

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMIA**

Evaluación de la aplicación estival de Apilife Var[®] en el control de *Varroa destructor* Anderson y Trueman, ectoparásito de *Apis mellifera* L.

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

**FERNANDO EDUARDO MARTIN MORENO
VALDIVIA – CHILE
2006**

PROFESOR PATROCINANTE:

Sr. Miguel Neira C.
Ing. Agrónomo.

PROFESORES INFORMANTES:

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

Luigi Ciampi P.
Ing.Agr., M. Sc., Ph. D.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Generalidades de la varroosis	3
2.1.1	Importancia de varroa en la apicultura	3
2.2	Centro de origen y distribución de varroa	4
2.2.1	Situación en Chile.	5
2.3	Diferenciación del género <i>Varroa</i> .	5
2.4	<i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman	7
2.4.1	Clasificación taxonómica.	8
2.4.2	Morfología.	8
2.5	Biología de <i>V. destructor</i>	10
2.5.1	Fase reproductiva.	11
2.5.1.1	Ingreso a celdilla de cría	11
2.5.1.2	Oviposición y desarrollo	12
2.5.1.3	Reproducción de la descendencia	13
2.5.2	Fase forética.	13
2.5.2.1	Emergencia de la celdilla de cría.	13
2.5.2.2	Diseminación.	14
2.6	Daños ocasionados por <i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman	15
2.6.1	Daños directos	15
2.6.2	Daños indirectos	16
2.7	Métodos de detección y evaluación de infestaciones	18
2.7.1	Niveles críticos de infestación	19
2.7.2	Diagnóstico en abejas adultas	19

2.7.3	Diagnóstico en crías	20
2.8	Métodos de control de varroa	20
2.8.1	Control biológico cultural	21
2.8.1.1	Procedimientos biológicos	22
2.8.1.2	Procedimientos culturales	22
2.8.2	Control químico	23
2.8.2.1	Control químico sintético	25
2.8.2.2	Control químico orgánico	25
2.8.3	Control alternativo	26
2.8.3.1	Control con ácidos orgánicos	27
2.8.3.1.1	Control con ácido fórmico	28
2.8.3.2	Control con aceites esenciales y sus componentes	29
2.8.3.2.1	Consideraciones en el uso de los aceites esenciales	31
2.8.3.2.2	Efecto acaricida de los aceites esenciales	31
2.8.3.2.3	Método de aplicación de los aceites esenciales	32
2.8.3.2.4	Modo de acción de los aceites esenciales	32
2.8.3.3	Control de varroa con Apilife Var [®]	33
2.8.3.3.1	Época y método de aplicación	34
2.8.3.3.2	Efectividad de Apilife Var [®]	34
2.8.3.3.3	Residualidad en cera y miel	35
3	MATERIAL Y METODO	36
3.1	Ubicación del ensayo	36
3.2	Material	36
3.2.1	Material biológico	36
3.2.2	Material no biológico	36
3.2.2.1	Material apícola	36
3.2.2.2	Materiales de laboratorio	37
3.2.2.3	Otros materiales	37
3.2.3	Producto en evaluación	38
3.3	Método	38

3.3.1	Periodo experimental	38
3.3.2	Diseño experimental	39
3.3.2.1	Descripción de los tratamientos	39
3.3.2.2	Descripción de las repeticiones	40
3.3.3	Aplicación de los tratamientos	41
3.3.4	Mediciones y observaciones	41
3.4	Parámetros evaluados	41
3.4.1	Nivel de infestación en cría operculada	42
3.4.2	Nivel de infestación en obreras adultas	42
3.4.3	Mortalidad de abejas	43
3.4.4	Ventilación de la colmena	43
3.4.5	Pillaje	43
3.4.6	Caída de varroa	44
3.5	Registros meteorológicos	45
3.6	Análisis estadístico	45
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	47
4.1	Pillaje en colmenas.	47
4.2	Intensidad de ventilación.	51
4.3	Mortalidad de abejas.	54
4.4	Caída de varroa.	56
4.5	Nivel de infestación.	61
4.5.1	Nivel de infestación inicial y final en cría operculada y abeja adulta.	62
4.5.1.1	Nivel de infestación inicial y final en cría operculada.	62
4.5.1.2	Nivel de infestación inicial y final en abeja adulta	64
5	CONCLUSIONES	68
6	RESUMEN	69
	SUMMARY	70

7	BIBLIOGRAFIA	71
	ANEXOS	83

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Identificación y distribución de los haplotipos del género <i>Varroa</i>	6
2	Métodos químicos y productos utilizados en el control de <i>Varroa destructor</i> .	24
3	Características de los principales ácidos orgánicos utilizados en apicultura.	28
4	Concentración de ácido fórmico, recomendada según temperatura ambiental.	29
5	Principales vegetales utilizados para la extracción de aceites esenciales empleados en el control de <i>Varroa destructor</i>	30
6	Productos comerciales de acción acaricida, formulados con aceites esenciales	33
7	Pillaje promedio, expresado como número de abejas expulsadas en 5 minutos, para cada tratamiento.	48
8	Frecuencia observada de ventilación, durante 30 días	52
9	Mortalidad promedio de abejas de cada tratamiento.	54
10	Caída de varroa por día para cada tratamiento.	57
11	Infestación inicial de varroa en cría de obreras y en abejas obreras adultas, previo a la aplicación de los tratamientos.	61
12	Porcentaje inicial y final de infestación por varroa en cría operculada.	63
13	Porcentaje de infestación inicial y final de abejas adultas.	65

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Diferencias morfológicas entre <i>Varroa jacobsoni</i> y <i>Varroa destructor</i> .	7
2	Fotografía de una hembra adulta en vista dorsal (izquierda) y ventral (derecha).	9
3	Vista dorsal de macho adulto (izquierda) y hembra adulta (derecha).	10
4	Ciclo de vida de <i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman.	14
5	Daños en abejas producidos por <i>Varroa destructor</i> .	16
6	Tableta de Apilife Var [®] .	38
7	Ubicación de Apilife Var [®] en la colmena.	41
8	Recuento diario de Varroa y preparación de trampas.	44
9	Ubicación de las trampas en las colmenas.	45
10	Índice de ventilación promedio mensual en colmenas tratadas	53
11	Promedio mensual de abejas muertas en colmenas tratadas.	55
12	Caída de varroa por día para cada tratamiento, comparación pareada.	58
13	Nivel de infestación inicial y final en cría operculada.	64
14	Nivel de infestación inicial y final en abejas adultas.	66

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Datos obtenidos para los diferentes parámetros estudiados durante los 30 días del ensayo.	84
2	Condiciones meteorológicas durante el período de ensayo.	99
3	Gráfico Temperatura Enero-Febrero 2002.	100
4	Análisis de varianza de pillaje (datos modificados por LOG(Pillaje+1), para todos los tratamientos, durante todo el periodo experimental.	100
5	Análisis de varianza de ventilación, para todos los tratamientos, durante todo el periodo experimental.	101
6	Gráfico de frecuencias observadas de cada nivel de ventilación en cada uno de los tratamientos.	101
7	Análisis de varianza de abejas muertas (datos modificados por Raíz (abejas muertas +1), para todos los tratamientos, durante todo el periodo experimental.	102
8	Prueba Kruskal-Wallis para caída de varroas en el análisis de los tratamientos, durante todo el periodo experimental.	102
9	Análisis Kruskal-Wallis para caída de varroas, para los tratamientos durante todo el periodo experimental (análisis de pares).	103
10	Infestación inicial y final en celdillas de cría operculada.	104
11	Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en crías operculadas para el tratamiento testigo.	104

Anexo		Página
12	Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en crías operculadas para el tratamiento Apilife VAR [®] .	105
13	Prueba LSD, para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Apilife VAR [®] .	105
14	Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en crías operculadas para el tratamiento Ácido fórmico 60% + Apilife VAR [®] .	106
15	Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en crías operculadas para el tratamiento Ácido fórmico 70% + Apilife VAR [®] .	106
16	Infestación inicial y final en abejas obreras adultas.	107
17	Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento testigo.	107
18	Prueba LSD, para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Testigo.	108
19	Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Apilife VAR [®] .	108
20	Prueba LSD, para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Apilife VAR [®] .	108
21	Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Ácido fórmico 60% + Apilife VAR [®] .	109

Anexo		Página
22	Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Ácido fórmico 70% + Apilife VAR [®] .	109

1 INTRODUCCION

En Chile y el mundo, uno de los principales desafíos que deben enfrentar los apicultores para lograr mantener sus colonias produciendo eficientemente, es el estado sanitario de las colmenas.

Dentro de esta problemática, un ácaro ectoparásito obligado de *Apis mellifera* L., *Varroa destructor* Anderson y Trueman, es causante de una de las enfermedades más devastadoras a nivel mundial: la varroosis. Como agravante del problema, este ácaro además de su daño directo, es vector de virus, hongos y bacterias, que debilitan y acaban con numerosas colmenas, si no son tratadas oportunamente.

En el control de la varroosis se han utilizado diversos plaguicidas, sin embargo, el uso y abuso de ellos, ha generado resistencia a dichos productos. Por esta razón, durante los últimos años, se han investigado tratamientos alternativos a los métodos tradicionales para controlar varroa, entre los cuales destacan el uso celdillas trampas y compuestos químicos derivados de productos naturales, como es el caso de los aceites esenciales, los cuales se aplican en forma separada o en mezclas.

El producto comercial Apilife Var[®], es una mezcla de los aceites esenciales timol, eucaliptol, mentol y alcanfor, los cuales se encuentran incorporados en un sustrato de vermiculita. Todos los componentes presentes en la formulación, se encuentran aprobados por la Comunidad Económica Europea para controlar varroa en producciones de miel orgánica.

El origen de Apilife Var[®], se encuentra en Italia, lugar donde ha sido ampliamente estudiado y probado en colmenas, mostrando buenos resultados en el derribe de los ácaros, y presentando una baja residualidad en la miel.

La hipótesis de la investigación, es que el producto comercial Apilife Var® aplicado en periodo estival en colonias de abejas infestadas con varroa, logra disminuir la población de varroa sin generar efectos adversos sobre el comportamiento de las abejas.

El objetivo general de este estudio, es determinar el efecto que produce el producto comercial Apilife Var® aplicado en el período estival, sobre varroa y abejas, en la zona sur de Chile, específicamente en la X región de Los Lagos, Valdivia, bajo condiciones de campo.

Los objetivos específicos que persigue este estudio son:

- Evaluar la acción acaricida del producto comercial Apilife Var® sobre varroa, considerando los parámetros de caída de varroa, nivel de infestación del ácaro, en celdillas de cría y en abejas adultas.
- Analizar los efectos de Apilife Var® sobre la conducta de las abejas, en los parámetros: mortalidad de abejas, pillaje e intensidad de ventilación.
- Determinar si tratamientos con ácido fórmico, previos a la aplicación de Apilife Var®, generan efectos sinérgicos, en los parámetros: caída de varroa, mortalidad de abejas, pillaje e intensidad de ventilación.

2 REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Generalidades de la varroosis.

Según lo señala NEIRA (1998), las abejas son individuos utilizados por diversos organismos patógenos como hospederos, siendo uno de ellos, el ácaro *Varroa jacobsoni* Oudemans, agente causal de la varroosis, parasitismo que afecta tanto a crías como adultos de las tres castas que conforman una colonia de abejas (BAILEY, 1984; DIETZ y HERMANN, 1988; DE JONG, 1997; SAMMATARO *et al.*, 2000).

Kassai *et al.*, (1988), citados por MATHESON (1994), señalan que la varroosis es el nombre técnico designado para referirse al parasitismo causado por una infestación de *V. jacobsoni* en una colonia de abejas, en tanto que el nombre común designado para referirse al problema como una enfermedad es varroa. De esta forma, varroasis y varroatosis son términos incorrectos, aunque ampliamente utilizados (DE JONG, 1997).

2.1.1 Importancia de varroa en la apicultura. Uno de los factores negativos en la producción apícola es el problema de las enfermedades, entre las cuales, varroa es una de las más importantes. Varroa destruye las larvas y en un alto porcentaje de infestación puede destruir la colonia completa, con la consecuente disminución en la actividad empresarial de los apicultores, al producirse severas pérdidas de miel, polen, abejas, además de restringirse con esto la polinización de cultivos agrícolas. (NEIRA, 1990; PELDOZA, 1992; CASTILLO, 1994).

2.2 Centro de origen y distribución de varroa.

Varroa en *Apis mellifera* L. es provocada por *V. jacobsoni*, ácaro descrito originalmente por Oudemans, en el año 1904, en la isla de Java, República de Indonesia (BAILEY, 1984; DIETZ y HERMANN, 1988; DE JONG, 1997; SAMMATARO *et al.*, 2000).

En sus inicios, *V. jacobsoni* se desarrolló junto a la especie de abeja nativa asiática, *Apis cerana* Fabr., especie que no se ve seriamente afectada debido a que posee una tolerancia natural a varroa, producto de la coevolución producida por la convivencia de ambas especies en la región a través de los años (DE JONG, 1997; SAMMATARO *et al.*, 2000; GOODWIN y VAN EATON, 2001).

Morse (1978) y Oldroyd (1999), citados por ANDERSON (2000), han propuesto que la contaminación de *A. mellifera* con *V. jacobsoni* se produjo cuando colonias de esta especie de abejas fueron transportadas hacia el Este de la Ex Unión Soviética, lugar en el cual se encontraba en forma nativa *A. cerana* junto a sus parásitos. Luego de este suceso, *V. jacobsoni* se ha diseminado a través del mundo debido a la deriva de colonias de obreras adultas y zánganos infestados, producto del movimiento de enjambres y probablemente a través del pillaje en colmenas sanas. Sin embargo, la diseminación en gran escala ha sido producto de la apicultura de trashumancia y la apertura del mercado internacional (DE JONG, 1997; SAMMATARO *et al.*, 2000; GOODWIN y VAN EATON, 2001).

Según SAMMATARO *et al.*, (2000), *V. jacobsoni* se encontraba disperso en la mayor parte del mundo, siendo Australia, Nueva Zelanda y el Estado de Hawai, los únicos lugares libres de esta plaga. Sin embargo, QIANG (2000) y GOODWIN y VAN EATON (2001), señalan que en abril del año 2000 se

encontró la presencia de varroa en Auckland, Nueva Zelanda, restringiéndose con esto el número de países libres de la plaga.

2.2.1 Situación en Chile. La problemática de la varroosis en Sudamérica es el resultado de la internación de abejas contaminadas provenientes de Japón. Según señala DE JONG (1997), hasta el año 1987, *V. jacobsoni* en América del Sur se encontraba distribuida en Paraguay, Argentina, Brasil, Uruguay, Bolivia, Perú y Chile.

Sin embargo, PELDOZA (1992), señala que la presencia de *V. jacobsoni* en Chile, sólo fue detectada en el mes de marzo de 1992, en muestras de abejas provenientes de colmenares rústicos de la VI región. El origen del ingreso de varroa, se encuentra en la internación ilegal de material biológico apícola que se encontraba infestado.

2.3 Diferenciación del género *Varroa*.

Hasta el año 2000, solo se reconocía una especie de varroa, la cual correspondía a *Varroa jacobsoni* Oudemans. Sin embargo, ANDERSON Y TRUEMAN (2000), luego de numerosos estudios realizados sobre ácaros provenientes de diferentes lugares del mundo, lograron encontrar e identificar diferencias morfológicas, reproductivas y genéticas en el género *Varroa*, lo cual les permitió identificar la nueva especie *Varroa destructor* Anderson y Trueman (ANDERSON, 2000; GOODWIN y VAN EATON, 2001).

ANDERSON Y TRUEMAN (2000), señalan que *V. jacobsoni* fue descrito inicialmente en Indonesia, región donde infesta a *A. cerana*. Cuando varroa se descubrió parasitando sobre *A. mellifera*, se asumió que correspondía al mismo ácaro. Sin embargo, su trabajo demostró que existen tres haplotipos distintos (individuos de una misma especie con distinta secuencia de genes en el DNA mt) de lo que se pensó era *V. jacobsoni*. Dos de los tres haplotipos

corresponden a *V. destructor*, las cuales solo pueden reproducirse en abejas de miel europeas, *A. mellifera*, a diferencia del tercer haplotipo, que corresponde a *V. jacobsoni*, el cual solo se reproduce en *A. cerana*.

CUADRO 1 Identificación y distribución de los haplotipos del género *Varroa*.

Haplotipo	Sinonimia	Distribución geográfica	Especie
"Korea"	Genotipo Rusia Genotipo R Genotipo GER	Europa, Oriente medio, Sudáfrica, Asia, América del Norte y América del Sur.	<i>Varroa destructor</i>
"Japón/Tailandia"	Genotipo Japón Genotipo J	Japón, Tailandia, América del Norte y América del Sur.	<i>Varroa destructor</i>
"Java"	Genotipo PNG	Indonesia, Papua, Nueva Guinea. (No se reproduce sobre <i>A. mellifera</i>).	<i>Varroa jacobsoni</i>

FUENTE: Adaptado de ANDERSON (2000) y ANDERSON Y TRUEMAN (2000)

V. destructor corresponde al haplotipo "Japón" y haplotipo "Korea", este último de mayor virulencia que el anterior, por lo que colonias de *A. mellifera* que conviven con el haplotipo "Japón", presentan menores daños que aquellas colonias que conviven con el haplotipo Korea (ANDERSON Y TRUEMAN, 2000).

Investigaciones anteriores realizadas sobre *V. jacobsoni* parasitando a *A. mellifera*, son aplicables actualmente a *V. destructor* (ANDERSON y TRUEMAN 2000).

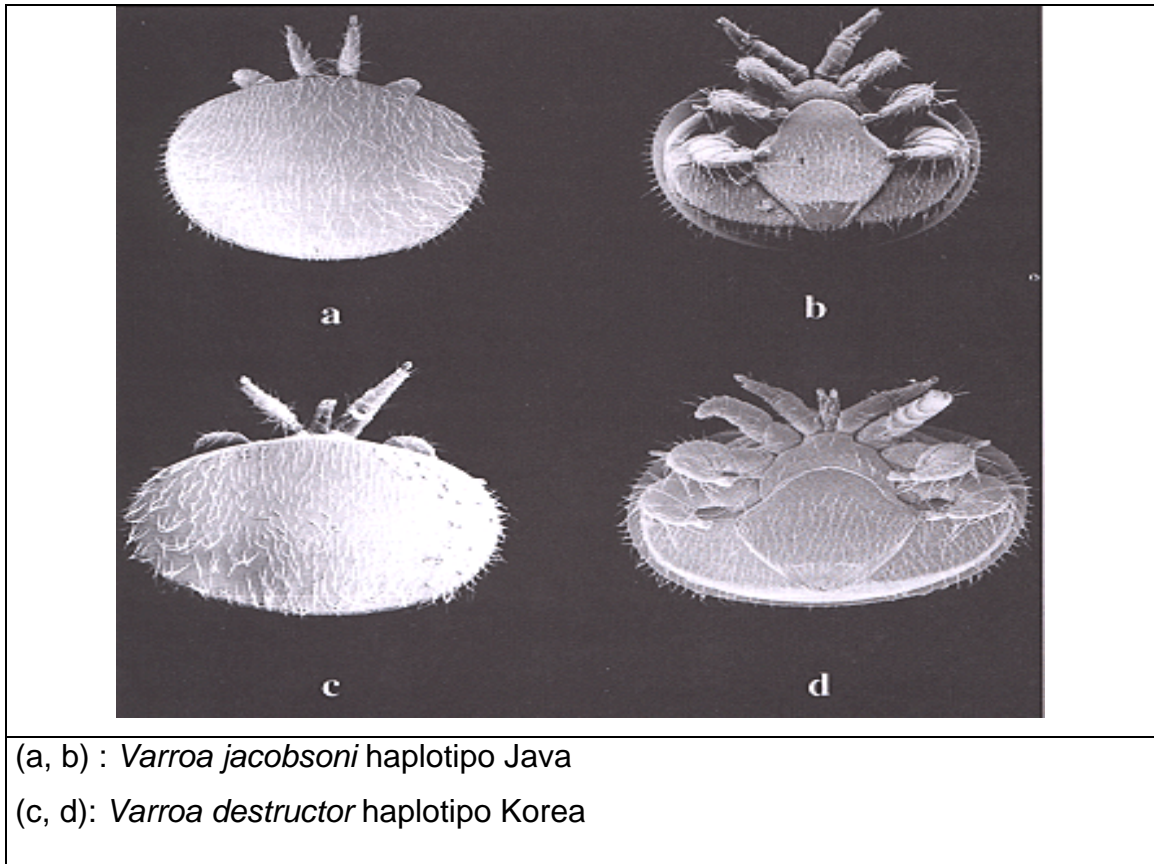


FIGURA 1. Diferencias morfológicas entre *Varroa jacobsoni* y *Varroa destructor*.
FUENTE: Adaptado de ANDERSON y TRUEMAN (2000).

2.4 *Varroa destructor* Anderson & Trueman.

V.destructor, es un ácaro ectoparásito obligado, que afecta a las poblaciones de *A. mellifera* en la mayor parte del mundo. Este ácaro se alimenta de la hemolinfa del hospedero y produce severos daños directos sobre la conformación física de las abejas, como también daños indirectos, los cuales

se asocian a la transmisión de enfermedades fúngicas, bacterianas y víricas siendo el virus de la parálisis aguda (APV) uno de los graves problemas que se asocia con la varroosis (APINET, 1996; MARTIN *et al.*, 1998; SAMMATARO *et al.*, 2000).

2.4.1 Clasificación taxonómica. La clasificación taxonómica del ácaro causante de la varroosis en *A. mellifera*, posterior a la reclasificación de ANDERSON Y TRUEMAN (2000), y según la adaptación de BARRIGA Y NEIRA (1988), es la siguiente:

Phylum : Artropoda.
Sub phylum : Chelicerata.
Clase : Arachnida.
Sub clase : Acari.
Orden : Mesostigmata.
Familia : Varroidae.
Género : *Varroa*.
Especie : *Varroa destructor* Anderson & Trueman.

2.4.2 Morfología. *V. destructor* presenta un claro dimorfismo sexual, siendo la hembra la que posee la mayor dimensión (DE JONG, 1997).

La hembra adulta es ovalada y plana, mide 1.1 mm de largo y 1.5 mm de ancho, pesa aproximadamente 0.14 mg, de color castaño oscuro o café rojizo. El cuerpo es piloso, siendo los pelos, cortos y duros; presenta quelíceros puntiagudos; tiene 4 pares de patas que terminan en ventosas y garras, las que son utilizadas para adherirse a su hospedero (NEIRA, 1998; SAMMATARO *et al.*, 2000; SHIMANUKI Y KNOX, 2000).

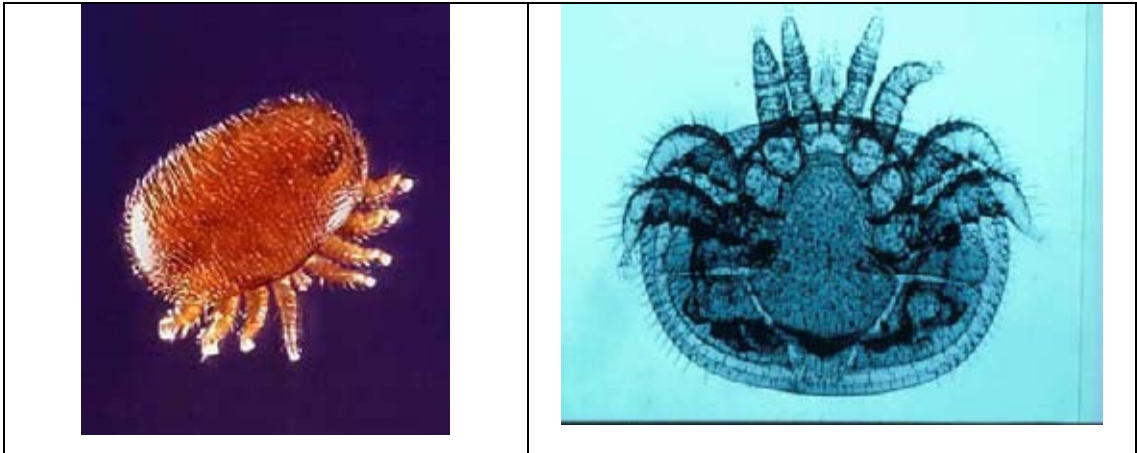


FIGURA 2. Fotografía de una hembra adulta en vista dorsal (izquierda) y ventral (derecha).

FUENTE: DENMARK y SANDORF (2000).

Akrantanakul (1976), citado por DE JONG (1997), señala que el macho adulto tiene forma esférica, con un diámetro aproximado a los 0.7 mm; presenta una coloración similar a la hembra, pero en tono más pálido. Los quelíceros del macho, en lugar de ser puntiagudos como los de la hembra, están altamente modificados y tienen su extremo abierto, el cual es usado para transferir paquetes de esperma a partir de la apertura genital localizada ventralmente en el sector esternogenital. Debido a esta modificación, el macho no es capaz de alimentarse y por tanto muere dentro de la celdilla, lugar donde se lleva a cabo la reproducción y fecundación de la hembra.



FIGURA 3. Vista dorsal de macho adulto (izquierda) y hembra adulta (derecha).
FUENTE: MÜNCH (2002).

2.5 Biología de *V. destructor*.

Son parásitos externos de abejas adultas y crías, encontrándose sobre adultos, principalmente en la región abdominal, especialmente entre los esternitos de este tagma, lugar donde se encuentran físicamente protegidas y muy cercanos a las membranas intersegmentales, por cuyo tejido atraviesan el cuerpo de la abeja con sus quelíceros, para alimentarse de la hemolinfa de su hospedero (DE JONG, 1997).

Según FLORES *et al.*, (2001), la biología de varroa puede ser descrita de mejor manera separando su ciclo de vida en dos etapas, una de las cuales corresponde a la fase forética, que solo es llevada a cabo por hembras adultas, las que se ubican en zánganos y obreras que han emergido de la celdilla de cría, y otra fase reproductiva, que ocurre al interior de las celdillas operculadas, lugar donde ocurre la metamorfosis de las abejas. En ambas fases, el ácaro se alimenta del hospedero originando graves daños (APINET, 1996; VANDAME, 2000).

2.5.1 Fase reproductiva. La hembra de varroa solo se fecunda y reproduce al interior de la celdilla de cría operculada. Esta invasión ocurre 15 horas antes de la operculación, en el caso de corresponder a una celdilla de obrera, y 45 horas antes, en el caso de la cría de zánganos (CALATAYUD, 2002).

2.5.1.1 Ingreso a celdilla de cría. El ingreso a celdillas de crías de obreras ocurre cuando estas se encuentran en su quinto estadio larval, al igual que las crías de zánganos, momento en el cual los pesos larvales son mayores a 100 y 200 mg, respectivamente (VANDAME *et al.*, 1996).

Según CALATAYUD (2002), una vez que ha ocurrido el ingreso, el ácaro se encuentra entre la pared de la celdilla y el cuerpo de la larva, localizándose preferentemente en el fondo, inmerso en el alimento larval, lugar donde permanece inactivo. Esta inactividad cesa cuando la larva ha consumido completamente su alimento, momento en que el parásito comienza a succionar la hemolinfa de su hospedero. Originalmente los ácaros pesan cerca de 0.3 mg, aumentando a cerca de 0.8 mg, al momento de salir de la celdilla operculada (Steiner *et al.*, 1994 citado por DE JONG, 1997; MARTIN, 1998).

PELDOZA (1992), señala que la ingesta de hemolinfa es un fenómeno estrictamente necesario para la estimulación ovárica de varroa, pues se presume que existen hormonas presentes en la hemolinfa que serían las responsables de la inducción de la oviposición.

Sin embargo, estudios realizados por Steiner *et al.*, (1994), citados por DE JONG (1997), señalan que la reproducción de varroa se produce a diferentes tasas en diferentes climas y diferentes tipos de abejas. La tasa reproductiva de varroa en los trópicos es normalmente mas baja que en temperaturas templadas, y la reproducción es reducida en abejas africanizadas y en *A. mellifera lamarckii*, comparadas con *A. mellifera cárnica*. Sin embargo,

no existen diferencias en la hormona juvenil encontradas en los 5 estadios larvales de larvas de obreras de abejas africanizadas y europeas. Por lo tanto, los mecanismos precisos que gatillan la promoción de la reproducción en *V. jacobsoni* permanecen desconocidos.

2.5.1.2 Oviposición y desarrollo. La oviposición de la hembra fundadora comienza alrededor de 60 horas después de la operculación de la celdilla. Las hembras depositan 5 o 6 huevos en celdillas de obreras y hasta 7 en celdillas de zánganos, de los cuales 4 (1 macho y 3 hembras) tienen tiempo para alcanzar la madurez. Sin embargo, la mortalidad de deutoninfas reduce la tasa de reproducción efectiva, llegando al estado adulto cerca de 1.5 hembras en celdillas de obreras, y 2.6 en celdillas de zánganos por cada hembra fundadora (Rehm and Ritter, 1989; Martin 1994; citados por DE JONG, 1997).

Los huevos son puestos en forma simple, a intervalos de aproximadamente 30 horas; son ovalados y de color blanco, miden cerca de 0.3 mm de largo por 0.23 mm de ancho. El primer huevo es generalmente macho, y los restantes son hembras. El desarrollo de los machos, desde huevo a adulto demora cerca de 5.5 a 6.2 días, en tanto las hembras demoran 6.5 a 6.9 días desde huevo a adulto. Debido a que el parásito solo puede reproducirse durante el periodo de operculación, mientras más largo es dicho periodo, más numerosa puede ser la descendencia (VANDAME *et al.*, 1996; DE JONG, 1997; NEIRA, 1998; CATALAYUD, 2002).

PELDOZA (1992), se refiere a las etapas siguientes a la eclosión. Señala que luego de ocurrido este suceso se ha formado una larva hexápoda, que luego de 2 días muda, y se transforma en protoninfa, estadio inicial del parasitismo. Dos días más tarde, se transforma en deutoninfa, para finalizar a las 72 horas siguientes transformado en imago o adulto

2.5.1.3 Reproducción de la descendencia. CALATAYUD (2002) señala que los descendientes del ácaro se desarrollan en el interior de la celdilla hasta que la abeja alcanza su estado adulto y rompe el opérculo para salir al exterior. El macho llega a la madurez antes que la hembra, debido a esto, el macho debe esperar que la hembra alcance el estado adulto para realizar la cópula.

Cuando la celdilla la infesta una sola hembra fundadora, la descendencia será consanguínea, situación factible dado que varroa posee un sistema de determinación del sexo haplodiploide. Los machos se forman a partir de huevos haploides sin fertilizar que contienen 7 cromosomas, en tanto las hembras provienen de huevos diploides fertilizados, los cuales contienen 14 cromosomas (DE JONG, 1997).

Las hembras que no logran ser fecundadas sufren una atrofia de su órgano copulador que impide la posterior fecundación, por lo que pasan a ser hembras infértiles. En algunos casos, el macho muere antes de aparearse, por lo que las hembras de esa celdilla permanecerán infértiles (CALATAYUD, 2002).

2.5.2 Fase forética. Este período del ciclo de vida de *V.destructor* corresponde a la salida del ácaro hembra de la celdilla de cría, junto su hospedero adulto (obrero o zángano) y constituye el factor principal de la propagación y diseminación de la especie, ya que aprovechándose de la deriva y el pillaje, invaden nuevas colmenas. Mediante esta vía, durante un día de gran actividad, pueden llegar a una nueva colmena hasta 70 ácaros (VANDAME *et al.*, 1996).

2.5.2.1 Emergencia de la celdilla de cría. Las abejas salen de la celdilla junto a la hembra varroa progenitora y las nuevas hembras adultas. Estas hembras pueden quedarse sobre la abeja que emerge o bien, se unen rápidamente a

otras abejas. Luego de un periodo variable de tiempo, las hembras comienzan nuevamente el ciclo e invaden nuevas celdas de cría. Ellas pueden hacerlo inmediatamente, aunque cuando se alimentan de abejas adultas durante este intervalo, se incrementa su tasa reproductiva (VANDAME *et al.*, 1996; DE JONG, 1997).

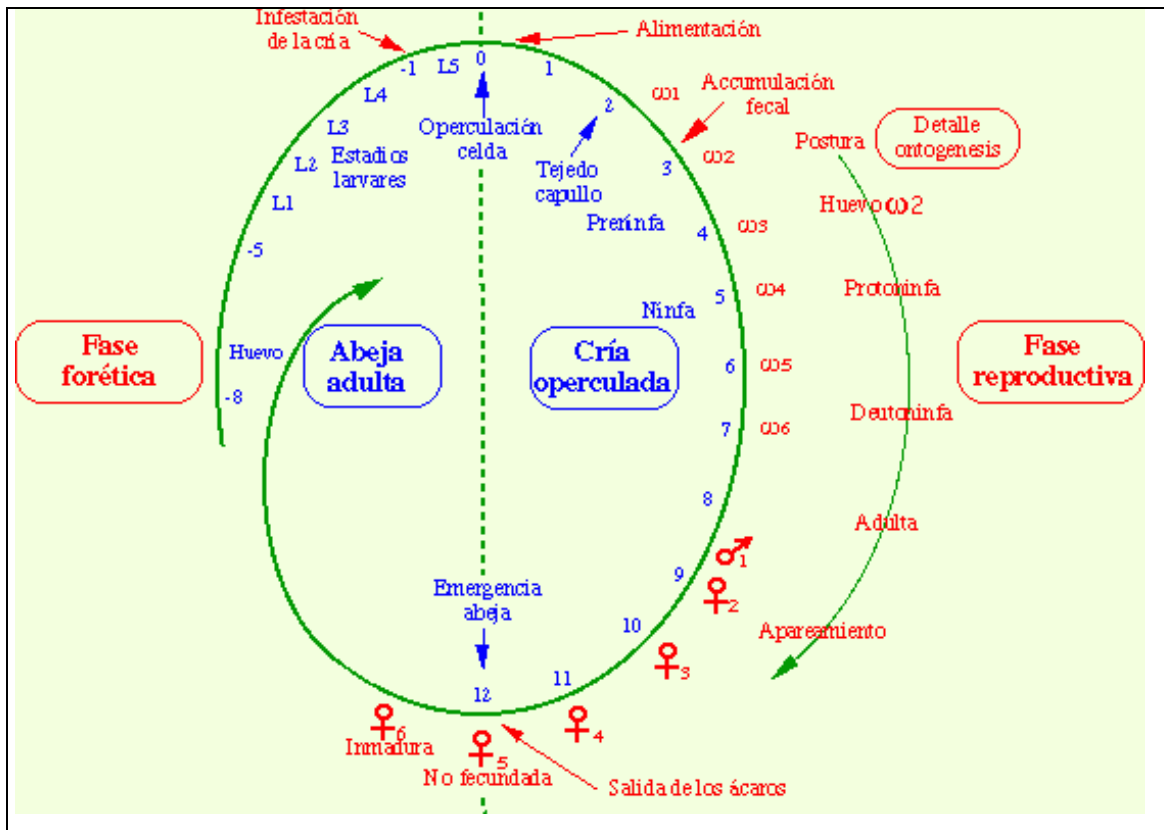


FIGURA 4 Ciclo de vida de *Varroa destructor* Anderson & Trueman
FUENTE: VANDAME *et al.*, (1996).

2.5.2.2 Diseminación. La diseminación puede ocurrir por diversos medios. APINET (1996), señala que los zánganos al acceder libremente en distintas colmenas, pueden entrar en contacto con varroa; abejas pecoreadoras que al

regreso equivocan su colmena e ingresan en colmenas infestadas; pillaje de una colmena a otra; por causa de enjambres silvestres que se encuentran cerca del apiario e incluso por la captura de enjambres por el propio apicultor y por el traslado de núcleos infestados de un apiario a otro, o bien, el intercambio de cuadros de cría infestados (DE JONG, 1997; GOODWIN Y VAN EATON, 2001)

2.6 Daños ocasionados por *Varroa destructor* Anderson & Trueman.

GOODWIN Y VAN EATON (2001), señalan que varroa puede afectar a *A. mellifera* desde sus estados preimaginales hasta el adulto. Los daños ocasionados son directos e indirectos. Los daños directos se aprecian sobre el hospedero, en tanto los indirectos son el resultado de diversas enfermedades transmitidas por el parásito (BARRIGA Y NEIRA, 1988).

2.6.1 Daños directos. Los efectos producidos por varroa comienzan en la celdilla de cría, donde afecta en forma directa a larvas y pupas de abejas. Estos efectos se manifiestan cuando se visualiza el último estadio de desarrollo.

GOODWIN Y VAN EATON (2001), señalan que los efectos de la parasitosis en estados preimaginales ocasionan daños que se manifiestan en los adultos, tales como: bajo peso corporal, deformación de alas y abdomen, glándulas hipofaríngeas reducidas, pérdida de proteínas en la hemolinfa, reducción en la tasa de emergencia de zánganos, cambios en la fisiología de zánganos, disminución en el tiempo de pecoreo.

De esta forma, una cría parasitada se transforma en una abeja que no se integra totalmente como miembro productivo al sistema de división del trabajo, lo cual es de vital importancia para la vida de la colonia (RITTER, 1999).

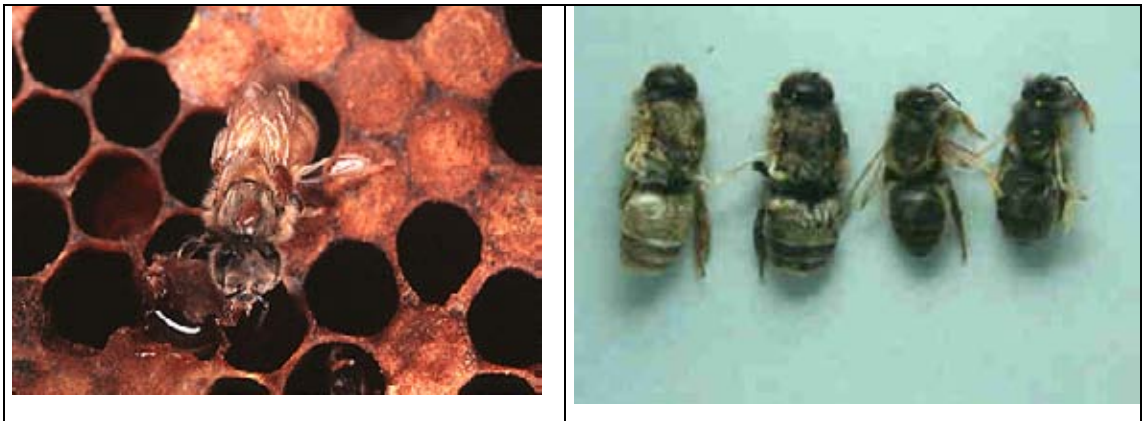


FIGURA 5. Daños en abejas producidos por *Varroa destructor*.

FUENTE: HONEYFARM (s.f.).

Las abejas infestadas se muestran particularmente inquietas, y cuando la parasitosis llega a un nivel muy elevado, las abejas realizarán la construcción de panales en forma inconstante. La falta de vitalidad de las abejas infestadas y su muerte prematura, ocasionan un menor aporte de néctar y polen, que origina un debilitamiento de la colonia y por tanto puede producirse su destrucción (CLEMENTE, 1990).

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).

2.6.2 Daños indirectos. Según CALATAYUD (2002), los daños indirectos corresponden a patologías ocasionadas por infecciones secundarias que pueden estar ligadas fundamentalmente a la acción inoculativa de diversos tipos de microorganismos por el ácaro varroa o bien aparecer de forma oportunista cuando la colonia se debilita.

Se ha comprobado que el ácaro, es capaz de inocular bacterias y diversos tipos de virus. Existen evidencias, que varroa crea dentro de una colmena las condiciones ideales para el desarrollo del hongo patógeno *Ascosphaera apis* (Maassen ex Claussen) Olive&Spiltoir, organismo causal de la cría de tiza (APINET, 1996).

Varroa es capaz de debilitar las colonias de *A.mellifera*, hasta eliminarlas completamente. MARTIN *et al.*, (1998), señalan que en un estudio realizado sobre colonias con diferente grado de infestación de ácaros, se determinó que la colonia con menor población de varroa colapsó primero. Una de las explicaciones para este fenómeno es el impacto de varias enfermedades transmitidas por el ácaro, particularmente ciertos virus, como es el caso del virus de la parálisis aguda (APV).

Cuando abejas adultas son portadoras del APV, sin presentar síntomas de la enfermedad, es posible que la sintomatología se evidencie luego que el APV ingrese a la hemolinfa de la abeja, producto del proceso de alimentación de varroa, lo cual sugiere que los ácaros puedan actuar como vector y/o activador de virus latentes, en abejas melíferas (GOODWIN Y VAN EATON, 2001).

Hasta antes de la aparición de la varroosis, en las abejas europeas se habían encontrado una multitud de virus que no producían síntoma alguno o solo brotes estacionales y no muy graves. Es el caso del virus de la parálisis lenta (SPV), virus de las alas deformadas (DWV), virus de las alas nubladas (CWV), virus de la cría sacciforme (SBV),), virus de la parálisis crónica (CPV), virus cachemire (KBV), y el virus de la celdilla negra de la reina (BQCV) que producen daños solo en las crías. El virus de la parálisis crónica (CPV), y el virus de la cría sacciforme si causaban síntomas típicos en la colmenas, pero se

han agravado sus efectos con el advenimiento de la varroosis (CALATAYUD, 2002; GOODWIN Y VAN EATON, 2001).

2.7 Métodos de detección y evaluación de infestaciones.

Existen diversos métodos para determinar la presencia de varroa en los apiarios, debiendo analizar algunos factores tales como el costo por colmena, periodo de tiempo requerido para muestreo, número de visitas a realizar al apiario, capacidad del método para detectar varroa en bajo número y capacidad de aproximar en forma confiable el número real de ácaros por colmena, antes de decidir el método a utilizar (GOODWIN y VAN EATON, 2001).

DIETZ Y HERMANN (1988) y PELDOZA (1992), señalan que si varroa es descubierta tardíamente, los tratamientos de control serán poco efectivos y de un elevado costo económico, por lo que detectar a tiempo la presencia de varroa es de suma importancia para desarrollar exitosamente el negocio apícola.

Referente a los métodos de detección de varroa, tanto GOODWIN y VAN EATON (2001) como SHIMANUKI Y KNOX (2001), indican que entre los más utilizados se encuentran el muestreo de abejas adultas, muestreo de celdillas operculadas de la cámara de cría, método de aplicación de éter, utilización de agua jabonosa o alcohol, aplicación de humo a la colmena y la utilización de tableros pegajosos con sistema de doble fondo. Este último método es el método más fácil y común, aplicable en cualquier época del año, presentando los mejores resultados en la estación de otoño. Este tablero en su parte inferior posee una lámina blanca que recibe los desechos, e inmediatamente arriba, una rejilla que permite el paso de los ácaros y desechos, pero no de las abejas. De esta forma, es posible contabilizar los ácaros que allí se depositan (DIETZ Y HERMANN, 1988; OSTIGUY y SAMMATARO, 2000).

2.7.1 Niveles críticos de infestación. En programas de control de plagas y enfermedades, normalmente se determina una tasa de infestación crítica, con el fin de aplicar medidas de control cuando estas se encuentren sobre dicho nivel. Sin embargo, por ser la infestación un proceso de incremento continuo, regulado por condiciones ambientales favorables, el valor crítico dependerá directamente de la época del año en que las muestras sean tomadas. Las crías y adultas de *A.mellifera* pueden soportar niveles de infestación cercanos al 10% durante las estaciones frías, nivel que puede aumentar hasta un 30% o más en verano, dada la mayor tasa reproductiva tanto de abejas como de varroa, generándose con esto el colapso de las colonias de no existir un tratamiento oportuno (DE JONG, 1997; GOODWIN y VAN EATON, 2001).

Un método sencillo para determinar el nivel de infestación de las colonias presentes en un apiario considera un muestreo representativo de al menos el 10% de las colmenas presentes, contabilizando en cada una de las unidades evaluadas el número de varroas presentes en unas 200 abejas adultas, o bien, determinando el número de celdillas infestadas con varroa de un total de 200 celdillas con cría (CHILE, SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO (SAG), 1994; DE JONG, 1997; VANDAME, 2000).

CHILE, SAG (1994), sugiere que el nivel de infestación debe mantenerse bajo un 3%, siendo necesario tomar medidas de control si dicho nivel se eleva por sobre el 5%, de lo contrario se alcanzarán niveles superiores a un 20%. De realizarse el control, es recomendable hacerlo desde comienzos de otoño hasta la primavera, momento posterior a la cosecha y cuando exista un mínimo de crías en las colmenas (VANDAME, 2000).

2.7.2 Diagnóstico en abejas adultas. SAG (1994) y GOODWIN y VAN EATON (2001), señalan que una de las alternativas más confiables para detectar la presencia de varroa en abejas adultas es mediante el muestreo de unas 200

abejas extraídas desde la cámara de cría, las cuales luego de muertas se sumergen en un frasco que contenga una solución al 2% de detergente líquido en agua y se agitan para soltar las varroas que se encuentren adheridas a su hospedero por un lapso de un minuto. Luego de un reposo de 10 minutos, las abejas son lavadas con un chorro de agua, el cual escurre a través de un sistema de tamiz doble, de distinto mallaje, siendo el superior de mayor diámetro que el inferior, para permitir el paso de las varroas y no el de abejas. De esta forma se pueden separar y contabilizar los ácaros con una lupa estereoscópica, esto con la finalidad de asegurar la presencia de *Varroa destructor* y diferenciarlos de *Braula coeca* Nitzsch, insecto perteneciente al orden Díptera, de similares dimensiones que varroa pero morfológicamente muy distintos (MOBUS y CONNOR, 1988).

2.7.3 Diagnóstico en crías. Una alternativa rápida consiste en desopercular un área aproximada de 15 cm² de panal con cría de zánganos. Posteriormente se procede a sacudir el marco suavemente sobre la tapa de la colmena para extraer la larva, o bien, la cría puede ser retirada con una pinza. Si varroa se encuentra presente allí, se visualiza macroscópicamente sobre la pupa o sobre la superficie donde se sacude el panal muestreado (Szabo, 1989; citado por DE JONG, 1997; CALATAYUD 2002).

2.8 Métodos de control de varroa.

Los apicultores han empleado diversos métodos para mantener las colmenas libres de varroa. Sin embargo, el método más popular ha sido por años el control químico sintético, con el uso recurrente de productos en base a piretroides sintéticos, tales como flumetrina, fluvalinato y acrinatrina, lo cual, sumado a un deficiente manejo de estos, ha generado una presión de selección en la descendencia de los ácaros, con el posterior resultado de especies resistentes a los productos que se clasifican dentro de este grupo de acaricidas. Lo anterior, ha generado que una gran parte de las investigaciones que se

realizan actualmente en el control de varroa, se focalicen en el estudio de sustancias naturales no contaminantes, utilizando para ello productos químicos orgánicos tales como el ácido láctico, ácido fórmico, ácido oxálico y aceites esenciales provenientes de diversos tipos de vegetales (AGROBIT.COM, 2000).

Independiente del método de control que se aplique, para mantener el nivel poblacional de varroa bajo el umbral económico, es fundamental realizar un tratamiento zonal de todos los apiarios para evitar posibles reinfestaciones. No es factible tratar algunas colonias y dejar las restantes sin tratamiento, debido a que consecuencia de la reinfestación, es posible que se alcancen niveles mayores a los iniciales, por lo que se requiere de un esfuerzo coordinado de los apicultores (DE JONG y EGEA SOARES, 1997).

2.8.1 Control biológico cultural. Este concepto frecuentemente es utilizado para describir a aquellos métodos de control que no utilizan químicos para lograr su objetivo. Según lo anterior, GOODWIN y VAN EATON (2001), señalan que puede ser definido como la utilización de técnicas de manejo apícola específicas, previo conocimiento de la biología del parásito y su hospedero, diseñadas para reducir los niveles de ácaros en una colonia.

El desarrollo del control biológico cultural se debe a diversas razones, entre las cuales destacan el requerimiento de producción orgánica de miel, sin residuos en los productos, evitar la resistencia química en ácaros y la imposibilidad de acceder a onerosos tratamientos químicos.

Sin embargo, SAMMATARO *et al.*, (2000), señalan que los procedimientos necesarios para ejecutar un control de este tipo suelen ser extremadamente laboriosos y difícilmente aplicables en apiarios de gran escala debido al alto costo económico que involucra la mano de obra y al mayor tiempo necesario para su realización. Debido a lo anterior, este es un método que se

sugiere sea parte de un control integrado de plagas, junto a un control realizado con productos químicos orgánicos (DE JONG, 1997; DELAPLANE, 1997; CALATAYUD, 2002).

2.8.1.1 Procedimientos biológicos. BÜCHLER (1994) y SAMMATARO *et al.*, (2000), señalan que estos están dirigidos principalmente al mejoramiento genético de *Apis sp.* mediante la selección recurrente de especies tolerantes a varroa, entre los que destacan:

- Selección de colonias que presenten una mayor tolerancia a la infestación de varroa.
- Selección de aquellas colonias con un comportamiento higiénico de autocuidado, que sean capaces de eliminar a varroa de sus panales.
- Selección de colonias cuyo periodo de operculación sea menor al normal, medida que evita el completo desarrollo de los ácaros.
- Elección de razas de abejas que sean menos atractivas a varroa.

2.8.1.2 Procedimientos culturales. SAMMATARO *et al.*, (2000) y CALATAYUD (2002), señalan que estos se dirigen principalmente a la alteración del medio ambiente natural de una colmena mediante técnicas de manejo físicas y mecánicas, entre las cuales se encuentran:

- Utilización de humo proveniente de material vegetal, el cual se aplica hacia el interior de la colmena lo que provoca la caída de los ácaros. Este procedimiento se puede complementar con la utilización de un tablero pegajoso ubicado en el piso de la colmena, que recoge los ácaros para su posterior eliminación.

- Uso de calor a temperaturas de 46 a 48°C para desprender ácaros desde el cuerpo de las abejas adultas. Este método es muy riesgoso ya que las abejas mueren a temperaturas de 49 a 50°C, por lo que su éxito incluso en combinación con agentes químicos, es muy variable (RITTER, 1981; BARRIGA y NEIRA, 1988).
- Introducción de panales zanganeros en colonias infestadas, los cuales se retiran una vez finalizado el proceso de operculación de la celdilla. Esta medida permite la eliminación de los panales en que se encuentran los ácaros en desarrollo. RITTER (1981) y ROBLES (1995), indican que mediante este método se han alcanzado reducciones variables en el nivel de infestación.

2.8.2 Control químico. Por mucho tiempo, la solución más rápida para enfrentar infestaciones de varroa fue la aplicación de plaguicidas químicos, debido a su facilidad de uso y alta eficacia. Actualmente, se hace necesario diferenciar dos tipos de productos químicos, los químicos sintéticos y los químicos orgánicos, productos que están siendo masivamente estudiados por presentar ventajas comparativas ante los productos de síntesis, muchos de los cuales afectan directamente a la salud humana (DE JONG, 1997; DELAPLANE, 1997; GOODWIN y VAN EATON, 2001).

FREDES (1993), indica que existen numerosos métodos de tratamiento, cada uno de ellos agrupados según su modo de aplicación, siendo más usual la fumigación de las colonias, luego la aplicación de productos sólo en los marcos, colocación de tiras fumígenas en los marcos, o asperjando directamente a las abejas. Estos tratamientos se han agrupado en acaricidas de primera generación, acaricidas de acción sistémica o de segunda generación y

por último, los de contacto o de tercera generación. Algunos ejemplos se muestran en el CUADRO 2.

CUADRO 2. Métodos químicos y productos utilizados en el control de *V.destructor*.

Método de control		Grupo químico	Nombre común	Nombre comercial
CONTROL QUÍMICO DE VARROA	Químico sintético	Piretroide sintético	Fluvalinato	Apistan
			Flumetrina	Bayvarol
		Órgano-fosforado	Coumaphos	Check-Mite+, Perizin
			Coumaphos+sinergista	Cekafix (a)
		Derivado de Iminofenil tiazolidine	Cimiazol	Apitol
		Hidrocarbano clorado	Bromopropilato	Folbex
	Formamidinas	Amitraz	Apivar	
	Químico orgánico	Ácido orgánico	Ácido fórmico	Beevar Proapi (b) Genérico
			Ácido láctico	Genérico
			Ácido oxálico	Oxavar (b) Genérico
		Aceite esencial	Timol	Apiguard
			Timol, eucaliptol, mentol, alcanfor	Apilife VAR

FUENTE: Adaptado de NEW ZEALAND, MINISTRY OF AGRICULTURE AND FORESTRY (MAF) (2001).

RITTER (2001) (a).

ARGENTINA, SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA (SENASA) (2004) (b).

2.8.2.1 Control químico sintético. Diversos productos químicos han sido utilizados para controlar la población de varroa, sin embargo, muchos de ellos han generado resistencia cruzada en los ácaros, tal es el caso de los piretroides sintéticos fluvalinato y flumetrina (WATKINS, 1996; GOODWIN y VAN EATON, 2001; WANG *et al.*, 2002).

Una de las soluciones para este problema es la alternancia de acaricidas, cuyo requisito es que pertenezcan a diferentes grupos químicos, o sea, se diferencien en el modo de acción, que actúen en diferentes sitios de acción y que sean aplicados en la dosis precisa (WATKINS, 1996; GOODWIN y VAN EATON, 2001; WANG *et al.*, 2002).

Por otra parte, muchos de los químicos sintéticos utilizados habitualmente por los apicultores tienen la particularidad de ser liposolubles, característica poco deseada debido a la elevada residualidad presente en la cera, tal es el caso del Coumaphos, Acrinatrina, Fluvalinato, Flumetrina, Bromopropilato (GOODWIN y VAN EATON, 2001; CALATAYUD, 2002).

Además, muchos químicos de síntesis 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).

2.8.2.2 Control químico orgánico. Este método de control apunta principalmente a la utilización de productos orgánicos presentes en la materia vegetal y a los cuales se les atribuye una importante actividad acaricida (CALDERONE y SPIVAK, 1995).

Dentro de éstos, es posible diferenciar dos grupos principales, los denominados aceites esenciales y los ácidos orgánicos, compuestos que se encuentran presentes en cierto grado dentro del ambiente natural de la colmena, siendo el ácido oxálico y el ácido fórmico parte constituyente de la miel (BOGDANOV *et al.*, 2002).

2.8.3 Control alternativo. IMDORF Y CHARRIÈRE (2003), manifiestan que la base del control alternativo exitoso es la utilización de productos químicos orgánicos los cuales son aplicados diferencialmente luego de desarrollar una estrategia de control anual.

El acelerado desarrollo de estas nuevas alternativas de acaricidas naturales, se debe a la necesidad de solucionar los problemas que ofrecen los acaricidas de síntesis, como la residualidad, alta persistencia, toxicidad y la generación de razas resistentes (CALDERONE y SPIVAK, 1995).

Por su parte, IMDORF Y CHARRIÈRE (2003), señalan que las sustancias activas utilizadas comúnmente en las estrategias de control, corresponden a los ácidos orgánicos fórmico, láctico y oxálico, y algunos aceites esenciales como el timol, mentol, alcanfor y eucaliptol. Estos productos pueden ser una alternativa o bien complementarse a los métodos de control tradicionales.

Sin embargo, existen dos problemas que se pudiesen presentar al realizar tratamientos inadecuados, siendo uno de ellos, la acumulación de residuos en la cera y miel, producto de dosificaciones muy altas. El otro inconveniente producto de lo mismo, y específicamente con algunos aceites esenciales, es la pequeña diferencia entre la dosis que elimina a varroa y la que elimina a las abejas. Comparativamente con el fluvalinato, este es 800 a 1000 veces más toxico en ácaros que en abejas. En tanto, en ciertos aceites

esenciales esta relación disminuye, siendo ésta entre 2 a 4 veces más tóxico en ácaros que en abejas. Debido a esto, antes de ejecutar el control, es necesario conocer el porcentaje de infestación que presenten los apiarios (GOODWIN y VAN EATON, 2001).

2.8.3.1 Control con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos están presentes en forma natural en muchos alimentos, por lo que las abejas están habituadas a convivir con estas sustancias, sin ser dañadas. (VANDAME, 2000, BOGDANOV *et al.*, 2002).

La efectividad de estos productos es variable, ya que depende de factores tales como la concentración del producto involucrado, período de duración de cada tratamiento, el método de liberación, el tipo de colmena, presencia o ausencia de crías y temperatura ambiente. Sin embargo, se reconoce que los ácidos orgánicos aplicados como acaricidas no generan toxicidad para las abejas, con excepción del ácido oxálico (SUAREZ, *sf*; CALDERONE y SPIVAK, 1995).

Según MAF (2001), entre las principales características a reconocer en los ácidos orgánicos previo a su utilización, se encuentran la eficacia, duración del tratamiento, los efectos adversos documentados en apicultura, los problemas de residuos y la dosis letal oral, características que se resumen en el Cuadro 3.

CUADRO 3. Características de los principales ácidos orgánicos utilizados en apicultura.

Ingrediente activo	Eficacia (%)	Periodo de tratamiento	Efectos adversos	Problemas de residuos	LMR (ppm)		DL 50 (oral)
					Miel	Cera	mg/kg
Ác. fórmico	61-98	Variable, final de verano o comienzo de primavera	Ocasional en crías, zánganos, obreras.	En miel	150-160	No	1100
Ác. láctico	41-99	2 a 4/año	Posible en huevos de obreras	En miel	800-1600	No	3750
Ác. oxálico	82-99	Otoño	Reducción de crías en primavera	En miel	400-900	No	375

FUENTE: Adaptado desde MAF (2001).

2.8.3.1.1 Control con ácido fórmico. Según lo señala HIGES (1996), las técnicas de aplicación del ácido fórmico son múltiples, existiendo diferentes tipos de dosificadores que permiten su evaporación, por lo que la temperatura juega un rol importante. Al respecto, MAF (2001) y IMDORF y CHARRIÈRE (2003), indican que la máxima eficiencia del tratamiento comienza a fines de verano posterior a la mielada, y cuando la temperatura ambiente diurna es entre 18 a 25°C, y las temperaturas nocturnas no descienden de los 12°C. Además, VANDAME (2000), indica que la concentración de ácido fórmico a utilizar se relaciona en forma inversa a la temperatura, según se indica en el Cuadro 4.

CUADRO 4. Concentración de ácido fórmico, recomendada según temperatura ambiental.

Concentración del producto	Temperaturas recomendadas
50% v/v de ácido fórmico	$\geq 30^{\circ}\text{C}$
60% v/v de ácido fórmico	25 - 30°C
70% v/v de ácido fórmico	$\leq 25^{\circ}\text{C}$

FUENTE: Adaptado de VANDAME, (2000)

Una de las ventajas de utilizar el ácido fórmico en comparación a ciertos acaricidas de síntesis, es su elevada volatilidad. Esta característica le permite evaporarse en tan solo tres semanas, y en consecuencia, no contamina los productos de la colonia (VANDAME, 2000).

Respecto a la forma de actuar del ácido fórmico, IMDORF *et al.*, (1999), y VANDAME (2000), señalan que actúa dentro de la colonia matando al ácaro por medio de los gases producto de la evaporación, ya que la colonia se satura del gas y las varroas mueren por acidificación, sin ninguna consecuencia para las abejas, siempre que no se utilice una concentración demasiado alta. Respecto al sitio de acción, MADUH *et al.*, (1990), señalan que este ácido actúa inhibiendo el complejo citocromo oxidasa mitocondrial, causando asfixia de tejido con la consecuente muerte celular.

2.8.3.2 Control con aceites esenciales y sus componentes. Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de ciertas plantas que en su mayoría están constituidos por monoterpenos, elementos orgánicos volátiles a temperatura ambiente.

CUADRO 5. Principales vegetales utilizados para la extracción de aceites esenciales empleados en el control de *Varroa destructor* .

Nombre científico	Nombre común	Composición química principal
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Tomillo	Geraniol, carvacrol, borneol, linalol, timol
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Eucalipto	Eucaliptol (70-80%) α - β - pineno, p-cimeno, d-limoneno, felandreno, etc
<i>Mentha x piperita</i> var. <i>piperita</i> L.	Menta	Mentol, mentona, acetato de mentilo, etc
<i>Cinnamomum canphora</i> L.	Alcanfor	Safrol, alcanfor
<i>Thymus capitatum</i> L.	Orégano	Carvacrol (58%), para cymene (17%), (6%), timol (2%), α - β - pineno, g-terpineno, etc.
<i>Salvia officinalis</i> L.	Salvia	Tuyona

FUENTE: Adaptado de GAL *et al.*, (1992); CALDERONE Y SPIVAK (1995); AMRINE *et al.*, (1996); UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (U.S.D.A.) (2005).

Según IMDORF *et al.*, (1999), en el control de varroa, han sido probados cerca de 150 diferentes tipos de aceites esenciales, pero solo unos pocos han resultado efectivos en pruebas de campo, de los cuales, el efecto acaricida que producen ha sido evaluado y demostrado por diversos investigadores, entre los que destacan GAL *et al.*, (1992), AMRINE *et al.*, (1996), CALDERONE Y SPIVAK (1995), e IMDORF *et al.*, (1999), entre otros, los cuales señalan que su utilización es influenciada por la temperatura, ya que en climas o estaciones frías la volatilización se ve afectada negativamente y no produce el efecto

deseado en los ácaros, que es eliminar o repeler. En cambio, aplicado con temperaturas extremadamente altas, se presentan problemas de agitación y muerte de abejas.

2.8.3.2.1 Consideraciones en el uso de los aceites esenciales. Uno de los motivos que generó la investigación en el uso de estos compuestos, era evitar la resistencia de varroa y residualidad en los productos y subproductos de las abejas, condición que presentan la mayoría de los acaricidas de síntesis. Sin embargo, al contrario de los ácidos orgánicos, los aceites esenciales se acumulan temporalmente en la miel y cera, pero estos residuos no son importantes desde el punto de vista toxicológico (IMDORF *et al.*, 1996; GOODWIN y VAN EATON, 2001).

Por su parte, IMDORF *et al.*, (1999), indican que varroa podría desarrollar resistencia a aceites esenciales y componentes de estos últimos, por lo que se hace necesario considerar esto al idear una estrategia de control.

2.8.3.2.2 Efecto acaricida de los aceites esenciales. Los resultados de los ensayos realizados por IMDORF *et al.*, (1995b), mostraron que concentraciones de 5 a 15 ug de timol, 50 a 150 ug de alcanfor y 20 a 60 ug de mentol por litro de aire, mataron cerca del 100% de ácaros sin evidenciarse efectos adversos en abejas. Sin embargo, el eucaliptol aplicado en dosis de 240 ug por litro, generó una mortalidad del 100% de la población de varroa presente, pero se eliminó al 25 % de las abejas de la colmena tratada.

VANDAME (2000), señala la utilización de cristales de timol, en dosis de 8 g por colmena disueltos en alcohol o simplemente en polvo. Esto es para una aplicación que dura siete días, consistiendo el tratamiento de 2 o 3 aplicaciones, obteniendo una eficiencia cercana al 82%.

2.8.3.2.3 Método de aplicación de los aceites esenciales. Según lo señalado por IMDORF *et al.*, (1999), dada la naturaleza de estos productos, el método más apropiado para la aplicación de aceites esenciales y sus componentes es la evaporación pasiva, lo cual se logra mediante la utilización de sustratos inertes, fácilmente disgregables, los cuales se impregnan con una solución líquida de los aceites esenciales que luego se liberan lentamente. La facilidad de disgregación del sustrato, ayuda a que las abejas distribuyan dicho elemento en el interior de su colmena (VANDAME, 2000).

2.8.3.2.4 Modo de acción de los aceites esenciales. IMDORF *et al.*, (1996), señalan que muchos aceites esenciales y sus componentes exhiben actividades acaricidas, actuando ya sea como repelente, atrayente o bien teniendo efectos sobre la reproducción de varroa. AMRINE *et al.*, (1996), agregan que se han encontrado algunos aceites y compuestos derivados de estos que pueden causar la muerte, o efectos adversos sobre varroa, a través de dos mecanismos de acción:

- Toxicidad por contacto directo.
- Disminución de la reproducción de los ácaros, por medio de la alimentación con jarabes que contengan aceites esenciales.

Según señala IMDORF *et al.*, (2003), diversas empresas han desarrollado acaricidas formulados en base a aceites esenciales o mezclas de estos, especializados en control de varroa, los que han debido ser sometidos a numerosos estudios para determinar su eficacia y efectividad en diferentes climas y condiciones, existiendo una amplia variedad de éstos disponibles en el mercado. En el Cuadro 6 se presentan algunas alternativas de ellos.

CUADRO 6 Productos comerciales de acción acaricida, formulados con aceites esenciales.

Productos Comerciales	Componentes (aceites esenciales)
Thymovar [®] (c)	Timol
Biologic V [®] (b)	Aceite de salvia y timol
Apiguard [®] (a)	Timol gel
Apitimol [®] (d)	Timol microencapsulado
Bienenwohl [®] (e)	Mezcla de aceites esenciales, ácido cítrico, ácido oxálico, alcohol, propóleo
Thymix [®] (a)	Timol , eucaliptol, mentol y alcanfor
Biovarroin [®] (a)	Timol , eucaliptol, mentol y alcanfor
Apilife-Var [®] (a)	Timol , eucaliptol, mentol y alcanfor

FUENTE: GOODWIN y VAN EATON (2001) (a).
 IMDORF *et al.*, (1999) (b).
 MARINELLI *et al.*, (2001) (c).
 PAJUELO (2004) (d).
 ARGENTINA, SENASA (2004) (e).

2.8.3.3 Control de varroa con Apilife Var[®]. Es un varroacida comercial fabricado por la empresa Chemicals LAIF en Italia, país donde está autorizado su uso y donde ha sido ampliamente estudiado y evaluado. Este producto es un sustrato inerte de vermiculita (5 X 9 X 1 cm), el cual está impregnado con los aceites esenciales timol, eucaliptol, mentol, y alcanfor, en proporción de 76, 16.4, 3.8 y 3.8%, respectivamente, teniendo 20 gramos de ingredientes activo cada tableta (IMDORF *et al.*, 1995a; BOGDANOV *et al.*, 1998; MAF, 2001).

2.8.3.3.1 Época y método de aplicación. Estudios realizados en Europa, indican que en climas templados, la época adecuada para realizar el tratamiento es al finalizar el verano luego de realizada la cosecha de miel, cuando las temperaturas no desciendan de los 12°C por largos periodos. En tanto, el método de aplicación consiste en poner sobre el cabezal de la cámara de cría, una tableta de vermiculita, la cual se reemplazará luego de 3 o 4 semanas por una nueva tableta, dependiendo del grado de infestación, siendo la duración máxima del tratamiento, de 6 a 8 semanas (IMDORF *et al.*, 1995a; SKINNER *et al.*, 2000; MAF, 2001; MARINELLI *et al.*, 2001; IMDORF *et al.*, 2003).

2.8.3.3.2 Efectividad de Apilife Var®. Dependiendo del tipo de colmena y de las condiciones ambientales, la eficacia del producto puede llegar a niveles cercanos al 97%. IMDORF *et al.*, (1995a), señalan que en un estudio realizado en varias colmenas tipo Suiza (superficie de panal de 930 cm² y ubicado perpendicularmente respecto a la entrada de la colmena), tipo Ritter (superficie de panal de 930 cm²) y Dadant (superficie de panal de 1130 cm²), se determinó que la eficiencia promedio de las dos primeras fue de un 97%. En el caso de la colmena tipo Dadant la eficiencia fue menor, llegando a alcanzar un 92%.

En el caso de colmenas tipo Langstroth, Calderone (1999), citado por IMDORF *et al.*, (2003), determinó que la eficiencia variaba entre un 67% y un 96,7%, en tratamientos cuya duración fue de 19 y 32 días, respectivamente.

Entre los factores que hacen fluctuar la eficiencia, se encuentran el distinto volumen de cada una de las colmenas, y por lo tanto, la concentración de los aceites esenciales, timol, alcanfor, mentol y eucaliptol, en el interior de ellas es diferente. Por otra parte, se determinó que la tasa de mortalidad de ácaros disminuye con el tiempo, midiéndose eficiencias del orden del 75% luego de 6 semanas post aplicación (IMDORF *et al.*, 1995a).

2.8.3.3.3 Residualidad en cera y miel. Según señalan BOGDANOV *et al.*, (1998) y MAF (2001), Apilife Var[®] no tiene problemas de residuos, a pesar de presentar cierto grado de liposolubilidad. Esta afinidad de los aceites esenciales con la cera, es más acentuada en el timol, ya que el mentol y alcanfor son más volátiles, comparativamente.

No obstante lo anterior, un estudio realizado en Suiza, mostró que la cantidad residual de Apilife Var[®] en cera y miel, luego de un tratamiento de 8 semanas, alcanzó un nivel de timol residual de 0.04 ppm (mg/kg), cifra muy por debajo de los niveles señalados por la FAO, institución que lo cataloga como producto GRAS (Generalmente reconocido como seguro), cuyo límite máximo de residuos para pertenecer a esta categoría es de 50 ppm (BOGDANOV *et al.*, 1998; MAF, 2001).

A su vez, MUTINELLI (2000), señala que Apilife Var[®] es reconocido como un producto seguro por el CVMP (Comité para los Productos Médicos Veterinarios), entidad responsable de autorizar el uso de los nuevos productos provenientes de la biotecnología, nuevos promotores de crecimiento y nuevos productos químicos destinados a la producción animal, regulando además los Límites Máximos de Residuos de la Unión Europea (MRL), que para el caso del producto Apilife Var[®] esta considerado como NCN (no considerado necesario).

3 MATERIAL Y METODO

3.1 Ubicación del ensayo.

El ensayo se realizó en el Campus Experimental Santa Rosa, propiedad de la Universidad Austral de Chile, geográficamente localizado en Chile, Décima Región de Los Lagos, comuna de Valdivia (39° 48' latitud sur y 73° 14' longitud oeste. Altitud: 10 m.s.n.m).

3.2 Material

El material necesario para ejecutar el ensayo se clasificó en material biológico y material no biológico, los cuales se detallan a continuación.

3.2.1 Material biológico. Corresponde a 16 colonias de *Apis mellifera* L., parasitadas por *Varroa destructor* Anderson y Trueman.

3.2.2 Material no biológico. Dentro de los artículos utilizados se distinguen los materiales apícolas, materiales de laboratorio y otros materiales.

3.2.2.1 Material apícola. A continuación se presenta en forma detallada los materiales empleados:

- 16 colmenas tipo Langstroth con 1 alza.
- Ahumador.
- Combustible (acículas de pino).
- Palanca de Root.
- Traje apícola (buzo blanco, guantes, velo).

Los elementos antes mencionados fueron utilizados para la realización de las labores apícolas en forma segura, tanto para el operador como para las abejas.

3.2.2.2 Materiales de laboratorio. Se utilizaron para cuantificar el porcentaje inicial y final de infestación de las 16 colmenas utilizadas.

- Placas Petri.
- Pinzas.
- Lupa estereoscópica, Zeiss 100X.
- Vasos precipitados
- Pinzas.
- Contador manual.

3.2.2.3 Otros materiales. Dentro de estos se encuentran aquellos materiales de uso común, no específicos de laboratorio.

- Detergente líquido.
- Frascos plásticos de 200 cc.
- Tamices dobles.
- Lápiz de tinta permanente.
- Cuchillo cartonero.
- Pliegos de papel cuadriculado (36 X 45 cm).
- Pliegos de cartón piedra (36 X 45 cm).
- Láminas de plástico rígido transparente (36 X 45 cm).
- Rejillas plásticas (malla plástica mosquitera, 36 X 45 cm).
- Corchetera, corchetes.
- Adhesivo en barra.
- Regla.

- Lienza de material plástico.
- Varillas de madera (palos de maqueta).
- Vaselina blanca sólida.
- Fármaco antihistamínico.

3.2.3 Producto en evaluación. Corresponde a Apilife Var[®], producto comercial de origen italiano indicado para el control de la varroosis. Este producto consiste en un sustrato inerte de vermiculita, cuyas dimensiones son de 5 X 9 X 1 cm, y un peso de 20 gramos por tableta, la cual se encuentra impregnada con los aceites esenciales timol, eucaliptol, mentol, y alcanfor, en proporción de 76, 16.4, 3,8 y 3,8%, respectivamente. El peso aproximado de cada aceite esencial según el porcentaje expresado por el fabricante corresponde a 15.2 g de timol, 3.28 g de eucaliptol, 0.76 g de mentol y 0.76 g de alcanfor por tableta (IMDORF *et al.*, 1995a; BOGDANOV *et al.*, 1998; CALATAYUD, 2002).



FIGURA 6. Tableta de Apilife Var[®].

3.3 Método.

La metodología empleada en este ensayo se indica a continuación.

3.3.1 Período experimental. El ensayo de campo se realizó en período estival, entre el 9 de enero y el 8 de febrero de 2002, en 16 colmenas ubicadas en el Campus Experimental Santa Rosa.

Previo a la aplicación de los tratamientos, en el laboratorio de Entomología de la Universidad Austral de Chile, el día 7 de enero de 2002 se determinó el grado inicial de infestación con varroa, de las colmenas que serían evaluadas, tanto en crías como en abejas adultas. El día 15 de febrero de 2002, en el mismo lugar, se determinó el porcentaje final de infestación, siguiendo la misma metodología.

La metodología para determinar el porcentaje de infestación, se encuentra detallado en los puntos 3.4.1 y 3.4.2, en las cuales se incluyen las ecuaciones matemáticas usadas para la determinación de dichos porcentajes.

3.3.2 Diseño experimental. El diseño estadístico utilizado correspondió a un diseño completamente al azar, con 4 tratamientos y cada tratamiento con 4 repeticiones. Cada colmena fue una repetición.

3.3.2.1 Descripción de los tratamientos. Fueron sometidas a observación y análisis 16 colmenas, las cuales fueron separadas aleatoriamente en grupos de cuatro, a las cuales se les aplicó un tratamiento distinto, salvo el testigo sin aplicación de producto varroacida.

De las 12 colmenas restantes, ocho fueron tratadas previamente con ácido fórmico en dos diferentes concentraciones: 4 colmenas recibieron ácido fórmico al 60% y las otras 4 colmenas recibieron una concentración de 70%. Dicha aplicación se efectuó el día 28 de diciembre de 2001.

El día 9 de enero de 2002, cada una de las 12 colmenas seleccionadas para recibir tratamientos con productos varroacidas, fueron tratadas con una dosis uniforme de Apilife Var[®], la cual correspondió a 1 tableta de 20 gramos del producto comercial.

De esta forma, los tratamientos correspondieron a cuatro, los cuales se detallan a continuación:

- Tratamiento 1 (T1) = Testigo.
- Tratamiento 2 (T2) = 1 tableta de Apilife Var[®].
- Tratamiento 3 (T3) = 240 cc de ácido fórmico 60% v/v + 1 tableta de Apilife Var[®].
- Tratamiento 4 (T4) = 240 cc de ácido fórmico 70% v/v + 1 tableta de Apilife Var[®].

3.3.2.2 Descripción de las repeticiones. Cada tratamiento fue aplicado a una unidad experimental (Una unidad experimental corresponde a 4 colmenas de iguales características físicas, y que poseen colonias homogéneas). Cada colmena de una unidad experimental es una repetición.

Gráficamente, el ensayo presentó el siguiente ordenamiento:

T3 r3	T4 r3	T3 r1	T2 r3
T1 r2	T2 r2	T2 r4	T4 r2
T4 r1	T4 r1	T1 r1	T2 r1
T1 r4	T3 r2	T3 r4	T1 r3

3.3.3 Aplicación de los tratamientos. La metodología de aplicación se efectuó según lo señalado por IMDORF *et al.*, (1995a), quienes indican que se debe aplicar una tableta de vermiculita en el centro de cada colmena y sobre el cabezal de los marcos (NEW ZEALAND, MINISTRY OF AGRICULTURE AND FORESTRY (MAF), 2001).

Las colmenas testigo no recibieron aplicación.



FIGURA 7. Ubicación de Apilife Var[®], en la colmena.

3.3.4 Mediciones y observaciones. Estas se realizaron diariamente post-aplicación de los tratamientos, entre las 12:00 hrs y las 18:00. Las mediciones y observaciones comenzaron el día 10 de enero de 2002 y terminaron el día 08 de febrero de 2002.

3.4 Parámetros evaluados.

En este estudio se evaluó el efecto que producen los tratamientos, tanto en abejas como en ácaros. Los parámetros evaluados fueron los siguientes:

- Nivel de infestación en cría operculada.
- Nivel de infestación en obreras adultas.
- Caída de ácaros.
- Muerte de abejas.

- Ventilación de la colmena.
- Pillaje.

3.4.1 Nivel de infestación en cría operculada. Para determinar este parámetro, el día 7 de enero de 2002 y el 15 de febrero de 2002 (comienzo y final de este ensayo), se extrajo un trozo de panal proveniente desde la cámara de cría de cada colmena, con aproximadamente 200 celdillas operculadas. Luego se trasladaron al laboratorio, donde con ayuda de una lupa estereoscópica se observó varroa presente en las crías de abeja. Cada celdilla operculada que presentó ácaros, independiente del número de éstos, fue contabilizada como infestada.

3.4.2 Nivel de infestación en obreras adultas. Para determinar este parámetro, se extrajo al comienzo y al final de este ensayo una muestra de unas 200 abejas adultas provenientes de los panales centrales de cada colmena tratada. Luego se trasladaron al laboratorio, lugar donde se separaron los ácaros adheridos a las abejas mediante el lavado de éstas en una solución jabonosa, para posteriormente proceder a arrastrar los ácaros hasta el fondo de un sistema de doble malla, con ayuda de un chorro de agua, método validado por CHILE, SAG (1994). Luego, con ayuda de una lupa estereoscópica se observó varroa presente en las abejas adultas y se contabilizaron.

Las fórmulas empleadas para obtener el porcentaje de infestación tanto en crías como adultos, se presentan a continuación:

$$\text{Porcentaje de infestación en cría operculada: } \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de celdillas infestadas}}{\text{N}^{\circ} \text{ de celdillas evaluadas}} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{Porcentaje de infestación en adultos: } \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de varroas}}{\text{N}^{\circ} \text{ de obreras evaluadas}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.4.3 Mortalidad de abejas. Se cuantificó el número diario de abejas muertas en cada uno de los tratamientos. El conteo incluyó todas las abejas muertas sobre la malla de la trampa cazavarroa, descontando aquellas muertas producto de la manipulación de las trampas.

3.4.4 Ventilación de la colmena. Se midió según la metodología de ROSAS (1997), la que consiste en medir el flujo de aire proveniente desde el interior de la colmena. Esto se logra ubicando 3 delgadas tiras de papel en la parte superior de la piquera, una de ellas en posición central, y las otras dos en posición lateral. Luego se observa por un lapso de 1 minuto y se evalúa. Para ello se utilizó la escala de intensidad creada por ROSAS (1997), la cual califica la intensidad del movimiento del papel entre 1 y 4.

1= Inmóvil 2=Leve 3=Moderada 4=Alta

3.4.5 Pillaje. Este parámetro se cuantificó a través del conteo diario en cada una de las colmenas tratadas. La metodología utilizada para evaluar el pillaje incluye la observación del comportamiento de las abejas guardianas que se encuentran en la piquera de cada colmena, por un lapso de 5 minutos al día. Cuando una abeja que no pertenece a dicha colonia trata de ingresar, las

abejas guardianas se encargan de atacar y expulsar a este individuo foráneo, lo cual indica la cantidad de individuos en actividad de pillaje.

3.4.6 Caída de varroa. Se cuantificó visualmente el número de ácaros desprendidos de las abejas en forma diaria. La metodología empleada para cuantificar el número de parásitos utilizó un contador manual y trampas cazavarroa, que consisten en un rectángulo de base rígida (cartón piedra), cuyas medidas son de 36 X 45 cm, recubierto con papel cuadriculado y una lámina rígida de plástico transparente de igual medida. Otra característica importante de dicha trampa, es su doble fondo, el que se logra insertando varillas de madera en los bordes y centro de la base rígida, y sobre las varillas se extiende una malla cuya medida de orificios permite el paso de varroa pero no el de abejas. Para evitar que las varroas caídas vivas puedan moverse desde el doble fondo hacia arriba, se impregnó homogéneamente el plástico transparente rígido de la base, con vaselina sólida blanca.



FIGURA 8. Recuento diario de varroa y preparación de trampas.

La trampa se insertó diariamente a través de la piquera de la colmena, luego de aplicar dos a tres bocanadas de humo para liberar la entrada de

abejas, evitando con esto la muerte de ellas por la presión ejercida al hacer avanzar la trampa hasta su lugar definitivo dentro de la colmena.



FIGURA 9. Ubicación de las trampas en las colmenas.

3.5 Registros meteorológicos.

Diariamente se registraron las condiciones climáticas del sector, registrando la temperatura máxima, mínima, media, y la humedad relativa. Estos datos son relevantes para discutir los resultados, ya que Apilife Var[®], por ser un producto volátil, depende de un mínimo de temperatura para expresar su potencial acaricida.

3.6 Análisis estadístico.

Los datos obtenidos de cada ensayo, y para cada uno de los parámetros abordados (nivel infestación, pillaje, abejas muertas y varroa caída), fueron sometidos a pruebas de normalidad y homogeneidad de la varianza. Posteriormente los datos que resultaron ser normales y poseer una varianza homogénea, fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA), para un diseño completamente aleatorio con igual número de repeticiones, con una exigencia del 5% (LITTLE y HILLS, 2002).

Una vez determinado el ANDEVA, y en aquellos casos donde existió diferencias, se procedió a realizar una comparación de medias, mediante el método de la diferencia mínima significativa (LSD), considerando significativamente diferentes valores con un $p \leq 0,05$ (STEEL Y TORRIE, 1997).

Los datos del parámetro caída de varroa, luego de ser analizados según el método anterior no cumplieron con los requisitos de normalidad y varianza, aún luego de haber realizado las transformaciones correspondientes, por lo cual se les analizó mediante estadística no paramétrica, a través del test de Kruskal-Wallis al 5% (STEEL Y TORRIE, 1997).

Los datos del parámetro ventilación, corresponden a una valoración cualitativa, por lo que se le analizó mediante estadística descriptiva, obteniendo tabla de frecuencia y media aritmética. Además se analizó mediante prueba de χ^2 (Prueba de independencia) para determinar si existe dependencia entre los diferentes tratamientos y el nivel de ventilación (LITTLE y HILLS, 2002).

4 PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

Se presentan a continuación los resultados obtenidos en los diferentes ensayos, para los parámetros pillaje, nivel de ventilación, caída de varroa, muerte de abejas y porcentaje de infestación previo al ensayo y posterior a este, tanto en cría operculada como en abejas obreras adultas.

Cada parámetro fue analizado con el software estadístico Statgraphics Plus 5.1, utilizando para ello, diferentes análisis estadísticos, dependiendo de la naturaleza cuantitativa o cualitativa de los datos. De esta forma, los parámetros pillaje, muerte de abejas y porcentaje de infestación, dada la naturaleza paramétrica y cuantitativa de los datos recopilados, fueron analizados mediante un diseño completamente aleatorio; para el parámetro caída de varroa se utilizó estadística no paramétrica, mediante la prueba de comparaciones pareadas de Kruskal-Wallis, y finalmente, el parámetro ventilación, dado su carácter cualitativo, fue analizado mediante la prueba de independencia Chi cuadrado.

Los resultados analizados corresponden a la observación y recopilación de datos durante un periodo post aplicación de 30 días, los cuales se presentan en detalle a continuación.

4.1 Pillaje en colmenas.

El comportamiento de pillaje es definido por WINSTON (1987) y GARY (1993) como la acción de ingreso que realizan las abejas a colmenas que no son las propias, con la finalidad de coleccionar el néctar y miel almacenada en ella. Para evitar esta acción, cada colonia posee un sistema estructurado de defensa, correspondiendo esta función a las obreras guardianas, las que repelen y dificultan el ingreso de individuos foráneos, ya sean abejas, avispas u

otros insectos insidiosos. La ubicación de las abejas guardianas corresponde principalmente a la piquera o entrada de la colmena (GARY, 1993).

Los resultados obtenidos en la medición de este parámetro se presentan en el Cuadro 7.

CUADRO 7. Pillaje promedio, expresado como número de abejas expulsadas en 5 minutos, para cada tratamiento.

Tratamientos	Pillaje (promedio)
Control	0.208 a
Apilife Var®	0.242 a
Ácido fórmico 60% + Apilife Var®	0.350 a
Ácido fórmico 70% + Apilife Var®	0.333 a

Letras distintas indican LSD al 5%.

El análisis realizado a los datos recopilados en el ensayo, muestra que no existen diferencias estadísticas entre los cuatro tratamientos respecto al parámetro pillaje (Anexo 4).

De acuerdo a la información contenida en el Cuadro 7, es posible señalar que ninguna de las combinaciones de productos químicos orgánicos utilizados en los diferentes tratamientos favoreció la actividad de pillaje.

Al respecto, RITTER (1993), y BARBERO *et al.*, (1997), indican que la alteración del aroma interno de la colmena producto de la aplicación de sustancias volátiles tales como ácido fórmico o Apilife Var® (timol, eucaliptol, mentol y alcanfor) al interior de ésta, favorecen el comportamiento de pillaje. A su vez, GARY (1993), explica este comportamiento debido a que la alteración del aroma interno de la colmena permite una desorganización temporal de las

abejas guardianas, facilitando el ingreso y egreso de abejas ajenas a la colmena que es atacada. Este desplazamiento, implica que un cierto porcentaje de abejas en actividad de pillaje se impregnen con aromas propios de la colonia atacada, por lo que en la acción posterior de pillaje no serán reconocidas por las abejas guardianas, ingresando libremente y transmitiendo plagas y enfermedades si estas estuviesen presentes.

De acuerdo a lo anterior, la actividad de la expulsión de abejas como medida de determinación de pillaje en casos en que se emplean aceites esenciales no es del todo efectiva, ya que solo es capaz de representar al segmento de la población de abejas en actividad de pillaje que no logra ingresar a la colmena atacada.

A su vez, GARY (1993), indica que el pillaje en forma natural raramente ocurre, restringiéndose principalmente a situaciones artificiales de manejos realizados por los apicultores, tales como abrir las colmenas para revisión o cosecha y dejando miel expuesta, principalmente en periodos de escasez de néctar floral, situaciones que incitan el pillaje, pero que no se presentaron en este ensayo, siendo tal vez una de las causas por la cual no hubo diferencias estadísticas en el análisis del pillaje.

Otra razón por la cual la conducta de pillaje fue escasamente observada pudiese encontrarse en la concentración de los aceites esenciales presentes en Apilife VAR®, siendo tal vez, más baja que la requerida para desencadenar dicha conducta (Cuadro 7). Por otra parte, los tratamientos que incluyeron ácido fórmico (60 y 70%) realizado como pretratamiento, tampoco generaron variación significativa en el pillaje, por lo que no existe un efecto sinérgico con el producto comercial evaluado que favorezca esta variable. Esto concuerda con los resultados de VARGAS (2003), quien no encontró diferencias estadísticas en el pillaje entre los tratamientos con ácido fórmico y control.

Referente al ácido fórmico, VANDAME (2000) y CALATAYUD (2002), señalan que debido a su alta volatilidad, éste es evaporado en un periodo de tres semanas post aplicación, por lo que podría suponerse que la aplicación de Apilife VAR[®] en periodo estival y según la dosificación señalada por el fabricante, no estimularía el pillaje si es utilizado como post tratamiento de ácido fórmico.

Respecto a experiencias realizadas en la X Región con aceites esenciales, PORTALES (2003), al ensayar con tres dosis de mentol (9, 18 y 27 g.), encontró que existe una relación directa entre la actividad de pillaje y estos tres tratamientos, además de existir diferencias significativas entre estos tratamientos y el testigo, al aplicar entre fines de noviembre y diciembre. Apilife VAR[®] incorpora mentol en cantidad de 0.76 g por tableta de 20 g., cantidad 11 veces menor que la mínima dosis de mentol ensayada por PORTALES (2003), lo cual pudiese explicar en parte la falta de respuesta a este producto frente a la actividad de pillaje. Por otra parte, el timol, componente principal de Apilife VAR[®] (76%), tampoco genera efectos notorios en el pillaje, tal como lo indican los ensayos realizados por ROSAS (1997), CADAGAN (1999) y URIBE (2002), quienes no encontraron diferencias en ninguno de sus tratamientos. Es necesario señalar, que dichos ensayos se realizaron en el periodo de otoño, invierno y primavera, respectivamente, período en que las temperaturas no son las óptimas para generar la evaporación de los aceites esenciales, a diferencia del presente ensayo, en el cual la temperaturas diarias promedio se mantuvieron siempre sobre los 12°C (Anexos 2 y 3), temperatura mínima óptima para que difundan los vapores de aceites esenciales (IMDORF *et al.*, 1995a y MARINELLI *et al.*, 2001).

Otra de las situaciones informadas por IMDORF *et al.*, (1999), en un ensayo con Apilife VAR[®] realizado en colonias de abejas, dice relación con la dificultad que tuvieron éstas para tomar alimento, debilitando con ello la colonia

y favoreciendo la conducta de pillaje, además de verse aumentada la agresividad en las abejas, conductas no observadas durante el presente ensayo, en ninguno de los tratamientos con Apilife VAR[®]

4.2 Intensidad de ventilación.

El medio ambiente de la colonia está controlado en parte por la conducta de ventilación que asume cierto grupo de obreras, quienes generan un flujo de aire con el intenso batir de sus alas. TAKAHASHI (1992), señala que el comportamiento de ventilación comienza cuando en el interior de la colmena existen temperaturas superiores a los 30°C y sugiere que esta se realiza centralmente para mantener la temperatura del racimo de abejas y periféricamente para remover el CO₂.

Otros autores, entre los que se encuentran WINSTON (1987) y GARY (1993), señalan que además la ventilación regula factores como la temperatura, humedad, distribución de las feromonas, evaporación de agua del néctar y la concentración de los gases al interior de la colmena.

De acuerdo a lo señalado anteriormente, el nivel de ventilación que generan las abejas obreras encargadas de dicha función, debiera tener algún grado de dependencia con las diferentes concentraciones de ácidos orgánicos y aceites esenciales que presentan los diferentes tratamientos.

En este ensayo, y siguiendo la metodología propuesta por ROSAS (1997), descrita en el punto 3.3.5, la observación y registro diario de este parámetro no fue muy diferente entre los tratamientos, ni siquiera al comienzo, cuando se supone la concentración de aceites esenciales es mayor al interior de la colmena. Este planteamiento, es reafirmado al realizar el análisis estadístico de independencia (Chi cuadrado), el cual mostró que los 4 tratamientos analizados son independientes respecto al parámetro ventilación (Cuadro 8, Anexo 5).

CUADRO 8. Frecuencia observada de ventilación, durante 30 días.

Tratamientos	Nivel de ventilación			Total Fila
	Nula	Leve	Moderada	
Testigo	54 11.25%	45 9.38%	21 4.38%	120 25%
Apilife VAR®	64 13.33%	41 8.54%	22 4.58%	120 25%
60% ácido fórmico + Apilife VAR®	61 12.71%	37 7.71%	22 4.58%	120 25%
70% ácido fórmico + Apilife VAR®	55 11.46%	45 9.38%	20 4.17%	120 25%
Total columna	234 48.75%	168 35%	78 16.25%	480 100%

En el Cuadro 8, solo se muestran los resultados de 3 niveles de ventilación, ya que no se observó en ningún caso el nivel máximo, descrito por ROSAS (1997). Porcentualmente, se observó cerca de un 48.75% de nula ventilación en todos los tratamientos, ventilación leve en un 35%, y nivel moderado en un 16,25%, lo cual sugiere que las diferentes combinaciones de acaricidas presentes en los tratamientos, no son responsables directos de la ventilación observada, y pudiesen ser mejor explicadas por factores ambientales como la temperatura ambiente, que al ser la misma para todas las colmenas tratadas, se transforma en una variable independiente (Anexo 2 y 3).

Utilizando estadística descriptiva, al realizar un análisis de promedio entre el nivel de ventilación diario entre los diferentes tratamientos, se puede determinar que el tratamiento que presenta una mayor ventilación al cabo de 30 días es el testigo, con un nivel promedio de 1,725 y la menor ventilación la presenta el tratamiento Apilife VAR®, con un nivel promedio de 1,592.

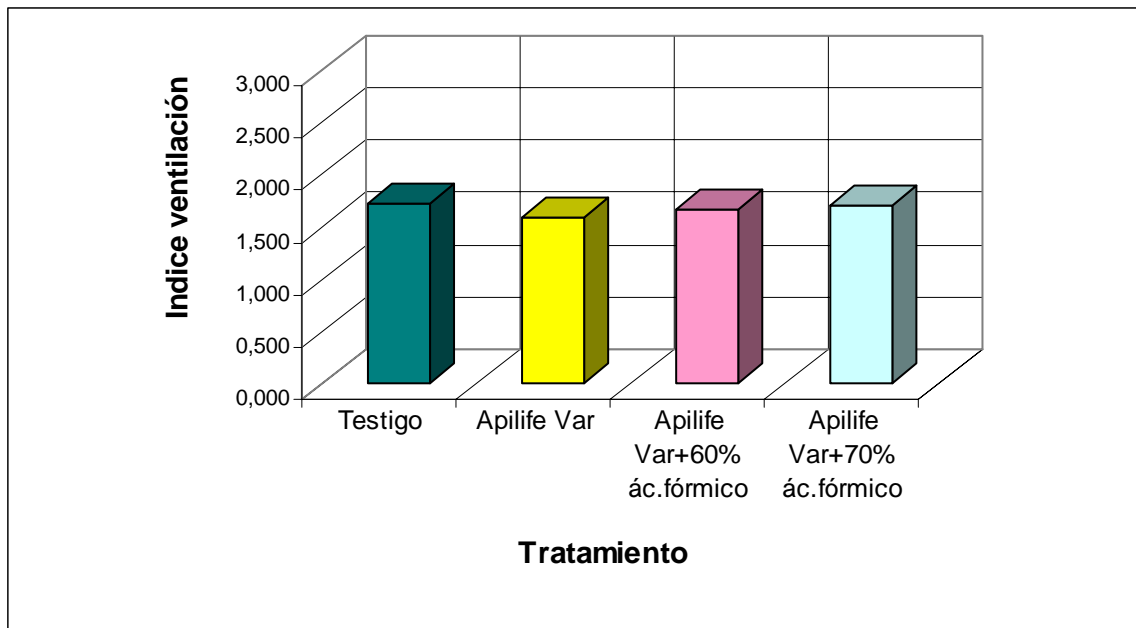


FIGURA 10. Índice de ventilación promedio mensual en colmenas tratadas.

Tal como ocurrió con el parámetro pillaje, la ventilación no alcanzó valores muy diferentes en ninguno de los 3 tratamientos comparados entre si y con el testigo, lo cual sugiere que ningún tratamiento logró modificar la atmósfera interna al punto de generar una diferencia en el comportamiento de ventilación.

Por su parte, URIBE (2002) al realizar 3 ensayos con diferentes dosis de timol, y estudiando el parámetro de ventilación, solo encontró diferencias significativas en el ensayo 3, el cual correspondió a la dosis más alta (Ensayo 3: testigo, 6 g timol, 9 g timol), situación que no se observa en el presente ensayo. Considerando que cada tableta de Apilife VAR[®] pesa 20 gramos, y la cantidad efectiva de timol por tableta es de 15,2 gramos, cerca del doble de la dosis más alta de timol estudiada por URIBE (2002), esta comparación adquiere relevancia, considerando que no existe diferencias apreciables entre los 4 tratamientos, específicamente entre el testigo y el tratamiento de Apilife VAR[®] con la concentración más alta de ácido fórmico (70%) utilizado como

pretratamiento, lo cual sugiere que la concentración de aceites esenciales no presenta un efecto aditivo con el ácido fórmico, ni tampoco fue lo suficientemente alta como para alterar el comportamiento normal de ventilación.

4.3 Mortalidad de abejas.

El estudio de este parámetro pretende mostrar si existe o no un efecto de mortalidad de las abejas al estar en presencia de el producto varroacida Apilife VAR[®], ya sea aplicado solo, o como un post tratamiento con 2 diferentes dosis de ácido fórmico (60 y 70%).

Los resultados obtenidos se presentan en el Cuadro 9.

CUADRO 9 Mortalidad promedio de abejas de cada tratamiento.

Tratamientos	Abejas muertas (promedio)
Control	0.358 a
Apilife VAR [®]	0.433 a
Ácido fórmico 60% + Apilife VAR [®]	0.392 a
Ácido fórmico 70% + Apilife VAR [®]	0.442 a

Letras distintas indican LSD al 5%.

El análisis realizado a los datos recopilados en el ensayo, muestra que no existen diferencias estadísticas entre los cuatro tratamientos respecto al parámetro abejas muertas (Anexo 7), observándose valores promedio de entre 0.358 abejas/muertas/día (control) y 0.442 abejas/muertas/día (Ácido fórmico 70% + Apilife VAR[®]). Tal situación es coincidente con la información entregada por IMDORF *et al.*, (1995a), y MAF (2001), quienes señalan que la aplicación de Apilife VAR[®] en ensayos de campo realizados en Italia y Suiza no muestran efectos colaterales negativos en la vida de las abejas, cuando es aplicado al finalizar el verano.

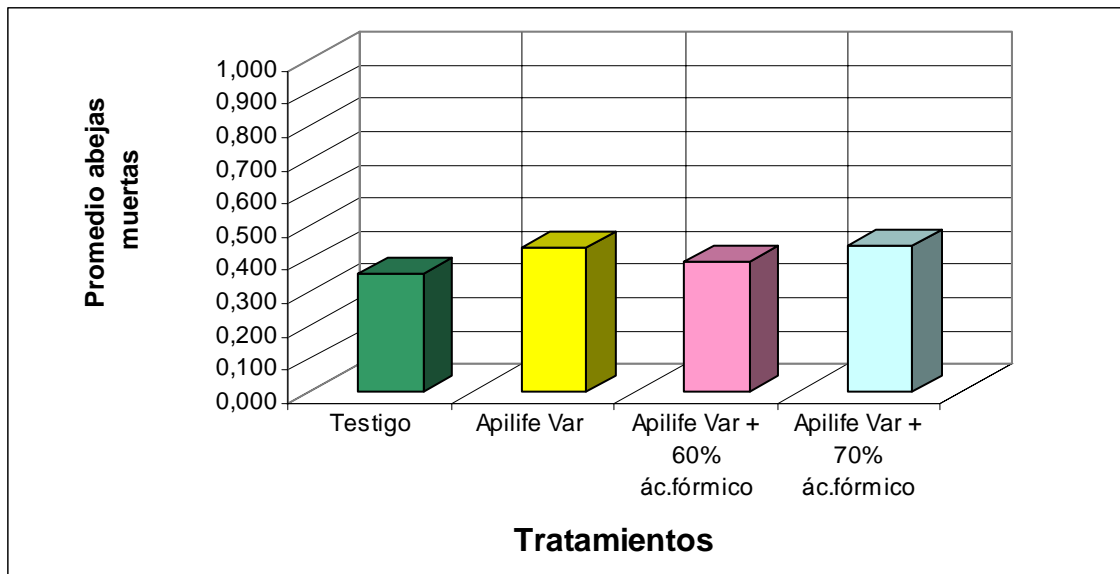


FIGURA 11. Promedio mensual de abejas muertas en colmenas tratadas.

Respecto a el efecto producido por el ácido fórmico en la mortalidad de las abejas, ROSAS (1997), en una aplicación otoñal de ácido fórmico al 60%, obtuvo 21.8 abejas/muertas/día, lo que se asemeja a lo obtenido por FRILLI *et al.*, (1992) y GREATTI *et al.*, (1992), con promedios de 35.3 abejas/muertas/día, resultados muy superiores al promedio encontrado en los 4 tratamientos estudiados en este ensayo, según se observa en la Figura 11. Esta situación sugiere que las menores temperaturas y el mayor tiempo de exposición de las abejas longevas con el ácido fórmico aplicado en otoño favorece la mortalidad, situación que se contrapone a la aplicación estival, momento del año en que existen mayores temperaturas, se produce una volatilización más rápida del ácido fórmico y las abejas permanecen por mayor tiempo en actividad de pecoreo fuera de la colmena.

Según WACHENDÖRFER *et al.*, (1985); BRACEY y FISCHER (1989), el ácido fórmico puede no tener efectos adversos en colonias de abejas inclusive pensando en tratamientos por un período extendido. La mortalidad de reinas fue nula (en Europa la pérdida de reinas ha estado ligada a ácido fórmico en altas

dosis), y la mortalidad de abejas fue insignificante. Lo que concuerda con HOPPE *et al.*, (1989), quienes tampoco observaron un aumento significativo en la mortalidad de abejas o pérdida de reinas. Sin embargo, NELSON *et al.*, (1994), demostraron que el ácido fórmico aún en concentraciones recomendadas produce una alta mortalidad de abejas. La diferencia en los resultados podría ser explicada entre otros factores por la condición de las abejas de la colonia.

Respecto al timol, componente principal de Apilife VAR[®], CALDERONE y SPIVAK (1995) indican que una de las causas que genera efectos deletéreos en las abejas, puede ser consecuencia de la elevada superficie de los finos cristales de timol, o bien una elevada temperatura ambiental de corto plazo, fenómeno que aumentaría rápidamente el proceso de volatilización, quedando de esta forma las abejas expuestas a una sobredosis de timol en un corto periodo. En este estudio el timol representó a un 76% de la tableta de Apilife VAR[®], y la muerte de abejas sólo se observó en bajo número, por lo que no es posible reafirmar lo señalado por los autores antes indicados.

En contraposición a los resultados obtenidos en este ensayo estival, NUEVA ZELANDA, M.A.F (2001), indica que Apilife VAR[®], utilizado como tratamiento otoñal, ha generado efectos negativos en la vida de las abejas al presentarse dificultad de almacenar alimento para el invierno. Además, en Nueva Zelanda se han reportado colonias que han muerto hasta en un 50% de su población cuando Apilife VAR[®] ha sido aplicado en el período invernal, situación que no corresponde a la época de aplicación de este ensayo, el cual fue realizado durante el verano.

4.4 Caída de varroa.

Una de las razones que señala CAMPOS (2000), para la caída de varroa, es la modificación de la atmósfera interna de la colmena luego de la aplicación

de aceites esenciales o ácidos orgánicos, produciendo la muerte de varroa por contacto directo con los acaricidas mencionados, o bien, por confusión en su sentido de orientación, con el consecuente desprendimiento desde la abeja parasitada y el posterior depósito de los ácaros en el tablero ubicado en el piso de la colmena.

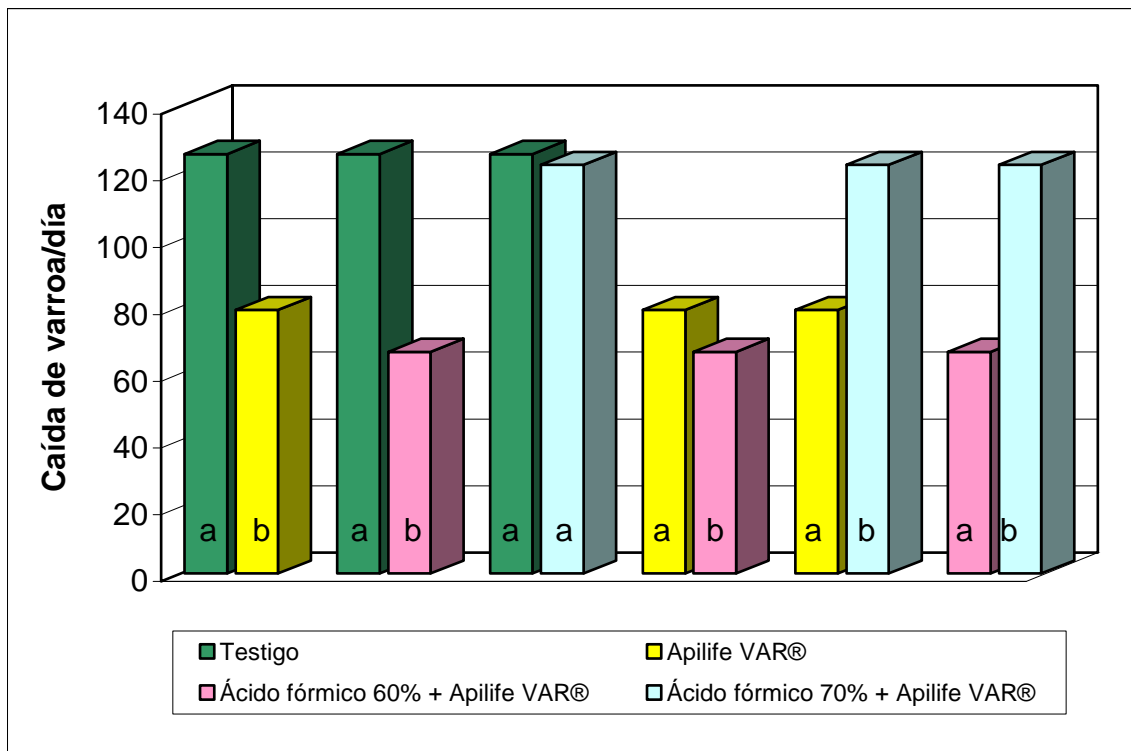
CUADRO 10 Caída de varroa por día para cada tratamiento.

Tratamientos	Caída de varroa/día (mediana)
Testigo	107.5 a
Apilife VAR [®]	71.5 b
Ácido fórmico 60% + Apilife VAR [®]	53.5 c
Ácido fórmico 70% + Apilife VAR [®]	101.5 a

Letras distintas indican diferencias estadísticas para Kruskal-Wallis. (5%).

Según se desprende de la información presente en el Cuadro 10, es el tratamiento testigo el que presenta mayor número de caída de varroa, siendo estadísticamente igual al tratamiento ác. fórmico 70% + Apilife VAR[®] (Anexos 8 y 9). En tanto, el tratamiento Apilife VAR[®] difiere estadísticamente con los otros tres tratamientos.

Al analizar el promedio de caída de varroa en cada tratamiento, es curioso observar que el mayor valor diario de caída fue observado en el tratamiento testigo, con un promedio diario de 125,7 varroas/día, valor superior en un 47% al tratamiento de Apilife VAR[®] + ác.fórmico 60% (66,39 varroa/día) y superior en un 38% (76.98 varroas/día) al tratamiento Apilife VAR[®]. En tanto, y corroborando el análisis de Kruskall Wallis (Anexos 8 y 9), en forma porcentual existe una diferencia de 2.5% en la cantidad de ácaros caídos a favor del tratamiento testigo, al compararlo con el tratamiento Apilife VAR[®] + ác. fórmico 70%.



Letras distintas indican diferencias para Kruskal–Wallis (5%).

FIGURA 12 Caída de varroa por día para cada tratamiento, comparación pareada.

Las cifras anteriores no son las esperadas. Si bien el tratamiento testigo presentó el mayor número de caída de varroa, cifra similar a la encontrada en el tratamiento 4 (Ác. fórmico 70% + Apilife VAR), no indicaría cual de los dos es mas eficiente en el derribe de los ácaros, ya que el número real de varroas presentes antes de iniciar el ensayo no fue determinado exactamente, si no que se cuantificó solo el porcentaje de infestación inicial que presentaban las colonias utilizadas como repeticiones de los distintos tratamientos (Cuadro 11 y Anexos 10 y 16).

Según esto, CALDERONE (1999), indica que no existe una relación entre el porcentaje de infestación y la caída de ácaros, ya que colmenas con un

mismo porcentaje de infestación pueden tener una distinta población de abejas, lo que varía el número de parásitos.

La relación existente entre el número de abejas y el número de varroa, puede ser explicado biológicamente, conociendo su ciclo de vida, ya que el ciclo de varroa requiere necesariamente de cría de abejas para perpetuarse. De esta forma, por cada celdilla con cría que es invadida por varroa, genera entre 4 a 5 varroas. De existir una colmena con mala condición o escaso vigor, ya sea por enfermedad o presentar reina con mala postura, el número de abejas se reducirá al igual que la población de varroa (Rehm and Ritter, 1989; Martin 1994; citados por DE JONG, 1997).

Por otra parte, y corroborando lo informado por VARGAS (2003), se observó que muchas de las varroas caídas en el tratamiento testigo se encontraban vivas en la trampa con vaselina, a diferencia de los otros tres tratamientos, en los cuales no se observó dicha situación. La caída natural, no asegura una disminución en la población de varroa, ya que puede generar una reinfestación al no existir una trampa en el piso de la colmena. Según lo anterior, la caída natural de varroa, representada por el testigo, puede numéricamente y estadísticamente ser igual a la caída producida por efecto de otros tratamientos varroocidas, pero las consecuencias de su acción son diferentes.

Si bien el porcentaje de infestación inicial no es un buen indicador según lo señala CALDERONE (1999), complementar dicha información con el porcentaje final puede contribuir en la determinación del control logrado por tratamientos acaricidas, calculando la diferencia entre ambos índices. De acuerdo a esto, todos los tratamientos acaricidas disminuyeron la infestación, tanto en cría operculada como en abejas adultas, a diferencia del tratamiento testigo, a pesar de su mayor promedio de caída de varroa (Cuadro 12 y 13).

El nivel de eficacia de Apilife VAR[®], fue determinado según la metodología señalada por IMDORF *et al.*, (1995a), quienes propusieron que al determinar la caída natural de varroa, luego de 2 semanas de concluido el tratamiento, se obtiene un indicador confiable de la eficacia. Para ello, se debe coleccionar y contabilizar todos los ácaros caídos durante ese periodo, los cuales corresponden a los ácaros que sobrevivieron a los tratamientos. Si la caída de ácaros es menor a 1 varroa/día, la población del ácaro permanecerá bajo el umbral de tolerancia hasta el próximo tratamiento, no siendo la reinvasión un problema mayor. Esto significa que puede esperarse una población de ácaros menor a los 100 individuos. En colonias donde la caída sea superior a 1 varroa/día, será necesario realizar otro tratamiento con ácido láctico, ácido oxálico u otro, situación corroborada por IMDORF *et al.*, (2003), quienes señalan que la caída natural de varroa puede ser un buen indicador del tamaño de su población dentro de la colmena al relacionar la caída natural de varroa con la mortalidad de los ácaros posterior a un tratamiento con un varroacida, y determinaron que si la caída natural es menor a 10 ácaros por día, la mortalidad debido a los tratamientos será inferior a 2000 ácaros, lo que implica un nivel de infestación bajo. Al contrario, si se encuentran más de 10 ácaros caídos en forma natural por día, se requiere un tratamiento inmediato ya que la población puede aumentar rápidamente.

De acuerdo a lo antes planteado, luego de determinar la caída natural de varroa en las colonias que estuvieron bajo tratamiento, se determinó que el 100% de las colonias estudiadas presentaron más de 1 ácaro/día, por lo que el tratamiento fue insuficiente en estas colonias, sugiriendo con esto que bajo las condiciones de Valdivia y de acuerdo a la metodología planteada por IMDORF *et al.*, (1995a), el tratamiento con Apilife VAR[®] debería ser ampliado, o bien, realizar un tratamiento con recambio de tableta a las dos semanas, tal como señala MARINELLI *et al.*, (2001), NEW ZEALAND, M.A.F. (2001) y CALATAYUD (2002).

Este resultado, reafirma lo señalado por VARGAS (2003), quien al utilizar el producto Apilife VAR[®], como tratamiento final para determinar la cantidad de varroa que escapó a los tratamientos con ácido fórmico, solo encontró una reducción en el porcentaje de infestación final de entre un 38,2 y un 48,9%, cifras muy inferiores a las señaladas por GAL *et al.*, (1992) e IMDORF *et al.*, (1995a), quienes indican eficiencias de entre un 86 a un 97%.

4.5 Nivel de infestación.

Previo a comenzar el ensayo, se analizó estadísticamente la existencia de diferencias en el nivel inicial de infestación en los 4 grupos de 4 colmenas cada uno, que fueron elegidos para recibir los diferentes tratamientos y determinar con este procedimiento la homogeneidad entre las colonias.

CUADRO 11 Infestación inicial de varroa en cría de obreras y en abejas obreras adultas, previo a la aplicación de los tratamientos.

Tratamientos	Infestación inicial (%)	
	Crías de obreras	Obreras adultas
Testigo	18,31 a	13,04 a
Apilife VAR [®]	13,34 a	13,67 a
Ácido fórmico 60% + Apilife VAR [®]	19,97 a	11,85 a
Ácido fórmico 70% + Apilife VAR [®]	10,00 a	5,25 b

Letras distintas indican LSD al 5%, dentro de cada columna.

El Cuadro 11, muestra que no existen diferencias en el nivel inicial de infestación en cría de obreras. Sin embargo, al observar el nivel inicial de infestación en abejas obreras adultas, es posible darse cuenta que las abejas que se sometieron al tratamiento ácido fórmico 70% + Apilife VAR[®] fue el único que mostró diferencias significativas entre los cuatro tratamientos. Esta

situación no pudo ser manejada, debido a que los dos tratamientos que incluyen ácido fórmico fueron estudiados anteriormente por VARGAS (2003), correspondiendo la posterior aplicación de Apilife VAR[®] al tratamiento final para determinar el número de ácaros que escaparon a los diferentes tratamientos, lo cual permitió a dicho autor, la obtención de las conclusiones de su trabajo.

De acuerdo a lo establecido por CHILE, SAG (1994), el porcentaje de varroa en cría de abejas es grave si supera el 10%, y es grave en abejas adultas cuando el porcentaje de varroa supera el 5%. Según esto, el nivel inicial de infestación, de los dos grupos de abejas en etapas diferentes de desarrollo, supera la escala de valoración señalada, justificándose plenamente el control con un producto varroacida.

4.5.1 Nivel de infestación inicial y final en cría operculada y abeja adulta.

Se determinó el nivel inicial y final de infestación, tanto en cría operculada como en abejas obreras adultas, con la finalidad de establecer si los diferentes tratamientos logran disminuir el porcentaje inicial de infestación y cuantificar si existe o no dicha diferencia.

4.5.1.1 Nivel de infestación inicial y final en cría operculada. Al evaluar la infestación inicial versus la infestación final para cada tratamiento, se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas sólo en el tratamiento Apilife VAR[®] (Anexos 10 al 14 y Cuadro 12), logrando éste una reducción desde un 13.34 a un 0.54%, lo que equivale a una disminución del 95.9% respecto a el porcentaje inicial de infestación.

CUADRO 12 Porcentaje inicial y final de infestación por varroa en cría operculada.

Tratamientos	Nivel de Infestación (%)	
	Inicial	Final
Testigo	18,31 a	14,79 a
Apilife VAR [®]	13,34 a	0,54 b
Ácido fórmico 60% + Apilife VAR [®]	19,97 a	9,10 a
Ácido fórmico 70% + Apilife VAR [®]	10,00 a	5,71 a

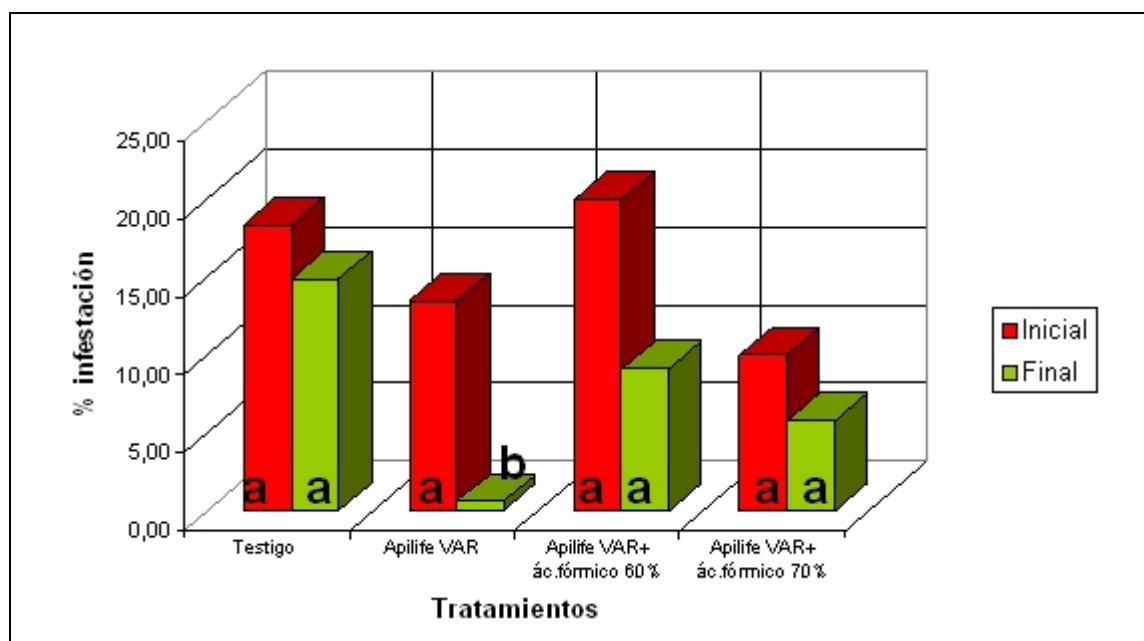
Letras distintas indican LSD al 5%, para cada fila

Respecto a los demás tratamientos, se observa que las secuencias de ácido fórmico al 60 y 70% como pretratamiento, seguido de Apilife VAR[®] en su nivel inicial y final de infestación, son estadísticamente iguales, pero es necesario señalar que lograron disminuir el porcentaje inicial de infestación en 54,4 y 42,9%, respectivamente.

En tanto, el tratamiento testigo de igual forma disminuyó su porcentaje de infestación, desde un 18,31 a un 13,04%, lo que equivale a una reducción de un 28,78% respecto al porcentaje inicial. Esta reducción es explicada por la caída natural de varroa, ya que el único producto extraño que estuvo presente en las colmenas del tratamiento testigo fue la vaselina que se encontraba presente en los tableros adhesivos para conteo de varroa, producto que no posee propiedades varroacidas (CALATAYUD, 2002).

Según señala SHIMANUKI Y KNOX (2000), el número y ubicación de *V. jacobsoni* en una colonia varía de acuerdo a la época del año. De esta forma, el número de ácaros en primavera es bajo, se incrementa hacia el verano, para luego disminuir en el otoño. La posición de varroa dentro de la colmena, durante las estaciones de primavera y verano, es proporcionalmente mayor en crías que en abejas adultas, situación que se contrapone a otoño e invierno, donde varroa

permanece sobre las obreras longevas. De acuerdo a lo señalado anteriormente, específicamente en la relación de posición de varroa dentro de la colmena y realizando una comparación entre el porcentaje de infestación inicial entre cría operculada y abejas adultas para cada tratamiento, es relevante señalar que los resultados obtenidos en el ensayo, concuerdan con los autores antes citados, ya que en todos los casos, el porcentaje de infestación inicial fue mayor en crías que en abejas adultas (Figuras 13 y 14, Anexos 10 y 16).



Letras distintas indican LSD al 5%, dentro de los tratamientos.

FIGURA 13 Nivel de infestación inicial y final en cría operculada.

4.5.1.2 Nivel de infestación inicial y final en abeja adulta. La metodología empleada para la determinación de esta variable ha sido la señalada por CHILE, SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO (1994), y descrita en el capítulo anterior, en el punto 3.4.2.

Se determinó la existencia de diferencias altamente significativas en dos de los 4 grupos estudiados, los cuales corresponden al testigo y el tratamiento

Apilife VAR[®], determinación que fue realizada mediante análisis de varianza y posterior análisis de comparación de medias (LITTLE Y HILLS, 2002). Igual procedimiento se realizó a los otros tratamientos, no encontrándose diferencias entre el nivel inicial y final de infestación (Anexos 16 al 22 y Cuadro 13).

CUADRO 13 Porcentaje de infestación inicial y final de abejas adultas.

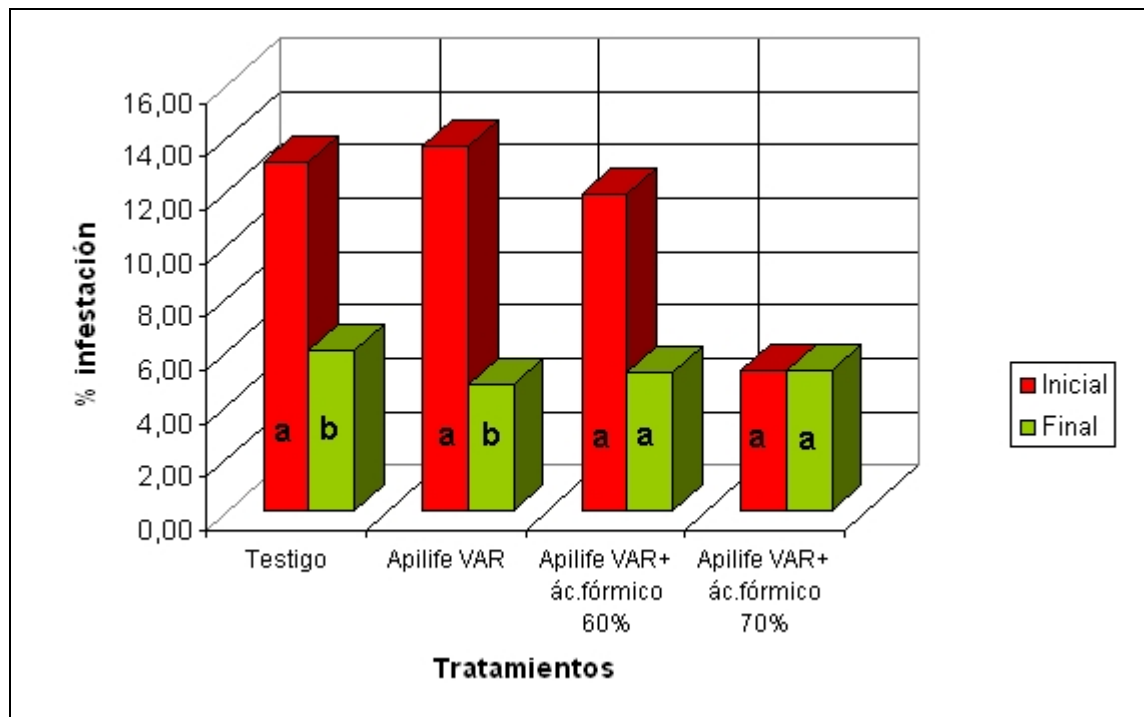
Tratamientos	Nivel de Infestación (%)	
	Inicial	Final
Testigo	13,04 a	6,00 b
Apilife VAR [®]	13,67 a	4,75 b
Ácido fórmico 60% + Apilife VAR [®]	11,85 a	5,20 a
Ácido fórmico 70% + Apilife VAR [®]	5,24 a	5,25 a

Letras distintas indican LSD al 5%, para cada fila

Según los resultados presentados en el Cuadro 13, se determinó que el tratamiento que logró una mayor disminución entre el porcentaje de infestación inicial y final en abejas adultas fue el tratamiento Apilife VAR[®], el cual logró bajar la carga parasitaria en un 65,25%, de 13,67 a un 4,75%. En tanto, los tratamientos ácido fórmico 70% + Apilife VAR[®] y ácido fórmico 60% + Apilife VAR[®] no mostraron efecto alguno en esta variable.

De acuerdo a los antecedentes anteriores, el ácido fórmico muestra un efecto poco claro. Según señalan VANDAME (2000) y CALATAYUD (2002), ello podría deberse a que el ácido fórmico no se encontraría presente posterior a las tres semanas de su aplicación en la concentración adecuada para generar un efecto acaricida sobre varroa, dada su alta volatilidad. Además, VANDAME (2000), agrega que la concentración de ácido fórmico depende de la temperatura (Cuadro 4), siendo la temperatura adecuada para una concentración de 70% de ácido fórmico de entre 12 a 20°C, y para una concentración de 60% de ácido fórmico de entre 20 a 25°C, rango en que se

desarrolló principalmente este ensayo (Anexo 3). Por otra parte, al comparar el tratamiento ácido fórmico 70% + Apilife VAR® respecto a la reducción de infestación de varroa tanto en cría operculada como en abejas adultas, es posible observar, que en cría operculada la infestacion se reduce en una cifra cercana al 45%, no siendo esto un factor negativo. Si bien no sucede lo mismo en abejas adultas, logra mantener los niveles de infestación.



Letras distintas indican LSD al 5%, dentro de los tratamientos.

FIGURA 14 Nivel de infestación inicial y final en abejas adultas.

En todos los casos analizados, el porcentaje de infestación disminuyó, salvo en el tratamiento cuatro. Sin embargo, y de acuerdo a la escala propuesta por CHILE, SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO (1994), para niveles de infestación críticos de varroosis, todos los grupos presentan nivel de infestación grave (más de 5%), a excepción del tratamiento Apilife VAR®, que presenta una infestación media. Esta situación reafirma la necesidad de realizar un segundo tratamiento, con otro principio activo orgánico, o bien aplicar una tableta de

Apilife VAR[®] en dos ocasiones, distribuyendo 1 tableta cada 2 semanas. Sin embargo, al utilizar esta última metodología, el riesgo de generar resistencia esta presente, pero aún no se ha informado esta situación, ni con Apilife VAR[®], u otro de sus componentes (IMDORF *et al.*, 1995a; GOODWIN Y VAN EATON, 2001; MARINELLI *et al.*, 2001).

5 CONCLUSIONES

Para las condiciones geográficas y ambientales bajo las cuales se desarrolló este ensayo, es posible concluir lo siguiente:

- La acción acaricida del producto Apilife Var®, determinada mediante el método de conteo de caída de varroa, no indica la real efectividad del producto, debido a que el número de ácaros derribados, estaría más relacionado al número total de ácaros presentes en una colmena. De esta forma, el método utilizado es adecuado para cuantificar el efecto de derribe de varroa y no permite la determinación por sí solo del efecto acaricida del producto.
- El producto comercial Apilife Var®, representado como Tratamiento 2, demostró poseer un efecto acaricida en el nivel de infestación de cría, dado que logró disminuir el porcentaje de infestación inicial bajo un 10%, porcentaje considerado como umbral crítico. El porcentaje final de infestación correspondió a 0,54%, lo que equivale a una reducción respecto al nivel inicial de un 95,9%.
- El producto comercial Apilife Var®, representado como Tratamiento 2, demostró poseer un efecto acaricida en el nivel de infestación de abejas adultas, dado que logró disminuir el porcentaje de infestación inicial bajo un 5%, porcentaje considerado como umbral crítico. El porcentaje final de infestación correspondió a 4,75%, lo que equivale a una reducción respecto al nivel inicial de un 65,25%.
- El producto Apilife VAR®, no genera cambios en el comportamiento de pillaje, ventilación y tampoco produce mortalidad en las abejas, ya sea aplicado como tratamiento único o bien, utilizado como post tratamiento de ácido fórmico en concentración de 60 o 70% v/v.
- Apilife VAR® y ácido fórmico en concentración de 60 o 70% v/v no presentaron un efecto sinérgico en las variables mortalidad de abejas, pillaje e intensidad de ventilación.
- Se acepta la hipótesis: Apilife VAR® aplicado en período estival, logra disminuir la población de varroa sin generar efectos adversos sobre las abejas.

6 RESUMEN

Durante el verano del año 2002, entre el 7 de enero y el 15 de febrero de 2002, se realizó un ensayo en el Apiario Experimental de la Universidad Austral de Chile, ubicado en el fundo Santa Rosa, Comuna de Valdivia, X Región de Los Lagos. El propósito del ensayo fue determinar el efecto de la aplicación del producto comercial Apilife Var[®], como tratamiento único o como post tratamiento de ácido fórmico en concentraciones de 60 y 70%, en la caída de *Varroa destructor* Anderson y Trueman y los efectos que produce en el comportamiento de *Apis mellifera* L.

Para lograr estos objetivos, el experimento se dispuso según un Diseño Completamente al Azar, con igual número de repeticiones y se utilizaron para ello 16 colmenas tipo Langstroth, divididas en 4 tratamientos con 4 repeticiones cada grupo, quedando definidos los tratamiento de la siguiente manera:

Tratamiento 1 (T1) = Testigo.

Tratamiento 2 (T2) = 1 tableta de Apilife Var[®].

Tratamiento 3 (T3) = ácido fórmico 60% v/v + 1 tableta de Apilife Var[®].

Tratamiento 4 (T4) = ácido fórmico 70% v/v + 1 tableta de Apilife Var[®].

En los tratamientos T3 y T4, VARGAS (2003) aplicó previamente (entre el 13 y el 28 de diciembre de 2001) ácido fórmico al 60 y 70% v/v sobre dispensadores de algodón prensado, realizando 4 aplicaciones cada 5 días, completando 240 cc de ácido fórmico. Posteriormente, se aplicó 1 tableta de 20 g de Apilife VAR[®] sobre el cabezal de la cámara de cría y se dejó actuar por 30 días consecutivos.

Los resultados mostraron que ningún tratamiento generó efectos sobre las conductas de pillaje, ventilación y mortalidad de abejas.

El tratamiento Apilife VAR[®] (T2), fue el único que logró disminuir estadísticamente el porcentaje de infestación inicial en cría operculada.

En los tratamientos Apilife VAR[®] (T2) y Testigo (T1), disminuyó estadísticamente el porcentaje de infestación inicial en abejas adultas.

SUMMARY

During the summer of the year 2002, between January 7th and February 15th, a research was performed in the Experimental Apiary of the Universidad Austral de Chile, at the Experimental Campus Santa Rosa, located to 5 km of the Valdivia city. The purpose of the research was to determine the effect of the application of the commercial product Apilife VAR[®], as unique treatment and also as post treatment of formic acid in concentrations of 60 and 70 percent in the fall of *Varroa destructor* Anderson & Trueman and the effects on the behavior of *Apis mellifera* L.

To achieve these objectives, the experiment corresponding to a statistical design totally at random, with same number of repetitions, and were used 16 beehives of the type Langstroth, divided in 4 treatments with 4 repetitions each group, being defined the treatments in the following way:

Treatment 1 (T1)= Control.

Treatment 2 (T2)= 1 tablet of Apilife VAR[®].

Treatment 3 (T3)= Formic acid 60% v/v + 1 tablet of Apilife VAR[®].

Treatment 4 (T4)= Formic acid 70% v/v + 1 tablet of Apilife VAR[®].

In treatment T3 and T4, VARGAS (2003), between December 7th and December 28th 2001, applied previously formic acid 60 y 70 % v/v on dispensadores of pressed cotton, carrying out 4 applications every 5 days, completing 240 cc of formic acid. Then, 1 tablet was applied of Apilife VAR[®] on the brood chamber. Later on, it was observed for 30 days consecutive.

The results showed that no treatment had effects on robbing, fanning and mortality of bees.

The treatment Apilife VAR[®] (T2), it was the only one that was able to decrease statistically the percentage of initial infestation in brood sealed.

The treatments Apilife VAR[®] (T2) and Control (T1), reduced statistically the percentage of initial infestation in mature bees.

7 BIBLIOGRAFIA

- AGROBIT.COM. 2000. Control de Varroa a base de ácido fórmico (On line)
 <http://www.agrobit.com.ar/Info_tecnica/alternativos/apicultura/AL_000004ap.htm> (28 de octubre 2002).
- AMRINE, J; NOEL, B; MALLOW,H; STASNY,T; SKIDMORE, R. 1996.
 Essential oils used to control mites in honey bees. (On line)
 <<http://www.wvu.edu/~agexten/varroa/oils.htm>>. (15 de marzo de 2002).
- ANDERSON, D. 2000. Variation in the parasitic bee mite *Varroa jacobsoni*
 Oud. Apidologie (Francia) 31: 281-292
- ANDERSON, D. Y TRUEEMAN, J. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari:Varroidae) is
 more than one species. Experimental and Applied Acarology (Holanda)
 24:1-25.
- APINET. 1996. Workshop sobre control de varroasis en la República Argentina.
 <<http://www.inta.gov.ar/apinet/WORKSHOP.HTM> >(26 de sept de 2002).
- ARGENTINA, SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD
 AGROALIMENTARIA (SENASA). 2004. Listado de productos
 aprobados por la apicultura. (On line).
 <http://www.senasa.gov.ar/sanidad/abejas/productos_2004.pdf> (04 de
 agosto de 2004)

- BAILEY, L. 1984. Patología de las abejas. Rothamsted Experimental Station, UK. Traducido por Pedro Ducar. Zaragoza, España. Academic press 139 p.
- BARBERO, R.; PANELLA, F. y BONIZZONI, L. 1997. El carné europeo. Ácido oxálico y el tratamiento de limpieza radical de otoño invierno. Vida Apícola (España) 85: 8-13
- 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. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. pp: 31-46.
- BOGDANOV, S.; IMDORF, A. Y KILCHENMANN, V. 1998. Residues in wax and honey after Apilife VAR[®] treatment. Apidologie (Francia) 29: 513-524.
- BOGDANOV, S.; CAHRIÈRE, J.; IMDORF, A.; KILCHENMANN, V. Y FLURI, P. 2002. Determination of residues in honey after treatments with formic and oxalic acid under field condition. Apidologie (Francia) 33: 399-409.
- BRACEY, S. y FISHER, F. 1989. Initial results of the field treatment of honey bee colonies infested with *Varroa jacobsoni* using formic acid in hot climates. American Bee Journal (USA) 129:735-737
- BÜCHLER, R. 1994. *Varroa* tolerance in honey bees – ocurrence, characters and breeding. Bee World (Inglaterra) 75(2):54-70.
- 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.

- CALATAYUD, F. 2002. La varroosis de las abejas: Nuevos conocimientos y su aplicación práctica. (On line). <<http://www.apiuno.com/pdf/vroosis.pdf>> (18 de junio de 2002).
- CALDERONE, N. 1999. Evaluation of formic acid and thymol based blend of natural products for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). Journal of Economic Entomology (USA) 92(2): 253-260.
- _____ 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 (USA) 88(5): 1211-1215.
- CAMPOS, P. 2000. Efectos del aceite esencial mentol y de los ácidos orgánicos fórmico y láctico sobre *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata: Varroidae) y su hospedero *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 70 p.
- CASTILLO, R. 1992. Varroosis: grave amenaza para la apicultura de nuestro país. Chile Hortofrutícola 5 (26): 18-22.
- CASTILLO, R. 1994. Varroosis: Impacto en la colonia, diagnóstico y tratamiento. In: Undurraga, P.; Fuenzalida, N. y Kehr, M. (eds). IV Congreso nacional de ciencia y tecnología apícola. Universidad Católica de Valparaíso. pp: 1-9.

- CLEMENTE, I. 1990. Varroasis diversas experiencias para su control. In: II Encuentro nacional de ciencia y tecnología apícola. Departamento de Ciencias Agronómicas Básicas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de la Frontera Temuco. Chile. pp 198-212.
- CHILE, SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO (SAG), DEPARTAMENTO DE PROTECCION PECUARIA. 1994. Control de varroasis de las abejas. Boletín técnico 1, proyecto control varroasis. FAO/SAG. Santiago. Chile. 20 p.
- DE JONG, D. 1997. Mites: Varroa and other parasites of brood. In: Morse, R y Flottum, K. (eds.) Honey bee pests, predators, & diseases. Third edition. Ohio, USA. Root publishing pp 279-327.
- DE JONG, D. Y A. E. EGEA SOARES. 1997. An isolated population of Italian bees that has survived Varroa infestation without treatment for over 12 years. American Bee Journal (USA)132: 742-745.
- DELAPLANE, K. 1997. Practical science-research helping beekeepers. Varroa. Bee World (Inglaterra) 78(4):155-164.
- 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 (12 de julio de 2002).
- DIETZ, A. Y HERMANN, H. 1988. Biology, detection and control of *Varroa jacobsoni*: a parasitic mite on honey bees. Georgia, USA. Lei-Act Publishers. 82p.

- FLORES, J.; AFONSO, S. Y PUERTA, F. 2001. Comportamiento higiénico de *Apis mellifera* Ibérica em células de criação de abelhas artificialmente infestadas com o parasita varroa. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias (Portugal)* 96 (538): 71-74.
- FREDES, F. 1993. Varroasis: un nuevo problema parasitario en Chile. *Monografías de Medicina Veterinaria (Chile)* 15(1-2): 11-16.
- FRILLI, F.; MILANI, N.; BARBATTINI, R. ; GREATTI, M. ; CHIESA, F. ; IOB, M. ; D'AGARO, M. ; PROTA, R. y FLORIS, I. 1992. Effectiveness of spring treatment with lactic acid and formic acid against *Varroa jacobsoni*. *Apicoltore moderno (Italia)* 83(2)49-58.
- GAL, H.; SLABEZKI, Y.; LENSKY, Y. 1992. A preliminary report on the effect of origanum oil and thymol applications in Honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in a subtropical climate on population levels of *Varroa jacobsoni*. *Bee Science (USA)* 2 (4): 174 - 179.
- GARY, N. 1993. Activities and behavior of honey bees. In Graham J. (ed.). *The hive and the honey bee*. Chelsea. USA. Dadant. pp 269-372.
- GOODWIN, M. Y VAN EATON, C. 2001. Control of varroa. A guide for New Zealand beekeepers. New Zealand Ministry of Agriculture and Forestry (M.A.F). Ed. Astra Print. Wellington, New Zealand. 127 p.
- GREATTI, M.; IOB, M.; BARBATTINI, R. y D'AGARO, M. 1992. Efficacia di trattamenti primaverili con ácido lattico e ácido fórmico contra *Varroa jacobsoni*. *Apicoltore moderno (Italia)* 83(2)49-58.

- HIGES, M. 1996. Tratamientos alternativos contra varroa. *Vida Apícola* (España) 77:7
- HONEYFARM. s.f. *Varroa destructor*. <<http://www.honeyfarm.ch/Varroa.html>> (10 de junio de 2003).
- HOPPE, H.; RITTER, W. Y STEPHEN, E. 1989. The control of parasitic bee mites: *Varroa jacobsoni*, *Acarapis woodi*, and *Tropilaelaps clareae* with formic acid. *American Bee Journal* (USA) 129: 739-742.
- IMDORF, A. Y CHARRIÈRE, J. 2003. Alternative Varroa control. Swiss Bee Research Centre. Dairy Research Station. Liebefeld, Bern (On line). http://www.apis.admin.ch/english/pdf/Varroa/AVB98_e.pdf (04 de abril de 2004).
- _____; BOGDANOV, S. Y MAQUELIN, C. 1995a. Apilife Var: A new varroacide with thymol as the main ingredient. *Bee World* (Inglaterra). 76(2): 77-83.
- _____; BOGDANOV, S.; 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
- _____; KILCHENMANN, V.; BOGDANOV, S.; BACHOFEN, B. Y BERETA, C. 1995b. Toxic effects of thymol, camphor, menthol y eucalyptol, .on *Varroa jacobsoni* Oud. and *Apis mellifera* L. in a laboratory test. *Apidologie* (Francia) 26 : 27-31.

- _____ ; CHARRIERE, J.; MAQUELIN, C.; KILCHENMANN, V.; Y BACHOFEN, B. 1996. Alternative varroa control. American Bee Journal (USA) 136(3): 189-193.
- _____ ; CHARRIERE, J.; KILCHENMANN, V.; BOGDANOV, S. Y FLURI, P. 2003. Alternative strategy in central Europe for the control of *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Apiacta* (Rumania). 38: 258-285
- LITTLE, T. y HILLS, J. 2002. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. 4ª ed. México. Trillas. 270 p.
- MADUH, E.; BOROWITS, J. Y ISOM, G. 1990. Cyanide-induced alteration of cytosolic pH: involvement of cellular hydrogen ion handling processes. *Toxicology and Applied Pharmacology* (USA) 106: 201-208.
- MARINELLI, E.; DE PACE, F.; RICCI, L. Y ODDO, P. 2001. Use of different formulated with thymol for summer treatment antivarroa in a mediterranean environment. (On line). <<http://www.apis.admin.ch/english/host/pdf/alternativ/York/thymolem.pdf>> (30 de agosto de 2003).
- MARTIN, S. 1998. A population model for the ecto-parasitic mite *Varroa jacobsoni* in the honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological modelling* (Inglaterra) 109 (2): 267-281.
- MARTIN, S.; HOGARTH, A.; VAN BREDA, J. Y PERRET, J. 1998. A scientific note on *Varroa jacobsoni* Oudemans and the collapse of *Apis mellifera* L. colonies in the United Kingdom. *Apidologie* (Francia) 29: 369-370.

- MATHESON, A. 1994. What's in a name?. Bee World (Inglaterra) 75(3):101-103.
- MOBUS, B. Y CONNOR, L. 1988. The varroa handbook. Northern bee books. Connecticut, U.S.A. 50p.
- MÜNCH, H. 2002. Varroa als bienenschädlinge. (On line).
<<http://www.echter-honig.de/Bienen/Varroa/Varroa.htm> >
(23 de junio de 2003).
- MUTINELLI, F. 2000. European legislation governing the use of veterinary medicinal products with particular reference to varroa control. Bee World (Inglaterra) 81(4):164-171.
- NEIRA, M. 1990. Enfermedades de abejas en Chile, problemas reales y peligros potenciales. In II encuentro nacional de ciencia y tecnología apícola. Alda, L.; Rebolledo, R. y Ríos, D. (eds.). Universidad de la Frontera. pp: 18-24
- NEIRA, M. 1998. 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.
- NELSON, D.; MILLS, P.; SPORNS, P.; OORAIKUL, S. Y MOLE, D. 1994. Formic acid application methods for the control of honey bee tracheal mite. Bee Science (USA) 3(3): 128-134.

- NEW ZEALAND, MINISTRY OF AGRICULTURE AND FORESTRY (MAF). 2001. A review of treatment options for control of varroa mite in New Zealand. (On line). <<http://www.maf.govt.nz/biosecurity/pests-diseases/animals/varroa/varroa-treatment-options.pdf>> (15 ago. 2002)
- OSTIGUY, N. Y SAMMATARO, D. 2000. A simplified technique for counting *Varroa jacobsoni* Oud. on sticky boards. *Apidologie* (Francia) 31: 707 – 716
- PAJUELO, A. 2004. Aspectos prácticos dos tratamentos alternativos à varroose (*Varroa destructor*). (On line). <<http://www.oapicultor.com/artigos-varroose>> (4 de agosto de 2004).
- PORTALES, D. 2003. Aplicación primaveral de mentol para controlar *Varroa destructor* Anderson & Trueman, en *Apis mellifera* L. Tesis Lic. Agr. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 128 p.
- PELDOZA, J. 1992. Varroasis de las abejas presencia en Chile. *El Campesino* (Chile) 123(8): 47-58.
- QIANG, Z. 2000. Notes on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) parasitic on honeybees in New Zealand. *Systematic & Applied Acarology Special Publications* (On line). http://www.nhm.ac.uk/hosted_sites/acarology/saas/saasp.html (18 de agosto de 2002).
- RITTER, W. 1981. Varroa disease of the honey bee *A. mellifera*. *Bee World* (Inglaterra) 62(4): 141-151.

- _____. 1993. Chemical control: options and problems. **In:** Living with varroa. International Bee Research Association. London, England. pp 20-23.
- _____. 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>> (13 de julio de 2003).
- _____. 2001. Enfermedades de las abejas. Edición española. Zaragoza, España Acribia. 146 pp.
- ROBLES, M. 1995. Ensayo de la eficacia del método biotécnico “cría de zángano dirigida” en el control de varroasis. *Vida apícola* (España) 73:16.
- ROSAS, L. 1997. Aplicación otoñal de aceites esenciales y ácido fórmico para control de *Varroa jacobsoni* Oud. en *Apis mellifera* L. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 85p.
- SAMMATARO, D., GERSON, U. Y NEEDHAM, G. 2000. Parasitic mites of honey bees: Life history, implications and impact. *Annual Review of Entomology* (USA) 45: 519 - 548.
- SHIMANUKI, H. Y KNOX, D. 2000. Diagnosis of honey bee diseases. United States Department o Agriculture (USDA). Agricultural research service. Agriculture handbook. Beltsville, USA. N° 690. 57 p.

- SKINNER, J.; PARKMAN, J. Y STUDER, M. 2000. Evaluation of New treatments for parasitic mites of honey bees. University of Tennessee. http://bioengr.ag.utk.edu/Extension/ExtProg/Vegetable/year/VegInitReport00/55evaluation_of_new_treatments_for.htm > (23 de mayo de 2002).
- STEEL, R. y TORRIE, J. 1997. Bioestadística: principios y procedimientos. México. McGraw Hill. 621p.
- SUAREZ, M. s.f. Varroasis: situación actual y tratamientos. <<http://www.vidaapicola.com/tecnica/varroa1.html>> (23 octubre de 2002).
- TAKAHASHI, M. 1992. Regulation of hive temperatura and carbon dioxide concentration by fanning (*Apis mellifera* L.) Honey Bee Sciencie (USA) 13(3):120-124.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). 2005. ITIS. Integrated taxonomic information system. <http://www.itis.usda.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt> (15 de mayo de 2005).
- URIBE, C. 2002. Evaluación del efecto acaricida de timol sobre *Varroa destructor* Anderson & Trueman en colonias de *Apis mellifera* L. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 110p.
- VANDAME, R. 2000. Curso de capacitación sobre control alternativo de varroa en la apicultura. Valdivia, Chile. p22. 15–16 agosto 2000.. Estación experimental Santa Rosa. Universidad Austral de Chile.

- _____; COLIN, M. Y OTERO, G. 1996. Abejas europeas y abejas africanizadas en México: la tolerancia a *Varroa jacobsoni*. Primera parte: Biología de Varroa. <remy.vandame@univ-lyon1.fr> <Apiservices.com> (16 de junio de 2002).
- VARGAS, L. 2003. Evaluación del ácido fórmico para el control de *Varroa destructor* Anderson & Trueman en colonias de *Apis mellifera* L. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 110p.
- WANG, R.; LIU, Z.; DONG, K.; ELZEN, P.; PETTIS, J. Y HUANG, Z. 2002. Association of novel mutations in a sodium channel gene with fluvalinate resistance in the mite, *Varroa destructor*. Journal of Apicultural Research (Inglaterra) 40(1-2): 17- 25.
- WACHENDÖRFER, G; FIJALKOWSKI, J.; KAISER, E.; SEINSCHKE, D. y SIGBENTRITT, J. 1985. Laboratory and field test with Illertisser Milbenplattw (=mite plate), a new day of application of formic acid to control varroatosis. Apidologie (Francia) 16:291-305
- WATKINS, M. 1996. Resistance and its relevance to beekeeping. Bee World (Inglaterra) 77 (4):15 - 22.
- WINSTON, M. 1987. The biology of honey bee. London, England. Harvard University Press. 281p.

ANEXOS

Anexo 1 Datos obtenidos para los diferentes parámetros estudiados durante los 30 días del ensayo.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
10 ene	Testigo	18	281	0	2	1
		89	88	0	2	0
		97	226	0	2	1
		100	51	0	2	0
	Apilife VAR®	26	390	0	2	0
		28	108	0	2	0
		12	160	0	2	0
		83	99	0	2	2
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	88	0	2	0
		51	230	0	2	1
		71	93	0	3	0
		99	363	0	2	1
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	342	0	2	1
		32	399	0	2	0
		59	455	0	2	0
		60	60	0	2	0
11 ene	Testigo	18	214	0	2	0
		89	99	0	2	2
		97	77	1	2	0
		100	70	0	2	0
	Apilife VAR®	26	287	0	2	1
		28	225	0	2	0
		12	211	0	2	0
		83	108	0	2	1
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	115	0	2	0
		51	289	0	2	1
		71	180	1	3	1
		99	290	0	2	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	305	0	2	0
		32	462	0	3	1
		59	255	0	2	2
		60	141	0	2	0

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
12 ene	Testigo	18	259	0	1	0
		89	68	0	1	0
		97	97	0	1	0
		100	72	1	1	0
	Apilife VAR®	26	175	0	1	0
		28	191	0	1	0
		12	85	0	1	0
		83	164	0	1	1
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	83	0	1	0
		51	115	0	1	1
		71	117	0	1	0
		99	199	0	1	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	240	0	1	0
		32	473	0	1	1
		59	163	0	1	0
		60	69	0	1	0
13 ene	Testigo	18	199	0	2	1
		89	84	0	1	0
		97	73	1	1	0
		100	87	0	1	1
	Apilife VAR®	26	129	0	1	0
		28	127	0	1	0
		12	82	1	2	1
		83	89	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	64	0	1	2
		51	121	0	1	0
		71	110	0	2	0
		99	83	1	3	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	176	0	3	0
		32	279	0	1	1
		59	129	0	2	2
		60	36	2	2	0

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
14 ene	Testigo	18	124	0	2	1
		89	99	0	1	0
		97	204	1	1	2
		100	62	0	2	0
	Apilife VAR®	26	97	0	2	1
		28	192	0	2	1
		12	66	0	1	0
		83	90	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	62	1	1	1
		51	116	1	1	0
		71	69	0	1	0
		99	142	0	2	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	135	0	2	0
		32	356	0	3	2
		59	79	0	3	0
		60	35	1	1	0
15 ene	Testigo	18	289	0	1	0
		89	80	1	2	1
		97	266	0	3	0
		100	84	0	3	0
	Apilife VAR®	26	136	0	1	0
		28	170	0	3	0
		12	102	0	2	0
		83	78	1	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	62	0	1	1
		51	93	0	2	0
		71	100	1	2	0
		99	154	0	3	2
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	130	0	1	0
		32	426	0	1	1
		59	136	0	2	1
		60	63	0	1	0

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
16 ene	Testigo	18	262	1	2	0
		89	90	0	1	0
		97	169	0	1	1
		100	82	0	2	0
	Apilife VAR®	26	109	0	2	0
		28	123	0	1	0
		12	56	0	1	0
		83	87	0	1	1
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	21	1	1	0
		51	105	0	1	0
		71	103	2	1	1
		99	83	1	1	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	120	0	2	0
		32	294	0	1	0
		59	63	0	1	1
		60	34	1	2	0
17 ene	Testigo	18	301	0	3	0
		89	99	0	3	0
		97	204	0	2	1
		100	109	0	3	0
	Apilife VAR®	26	137	0	3	0
		28	160	0	3	0
		12	125	0	3	0
		83	83	0	3	2
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	59	0	2	0
		51	86	0	3	0
		71	60	0	2	1
		99	127	0	1	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	127	0	3	0
		32	116	0	3	0
		59	153	0	3	1
		60	20	0	3	2

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
18 ene	Testigo	18	214	0	3	1
		89	75	0	2	0
		97	198	0	1	0
		100	72	1	2	2
	Apilife VAR®	26	108	0	2	0
		28	129	0	1	1
		12	57	1	2	0
		83	92	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	37	0	1	0
		51	64	0	3	1
		71	32	0	3	2
		99	118	0	2	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	110	2	2	0
		32	223	0	1	0
		59	89	2	1	0
		60	11	1	2	1
19 ene	Testigo	18	234	0	2	0
		89	87	0	1	0
		97	182	0	1	1
		100	64	0	1	1
	Apilife VAR®	26	84	0	1	0
		28	77	0	2	0
		12	43	0	1	0
		83	63	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	36	1	2	0
		51	69	0	1	0
		71	41	1	1	1
		99	106	0	1	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	126	0	2	0
		32	203	1	2	1
		59	158	0	1	1
		60	13	1	1	1

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
20 ene	Testigo	18	116	0	1	0
		89	56	0	2	0
		97	137	0	1	0
		100	114	1	1	0
	Apilife VAR®	26	86	0	3	0
		28	90	0	2	0
		12	41	1	1	1
		83	58	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	37	0	1	0
		51	62	1	3	0
		71	18	1	3	1
		99	80	0	1	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	104	1	2	2
		32	193	0	1	0
		59	99	2	1	0
		60	14	0	3	0
21 ene	Testigo	18	208	0	3	2
		89	68	0	3	0
		97	235	0	3	2
		100	88	0	3	0
	Apilife VAR®	26	142	0	2	1
		28	87	0	3	0
		12	98	2	2	0
		83	103	0	3	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	44	0	3	0
		51	98	1	3	1
		71	25	0	2	0
		99	113	1	3	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	184	0	2	0
		32	254	0	3	1
		59	133	0	2	0
		60	32	0	2	0

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
22 ene	Testigo	18	141	1	2	0
		89	75	0	1	1
		97	180	0	2	1
		100	78	0	1	0
	Apilife VAR®	26	64	0	1	0
		28	130	0	1	0
		12	72	0	1	1
		83	101	0	2	2
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	31	1	1	0
		51	96	0	1	2
		71	27	1	1	0
		99	85	0	1	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	152	0	1	2
		32	261	0	2	0
		59	92	1	1	0
		60	33	0	2	1
23 ene	Testigo	18	158	0	2	0
		89	75	0	2	0
		97	159	0	3	1
		100	48	1	2	0
	Apilife VAR®	26	41	1	2	0
		28	70	2	2	0
		12	40	0	2	0
		83	73	0	3	1
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	51	1	3	0
		51	124	0	3	0
		71	15	2	2	2
		99	53	1	3	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	89	0	2	0
		32	186	0	2	1
		59	69	1	3	1
		60	11	0	2	0

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
24 ene	Testigo	18	161	0	2	0
		89	57	0	1	0
		97	130	0	1	2
		100	38	0	1	0
	Apilife VAR®	26	24	0	1	0
		28	77	0	2	2
		12	33	0	1	0
		83	70	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	35	0	3	0
		51	60	0	1	0
		71	23	0	1	0
		99	85	0	3	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	83	1	3	1
		32	131	0	2	1
		59	50	0	1	0
		60	19	1	3	0
25 ene	Testigo	18	208	0	3	0
		89	83	0	2	0
		97	181	0	1	0
		100	83	1	1	1
	Apilife VAR®	26	29	0	1	0
		28	51	0	1	2
		12	32	1	1	0
		83	93	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	23	2	2	1
		51	42	0	2	0
		71	18	0	1	2
		99	29	0	2	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	102	0	2	0
		32	145	0	1	1
		59	64	0	1	1
		60	19	0	2	2

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
26 ene	Testigo	18	158	0	3	1
		89	129	0	2	0
		97	182	0	1	0
		100	87	0	2	1
	Apilife VAR®	26	27	0	1	1
		28	77	0	3	0
		12	17	0	1	0
		83	99	0	3	2
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	34	1	2	0
		51	40	0	1	0
		71	12	1	2	0
		99	97	1	1	2
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	106	1	1	0
		32	156	0	1	0
		59	73	1	3	0
		60	7	0	3	0
27 ene	Testigo	18	176	0	1	0
		89	95	0	1	0
		97	196	0	2	0
		100	142	0	1	0
	Apilife VAR®	26	26	0	2	0
		28	108	0	1	2
		12	34	2	1	0
		83	87	0	2	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	25	0	1	1
		51	92	1	1	0
		71	16	0	2	0
		99	29	0	1	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	135	1	2	2
		32	149	1	2	0
		59	101	0	2	0
		60	14	0	2	1

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
28 ene	Testigo	18	157	1	3	0
		89	100	0	2	0
		97	266	1	3	1
		100	92	1	1	0
	Apilife VAR®	26	19	0	1	0
		28	27	1	1	2
		12	36	0	2	1
		83	46	1	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	5	0	2	0
		51	50	1	1	1
		71	4	0	1	0
		99	49	0	2	2
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	42	0	1	0
		32	114	0	2	1
		59	42	0	1	0
		60	31	0	1	0
29 ene	Testigo	18	84	0	2	0
		89	83	0	1	0
		97	128	0	1	0
		100	46	0	1	0
	Apilife VAR®	26	27	0	1	0
		28	54	0	1	1
		12	12	0	1	0
		83	63	0	2	2
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	20	0	2	0
		51	38	0	1	0
		71	8	0	1	1
		99	24	0	2	1
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	64	2	1	1
		32	93	0	1	0
		59	90	0	2	1
		60	12	0	1	0

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
30 ene	Testigo	18	176	0	1	0
		89	79	0	1	0
		97	108	0	1	1
		100	52	0	1	0
	Apilife VAR®	26	24	0	1	0
		28	91	0	1	0
		12	30	0	1	1
		83	86	0	1	2
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	31	0	1	0
		51	82	0	1	1
		71	11	1	1	0
		99	34	0	1	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	56	1	1	0
		32	202	0	1	0
		59	151	0	1	1
		60	22	0	1	0
31 ene	Testigo	18	205	0	1	1
		89	129	0	1	1
		97	204	0	1	1
		100	59	0	2	0
	Apilife VAR®	26	52	1	1	0
		28	78	0	1	1
		12	28	0	2	0
		83	98	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	24	1	3	1
		51	99	0	2	0
		71	13	0	1	0
		99	50	0	1	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	76	1	1	0
		32	161	0	2	0
		59	76	0	1	0
		60	16	1	1	1

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
01 feb	Testigo	18	137	0	3	0
		89	47	0	2	0
		97	97	0	1	0
		100	61	0	2	0
	Apilife VAR®	26	4	0	2	0
		28	37	0	2	1
		12	31	0	1	0
		83	18	1	1	1
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	12	1	2	0
		51	99	0	1	2
		71	13	1	2	1
		99	33	0	1	1
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	34	0	1	0
		32	126	1	1	0
		59	202	0	3	0
		60	4	0	3	0
02 feb	Testigo	18	148	0	2	1
		89	108	0	1	0
		97	174	0	2	0
		100	57	0	2	1
	Apilife VAR®	26	41	0	3	0
		28	80	0	2	1
		12	33	0	3	0
		83	51	0	2	1
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	10	0	1	0
		51	117	0	2	1
		71	7	0	3	0
		99	58	0	2	1
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	79	0	2	0
		32	158	0	2	0
		59	168	1	1	1
		60	8	1	1	0

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
03 feb	Testigo	18	95	1	3	0
		89	95	0	2	0
		97	173	2	1	0
		100	115	1	1	1
	Apilife VAR®	26	25	0	2	0
		28	52	2	1	0
		12	78	0	1	1
		83	67	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	35	0	3	0
		51	69	0	2	1
		71	19	1	1	0
		99	57	0	1	1
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	105	0	1	0
		32	86	0	2	0
		59	235	1	3	0
		60	30	0	1	1
04 feb	Testigo	18	72	1	2	0
		89	27	0	3	1
		97	121	1	2	1
		100	8	0	1	0
	Apilife VAR®	26	12	0	1	0
		28	78	0	2	0
		12	25	1	3	1
		83	55	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	9	1	1	0
		51	41	1	1	0
		71	3	0	2	1
		99	45	0	3	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	85	0	1	0
		32	56	1	1	1
		59	146	0	3	0
		60	29	1	2	0

Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
05 feb	Testigo	18	178	1	3	0
		89	134	0	2	0
		97	185	1	1	1
		100	64	0	1	0
	Apilife VAR®	26	18	0	2	2
		28	83	1	1	0
		12	40	2	2	0
		83	71	1	2	2
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	27	0	1	0
		51	122	0	1	0
		71	0	0	2	0
		99	51	0	1	1
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	70	1	1	0
		32	146	0	1	1
		59	144	0	2	0
		60	14	0	1	1
06 feb	Testigo	18	79	2	3	1
		89	107	1	2	0
		97	112	0	2	0
		100	103	0	1	0
	Apilife VAR®	26	30	0	1	0
		28	93	0	3	0
		12	46	2	2	1
		83	54	1	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	54	1	1	0
		51	117	0	1	0
		71	0	0	1	0
		99	55	2	2	1
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	92	1	2	0
		32	136	0	1	0
		59	191	0	1	2
		60	20	1	1	1

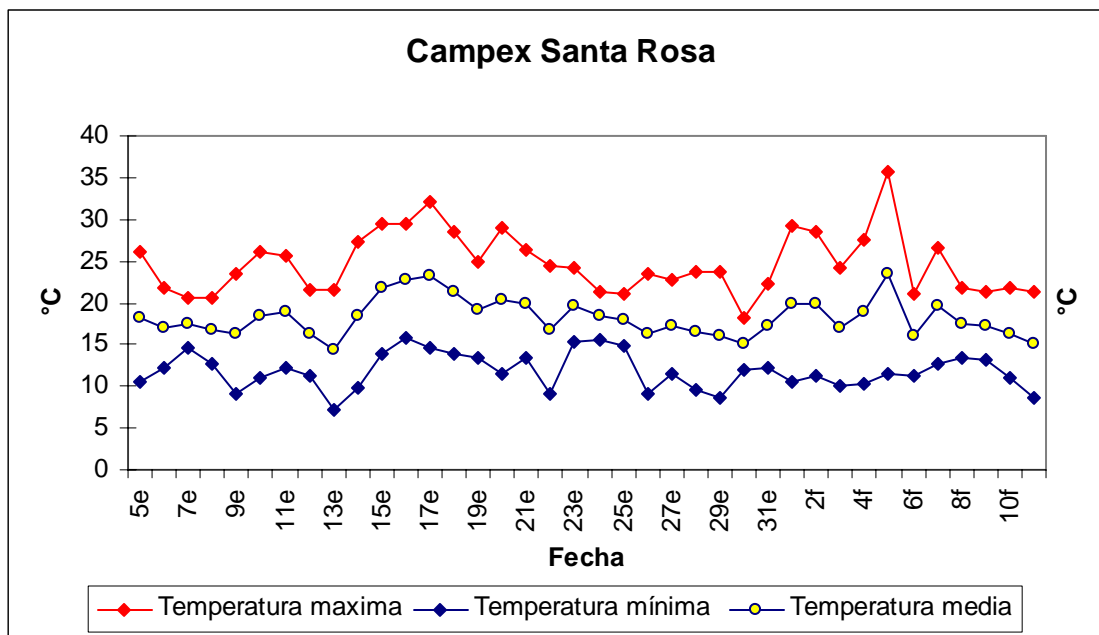
Continuación Anexo 1.

Fecha	Tratamiento	Colmena	Varroas caídas	Pillaje	Índice ventilación	Abejas muertas
07 feb	Testigo	18	102	0	3	0
		89	88	0	2	0
		97	120	0	1	0
		100	59	0	1	0
	Apilife VAR®	26	18	0	1	2
		28	53	0	2	0
		12	51	0	1	0
		83	60	1	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	19	0	2	0
		51	65	0	1	0
		71	1	2	3	0
		99	41	0	2	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	53	1	1	0
		32	98	2	2	0
		59	87	0	1	0
		60	6	0	3	1
08 feb	Testigo	18	162	0	2	2
		89	118	0	1	0
		97	133	0	1	0
		100	95	0	1	0
	Apilife VAR®	26	35	0	1	0
		28	40	0	1	1
		12	2	2	2	1
		83	51	0	1	0
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	7	1	1	0
		51	69	0	1	0
		71	0	1	1	0
		99	66	0	1	0
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	120	0	2	0
		32	75	0	1	0
		59	163	0	2	1
		60	16	1	1	1

ANEXO 2 Condiciones meteorológicas durante el período de ensayo.

Mes	Día	Pp (mm)	HR%	Temperatura (°C)		
				Máxima	Mínima	Media
Enero	5	0	56	26,1	10,5	18,3
Enero	6	0	72	21,9	12,3	17,1
Enero	7	0.6	100	20,5	14,6	17,6
Enero	8	22.7	79	20,6	12,8	16,7
Enero	9	1.3	66	23,4	9,2	16,3
Enero	10	0	66	26,1	11,0	18,6
Enero	11	0	75	25,7	12,1	18,9
Enero	12	0	76	21,6	11,2	16,4
Enero	13	0.8	66	21,6	7,1	14,4
Enero	14	0	57	27,2	9,9	18,6
Enero	15	0	56	29,5	14,0	21,8
Enero	16	0	62	29,5	15,9	22,7
Enero	17	0	55	32,0	14,5	23,3
Enero	18	0	64	28,5	14,0	21,3
Enero	19	0	57	24,8	13,5	19,2
Enero	20	0	54	29,1	11,5	20,3
Enero	21	0	60	26,4	13,5	20,0
Enero	22	0	75	24,5	9,2	16,9
Enero	23	0	78	24,2	15,3	19,8
Enero	24	0	82	21,4	15,5	18,5
Enero	25	0	77	21,1	14,9	18,0
Enero	26	0	75	23,4	9,2	16,3
Enero	27	0	75	22,8	11,5	17,2
Enero	28	0	62	23,6	9,6	16,6
Enero	29	0	63	23,6	8,6	16,1
Enero	30	0	77	18,2	12,0	15,1
Enero	31	8.1	82	22,2	12,3	17,3
Febrero	1	3.3	62	29,3	10,5	19,9
Febrero	2	0	59	28,4	11,2	19,8
Febrero	3	0	77	24,1	10,0	17,1
Febrero	4	0.3	59	27,6	10,2	18,9
Febrero	5	0	55	35,7	11,4	23,6
Febrero	6	0	83	21,0	11,3	16,2
Febrero	7	0	77	26,6	12,6	19,6
Febrero	8	0	76	21,7	13,3	17,5
Febrero	9	0	73	21,3	13,1	17,2
Febrero	10	0.2	75	21,8	10,9	16,4
Febrero	11	0	66	21,4	8,7	15,1

ANEXO 3 Gráfico Temperatura Enero-Febrero 2002.



ANEXO 4 Análisis de varianza de pillaje (datos modificados por LOG(Pillaje+1), para todos los tratamientos, durante todo el periodo experimental.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F cal.	P-value
Entre grupos	0.757994	3	0.252665	2.26	0.0805
Dentro de grupos	53.182	476	0.111727		ns
Total	53.94	479			

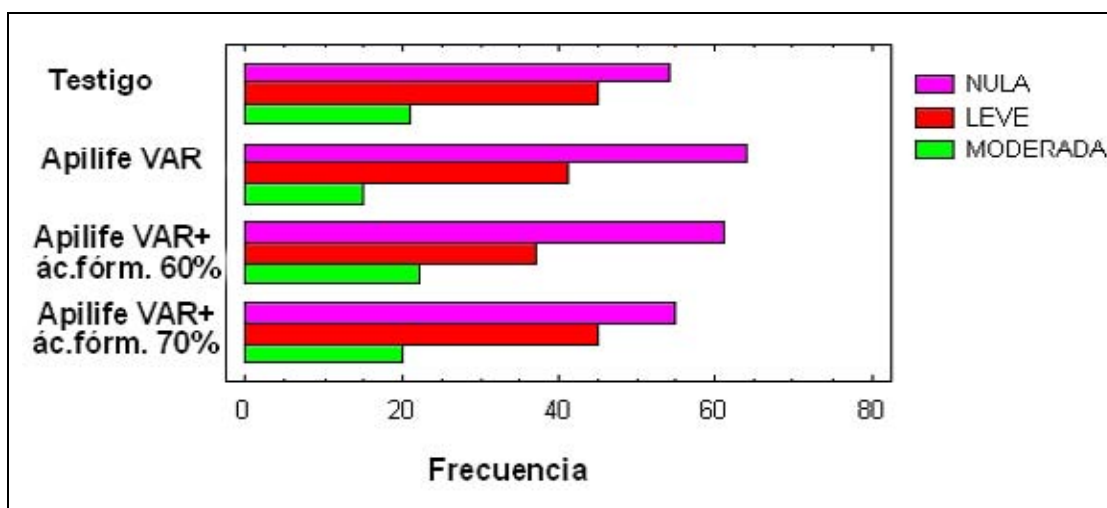
ns : no significativo

ANEXO 5 Análisis de varianza de ventilación, para todos los tratamientos, durante todo el periodo experimental.

χ^2	GL	p-Valor
3,71	6	0,7153

Grado libertad	6	
Chi cuadrado Calculado	3,71429	
Chi cuadrado tabulado	95%	12,592
	99%	16,812

Anexo 6 Gráfico de frecuencias observadas de cada nivel de ventilación en cada uno de los tratamientos.



ANEXO 7 Análisis de varianza de abejas muertas (datos modificados por Raíz (abejas muertas +1)), para todos los tratamientos, durante todo el periodo experimental.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F cal.	P-value
Entre grupos	0.0777	3	0.0259	0.44	0.7276
Dentro de grupos	28.316	476	0.0594		ns
Total	28.394	479			

ns: no significativo.

ANEXO 8 Prueba Kruskal-Wallis para caída de varroas en el análisis de los tratamientos, durante todo el periodo experimental.

Tratamientos	Tamaño de la muestra	Rango promedio	Prueba estadística	Valor-p
Control	120	310.629	72.4287	0.0 *
Apilife VAR®	120	207.533		
Ácido fórmico 60% + Apilife VAR®	120	172.338		
Ácido fórmico 70% + Apilife VAR®	120	271.500		

* Significativo al 5%.

ANEXO 9 Análisis Kruskal-Wallis para caída de varroas, para los tratamientos durante todo el periodo experimental (análisis de pares).

Pares	Tratamiento	Tamaño de la muestra	Rango promedio	Prueba estadística	Valor-p
T1-T2	Testigo	120	148.796	39.8717	2,71202 E-10*
	Apilife VAR®	120	92.2042		
T1-T3	Testigo	120	155.158	59,8161	0.0 *
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	120	85.8417		
T1-T4	Testigo	120	127,675	2,56353	0,109351
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	120	113,325		
T2-T3	Apilife VAR®	120	131,196	5,6971	0,0169904 *
	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	120	109,804		
T2-T4	Apilife VAR®	120	105,133	11,7587	0,000605247 *
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	120	135,867		
T3-T4	Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	120	97,6917	25,9052	3,58595 E-7*
	Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	120	143,308		

* Significativo al 5%

ANEXO 10 Infestación inicial y final en celdillas de cría operculada.

Tratam.	Colmena (N°)	Celdillas Operculadas (N°)	Celdillas infestadas N°	Infestación Inicial %	Celdillas Operculadas (N°)	Celdillas infestadas N°	Infestación Final %
Testigo	18	164	26	15,85	118	9	7,63
	89	168	7	4,17	131	35	26,72
	97	173	37	21,39	95	16	16,84
	100	198	63	31,82	163	13	7,98
Apilife VAR®	12	182	34	18,68	78	0	0,00
	26	126	6	4,76	163	0	0,00
	28	102	3	2,94	127	0	0,00
	83	189	51	26,98	140	3	2,14
Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	148	14	9,46	165	9	5,45
	51	166	14	8,43	121	18	14,88
	71	153	81	52,94	145	0	0,00
	99	144	13	9,03	131	21	16,03
Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	112	12	10,71	102	6	5,88
	32	120	20	16,67	129	7	5,43
	59	138	7	5,07	104	12	11,54
	60	186	14	7,53	167	0	0,00

ANEXO 11 Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en crías operculadas para el tratamiento testigo.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F cal.	P-value
Entre grupos	10,8905	1	10,8905	0.15	0.7081
Dentro de grupos	423,785	6	70,6309		ns
Total	434,785	7			

ns: no significativo.

ANEXO 12 Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en crías operculadas para el tratamiento Apilife VAR®.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F cal.	P-value
Entre grupos	629,486	1	629,486	10,23	0,0186*
Dentro de grupos	369,25	6	61,5416		
Total	998,736	7			

ns: no significativo.

ANEXO 13 Prueba LSD, para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en crías operculadas para el tratamiento Apilife VAR®.

Metodo: LSD 95%		
Limite +/- 13.5734		
Periodo	Tamaño de muestra	Promedio
Infestación final	4	2,103 b
Infestación inicial	4	19,844 a

* letras distintas indican LSD al 95%

ANEXO 14 Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en crías operculadas para el tratamiento Ácido fórmico 60% + Apilife VAR®.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F cal.	P-value
Entre grupos	191.811	1	191.811	1.15	0.3253
Dentro de grupos	1002.97	6	167.162		ns
Total	1194.78	7			

ns : no significativo.

ANEXO 15 Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en crías operculadas para el tratamiento Ácido fórmico 70% + Apilife VAR®.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F cal.	P-value
Entre grupos	11.01	1	11.0138	0.27	0.6227
Dentro de grupos	245.787	6	40.9645		ns
Total	256.801	7			

ns : no significativo.

ANEXO 16 Infestación inicial y final en abejas obreras adultas.

Tratam	Colmena N°	N° abejas	N° varroas	Infestación inicial (%)	N° abejas	N° varroas	Infestación final (%)
Testigo	18	148	20	13.51	165	14	8,5
	89	128	19	14.84	216	14	6,5
	97	169	17	10.06	148	8	5,4
	100	189	26	13.76	195	7	3,6
Apilife VAR®	12	215	42	19.40	216	6	2,8
	26	193	23	11.83	210	6	2,9
	28	167	16	9.48	132	4	3,0
	83	138	19	13.96	136	14	10,3
Ác. fórmico 60% + Apilife VAR®	30	146	8	5.48	149	12	8,1
	51	136	12	8.82	121	11	9,1
	71	155	29	18.71	0	0	0,0
	99	153	22	14.38	139	5	3,6
Ác. fórmico 70% + Apilife VAR®	10	185	10	5.41	266	6	2,3
	32	172	7	4.07	116	6	5,2
	59	142	8	5.63	171	23	13,5
	60	119	7	5.88	204	0	0,0

ANEXO 17 Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento testigo.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F cal.	Valor-p
Entre grupos	100.772	1	100.772	20.93	0.0038*
Dentro de grupos	28.8903	6	4.815		
Total	129.662	7			

ns: no significativo.

ANEXO 18 Prueba LSD, para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Testigo.

Metodo: LSD 95%		
Limite +/- 3.79669		
Periodo	Tamaño de muestra	Promedio
Infestación final	4	14.024 b
Infestación inicial	4	21.122 a

* Letras distintas indican LSD al 95%

ANEXO 19 Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Apilife VAR®.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F cal.	P-value
Entre grupos	180.417	1	180.417	11.28	0.0153*
Dentro de grupos	95.965	6	15.994		
Total	276.382	7			

ns: no significativo.

ANEXO 20 Prueba LSD, para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Apilife VAR®.

Metodo: LSD 95%		
Limite +/- 6.91969		
Periodo	Tamaño de muestra	Promedio
Infestación final	4	12.0329 b
Infestación inicial	4	21.5307 a

* Letras distintas indican LSD al 95%

ANEXO 21 Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Ácido fórmico 60% + Apilife VAR®.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F cal.	P-value
Entre grupos	141.953	1	141.953	3.04	0.1318
Dentro de grupos	280.057	6	46.6762		ns
Total	422.010	7			

ns : no significativo.

ANEXO 22 Análisis de varianza para la diferencia ocurrida entre la infestación inicial y final, en abejas obreras adultas para el tratamiento Ácido fórmico 70% + Apilife VAR®.

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F cal.	P-value
Entre grupos	11.0138	1	11.0138	0.27	0.6227
Dentro de grupos	245.787	6	40.9645		ns
Total	256.801	7			

* Significativo al 5%.