0	9	0,222222		
Total (corregido)	2,66667	11			

ANEXO 44 Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	2,16667	2	1,08333	3,55	0,0732
Dentro del grupo	2,75	9	0,305556		
Total (corregido)	4,91667	11			

ANEXO 45 Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,666667	2	0,333333	1,00	0,4053
Dentro del grupo	3,0	9	0,333333		
Total (corregido)	3,66667	11			

ANEXO 46 Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,5	2	0,25	0,90	0,4402
Dentro del grupo	2,5	9	0,277778		
Total (corregido)	3,0	11			

ANEXO 47 Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	2,0	2	1,00	4,00	0,0572
Dentro del grupo	2,25	9	0,25		
Total (corregido)	4,25	11			

ANEXO 48 Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 24 h post aplicación en el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,166667	2	0,0833333	0,30	0,7479
Dentro del grupo	2,5	9	0,277778		
Total (corregido)	2,66667	11			

ANEXO 49 Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 48 h post aplicación en el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,5	2	0,25	0,39	0,6871
Dentro del grupo	5,75	9	0,638889		
Total (corregido)	6,25	11			

ANEXO 50 Análisis de varianza para el fenómeno de ventilación, ocurrido a las 72 h post aplicación en el ensayo 3.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,5	2	0,25	1,5	0,2740
Dentro del grupo	1,5	9	0,166667		
Total (corregido)	2,0	11			

ANEXO 51 Análisis de varianza para la intensidad de ventilación post aplicación, en el ensayo 1 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	1,72222	2	0,861111	2,71	0,0816
Dentro del grupo	10,5	33	0,318182		
Total (corregido)	12,2222	35			

ANEXO 52 Análisis de varianza para la intensidad de ventilación post aplicación, en el ensayo 2 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	0,722222	2	0,361111	1,09	0,3475
Dentro del grupo	10,9167	33	0,330808		
Total (corregido)	11,6389	35			

ANEXO 53 Análisis de varianza para la intensidad de ventilación post aplicación, en el ensayo 3 a través del tiempo.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	Valor P
Entre grupos	3,38889	2	1,69444	5,12	0,0116
Dentro del grupo	10,9167	33	0,330808		
Total (corregido)	14,3056	35			

ANEXO 54 Registros meteorológicos recopilados durante el ensayo.

Labores	Días	Temp. Media °C	Temp. mín. °C	Temp. máx °C	Humedad Relativa %
Aplicación	25 Nov.	12,6	8,9	15,8	88
Medición	26 Nov.	15,0	13,7	17,4	85
Medición	27 Nov.	16,0	12,9	19,6	82
Medición	28 Nov.	16,0	9,3	23,4	63
	29 Nov.	18,2	9,9	26,5	52
	30 Nov.	15,9	9,1	23,6	74
Aplicación	1 Dic.	16,7	12,3	21,8	61
Medición	2 Dic.	14,1	6,0	21,2	63
Medición	3 Dic.	13,5	5,7	20,3	63
Medición	4 Dic.	14,9	9,4	21,0	82
	5 Dic.	15,4	9,2	22,4	73
	6 Dic.	16,0	10,9	20,7	63
Aplicación	7 Dic.	13,5	4,8	21,5	56
Medición	8 Dic.	13,0	5,2	19,0	68
Medición	9 Dic.	14,5	6,7	21,9	68
Medición	10 Dic.	14,2	8,8	19,2	71
	11 Dic.	13,1	7,3	18,6	74
	12 Dic.	15,3	10,9	20,2	75
Termino ens.	13 Dic.	14,8	12,9	17,4	85

ANEXO 55 Tabla de datos de los parámetros recopilados durante la investigación.

Trat.	Aplicación	Horas post	Varroas caídas	Abejas muertas	Pillaje	Ventilación
T1	A1	24h	45	0	0	2
T1	A1	24h	117	0	0	2
T1	A1	24h	78	1	0	1
T1	A1	24h	40	0	1	1
T2	A1	24h	28	0	0	2
T2	A1	24h	25	1	0	2
T2	A1	24h	124	0	2	2
T2	A1	24h	95	0	0	2
T3	A1	24h	108	0	0	2
T3	A1	24h	130	0	1	2
T3	A1	24h	121	0	0	3
T3	A1	24h	73	0	0	2
T1	A1	48h	36	0	3	2
T1	A1	48h	81	0	1	2
T1	A1	48h	67	0	4	2
T1	A1	48h	30	1	3	2
T2	A1	48h	18	0	1	2
T2	A1	48h	15	0	0	2
T2	A1	48h	91	0	0	3
T2	A1	48h	76	0	1	3
T3	A1	48h	117	0	1	2
T3	A1	48h	121	0	4	3
T3	A1	48h	94	1	1	3
T3	A1	48h	51	0	2	2
T1	A1	72h	47	0	1	2
T1	A1	72h	149	0	2	3
T1	A1	72h	42	0	0	2
T1	A1	72h	34	1	0	2
T2	A1	72h	55	0	0	1
T2	A1	72h	27	0	1	2
T2	A1	72h	100	1	1	2
T2	A1	72h	116	0	3	3
T3	A1	72h	96	1	0	3
T3	A1	72h	128	0	3	3
T3	A1	72h	120	0	0	3
T3	A1	72h	84	1	2	3
T1	A2	24h	56	1	4	2
T1	A2	24h	110	0	0	2
T1	A2	24h	55	0	0	2
T1	A2	24h	36	0	0	2
T2	A2	24h	37	1	1	2

(Continúa)

(Continuación Anexo 55)

T2	A2	24h	12	0	1	1
T2	A2	24h	97	0	4	3
T2	A2	24h	102	0	0	2
T3	A2	24h	64	0	0	2
T3	A2	24h	76	0	0	3
T3	A2	24h	125	1	0	3
T3	A2	24h	57	0	0	2
T1	A2	48h	44	0	1	3
T1	A2	48h	97	1	0	2
T1	A2	48h	61	0	0	3
T1	A2	48h	24	0	1	3
T2	A2	48h	43	0	1	2
T2	A2	48h	29	0	0	3
T2	A2	48h	122	0	3	2
T2	A2	48h	83	1	0	2
T3	A2	48h	63	0	0	3
T3	A2	48h	128	0	1	2
T3	A2	48h	126	0	1	3
T3	A2	48h	74	0	1	2
T1	A2	72h	38	0	0	2
T1	A2	72h	108	0	1	3
T1	A2	72h	50	0	0	2
T1	A2	72h	34	0	1	2
T2	A2	72h	24	1	1	2
T2	A2	72h	23	0	0	1
T2	A2	72h	99	0	4	2
T2	A2	72h	95	0	2	2
T3	A2	72h	64	0	0	3
T3	A2	72h	108	0	0	3
T3	A2	72h	147	1	0	3
T3	A2	72h	67	0	3	2
T1	A3	24h	56	1	0	2
T1	A3	24h	153	0	1	3
T1	A3	24h	28	0	0	2
T1	A3	24h	35	0	1	2
T2	A3	24h	27	0	1	2
T2	A3	24h	18	0	0	2
T2	A3	24h	104	1	1	3
T2	A3	24h	115	0	1	2
T3	A3	24h	90	0	0	3
T3	A3	24h	152	0	0	2
T3	A3	24h	186	0	1	3
T3	A3	24h	81	1	1	2
T1	A3	48h	42	0	0	2

(Continúa)

(Continuación Anexo 55)

T1	A3	48h	159	1	1	4
T1	A3	48h	49	0	0	2
T1	A3	48h	38	0	0	3
T2	A3	48h	49	0	0	2
T2	A3	48h	27	0	1	2
T2	A3	48h	75	0	0	3
T2	A3	48h	123	0	1	3
T3	A3	48h	77	0	0	4
T3	A3	48h	130	1	1	3
T3	A3	48h	256	0	0	3
T3	A3	48h	75	0	2	2
T1	A3	72h	34	0	0	2
T1	A3	72h	145	1	0	2
T1	A3	72h	53	0	1	1
T1	A3	72h	42	0	0	2
T2	A3	72h	48	0	1	2
T2	A3	72h	17	1	0	2
T2	A3	72h	60	0	1	2
T2	A3	72h	74	0	0	2
T3	A3	72h	64	0	0	2
T3	A3	72h	153	0	0	2
T3	A3	72h	268	0	0	3
T3	A3	72h	76	0	1	2

ANEXO 56 Tabla con los niveles de infestación inicial y final, promedio por tratamiento en abejas adultas.

Tratamiento	Evaluación % Infestación	
	Inicial	Final
T1	4,39	4,09
T1	15,77	19,70
T1	22,95	17,59
T1	5,64	7,47
T2	6,94	7,04
T2	6,47	4,04
T2	5,88	4,64
T2	16,50	11,21
T3	9,03	9,22
T3	19,37	4,65
T3	7,29	8,70
T3	4,74	6,06