

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA DE AGRONOMIA

**Evaluación del ácido oxálico sobre *Varroa destructor* Anderson y  
Trueman (Acari: Mesostigmata), aplicado en otoño sobre colonias de  
*Apis mellifera* L (Hym: Apidae).**

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

**Alejandro Fabián Silva Monsalve**

VALDIVIA – CHILE

2006

**PROFESOR PATROCINANTE:**

Sr. Miguel Neira C.  
Ing. Agr.  
Instituto Producción y Sanidad Vegetal  
Facultad de Ciencias Agrarias

---

**PROFESORES INFORMANTES:**

Roberto Carrillo LI.  
Ing. Agr., M. Sc., Ph. D.  
Instituto Producción y Sanidad Vegetal  
Facultad de Ciencias Agrarias

---

Luigi Ciampi P.  
Ing. Agr., M. Sc., Ph. D.  
Instituto Producción y Sanidad Vegetal  
Facultad de Ciencias Agrarias

---

**INDICE DE MATERIAS.**

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	El ácaro <i>Varroa destructor</i>	3
2.2	Origen del ácaro	3
2.3	Clasificación del ácaro	3
2.4	Distribución mundial del ácaro	4
2.4.1	La varroa en Chile	5
2.5	Morfología del ácaro	5
2.5.1	Macho adulto	5
2.5.2	Hembra adulta	6
2.6	Biología del ácaro	6
2.6.1	Atracción de las varroas hacia larvas de abejas	6
2.6.2	Alimentación del ácaro	8
2.6.3	Formas de dispersión del ácaro	8
2.6.3.1	Diseminación dentro de la colmena	8
2.6.3.2	Diseminación a otras colmenas	9
2.7	Ciclo de vida del ácaro	10
2.7.1	Entrada de las varroas fundadoras en la cría	10
2.7.1.1	Periodo de inactivación	11
2.7.2	Puesta de la varroa fundadora	11
2.7.2.1	Desarrollo de los huevos	11
2.7.3	Apareamiento de las varroas	12

2.7.4	Salida de las hembras fecundadas	12
2.8	Interacción entre el ácaro y la abeja	13
2.8.1	Explicación de la tolerancia por parte de las abejas	13
2.8.1.1	Preferencia por la cría	14
2.8.1.2	Tasa de fecundidad	14
2.8.1.3	Tiempo de operculado	15
2.8.1.4	Limpieza de la cría	16
2.8.1.5	Limpieza entre abejas	16
2.9	Efectos provocados por Varroa	17
2.9.1	Efectos directos sobre las abejas	17
2.9.2	Efectos indirectos sobre las abejas	17
2.9.3	Efectos sobre el apicultor	18
2.10	Síntomas de la parasitación por varroa	18
2.11	Diagnóstico de la parasitosis	18
2.11.1	Diagnóstico sobre la cría	19
2.11.2	Diagnóstico sobre las abejas adultas	19
2.12	Control de <i>Varroa destructor</i>	20
2.12.1	Epoca de tratamiento	21
2.12.2	Control químico de Varroa	21
2.12.2.1	Epoca de aplicación de estos tratamientos	22
2.12.2.2	Eficacia de estos productos	22
2.12.2.3	Problemas con este tipo de control	22
2.12.3	Control alternativo del ácaro	23
2.12.3.1	Epoca de aplicación de estos productos	23
2.12.3.2	Eficacia de estos tratamientos	23
2.12.3.3	Problemas con este tipo de control	25
2.12.4	Control biológico	25
2.12.5	Control biotécnico	26
2.12.6	Control integrado	26
2.13	Uso del ácido oxálico en el control de varroa	27

2.13.1	Características del ácido oxálico	27
2.13.1.1	Características físicas del ácido	27
2.13.2	Tratamiento de la parasitosis con ácido oxálico	28
2.13.3	Epoca de aplicación del tratamiento	29
2.13.4	Preparación y dosis del ácido oxálico	30
2.13.5	Precauciones con el uso del ácido oxálico	31
2.13.6	Efectos de la solución de ácido oxálico sobre las abejas	31
2.13.7	Modo de acción del ácido oxálico sobre las varroas	33
2.13.8	Residuos de ácido oxálico en productos de la colmena	33
2.13.8.1	Residuos en ceras	33
2.13.8.2	Residuos en la miel	34
3	MATERIALES Y METODO	35
3.1	Ubicación del ensayo	35
3.2	Material del ensayo	35
3.2.1	Material biológico	35
3.2.2	Material apícola	35
3.2.3	Productos químicos	35
3.2.3.1	Acido oxálico	36
3.2.3.2	Fluvalinato	36
3.2.4	Otros materiales y equipos	36
3.2.4.1	Materiales de laboratorio	36
3.2.4.2	Trampas para varroas	36
3.2.4.3	Materiales para terreno	38
3.3	Metodología del ensayo	38
3.3.1	Periodo experimental	38
3.3.2	Diseño experimental	38
3.3.2.1	Diseño experimental para el efecto total de las aplicaciones	39

3.3.2.2	Diseño experimental para el efecto parcial de las aplicaciones	39
3.3.3	Descripción de los tratamientos	39
3.3.3.1	Descripción de los tratamientos para evaluar el efecto total de las cuatro aplicaciones con ácido oxálico	39
3.3.3.2	Descripción de los tratamientos para evaluar el efecto parcial de las aplicaciones con ácido oxálico	40
3.3.4	Método de aplicación de los tratamientos	41
3.3.5	Condición de las colmenas antes del ensayo	41
3.3.6	Condiciones para la aplicación de los tratamientos	41
3.3.7	Toma de muestras y observaciones	41
3.3.7.1	Caída de varroas	42
3.3.7.2	Nivel de infestación	42
3.3.7.3	Pillaje en la colmena	42
3.3.7.4	Abejas muertas	43
3.3.7.5	Estado de la colmena	43
3.3.7.6	Comparación entre tratamientos utilizando un producto comercial	43
3.3.7.7	Datos climáticos	44
3.3.8	Análisis estadístico de los datos obtenidos	44
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	47
4.1	Condición inicial de las colmenas sometidas al tratamiento con ácido oxálico	47
4.1.1	Evaluación del porcentaje de infestación inicial de las colmenas	47
4.1.2	Evaluación de la caída natural de varroa	48
4.2	Evaluación del efecto del ácido oxálico sobre <i>Apis mellifera</i>	48
4.2.1	Pillaje observado en las colmenas en observación	49

4.2.2	Mortalidad de <i>A. mellifera</i>	52
4.2.3	Condición final presentada por las colmenas	57
4.3	Evaluación del efecto del ácido oxálico sobre <i>Varroa destructor</i>	59
4.3.1	Caída de varroas	59
4.3.1.1	Caída parcial de varroas dentro de cada aplicación	62
4.3.2	Porcentaje de infestación de las distintas colmenas en observación	67
4.3.2.1	Porcentaje de infestación de varroa luego de la aplicación del producto control	69
4.4	Efectividad en el control de varroa de los distintos tratamientos	70
5	CONCLUSIONES	78
6	RESUMEN	80
	SUMMARY	82
7	BIBLIOGRAFIA	83
	ANEXOS	93

**INDICE DE CUADROS.**

Cuadro		Página
1	Estimaciones de la longitud del periodo forético de <i>Varroa jacobsoni</i> Oud.	13
2	Acaros fértiles en celdas de obreras y zánganos, en porcentaje	15
3	Eficacia de distintos tratamientos alternativos contra varroa	24
4	Principales características del ácido oxálico	28
5	Eficacia de distintos preparados con ácido oxálico	30
6	Contenido medio de ácido oxálico en distintos tipos de mieles	34
7	Puntaje relativo asociado a cada condición presentada por las colmenas	41
8	Transformaciones realizadas a las variables en estudio	43
9	Abejas muertas encontradas dentro de cada aplicación	54
10	Promedio de abejas muertas encontradas, luego de cada aplicación	54
11	Promedio de ácaros caídos dentro de cada aplicación	61
12	Promedio ácaros caídos por efecto del Apistan®	64

## INDICE DE FIGURAS.

Figura		Página
1	Detalle del cuerpo de <i>Varroa destructor</i>	7
2	Varroas alimentándose sobre abejas nodrizas y pupa	9
3	Sincronización del ciclo de desarrollo de varroa con el de la abeja	14
4	Dos modalidades de aplicación del ácido oxálico	29
5	Sistema de doble filtro para separar varroas de abejas	37
6	Esquema de trampa para varroa	37
7	Condición inicial de las colmenas seleccionadas para el ensayo, con respecto a porcentaje de infestación inicial y caída natural de varroas	48
8	Pillaje promedio total observado entre los distintos tratamientos	50
9	Pillaje promedio observado dentro de aplicaciones	52
10	Total de abejas muertas por tratamiento	54
11	Número de abejas muertas encontradas, dentro de cada aplicación	57
12	Condición final presentada por las colmenas luego de cuatro aplicaciones con ácido oxálico	59
13	Promedio ácaros totales caídos en los distintos tratamientos	60
14	Promedio ácaros presentes en las colmenas	61
15	Promedio de ácaros caídos dentro de cada aplicación	64
16	Porcentaje acumulado de ácaros caídos para cada tratamiento	66

17	Porcentaje de infestación promedio luego de las aplicaciones de ácido oxálico	69
18	Porcentaje de infestación promedio luego de la aplicación de Apistan®	71
19	Eficacia promedio de los distintos tratamientos	72
20	Eficacia acumulada promedio de los distintos tratamientos con ácido oxálico	75
21	Regresión lineal para la oportunidad de aplicación	77

**INDICE DE ANEXOS.**

Anexo		Página
1	Dimensiones en centímetros de la colmena Jumbo	94
2	Trampa para varroas utilizadas en el ensayo (izq.), y colocación sobre el piso de la colmena (der.)	94
3	Cronograma de actividades realizadas durante el ensayo	95
4	Caída de varroas durante el ensayo	96
5	Evolución del porcentaje de infestación de varroa a través del ensayo	97
6	Pillaje de abejas y “chaquetas amarillas” observado durante el ensayo	98
7	Abejas muertas durante el ensayo	99
8	Condición inicial y final de las colmenas tratadas con ácido oxálico	100
9	Humedad relativa y temperatura registrada durante los días en que se aplicó ácido oxálico	101
10	Análisis de varianza para el porcentaje de infestación inicial de las colmenas seleccionadas para el ensayo	101
11	Nivel de infestación de varroas sobre abejas adultas a comienzo del ensayo, en porcentaje	101
12	Análisis de varianza para la caída natural de varroas de las colmenas seleccionadas para el ensayo (datos modificados por Log(caída normal))	102
13	Número promedio de ácaros caídos sobre las trampas a comienzo del ensayo	102

14	Análisis de varianza para el pillaje total observado en las distintas colmenas en tratamiento	102
15	Pillaje total promedio observado en las colmenas, para el total del periodo experimental	103
16	Análisis de varianza para el pillaje observado dentro de la primera aplicación (datos modificados por $\text{Log}(\text{pillaje dentro de primera aplicación})$ )	103
17	Análisis de varianza para el pillaje observado dentro de la segunda aplicación (datos modificados por $\text{Log}(\text{pillaje dentro de segunda aplicación})+1$ )	103
18	Análisis de varianza para el pillaje observado dentro de la tercera aplicación	104
19	Pillaje promedio observado luego de cada aplicación de ácido oxálico	104
20	Análisis de varianza para el total de abejas muertas durante el ensayo (datos modificados por $\text{Log}(\text{total abejas muertas})$ )	104
21	Promedio total de abejas muertas por tratamiento	105
22	Análisis de Kruskal Wallis para abejas muertas dentro de primera aplicación	105
23	Análisis de Kruskal Wallis para abejas muertas dentro de segunda aplicación	106
24	Análisis de Kruskal Wallis para abejas muertas dentro de tercera aplicación	106
25	Análisis de varianza para abejas muertas dentro de la cuarta aplicación (datos modificados por $\text{Log}(\text{abejas muertas en cuarta aplicación})+1$ )	106
26	Análisis de Kruskal-Wallis para la condición final de las distintas colmenas en tratamiento	107

27	Condición final presentada por las distintas colmenas sometidas al tratamiento con ácido oxálico	107
28	Análisis de varianza para la caída total de ácaros dentro de los distintos tratamientos (datos modificados por Log(total de ácaros caídos))	107
29	Prueba de Student-Newman-Keuls, para la caída total de ácaros dentro de los distintos tratamientos (datos modificados por Log(total de ácaros caídos))	108
30	Promedio de ácaros caídos por tratamiento	108
31	Promedio de ácaros presentes en las colmenas	109
32	Análisis de varianza para el total de ácaros presentes en las colmenas (datos modificados por Log(total de ácaros))	109
33	Prueba de Student-Newman-Keuls, para el número de ácaros presentes en las colmenas de los distintos tratamientos	109
34	Análisis de correlación entre el número total de varroas existentes en las colmenas y las varroas caídas, por efecto de los tratamientos	110
35	Análisis de varianza para el número de ácaros caídos en la primera aplicación de ácido oxálico (datos modificados por Log(ácaros caídos))	111
36	Prueba de Student-Newman-Keuls, para el número de ácaros caídos en la primera aplicación de ácido oxálico	111
37	Análisis de varianza para el número de ácaros caídos en la segunda aplicación de ácido oxálico (datos modificados por Log(ácaros caídos))	111
38	Análisis de varianza para el número de ácaros caídos en la tercera aplicación de ácido oxálico (datos modificados por Log(ácaros caídos))	112

39	Análisis de varianza para el número de ácaros caídos en la cuarta aplicación de ácido oxálico (datos modificados por $\text{Log}(\text{ácaros caídos})$ )	112
40	Análisis de varianza para el número de ácaros caídos por efecto del Apistan® (datos modificados por $\sqrt{(\text{ácaros caídos} + \frac{1}{2})}$ )	112
41	Prueba de Student-Newman-Keuls, para el número de ácaros caídos por efecto del Apistan®	113
42	Análisis de varianza para el porcentaje de infestación de varroa sobre abejas adultas, luego de la primera aplicación de ácido oxálico	113
43	Prueba de Student-Newman-Keuls, para porcentaje de infestación de varroa sobre abejas adultas, luego de la primera aplicación de ácido oxálico	114
44	Análisis de Kruskal-Wallis para porcentaje de infestación de varroa sobre abejas adultas, luego de la cuarta aplicación de ácido oxálico	114
45	Porcentaje de infestación sobre abejas adultas observados durante el ensayo	115
46	Análisis de Kruskal-Wallis para porcentaje de infestación de varroa sobre abejas adultas, luego de la Apistan®	115
47	Porcentaje de infestación de Varroa sobre abejas adultas, luego de la aplicación de Apistan®	116
48	Análisis de Kruskal-Wallis para la efectividad de los distintos tratamientos con ácido oxálico	116
49	Eficacia promedio de los distintos tratamientos con ácido oxálico	117
50	Análisis de varianza para la variación de efectividad en la primera aplicación de ácido oxálico	117

51	Prueba de Student-Newman-Keuls, para la variación de efectividad en la primera aplicación de ácido oxálico	117
52	Análisis de varianza para la variación de efectividad en la segunda aplicación de ácido oxálico (datos transformados por $\text{Log}(\text{efectividad acumulada})+1$ )	118
53	Análisis de varianza para la variación de efectividad en la tercera aplicación de ácido oxálico (datos transformados por $\text{Log}(\text{efectividad acumulada})+1$ )	118
54	Prueba de Student-Newman-Keuls, para la variación de efectividad en la tercera aplicación de ácido oxálico	118
55	Análisis de varianza para la variación de efectividad en la cuarta aplicación de ácido oxálico	119
56	Prueba de Student-Newman-Keuls, para la variación de efectividad en la cuarta aplicación de ácido oxálico	119
57	Eficacia acumulada promedio de las distintas aplicaciones con ácido oxálico	120
58	Análisis de regresión lineal para el número de aplicación	121

## 1 INTRODUCCION.

No hay organismo que carezca de parásitos, y ésta es una regla básica de la biología. Las abejas no se libran de ella y hay una infinidad de agentes patógenos, parásitos y enemigos que pueden causar graves daños a éstas, reduciendo los rendimientos de las colmenas y hasta en algunos casos provocar la pérdida de éstas debido a ataques severos.

El ácaro *Varroa destructor* Anderson y Trueman, es uno de estos. Luego de su traspaso desde *Apis cerana* Fab. a *Apis mellifera* L., durante la década de los 40', este ácaro se ha diseminado por todo el mundo produciendo grandes pérdidas a la apicultura mundial. Chile se mantuvo ajeno a esta situación debido a su aislamiento geográfico, sólo hasta el año 1992, cuando se detectó el primer foco infeccioso en la comuna de San Fernando (VI Región).

El control de este parásito durante años se ha basado en el uso de plaguicidas de acción acaricida, como bromopropilato, coumafos, tiazolina, amitraz, fluvalinato, flumetrina y clorfenvinfos, por nombrar algunos. El abuso de estas moléculas y su inadecuada aplicación ha provocado el surgimiento de poblaciones de varroas tolerantes a estos químicos, y por otra parte, la aparición de residuos en la miel y cera.

Para contrarrestar estos efectos nocivos se está propiciando el uso de sustancias naturales para el control de esta parasitosis, es el caso de ácidos orgánicos (fórmico, oxálico y láctico) y aceites esenciales (timol, mentol y eucaliptol). Estos productos tienen un bajo o nulo efecto sobre la colonia de abejas, aun no se ha probado que puedan provocar resistencia sobre varroa y,

además, no se observan residuos en los productos que se obtienen de las abejas. Por otra parte son considerados como herramientas factibles de ser usados en una apicultura orgánica o ecológica.

Por estos motivos la hipótesis formulada para la presente investigación es que el ácido oxálico, aplicado en período otoñal, tiene efecto sobre la población forética del ácaro *Varroa destructor*, sin alterar el comportamiento y desarrollo normal de su hospedero *Apis mellifera*.

El objetivo general es evaluar en terreno el efecto que tiene la aplicación de ácido oxálico en solución azucarada sobre la población forética del ácaro y sobre el comportamiento de la colonia de abejas. Los objetivos específicos son los siguientes:

- Evaluar el efecto del ácido oxálico sobre el control del ácaro *Varroa destructor* en colmenas tipo Jumbo.
- Determinar el efecto que tiene el ácido oxálico sobre las abejas, a través de: condición de la colonia, pillaje en la colmena, ya sea de otras abejas y/o “chaquetas amarillas”, y observación de abejas muertas dentro de la colmena.

## 2 REVISION BIBLIOGRAFICA.

### 2.1 El ácaro *Varroa destructor*.

La varroosis es la principal enfermedad parasitaria de las abejas melíferas, cuyo agente etiológico es al ácaro *Varroa destructor*, antes confundido con *Varroa jacobsoni* Oud. en Europa, medio este, sur de África, Asia, norte y sur de América (HIGES et al., 1999; ZHANG, 2000).

### 2.2 Origen del ácaro.

Según VANDAME et al., (1998a), el huésped originario del ácaro es la abeja asiática *Apis cerana*, la cual inicialmente no tenía contacto alguno con la abeja europea.

Este ácaro fue descubierto en el año 1904 por Jacobsoni sobre ejemplares de abejas asiáticas en la isla de Java. Más tarde, en el mismo año, fue descrito por Oudemans denominándolo *Varroa jacobsoni* (BAILEY, 1984; CASTILLO, 1992; MORENO, s.f).

### 2.3 Clasificación del ácaro.

Según Dietz (1988), citado por ROSAS (1997); ZHANG (2000), este ácaro se clasifica de la siguiente manera:

- Phylum : Artropoda.
- Sub-phylum : Chelicerata.
- Clase : Arachnida.
- Sub-clase : Acari.
- Orden : Mesostigmata.

- Familia : Varroidae.
- Especie : *Varroa jacobsoni* Oud., 1904; *Varroa destructor* Anderson y Trueman, 2000.

#### 2.4 Distribución mundial del ácaro.

El desarrollo de la trashumancia produjo un contacto artificial entre las especies *cerana* y *mellifera* lo que ocasionó el traspaso del parásito a ésta última, este cambio de huésped se realizó probablemente durante los años 1940 y 1950 (VANDAME et al., 1998a; CASADO et al., 2002).

Según CASTILLO (1992), a partir de los años 50', este ácaro comenzó a mostrar sus devastadores efectos sobre la apicultura, entre el norte de China y la costa este de la Unión Soviética. De allí paso a Japón, se extendió por toda China, India y otros países de la región sur de Asia, camino a la Rusia europea. Luego en los años 70' se extiende a los países de Europa oriental y los que rodean al mar Mediterráneo, incluyendo Turquía y noreste de África.

El ácaro fue detectado en la década del 70' en Argentina, Paraguay y Brasil, en Israel en 1984, España en 1985, Estados Unidos en 1987 y en México en 1992 (Levin, 1985 citado por GERSON et al., 1991; CASTILLO, 1992; VANDAME et al., 1998a; GOMEZ, 1998; GOMEZ, 2000).

Según De Jong et al. (1981), citado por DE JONG et al. (1984), todas las varroas presentes en el continente Latinoamericano descienden de un regalo de abejas hecho por Japón a Paraguay en el año 1971.

Recientemente Anderson y Trueman, luego del estudio del mtDNA de varroas de distintas partes del mundo, concluyeron que existen dos especies de varroas: *Varroa jacobsoni* Oud., que infesta a *Apis cerana* en la región de Malasia e Indonesia, y *Varroa destructor*, que infesta al hospedero natural *Apis*

*cerana* en Asia y también a *Apis mellifera* en el resto del mundo (ZHANG, 2000).

**2.4.1 La varroa en Chile.** Durante muchos años la apicultura chilena estuvo libre de esta parasitosis debido a su aislamiento geográfico que impedía el ingreso del mismo. Sin embargo, nunca se considero que Argentina con un total de 1.500.000 colmenas padecía de este problema desde 1976 a lo largo y ancho de su territorio (CASTILLO, 1992).

Según FREDES (1993), la Oficina Internacional de Epizootias, hasta el año 1991, clasifica a Chile como un país libre de esta parasitosis; esta situación se mantiene sólo hasta el siguiente año, cuando en marzo de 1992 se registra la presencia del ácaro en apiarios ubicados en el sector de Aguas Buenas, en San Fernando, y en Requinoa (CASANUEVA, 1992).

En la actualidad el ácaro se encuentra diseminado, en mayor o menor proporción, desde la IV a X Regiones. En un monitoreo llevado a cabo por la Universidad Austral de Chile, se constato que del total de muestras analizadas el 95% de ellas presentaban un porcentaje de infestación promedio del 10% ( $\pm 14\%$ ), encontrándose que las regiones VI, VII, VII y X presentaron sobre un 85% de muestras positivas (UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE, 2005).

## **2.5 Morfología del ácaro.**

A continuación se presentan las principales características morfológicas de este parásito.

**2.5.1 Macho adulto.** El macho de varroa presenta un cuerpo translúcido, piriforme, con un largo aproximado de 500 a 750 micrones, y un ancho de 700 a 900 micrones en su parte posterior. Es muy poco esclerotizado; sus quelíceros

tienen forma de tubo y están adaptados para transferir los espermatozoides dentro de la hembra (MORENO, s.f).

**2.5.2 Hembra adulta.** Esta es de color pardo o pardo oscuro, con el cuerpo fuertemente esclerotizado, aplastado dorso-ventralmente, su forma es transversal-oval, su tamaño alcanza los 1.000-1.770 x 1.500-1.900  $\mu\text{m}$ . La superficie del escudo es reticulada, presentando estriaciones transversales curvas, cubierto de pelos largos de 15-20 $\mu\text{m}$  (GROBOV, 1977).

Según MORENO (s.f), sus quelíceros tienen forma de cuchillos y conforman una estructura adaptada para atravesar la cutícula de las abejas. Sus patas están perfectamente adaptados para adherirse al cuerpo de su hospedero. En la Figura 1 se pueden apreciar las distintas estructuras del ácaro.

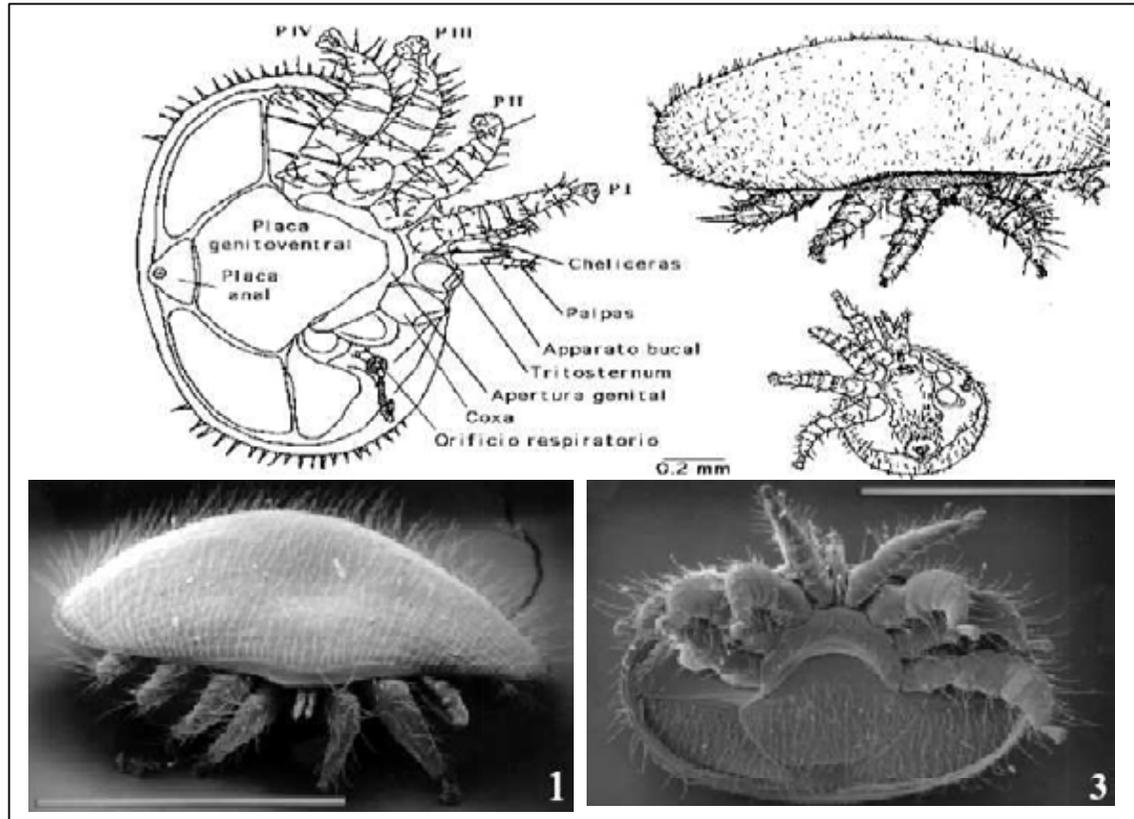
## **2.6 Biología del ácaro.**

El ácaro se desplaza de una colmena a otra transportado por las abejas, es decir, es forético, y a la vez es ecto-parásito obligado, o sea, es un parásito externo que no puede llevar vida libre (VANDAME *et al.*, 1998a).

**2.6.1 Atracción de las varroas hacia larvas de abejas.** Existen factores químicos que provocarían la atracción de varroa hacia las celdillas con cría de abejas (RAMIREZ y OTIS, 1986).

Dentro de estos factores químicos se cree que existe una influencia de la "hormona juvenil III" que desprende la larva, y que afectaría positivamente la penetración del ácaro al interior de la celdilla (Hänel y Koeniger, 1986 citados por KRAUS, 2000).

Otros factores químicos serían ésteres de ácidos grasos, como el palmitato de metilo, que emitirían las larvas en forma natural para que las abejas operculen la celdilla, éstos ayudarían al ingreso del ácaro (VANDAME et al., 1998a).



**FIGURA 1** Detalle del cuerpo de *Varroa destructor*.

FUENTE: DE JONG (1990); VANDAME et al. (1998a); ZHANG (2000).

Otra posibilidad es que la atracción hacia las larvas, este mediada por la concentración de CO<sub>2</sub> producido por los estados inmaduros de las abejas (RAMIREZ y OTIS, 1986).

Además, se presentan factores mecánicos que tienen cierta importancia sobre la atracción. VANDAME et al. (1998a), indican que estos podrían ser: tamaño de las celdas, prominencia de éstas y distancia entre la larva y el borde

de la celda; éstos podrían explicar, de cierta manera, la infestación más alta que se puede encontrar en la cría de zánganos.

**2.6.2 Alimentación del ácaro.** Varroa se alimenta exclusivamente de hemolinfa de las abejas adultas y larvas. Ritter (1986) citado por FREDES (1993), afirma que este consumo es de aproximadamente 0.1mg en tan sólo 2 horas.

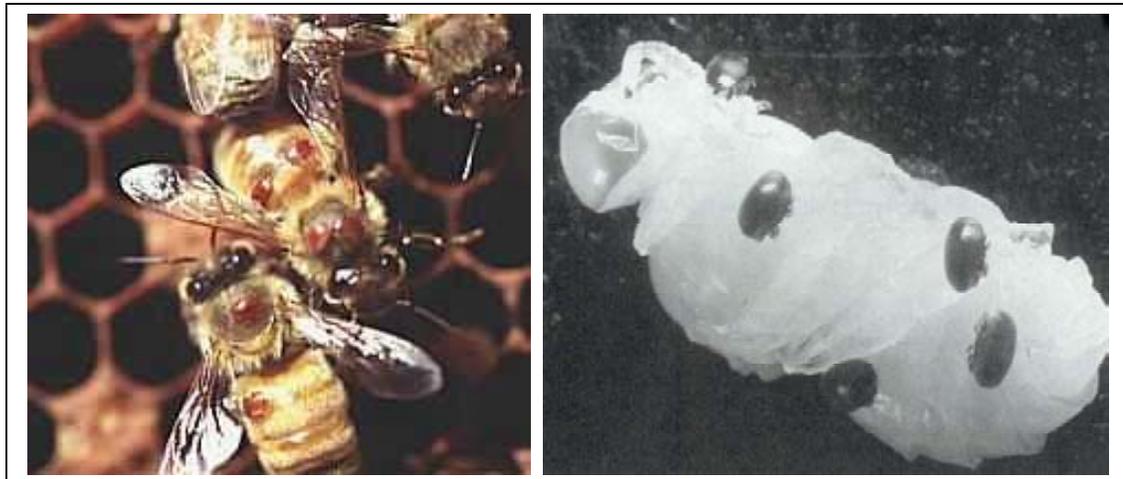
Según CASTILLO (1992), la varroa al contrario de otros ácaros parásitos, presenta un cuerpo que no puede distenderse, de esta manera debe alimentarse con frecuencia y en cantidades pequeñas, siendo esto muy dañino para la abeja ya que le produce numerosas laceraciones.

Los ácaros prefieren alimentarse de las abejas nodrizas (Figura 2), que de las más jóvenes o pecoreadoras de polen (KRAUS, 2000). Por otra parte, se ha sugerido que los ácaros necesitan una cantidad relativamente alta de hormona juvenil III de estas abejas, para así estimularlos a entrar a una celdilla (Hänel y Koeniger, 1986 citados por KRAUS, 2000).

**2.6.3 Formas de dispersión del ácaro.** Se pueden establecer dos formas de dispersión del ácaro, una dentro de la colmena, por consiguiente, a otros miembros de ésta, y fuera de la colmena, es decir, una diseminación del ácaro a otras unidades productivas.

2.6.3.1 Diseminación dentro de la colmena. Las varroas tienen una mayor preferencia por las abejas nodrizas, las que son más susceptibles de acercarse a la cría y contaminarlas (VANDAME *et al.*, 1998a; KRAUS, 2000).

Por otra parte, debido a la trofolaxia y el estrecho contacto de las abejas dentro de la colmena, se posibilita la dispersión del ácaro al interior de ésta (MORENO, s.f).



**FIGURA 2** Varroas alimentándose sobre abejas nodrizas y pupa.

FUENTE: DE JONG (1990); ANDERSON y TRUEMAN (2000).

2.6.3.2 Diseminación a otras colmenas. Durante un día de gran actividad, a una colmena pueden llegar hasta 70 ácaros nuevos (VANDAME et al., 1998a).

Según VANDAME et al. (1998a), y MORENO (s.f), las causas de esta dispersión serían:

- Abejas pecoreadoras infestadas que aprovechan el pillaje y deriva para contaminar otras colmenas.
- Zánganos infestados que pueden entrar libremente a distintas colmenas.
- Enjambres silvestres que se encuentren cerca de apiarios e incluso por la captura de éstos por parte del apicultor.

- Por el manejo del apicultor con el traslado de núcleos de un apiario a otro, o con el intercambio de cuadros de cría entre colmenas.

## **2.7 Ciclo de vida del ácaro.**

Según MORENO (s.f), el ciclo de vida de las varroas presenta una fase forética y otra reproductiva, la primera sólo es llevada a cabo por las hembras adultas, que se localizan sobre las obreras y zánganos. Por otra parte, la fase reproductiva sólo puede llevarse a cabo en períodos donde exista cría de abejas dentro de la colmena.

El promedio de vida de una varroa adulta es de 2 a 3 meses en verano y 6 ó más meses en otoño-invierno, sin embargo, un ácaro no puede vivir más de 6 días fuera del cuerpo de la abeja. Por otra parte, el rango de su reproducción está influido por varios factores, incluyendo el nivel de hormona juvenil de las abejas, su nutrición, temperatura de la colmena, humedad ambiental, tiempo de operculado y razas de abejas (CASTILLO, 1992).

Según GOMEZ (2000), la tasa de reproducción de una varroa puede variar entre 1.4 a 2.4 varroas/varroa/ciclo, resultando de esto que la población del ácaro pueda duplicarse al cabo de 12 días.

**2.7.1 Entrada de las varroas fundadoras en la cría.** Según VANDAME et al. (1998a), la entrada de la varroa en la cría de abeja debe ocurrir a una edad precisa de la larva.

Esta edad larval, en el caso de una celdilla de obrera, es cuando la futura abeja tiene 5 días de vida, y en una de zángano a los 7 días (Issa, 1984 citado por RAMIREZ y OTIS, 1986). Según VANDAME et al. (1998a), estas edades larvales corresponden a larvas en su quinto estadio de desarrollo.

2.7.1.1 Período de inactivación. Las varroas luego de haberse introducido dentro de la celdilla con cría, se sumergen en el alimento de ésta quedando inmóviles (VANDAME et al., 1998a).

Según RAMIREZ y OTIS (1986), la varroa se inactiva debido a la baja concentración de O<sub>2</sub> y alta concentración de CO<sub>2</sub> en el alimento larval, luego la varroa se reactivaría por el aumento en la concentración de O<sub>2</sub> en el medio, momento en el cual la larva comienza a consumir su alimento.

**2.7.2 Puesta de la varroa fundadora.** Luego del operculado de la celda, y durante 36 horas, la larva se alimenta y comienza a tejer su capullo. En este período la varroa sube sobre la larva y se alimenta por primera vez; cuando el capullo ya ha sido tejido, la abeja entra en un estadio preinfaal inmóvil, durante el cual la fundadora produce una acumulación fecal dentro de la celdilla (VANDAME et al., 1998a).

Según VANDAME et al., (1998a), la varroa fundadora pone por primera vez 70 horas después de la operculación. Por otra parte, RAMIREZ y OTIS (1986); CASTILLO (1992), afirman que el número de huevos puesto será como mínimo 5 en una celdilla de obrera, y 6 ó 7 en celdas de zánganos.

Estos huevos son puestos a intervalos promedios de 30 horas, siendo el primero de un macho y los siguientes de hembras. Una varroa puede llegar a cumplir 7 ciclos reproductivos que representan más o menos 30 huevos (MORITZ, 1991; CASTILLO, 1992; VANDAME et al., 1998a).

2.7.2.1 Desarrollo de los huevos. El desarrollo completo para una varroa hembra es de 130 horas aproximadamente, y para un macho de 150 horas; en promedio sólo 1.45 hembras llegan a la edad adulta en una celda de obrera en comparación con 2.2 en celda de zángano (VANDAME et al., 1998a).

**2.7.3 Apareamiento de las varroas.** El apareamiento de los ácaros ocurre sólo dentro de las celdillas operculadas, por esto el crecimiento de la población ocurre en períodos donde se encuentre cría en la colmena (BUCHLER y DRESCHER, 1990; KORPELA et al., 1992). Es así como se observa un gran incremento de la población en primavera y otoño, y disminuye en verano (Rossi, 1981 citado por DE JONG et al., 1984).

El macho se aparea con la primera hembra, tan pronto como ésta llega a adulta, cuando la segunda hija ha alcanzado su madurez el macho abandona a la primera y se aparea con ésta última, si una tercera hija llegara a adulta se repite el mismo escenario (VANDAME et al., 1998a).

**2.7.4 Salida de las hembras fecundadas.** Al momento en que la abeja emerge de la celda, una gran parte de la descendencia de varroa queda dentro de ésta, estas hijas fecundadas tan pronto como salen de la celda tratan de subir sobre las abejas y se vuelven foréticas (VANDAME et al., 1998a).

Como el macho tiene los quelíceros adaptados para la fecundación, no puede alimentarse, muriendo al poco tiempo junto con las varroas inmaduras dentro de la celda (RAMIREZ y OTIS, 1986; VANDAME et al., 1998a; MORENO, s.f).

Según GERSON et al. (1991), estas abejas que emergen infestadas se encargan de diseminar al ácaro. Luego la varroa pasa por un período forético de 4 a 13 días antes de entrar a una nueva celdilla y repetir el ciclo (Grobov, 1977 citado por RAMIREZ y OTIS, 1986; RAMIREZ y OTIS, 1986). En el Cuadro 1, se presentan datos sobre la duración del período forético de varroas sobre distintas subespecies de abejas.

Para tener una visión más clara de todo lo antes expuesto, en la Figura 3 se presenta un diagrama del ciclo de varroa sincronizado con el de la abeja.

**CUADRO 1 Estimaciones de la longitud del período forético de *Varroa jacobsoni* Oud.**

Autor	Período forético (días)	Subespecie	Edad de ácaros
Schulz (1990).	4.5	<u>A. m.</u> cárnica	Varroas mayores
	10.7	<u>A. m.</u> cárnica	Varroas jóvenes
	7.4	<u>A. m.</u> cárnica	Variada
Woyke (1987).	5.9	No especificada	Varroas jóvenes
	4.7	No especificada	Variada
Fries (no public.)	5.6	<u>A. m.</u> ligústica	Variada

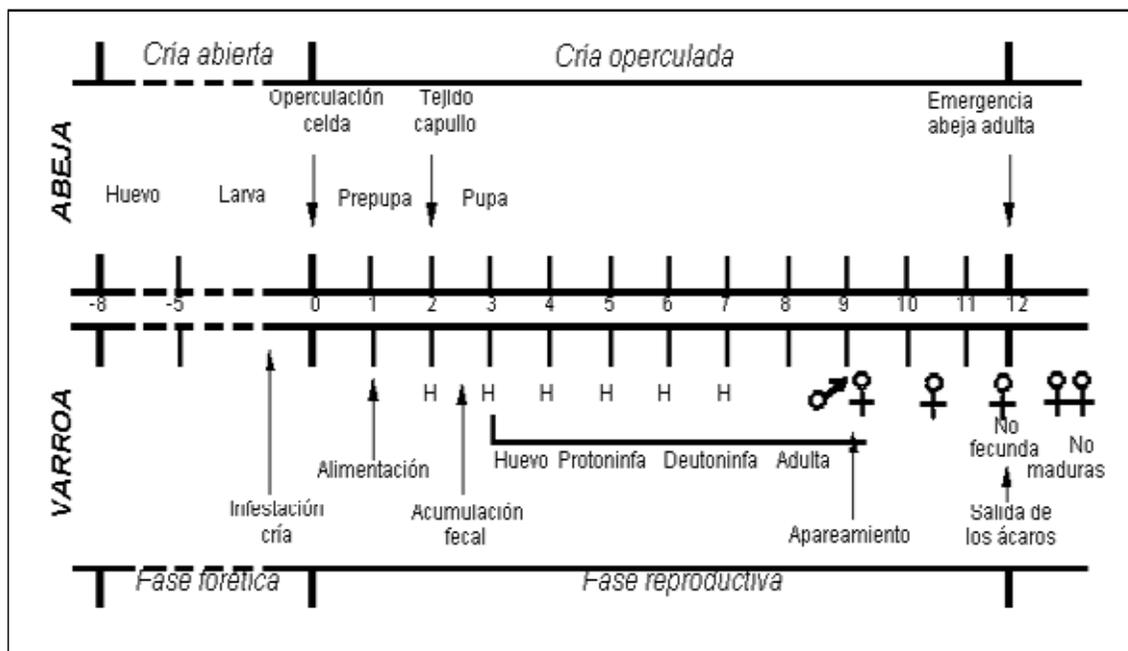
FUENTE: Fries et al (1994), citado por ROSAS (1997).

## 2.8 Interacción entre el ácaro y la abeja.

En el caso del hospedero natural de varroa (*A. cerana*) existe un equilibrio parásito-hospedador que permite a las colonias desarrollarse sin la necesidad de recibir tratamiento acaricida (HIGES et al., 1998).

Lo contrario ocurre en la abeja europea, ya que ésta no ofrece resistencia a la parasitosis por diversas razones de orden biológico y de comportamiento, y la relación huésped-parásito no llega a balancearse, llevando a las colonias a su rápida y total destrucción (CASTILLO, 1992; MORENO, s.f).

**2.8.1 Explicación de la tolerancia por parte de las abejas.** En *A. cerana* el ácaro no causa grandes daños, debido fundamentalmente a que sólo se reproduce en las celdas de cría de zánganos y a un comportamiento de defensa que poseen las obreras (MORENO, s.f). Además, existen otros factores que pueden explicar algún grado de tolerancia, estos se presentan a continuación.



\*Entre las dos líneas al centro, se indica el número de día, tomando como cero el día de la operculación. En la parte superior se presenta el desarrollo de la abeja, y en la inferior el desarrollo del ácaro.

**FIGURA 3 Sincronización del ciclo de desarrollo de varroa con el de la abeja.**

FUENTE: VANDAME (2000).

2.8.1.1 Preferencia por la cría. Se ha visto una clara diferencia con respecto a la preferencia de varroa hacia la cría de abejas europeas y africanizadas. Es así como VANDAME *et al.* (1998c), demostraron que las 2/3 partes de las varroas están en la cría de abejas europeas, mientras que 1/3 permanecen foréticas. Al contrario, sólo 1/3 de las varroas entran en la cría de abejas africanizadas, mientras que los 2/3 restantes permanecen foréticas.

2.8.1.2 Tasa de fecundidad. Un alto porcentaje de ácaros son incapaces de poner huevos, una vez dentro de las celdas (Cuadro 2). Según Engels *et al.* (1986), Camazine (1986) y Rosenkranz *et al.* (1990, 1993) citados por

ROSENKRANZ et al. (1993), esta situación estaría relacionada con la tolerancia que presentan las abejas africanizadas.

Por otra parte, en experiencias llevadas a cabo por VANDAME et al. (1998b), comparando la tasa de fecundidad, encontraron que ésta fue casi constante, con valores de 77.8% de las fundadoras que se reproducen dentro de colmenas de abejas europeas, contra un 77.4% en las colmenas africanizadas. Según VANDAME et al. (1998c), la fertilidad de las varroas fundadoras no podría explicar en ningún caso la tolerancia por parte de las abejas africanizadas.

2.8.1.3 Tiempo de operculado. La duración del período de cría sellada es un factor que influye sobre la severidad de la infestación por varroa, este relativamente corto período de post-operculado puede limitar la reproducción del ácaro (RAMIREZ y OTIS, 1986, VANDAME et al., 1998c).

**CUADRO 2 Acaros fértiles en celdas de obreras y zánganos, en porcentaje.**

Autor	Obrera	Zángano	Subespecie
Camazine (1986).	49.0	s.i	Abeja africanizada
Fuchs y Langenbach (1989).	71.5	63.1	<i>A. m. cárnica</i>
Fuchs y Langenbach (1989).	92.7	92.1	<i>A. m. cárnica</i>
Ifantidis (1984).	81.0	96.0	<i>A. m. cecropia</i>
Otten y Fuchs (1990).	92.0	s.i	<i>A. m. mellífera</i>
Ruttner <u>et al.</u> (1984).	21.9	79.6	<i>A. m. iberica</i>
Schulz (1984).	73.0	95.0	<i>A. m. cárnica</i>
Schulz (1984).	84.0	100	<i>A. m. cárnica</i>

s.i: sin información.

FUENTE: FRIES et al. (1994).

En experiencias llevadas a cabo por BUCHLER y DRESCHER (1990), sobre la especie *A. mellifera*, encontraron que estos tiempos varían entre  $268\pm 10$  y  $320\pm 10$  horas, ellos calcularon que sí la duración del período de operculado se reduce en 1 hora habría un 8.7% de reducción en la infestación del ácaro, también encontraron una correlación de 0.48 entre el período de operculado y la infestación final.

2.8.1.4 Limpieza de la cría. La selección natural ha llevado a que *A. cerana* sea capaz de localizar y limpiar las celdillas con cría parasitadas, aunque esto no ocurre con las de los zánganos (“a fin de cuentas estos no son imprescindibles para la sobrevivencia de la colonia”) (FLORES et al., 2001). De esta manera las abejas responden de dos formas distintas frente a la cría parasitada:

- Las abejas desoperculan las celdillas, retiran algunos o todos los parásitos y vuelven a reopercular la celda, permaneciendo la cría en su interior. El problema con esto es que las abejas no pueden eliminar las varroas que se encuentran al fondo (FLORES et al., 2001).
- Las abejas limpian completamente las celdas, retirando la cría y los parásitos. Este comportamiento es el que presenta mayor eficacia en la selección de abejas tolerantes (FLORES et al., 2001).

Según VANDAME et al (1998c), las abejas europeas limpian alrededor del 8% de la cría infestada, es decir, cuatro veces menos que las africanizadas, las cuales extraen el 32% de la cría afectada.

2.8.1.5 Limpieza entre abejas. Según FAUCON (1999), las abejas parasitadas son liberadas de ácaros por otras mediante el uso de sus mandíbulas. Se ha descrito un comportamiento denominado “danza del expurgado” lo que incitaría la actuación de las abejas limpiadoras.

En el caso de *A. cerana*, las abejas suben sobre las afectadas y hasta le abren las alas para limpiarlas (VANDAME et al., 1998c). Este mismo autor señala que el 80% de las abejas africanizadas tienen una reacción de auto-limpieza en los 30 segundos consecutivos a la colocación de una varroa, contra el 58% en el caso de las abejas europeas. También el 57% de las abejas africanizadas limpian a otras abejas, contra el 44% en las europeas.

## **2.9 Efectos provocados por varroa.**

Toda parasitación causada por varroa producirá daños sobre las abejas, los que pueden ser debido a acciones directas o indirectas del ácaro sobre éstas, o bien sobre al apicultor.

**2.9.1 Efectos directos sobre las abejas.** Dentro de los efectos directos se pueden observar:

- Una abeja parasitada tiene una posibilidad de vida reducida por lo menos en un 50%, además, por cada varroa que parasita una abeja ésta pierde 10% de su peso y su nivel de proteína baja al 60%. Si una celdilla es parasitada por más de 6 varroas la abeja muere a los pocos días de nacer o cuando aun está en su celda (CASTILLO, 1992; MORENO, s.f).
- La parasitosis afecta la postura de la reina; los zánganos reducen y hasta pierden su capacidad reproductiva, por otra parte se ve una fuerte actividad dentro de la colmena, ya que las mismas abejas tratan de desprenderse de los ácaros y en invierno son incapaces de formar el enjambre y mueren (MORENO, s.f).

**2.9.2 Efectos indirectos sobre las abejas.** Las alteraciones que puede causar el ácaro están ligadas fundamentalmente a la acción inoculativa de diversos tipos de microorganismos, es el caso del hongo *Ascosphaera apis*

Olive y Spiltoir (MORENO, s.f). Según CASTILLO (1992), esto se provocaría cuando la infestación alcanza un 20% o más.

**2.9.3 Efectos sobre el apicultor.** Se puede producir la desaparición o muerte de la colonia al tercer o cuarto año de infestación y durante la primera mitad de la invernada (CASTILLO, 1992).

Según MORENO (s.f), además, se puede observar una notable merma en la producción individual de la colmena, importantes pérdidas a nivel nacional e internacional, peligro de contaminación de la miel con residuos de químicos utilizados para el control del ácaro y posible aparición de resistencia por parte de varroa a estos químicos.

### **2.10 Síntomas de la parasitación por varroa.**

La actividad de alimentación del ácaro sobre las pupas resulta en que las abejas al emerger presentan malformaciones, tales como abdómenes más cortos y deformes y/o alas deterioradas o simples muñones (RAMIREZ y OTIS, 1986; CASTILLO, 1992).

Según MORENO (s.f), las pupas muertas pueden alcanzar distintos grados de putrefacción, desprendiendo olor nauseabundo, además, puede presentarse una disminución de la producción, muchas veces inadvertida por el apicultor, y en el caso de infestaciones severas puede acarrear la pérdida de la colonia.

### **2.11 Diagnóstico de la parasitosis.**

El diagnóstico y cuantificación de la infestación por varroa se puede hacer ya sea observando la cría operculada, o bien, sobre las abejas adultas.

**2.11.1 Diagnóstico sobre la cría.** Según GOMEZ (2000), es preferible la determinación sobre la cría operculada, aunque se plantea también un problema: “no hay la misma cantidad de varroas en los panales, ni en todas las zonas”.

La técnica consiste en desopercular entre 50 y 100 celdas, determinadas en forma de cruz sobre la cara del panal de cría, y se procede a observar cuidadosamente toda la cría como también el fondo y paredes de la celda (MORENO, s.f).

La cuantificación del porcentaje de infestación se realiza mediante la siguiente fórmula (MORENO, s.f):

$$\% \text{ infestación} = \frac{\text{n}^\circ \text{celdas parasitadas}}{\text{n}^\circ \text{celdas muestreadas}} \times 100 \quad (2.1)$$

GOMEZ (2000), plantea tres niveles de infestación y la consiguiente medida a tomar:

- Infestación menor al 5%: se puede demorar el tratamiento hasta en 2 meses.
- Infestación entre 5% y 20-30%: el tratamiento no puede demorar más de un mes.
- Infestación mayor al 20-30%: el tratamiento debe ser de inmediato.

**2.11.2 Diagnóstico sobre las abejas adultas.** Según MORENO (s.f), las varroas pueden ser observadas a simple vista sobre las abejas adultas, zánganos y reinas. Pero, para una real cuantificación del grado de infestación, se procede a tomar unas 200 abejas de la cámara de cría, las cuales se

depositan en un frasco transparente con tapa, a éste se le agrega una solución de agua jabonosa al 2% y se agita por unos 5 minutos. Luego se hace pasar las abejas a través de un sistema de doble malla bajo un fuerte chorro de agua, en la primera malla, más gruesa, quedaran atrapadas las abejas, las varroas se desprenderán y quedaran en la segunda malla, más fina, donde se pueden cuantificar (CASTILLO, 1992; CHILE, SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO SAG., 1994; PETTIS et al., 1999; MORENO, s.f).

Para cuantificar el porcentaje de infestación se utiliza la siguiente fórmula (MORENO, s.f):

$$\% \text{ infestación} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ acaros encontrados}}{\text{n}^{\circ} \text{ abejas muestreadas}} \times 100 \quad (2.2)$$

Según CASTILLO (1992), colmenas con infestaciones entre el 3-4% son tolerables, cifras mayores al 10% indican gran peligro, y permiten la posibilidad de hacer algún control, una infestación de un 25% ó más llevará a la colmena a una muerte segura.

Cabe destacar que la cantidad de varroas que se puede encontrar sobre las abejas adultas y la cría es distinta. Según GOMEZ (1998), en la cría operculada hay entre 3 a 10 veces más varroas que sobre las abejas adultas.

## **2.12 Control de *Varroa destructor*.**

Los tratamientos más usados en el ámbito mundial son los quimioterápeuticos, existiendo acaricidas evaporantes, fumigantes, sistémicos y de contacto; de todos éstos los más efectivos han resultados ser los dos últimos (CASTILLO, 1992).

Hoy en día, son también estudiados productos alternativos para su incorporación a una apicultura orgánica ó ecológica por su inocuidad, ejemplos

de estos son: ácido fórmico, ácido oxálico, ácido láctico, timol, rotenona, vaselina (FLORES *et al.*, 1997; BRODSGAARD *et al.*, 1999; FLORES *et al.*, 2002).

Según Colin y Faucon (1984), citados por HIGES y LLORENTE (1997), un tratamiento acaricida para que sea realmente eficaz, deberá tener una eficacia superior al 95%.

**2.12.1 Época de tratamiento.** Varroa ataca en todos los estadios de desarrollo de la abeja, es por esto necesaria la realización de tratamientos sistemáticos anualmente, para así asegurar la viabilidad de los colmenares (HIGES y LLORENTE, 1997). Sin embargo, según GOMEZ (2000), antes de llevar a cabo cualquier medida es necesario realizar un diagnóstico de campo para verificar la real presencia del ácaro y cuantificarla.

GOMEZ (2000), establece que cualquier tratamiento debe ser realizado lo más alejado de la época de cosecha de miel, es decir, después de la última cosecha del año, cuando se preparan para pasar el invierno, o cuando salen del invierno y comienzan a prepararse para la primera mielada del año.

**2.12.2 Control químico de varroa.** El control químico se ha basado en el uso de sustancias de síntesis que afectan de distinta manera al ácaro. Según GOMEZ (2000), éstas se pueden agrupar en dos generaciones de productos:

- Productos de primera generación, tratamientos de choque (vapores, líquidos, polvos): estos productos actúan por pocos días luego de su aplicación (3 a 4 días), y dentro de éstos tenemos bromopropilato (Folbex VA<sup>®</sup>), coumafos (Perizin<sup>®</sup>), tiazolina (Apitol<sup>®</sup>) y amitraz (Tactic<sup>®</sup>, Antivarroa Schering<sup>®</sup>).

- Productos de segunda generación, tratamientos largos (tablillas de madera, cartón o plástico): estos productos tienen un tiempo más largo de acción dentro de la colmena, actuando hasta por 24 a 28 días, cubriendo así por lo menos dos ciclos del ácaro. Entre éstos están: amitraz (Apivar<sup>®</sup>), fluvalinato (Apistan<sup>®</sup>), flumetrina (Bayvarol<sup>®</sup>) y clorfenvinfos (Supona<sup>®</sup>).

2.12.2.1 Época de aplicación de estos tratamientos. Estos productos tienen distinta eficacia, dependiendo si la colmena presenta cría o no. En una colmena con cría se recomienda el uso de productos de segunda generación, sólo en colmenas sin crías es aconsejable la aplicación de tratamientos de primera generación (GOMEZ, 2000).

2.12.2.2 Eficacias de estos productos. Se ha encontrado una alta efectividad (mayor al 90%) con el uso de estos productos, es el caso del fluvalinato y flumetrina, con efectividad del 100% (FERRER et al., 1991; FERRER et al., 1995) y amitraz con 95% (HIGES et al., 1999).

2.12.2.3 Problemas con este tipo de control. Los principales problemas que se pueden presentar son la aparición de residuos en la cera y miel, debido al inapropiado uso del producto, o bien, la aparición de poblaciones del ácaro resistentes a estos tratamientos (Lodesani, 1996 citado por CHARRIERE et al., 1999).

Es el caso del Apistan<sup>®</sup>, donde debido a su carácter lipofílico existe la posibilidad de aparición de residuos en la cera y miel y, además, poblaciones de ácaros resistentes por un aumento en su capacidad de detoxificación del fluvalinato mediado por mono-oxigenasas en el citocromo P450 (Wallner, 1990; Bogdanov y Kilchewan, 1993; Hillesheim et al., 1996 citados por CHARRIERE et al., 1999). Es el mismo caso del Perizin<sup>®</sup> y Apitol<sup>®</sup> (Lodesani, 1996 citado por CHARRIERE et al., 1999; GREGORC y PLANINC., 2005).

**2.12.3 Control alternativo u orgánico del ácaro.** En los últimos años la mayor parte de la investigación acerca de productos eficaces para el control de varroa se ha dirigido hacia el uso de sustancias naturales como los ácidos orgánicos (fórmico, oxálico y láctico), aceites esenciales (timol, mentol) (BARBERO *et al.*, 1997; ARCULEO, 2000; MARIANI *et al.*, 2002) y vaselina (GOMEZ y VILA, 2001).

Según CALDERONE y SPIVAK (1995); IMDORF y CHARRIERE, 1999; Colin (1990); Greatti *et al* (1992); Flores *et al* (1997) citados por MARIANI *et al* (2002), estos son productos de baja toxicidad para las abejas y mamíferos y nulo efecto para el hombre, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y algunos son componentes naturales de la miel y, además tienen una amplia aceptación del público consumidor.

Además, productos como los ácidos fórmico, láctico, acético, oxálico, y aceites esenciales como mentol, timol, eucaliptol o alcanfor, están aprobados por la Comunidad Económica Europea para la producción orgánica de miel y subproductos de la colmena (COMUNIDAD ECONOMICA EUROPEA, 1999).

2.12.3.1 Época de aplicación de estos productos. Los métodos alternativos recomendados en la actualidad prevén un tratamiento otoñal con la colmena carente de cría, de esta manera la mayoría de los ácaros son destruidos; éstos constituirían la base para su próxima generación. Este tratamiento realizado en otoño tiene un papel complementario a los efectuados en verano con ácido fórmico o timol (Imdorf y Charriere, 1998 citados por CHARRIERE *et al.*, 1999; CHARRIERE y IMDORF, 2001).

2.12.3.2 Eficacia de estos tratamientos. Las distintas eficacias que pueden presentar estos productos varían de acuerdo a la concentración del producto

aplicado y la forma de dosificación. En el Cuadro 3 se presenta un resumen con las efectividades de distintos tratamientos.

**CUADRO 3 Eficacia de distintos tratamientos alternativos contra varroa.**

Producto	Modo aplicación	i.a**	Eficacia	Referencia
Ácido fórmico	Aplicación en placa abierta inv-prim	85%	40%	FLORES <u>et al.</u> (1997).
	2 aplicaciones en plancha Milben-Platten	14.2g	2%	
Aceites esenciales.	s.i*	s.i*	90-97%	IMDORF y CHARRIERE (1999).
Timol	Mezcla timol-azúcar 1g/Cuadro	50%	79%	FLORES <u>et al.</u> (1997).
	Timol puro	100%	95%	
	15g en 20mL alcohol 70°, en tablillas	s.i*	95%	
	Cordón impregnado		90.28%	FLORES <u>et al.</u> (2002).
Rotenona	4 tablillas por colmena	24%	83%	FLORES <u>et al.</u> (1997).
	2 aplicaciones de 8 tablillas por colmena	24%	66%	
Vaselina	Vaporizador	s.i*	51.85%	FLORES <u>et al.</u> (2002).
	Vaporizador más cordón impregnado	s.i*	55.49%	

\*s.i: sin información

\*\*i.a: ingrediente activo

2.12.3.3 Problemas con este tipo de control. Según ARCULEO (2000), la acción acaricida de estas sustancias está influida por factores climáticos como la temperatura.

Es el caso del ácido fórmico, dependiendo de la temperatura ambiental éste va a presentar una evaporación que muchas veces no es homogénea, influyendo sobre el comportamiento general de la colmena, pudiéndose presentar: agresividad temporal, aumento en la actividad de ventilación y muchas veces pérdida de reinas (MUTINELLI *et al.*, 1996).

**2.12.4 Control biológico.** Consiste en la reducción de la densidad o de las actividades productoras de enfermedades de un patógeno o parásito, lograda a través del uso de técnicas compatibles con la conservación del medio ambiente y sin ocasionar problemas de contaminación de residuos, esto mediante la manipulación del ambiente, del hospedero o de antagonistas del patógeno o parásito que se quiere controlar (BAKER *et al.*, 1974; LAMPKIN, 1998; GOMEZ, 2000).

Uno de los focos de atención con relación al control biológico es la selección de abejas con un marcado comportamiento higiénico (FAUCON, 1999; FLORES *et al.*, 2001). Es así, como en una colmena con estas características, la población de parásitos crece más lentamente, esto no quiere decir que no hallan varroas, pero sí se puede prolongar el tiempo entre dos tratamientos, o bien, utilizar productos menos agresivos (FLORES *et al.*, 2001).

También es posible una selección de abejas sobre la base del tiempo de operculado que éstas presentan. Según FAUCON (1999), se ha observado una reducción del 9% de los parásitos totales en una colmena con la reducción de este tiempo en 1 hora, pero este mismo autor señala que la correlación del tiempo de operculado con la resistencia general no está demostrada.

Otra posibilidad de control biológico es el uso de hongos entomopatógenos, como es el caso de *Hirsutella thompsonii* y *Metarhizium anisopliae* (KANGA et al., 2001). Estos autores encontraron una alta patogenicidad sobre varroa; una concentración de  $10^8$  esporas/ml causa un 91-100% de mortalidad de ácaros a  $34\pm 1^\circ\text{C}$  en 4-7 días de tratamiento.

**2.12.5 Control biotécnico.** Según MORENO (s.f), se conoce como métodos biotécnicos a aquellos relacionados con el control de la parasitosis sin el uso de agentes químicos, los cuales básicamente contribuyen a limitar el crecimiento de la población del ácaro dentro de la colmena. Entre estos destacan:

- Tratamiento térmico.
  
- Previene la enjambrazón de colmenas débiles que constituyen fuentes de infección.
  
- Cambios habituales de reinas, así se mantiene la colonia con cierto vigor, lo que la hace más tolerante a las infestaciones.
  
- Introducción de cuadros zanganeros y extracción de los mismos cuando han sido operculados.

Al realizar la última práctica antes mencionada, se puede reducir a la mitad la cantidad de ácaros dentro de la colmena (IMDORF y CHARRIERE, 1999). Según BRODSGAARD et al. (1999), si este procedimiento se realiza en primavera puede debilitar a la colonia.

**2.12.6 Control integrado.** Este tipo de control básicamente trata de la combinación de las técnicas antes mencionadas, para así reducir los problemas que estos tratamientos traen consigo.

En experiencias llevadas a cabo por HOPPE y RITTER (1989), comprobaron que la utilización de aire caliente (54°C por 15 minutos) elimina el 0,8% de los ácaros, pero combinando este sistema con la aplicación de 5mL. de aceite de gaurelia (*Chimaphila maculata* L.) se eliminan entre el 55 al 82% de ácaros, ahora sí esto se repite al séptimo día se observa una efectividad entre el 90 a 95%.

### **2.13 Uso del ácido oxálico en el control de varroa.**

El ácido oxálico es una sustancia que se encuentra en forma natural en la miel, algunas hortalizas y frutas, esta es una de las razones por las cuales se ha permitido su uso en apicultura orgánica o ecológica. A continuación se exponen las principales características de este producto y su uso en el control de varroa.

**2.13.1 Características del ácido oxálico.** Este es el más sencillo de los ácidos dicarboxílicos; su nombre deriva del griego *oxis* (agudo, ácido) (MARIANI et al., 2002).

Este nombre alude a la acidez típica encontrada en ciertas plantas, en especial las del género *Rumex* y *Oxalis*, también en otras como ruibardo, genciana, valeriana, espinaca, acelgas, higos, cacao y corteza de roble y canela (BARBERO et al., 1997; Fassett, 1973 citado por BRODSGAARD et al., 1999; ARCULEO, 2000).

2.13.1.1 Características físicas de ácido. El ácido oxálico (ácido etanodioico, HOCCOOH), cristaliza en forma de pirámides rómbicas, es blanco, inodoro, higroscópico, y forma fácilmente dihidrato (HOCCOOHx2H<sub>2</sub>O), de esta manera forma cristales monoclinicos, contiene 71.42% de ácido oxálico y 28.58% de agua (Kirk y Othmer, s.f citados por MARIANI et al. 2002). En el Cuadro 4, se presentan las principales características de este ácido.

**CUADRO 4 Principales características del ácido oxálico.**

Formula química	: C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
M	: 126.03g/mol
Densidad específica (20°C)	: 1.65 g/cm <sup>3</sup>
Densidad aparente	: ~900Kg/m <sup>3</sup>
Solubilidad (H <sub>2</sub> O, 20°C)	: 102g/l
pH (50g/L, H <sub>2</sub> O, 20°C)	: ~0.7
Punto de fusión	: 101°C
Punto ebullición	: 150°C

FUENTE: MERCK, (1999-2000) Catálogo de productos, (producto número 100495).

**2.13.2 Tratamiento de la parasitosis con ácido oxálico.** Este tratamiento hasta ahora ha sido utilizado en distintas concentraciones y modalidades: nebulizado sobre abejas (Radetzki *et al.*, 1994; Imdorf *et al.*, 1995; Higes *et al.*, 1997 citados por ARCULEO, 2000), o mezclado con azúcar y distribuido por goteo entre los marcos (Cavagnero, 1997; Nanetti *et al.*, 1997, 1999; Charriere *et al.*, 1999 citados por ARCULEO, 2000), (Figura 4).

Según BARBERO *et al.* (1997), el tratamiento con este producto ha demostrado:

- Buena eficacia.
- Uso sencillo.
- Economía tanto por el bajo precio del ácido, como por la rapidez con que se aplica y por poderlo realizar una sola persona.

- Riesgo pequeño de toxicidad para el operario gracias a la aplicación por goteo, frente a la nebulización.



**FIGURA 4. Dos modalidades de aplicación del ácido oxálico.**

FUENTE: IMDORF y CHARRIERE (1999); MINISTRY OF AGRICULTURE AND FORESTRY, NEW ZEALAND (2002).

**2.13.3 Época de aplicación del tratamiento.** CHARRIERE y IMDORF (2001), afirman que el ácido oxálico no es efectivo contra varroa cuando en las colonias está presente cría. Esto debido a que el ácido no afecta a las varroas presentes dentro de la cría sellada (IMDORF y CHARRIERE, 1999). Gregorc y Planinc (2001) citados por GREGORC y PLANINC (2005), han encontrado una eficacia muy baja en el control de Varroa de sólo un 39,2% en presencia de cría, en contraparte a un 99,4% de eficacia en el control en colmenas con ausencia de cría.

Es por esto necesario que el tratamiento se realice tan pronto como cesa la puesta, fines otoño principios de invierno, pues las condiciones ambientales aun son favorables e incluso se podría repetir el tratamiento si fuera necesario, esta repetición debería de llevarse a cabo siempre que caigan

más de 200 ácaros en el piso, luego de haber terminado un tratamiento (BARBERO *et al.*, 1997).

Este mismo autor aconseja realizar dos tratamientos distanciados entre sí unos 10 días, el primero será sobre la última cría a punto de nacer, y el segundo en ausencia completa de cría. Por otra parte DE FELIPE y VANDAME (1999), afirman que el tratamiento debe consistir en 4 aplicaciones con intervalos de 4 días.

**2.13.4 Preparación y dosis del ácido oxálico.** La preparación del ácido es muy simple, se tiene que elaborar un jarabe como el que se utiliza para alimentar las colonias cuando no hay floración, es decir, se mezcla agua, azúcar y ácido (DE FELIPE y VANDAME, 1999).

De la solución preparada, se aplican 5ml por entre marco ocupado por abejas, o bien, se nebulizan 3 a 4mL sobre ambas caras de un marco ocupado (IMDORF y CHARRIERE, 1999).

La forma de preparación antes mencionada es la básica, pudiéndose utilizar distintas concentraciones del ácido, las que a su vez van a tener eficacias diferentes. En el Cuadro 5 se presentan datos sobre la eficacia del ácido oxálico bajo distintas preparaciones.

Según Nanetti y Stradi (1997), citados por BRODSGAARD *et al.* (1999), dependiendo de la concentración del ácido las eficacias varían entre 89.6% al 96.8% para el caso de una aplicación por goteo. Sin embargo, IMDORF y CHARRIERE (1999), afirman que no hay diferencia entre aplicar el ácido por medio de goteo o nebulización, siempre que la colonia este carente de cría. Esta eficacia en ambos casos puede ser mayor al 95% (CHARRIERE *et al.*, 1999).

**CUADRO 5 Eficacia de distintos preparados con ácido oxálico.**

Ácido oxálico (g)	Jarabe 1L., (agua:azúcar), modo de aplicación	Eficacia	Referencia
30, 37, 45	1:1	>90%	CHARRIERE y IMDORF (2001).
35	1:1 (goteo)	s.i	IMDORF y CHARRIERE (1999).
30	1:1 (nebulización)	s.i	
30	1:1 (nebulización)	97.3%	Radezki, (1994), citado por BRODSGAARD <i>et al.</i> , (1999).

s.i: sin información

**2.13.5 Precauciones con el uso del ácido oxálico.** Según BRODSGAARD *et al.* (1999); ARCULEO (2000), el ácido oxálico es tóxico por ingestión, y cáustico por contacto e inhalación del vapor producido durante la preparación de la solución. También es posible una decoloración y fragilidad de las uñas, y posibles problemas de intoxicaciones crónicas (BARBERO *et al.*, 1997).

**2.13.6 Efectos de la solución de ácido oxálico sobre las abejas.** Según ARCULEO (2000), en lo que respecta a la toxicidad y tolerancia por parte de las abejas al tratamiento, los resultados reseñados en la literatura no son homogéneos y en algunos casos se han señalado daños a la colmena donde se ha producido su despoblación.

Según BRODSGAARD *et al.* (1999), un bajo nivel en la actividad de la glutatión S-transferasa (GST) puede hacer a la abeja más vulnerable a sustancias tóxicas circulantes en el ambiente. En trabajos realizados por estos autores, encontraron que 15 días después de un tratamiento con ácido oxálico aplicado por goteo (4.7% AO, jarabe 1:1), la actividad de la GST en pupas de colonias tratadas no difería significativamente con respecto a pupas de las

mismas colonias antes de tratar, ni tampoco de pupas de colmenas no tratadas colectadas al mismo tiempo, también no se encontró diferencia en abejas.

Por otra parte, no se ha visto efecto negativo sobre la colmena en lo que respecta a daños sobre abejas y puesta de reinas o desarrollo normal de la colmena (BARBERO et al., 1997; BRODSGAARD et al., 1999; CHARRIERE et al., 1999; ARCULEO, 2000).

Bajo ciertas condiciones de invierno no definidas, el método por goteo puede incrementar la pérdida de abejas y debilitar la colmena en primavera (CHARRIERE y IMDORF, 2001).

También se ha observado un efecto de la concentración de azúcar en el jarabe sobre la tolerancia. Según CHARRIERE y IMDORF (2001), una baja cantidad de azúcar en la solución incrementa la tolerancia por parte de las abejas al ácido, sin embargo disminuye la eficacia del tratamiento.

Con respecto a la concentración del ácido oxálico en la solución los datos son opuestos, por una parte ARCULEO (2000), afirma que la aplicación de 130g de ácido oxálico en solución no tiene efecto negativo sobre las abejas, mientras que CHARRIERE y IMDORF (2001), encontró un efecto negativo aplicando sólo 45 y 60g de ácido oxálico.

MARTÍN et al. (2005), haciendo un estudio de la toxicidad del ácido oxálico sobre las abejas, encontraron que las abejas que pasan el invierno son más tolerantes a aplicaciones de ácido oxálico, en comparación a las abejas de primavera que son más vulnerables, esto debido a la condición fisiológica de éstas, que es distinta es invierno y primavera. Estos autores describen un  $DL_{50}$  >6mg/abeja para las abejas de invierno y <1mg/abeja para aquellas que se desarrollan en primavera.

**2.13.7 Modo de acción del ácido oxálico sobre las varroas.** Con respecto a este aspecto, los datos presentes en la literatura no son muy sólidos, por una parte BARBERO et al. (1997), afirma que éste no se conoce y también se ignora si puede causar efectos de resistencias en varroas; mientras que Nanetti et al. (1999), citado por ARCULEO (2000), plantea que el ácido parece actuar por contacto y que la presencia de azúcar en la solución reviste un papel importante como soporte, favoreciendo la acción del principio activo.

Esta última aseveración se podría reafirmar con la observación de CHARRIERE y IMDORF (2001), quienes encontraron que las abejas no ingieren la solución, es más, el azúcar mejoraría la adherencia del producto, incrementando la efectividad de éste.

**2.13.8 Residuos de ácido oxálico en productos de la colmena.** Los ácidos orgánicos son sustancias naturales presentes en la miel, formando de hecho un grupo de los llamados componentes menores, estos están presentes en todas las mieles, contribuyendo a definir su aroma específico (BARBERO et al., 1997).

2.13.8.1 Residuos en ceras. Según Imdorf et al. (1998), citado por BRODSGAARD et al. (1999), el ácido oxálico es insoluble en grasas. Es así como la posibilidad de encontrar ácido oxálico en la cera es prácticamente nula (BARBERO et al., 1997).

Según BRODSGAARD et al. (1999), si se llegará a realizar un tratamiento primaveral con oxálico, su presencia en la cera al momento de utilizarla también sería cero.

2.13.8.2 Residuos en la miel. El Instituto Zooprofiláctico Experimental de Venecia realizó una experiencia para determinar el contenido natural del ácido oxálico en mieles de distinto origen botánico (Cuadro 6).

**CUADRO 6 Contenido promedio de ácido oxálico en distintos tipos de mieles.**

Miel	Ácido oxálico promedio(ppm)
Acacia	23
Eucalipto	235
Castaño	170
Mielatos	300
Madroño	182

FUENTE: BARBERO *et al.* 1997.

En experiencia realizadas por BRODSGAARD *et al.* (1999), ocho días después de un tratamiento, la concentración de ácido oxálico en la miel aumento en las colmenas tratadas, pero sólo el tratamiento en “spray” fue significativo ( $62.84 \pm 15.88$  ppm; KruskalWallis,  $p < 0.05$ ). Más tarde a inicios de verano la miel cosechada contenía una concentración de  $37.73 \pm 5.55$  ppm para el tratamiento de aspersión,  $41.56 \pm 8.54$  ppm con el tratamiento de goteo, y el control con una concentración de  $57.70 \pm 7.95$  ppm; siendo esta diferencia no significativa (KruskalWallis,  $p > 0.05$ ).

### 3 MATERIALES Y METODOS.

#### 3.1 Ubicación del ensayo.

El ensayo se realizó en un colmenar ubicado a 4.89Km al noreste de la ciudad de La Unión (Décima Región), coordenadas GPS 18H N5.535256 E659.928; 86 m.s.n.m.

#### 3.2 Material del ensayo.

Los materiales utilizados en el ensayo se clasificaron como material biológico, material apícola, productos químicos y otros materiales.

**3.2.1 Material biológico.** El material biológico utilizado consistió en 20 colonias de abejas europeas, *A. mellifera* L., infestadas con *V. destructor*.

**3.2.2 Material apícola.** El material apícola consistió en 20 colmenas tipo Jumbo (Anexo 1), de una alza, con sus respectivos marcos, pisos, entretapas y techos, ahumador, traje apícola (velo, guantes y overol), palanca Root y acículas de pino para producir humo. Con respecto al tipo de colmena utilizada en el presente ensayo, CHARRIERE et al. (1999), señalan que no se ha visto diferencias en la efectividad del ácido cuando ha sido aplicado en distintos tipos de colmenas.

**3.2.3 Productos químicos.** Los productos utilizados en el ensayo se enumeran a continuación.

3.2.3.1 Ácido oxálico. Las principales características del producto utilizado son:

- Fórmula química :  $C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$
- Pureza : 99,5%
- M : 126.03g/mol
- Densidad específica (20°C) : 1.65 g/cm<sup>3</sup>
- Densidad aparente : ~900Kg/m<sup>3</sup>
- Solubilidad (H<sub>2</sub>O, 20°C) : 102g/L
- pH (50gr/L, H<sub>2</sub>O, 20°C) : ~0.7
- Punto de fusión : 101°C
- Punto ebullición : 150°C (MERCK, 1999-2000)

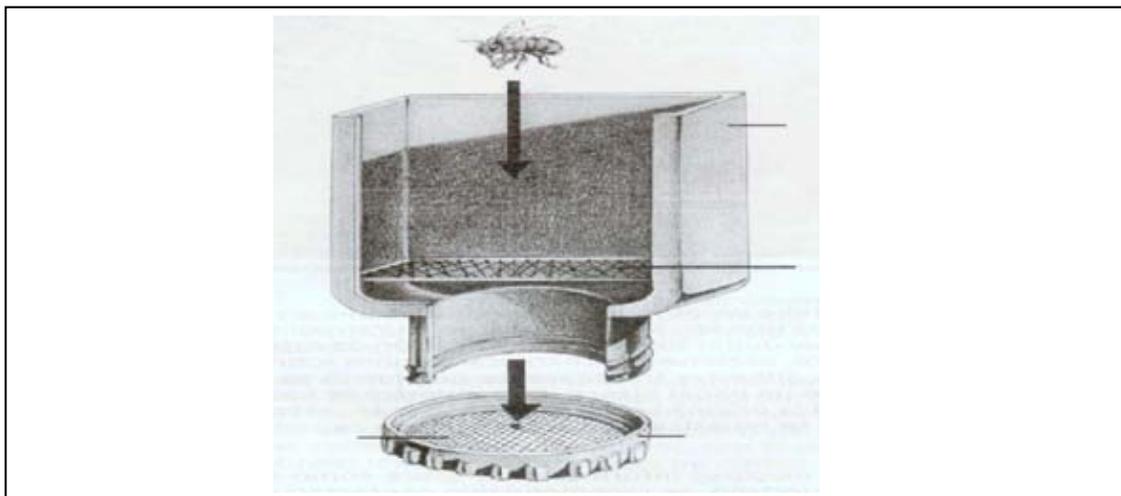
3.2.3.2 Fluvalinato. Acaricida, del grupo de los piretroides, registrado bajo la marca comercial Apistan<sup>®</sup>. Comercializado como tiras de plástico impregnadas con el ingrediente activo al 10%.

**3.2.4 Otros materiales y equipos.** Se usaron materiales en laboratorio y en terreno.

3.2.4.1 Materiales de laboratorio. Se uso: detergente líquido Quix<sup>®</sup>, frascos de vidrio con tapa rosca de 350mL, lápiz pasta y marcador tipo plumón, agua destilada, contador, papel absorbente (Toalla Nova<sup>®</sup>), microondas Samsung mod. CE245G, azúcar comercial, higrotermómetro digital y separador de varroas (Figura 5).

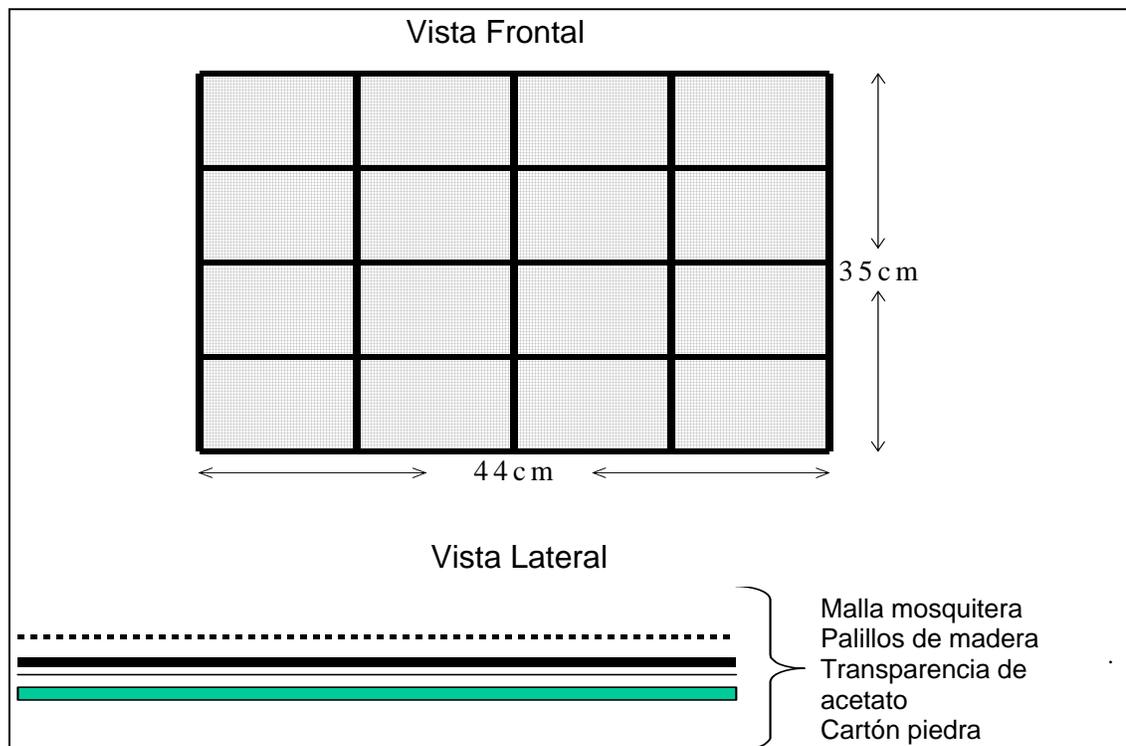
3.2.4.2 Trampas para varroas. Se construyeron 40 trampas de 44x35cm, con los siguientes materiales: corchetes (número 26-6), corta-cartón, cinta adhesiva, cola fría, regla 50 cm, 82 transparencias de acetato tamaño oficio, 240 palillos de maqueta 2x6mm, 10 planchas cartón piedra 770x1100x1,5mm, 40 hojas de

cuadernillo cuadriculadas de 44x32,5cm, martillo, 6m de malla mosquitera 2x2mm de cuadro, pita de plástico, tijeras. En la Figura 6 se presenta el esquema de la trampa para varroa y Anexo 2 la forma en que se introduce en la colmena.



**FIGURA 5 Sistema doble filtro para separar varroas de abejas.**

FUENTE: SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO SAG, (1994).



**FIGURA 6 Esquema de trampa para varroa.**

3.2.4.3 Materiales para terreno. En cada salida a terreno se uso: trampas para varroa, papel absorbente (Toalla Nova<sup>®</sup>), soluciones de ácido oxálico, higrotermómetro digital, 4 jeringas de 50cc, termo de 1L de capacidad, traje apícola, palanca Root, ahumador y acículas de pino.

### 3.3 Metodología del ensayo.

La metodología aplicada en el ensayo se describe a continuación.

**3.3.1 Período experimental.** El ensayo se llevó a cabo a mediados de otoño, desde el 4 de abril del 2002 hasta el 5 de mayo, período en el cual las colmenas se encontraban con una mínima cantidad de cría. Antes de comenzar, el día 4 de abril se procedió a la selección de 20 colmenas, todas con un porcentaje de infestación sobre las abejas adultas mayor al 5%.

La primera aplicación de los distintos tratamientos de ácido oxálico se realizó el día 10 de abril, luego ésta se repitió tres veces a intervalos de 5 días (15, 20 y 25 de abril) para concluir el día 30 de abril con la aplicación del producto control (Apistan<sup>®</sup>), y el día 5 de mayo se registraron las variables observadas para la aplicación del producto control (caídas de varroas y nivel de infestación sobre abejas adultas).

**3.3.2 Diseño experimental.** Se evaluó el efecto de cuatro aplicaciones de ácido oxálico, así como también el efecto parcial de cada una de las aplicaciones. Esto debido a que en cada oportunidad de aplicación se suma el efecto de la aplicación anterior, haciendo necesario evaluar los efectos parciales de cada dosificación sobre las distintas variables<sup>1</sup>. A continuación se describe el diseño experimental para cada experimento.

---

<sup>1</sup> CARRILLO, R (2006). Ingeniero Agrónomo, M. Sc., Ph. D. Universidad Austral de Chile. Comunicación Personal.

3.3.2.1 Diseño experimental para el efecto total de las aplicaciones. El diseño planteado en un principio corresponde a un experimento completamente al azar de 5 tratamientos con 4 repeticiones, conformando un total de 20 colmenas en observación, pero por causa de la alta infestación presenta por las colmenas, se perdieron dos repeticiones que no alcanzaron a ser tratadas con la primera aplicación de ácido oxálico, una del tratamiento testigo y otra del tratamiento al 10% del ácido, de esta manera se trabajó con un diseño de 5 tratamientos con distinto número de repeticiones, tres tratamientos con cuatro repeticiones y dos con tres repeticiones, conformando un total de 18 colmenas en observación.

3.3.2.2 Diseño experimental para el efecto parcial de las aplicaciones. El diseño planteado corresponde a un experimento completamente al azar de 20 tratamientos con distinto número de repeticiones, conformando un total de 18 colmenas en observación (misma situación que diseño anterior).

**3.3.3 Descripción de los tratamientos.** A continuación se describen los distintos tratamientos del ensayo.

3.3.3.1 Descripción de los tratamientos para evaluar el efecto total de las cuatro aplicaciones con ácido oxálico. La investigación contempla 5 tratamientos:

Tratamiento T1) Aplicación de jarabe azucarado 2:1 (agua/azúcar).

Tratamiento T2) Aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 20% de ácido oxálico.

Tratamiento T3) Aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 5% de ácido oxálico.

Tratamiento T4) Sin aplicación.

Tratamiento T5) Aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 10 % de ácido oxálico.

Las distintas concentraciones de ácido oxálico se preparan sobre un jarabe azucarado 2:1 (agua/azúcar), las que se entibian en microondas a 30°C para su mejor disolución.

3.3.3.2 Descripción de los tratamientos para evaluar el efecto parcial de las aplicaciones con ácido oxálico. La investigación contempla 20 tratamientos:

Tratamiento T<sub>11</sub>) Primera aplicación de jarabe azucarado 2:1 (agua/azúcar).

Tratamiento T<sub>12</sub>) Primera aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 20% de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>13</sub>) Primera aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 5% de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>14</sub>) Sin aplicación.

Tratamiento T<sub>15</sub>) Primera aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 10 % de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>21</sub>) Segunda aplicación de jarabe azucarado 2:1 (agua/azúcar).

Tratamiento T<sub>22</sub>) Segunda aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 20% de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>23</sub>) Segunda aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 5% de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>24</sub>) Sin aplicación.

Tratamiento T<sub>25</sub>) Segunda aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 10 % de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>31</sub>) Tercera aplicación de jarabe azucarado 2:1 (agua/azúcar).

Tratamiento T<sub>32</sub>) Tercera aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 20% de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>33</sub>) Tercera aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 5% de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>34</sub>) Sin aplicación.

Tratamiento T<sub>35</sub>) Tercera aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 10 % de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>41</sub>) Cuarta aplicación de jarabe azucarado 2:1 (agua/azúcar).

Tratamiento T<sub>42</sub>) Cuarta aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 20% de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>43</sub>) Cuarta aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 5% de ácido oxálico.

Tratamiento T<sub>44</sub>) Sin aplicación.

Tratamiento T<sub>45</sub>) Cuarta aplicación de jarabe azucarado 2:1 con 10 % de ácido oxálico.

**3.3.4 Método de aplicación de los tratamientos.** En cada tratamiento se aplicaron 5mL, usando como dispensador una jeringa de 50cc, por cada entremarco ocupado por abejas (VANDAME, 2000); previamente la solución se entibió a 20°C para facilitar su escurrimiento a través del aplicador (CHARRIERE *et al.*, 1999).

**3.3.5 Condición de las colmenas antes del ensayo.** Las colmenas que fueron seleccionadas para esta investigación tenían un porcentaje de infestación de varroa mayor al 5% sobre las abejas adultas, además se registró la condición inicial de la caída natural del ácaro.

**3.3.6 Condiciones para la aplicación de los tratamientos.** La aplicación de los distintos tratamientos, toma de muestras y observaciones se realizaron al mediodía.

**3.3.7 Toma de muestras y observaciones.** La toma de muestras y observaciones se realizó 5 días después de la aplicación del ácido oxálico, es decir, cuando corresponde la siguiente aplicación del tratamiento. En el Anexo 3 se presenta una línea de tiempo que muestra estos procedimientos.

Los parámetros evaluados se presentan a continuación:

3.3.7.1 Caída de varroas. A cada colmena se le introdujo en la piquera una trampa para así capturar las varroas que cayeran muertas por efecto del tratamiento, el recuento de los ácaros caídos (muertos y vivos) se llevó a cabo cada 5 días, antes de la siguiente aplicación. En el Anexo 4 se presentan los valores observados para esta variable.

3.3.7.2 Nivel de infestación. Este se evaluó usando la metodología descrita por el SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO SAG., (1994). Esta evaluación se lleva a cabo al comienzo del ensayo (4 de abril), para seleccionar las colmenas con las cuales se trabajó; se volvió a evaluar este parámetro 5 días después de la primera y última aplicación del ácido oxálico (15 y 30 de abril) y 5 días después de la aplicación del producto control Apistan® (5 de mayo). En el Anexo 5 se presentan los valores observados para este variable.

3.3.7.3 Pillaje en la colmena. El pillaje corresponde a la actitud de las abejas melíferas de introducirse a otras colmenas para poder saquearlas y llevarse consigo alguna cuota de miel para poder satisfacer la demanda de ésta por parte de sus hermanas. Esta actitud se ve favorecida cuando hay poca floración en los alrededores de las colmenas, o bien cuando, a través de la emisión de aromas desde una colmena las abejas foráneas se ven atraídas hacia ésta (MORITZ, 1991).

Una hora después de cada aplicación, se evaluó del pillaje realizado por abejas y “chaquetas amarillas”, por un lapso de 5 minutos, contando los insectos que fueron expulsados por las abejas guardianas de la colonia, esta medición se lleva a cabo con el objetivo de ver si la aplicación del ácido oxálico en jarabe azucarado tiene alguna incidencia sobre este comportamiento. En el Anexo 6 se presentan los valores observados para este variable.

3.3.7.4 Abejas muertas. Según ARCULEO (2000); CHARRIERE y IMDORF (2002), la aplicación del ácido oxálico puede tener un efecto detrimental sobre la colonia de abejas. Por esto se contabilizaron las abejas muertas encontradas sobre las trampas de varroas, para de esta manera encontrar alguna relación entre este hecho y la aplicación del ácido. Esta medición se realizó cada 5 días antes de la aplicación de los tratamientos. En el Anexo 7 se presentan los valores observados para este variable.

3.3.7.5 Estado de la colmena. Se realizó una observación al inicio y final del ensayo del estado general de la colmena, considerando el tamaño de la familia (número de marcos ocupados completamente por abejas), para de esta forma poder observar algún efecto nocivo del ácido oxálico sobre el número de abejas presentes en la colonia (Anexo 8). En el Cuadro 7 se presentan los valores designados a cada característica.

**CUADRO 7 Puntaje relativo asignado a cada condición presentada por las colmenas.**

Característica	Puntaje	Nº cuadros ocupados por abejas
Débil	1	<4
Regular	2	5-7
Buena	3	>8

3.3.7.6 Comparación entre tratamientos utilizando un producto comercial. Una vez aplicado los cuatro tratamientos con ácido oxálico se introdujeron en las colmenas 2 tiras de Apistan<sup>®</sup>, producto que según el fabricante posee entre un 99 a 100% de efectividad. Este producto se mantuvo en la colmena por 5 días, al cabo de los cuales (5 de mayo) se contabilizaron las varroas caídas por efecto del mismo. Se sumaron los ácaros caídos en los tratamientos más las varroas caídas con Apistan<sup>®</sup> para cada colmena, obteniendo así el total de ácaros presentes por colmena, de esta manera utilizando la ecuación (3.1) se

puede calcular la eficacia en el control de varroa de los distintos tratamientos (HIGES y LLORENTE, 1997).

$$E = \frac{V_{A1} + V_{A2} + V_{An}}{V_T} \times 100 \quad (3.1)$$

Donde: E : eficacia del tratamiento.  
 $V_{An}$  : varroas caídas en cada aplicación de ácido oxálico.  
 $V_T$  : total varroas caídas en cada aplicación más varroas caídas en la aplicación del producto control.

3.3.7.7 Datos climáticos. Se registró la temperatura y humedad relativa al momento de cada tratamiento (Anexo 9).

### 3.3.8 Análisis estadísticos de los datos obtenidos.

Los datos de las diferentes variables observadas se analizaron a través de un análisis de varianza (ANDEVA) (SNEDECOR, 1964). En los casos donde se detecto diferencias de promedios se diferenciaron por medio de la prueba de Student-Newman-Keuls (SNK) con el nivel de significancia dado por la ANDEVA, este análisis es recomendado cuando se tienen distintas repeticiones por tratamiento (SOKAL y ROHLF, 1979; STELL y TORRIE, 1997).

Los datos de las variables que no cumplieron con los supuestos de aleatoriedad, normalidad del error y homogeneidad de varianza, que exige este tipo de análisis, fueron transformados por medio de una ecuación de corrección (logaritmo, de raíz cuadrada, angular o arcoseno) (LITTLE y HILLS, 1976). Si aun así los datos no cumplían los supuestos para realizar el análisis de varianza, se realizó la prueba no paramétrica de diferencias de medias de Kruskal-Wallis.

Para realizar todos estos análisis se ocupó el programa estadístico Stat Graphics Plus v.5.0.

Los datos de las variables estudiadas a través del ensayo fueron analizados con el fin de poder encontrar diferencias entre los distintos tratamientos, ya sea comparando estas variables de manera parcial en cada oportunidad de aplicación como además, analizando las diferencias que pudieran existir entre los tratamientos completos con ácido oxálico. A continuación en el Cuadro 8 se presenta una tabla resumen con las transformaciones y análisis realizados a las distintas variables que se estudiaron.

**CUADRO 8 Transformaciones realizadas a las variables en estudio.**

Variable estudiada		Transformación o tipo de análisis
Condición inicial	Porcentaje Infestación	Normal
	Caída varroa	Log X
Efecto total de 4 aplicaciones	Caída total de varroa	Log X
	Varroas caídas en control	$\sqrt{(X+1/2)}$
	Total de varroas en colmenas	Log X
	Pillaje total	Normal
	Condición de colmena	No paramétrico
	Total abejas muertas	Log X
	Eficacia de tratamientos	No paramétrico
	% infestación después de aplicación de Apistan®	No paramétrico

(Continua).

Continuación Cuadro 8.

	Variable estudiada	Transformación o tipo de análisis
Efecto parcial de cada aplicación	Caída varroa dentro aplicaciones	Log X
	% infestación de primera aplicación	Normal
	% infestación de cuarta aplicación	No paramétrico
	Pillaje total en primera aplicación	Log X
	Pillaje de abejas en primera aplicación	Normal
	Pillaje total en segunda aplicación	Log (X+1)
	Pillaje total en tercera aplicación	Normal
	Abejas muertas en primera, segunda y tercera aplicación	No paramétrico
	Abejas muertas en cuarta aplicación	Log (X+1)

## 4 PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS.

Los objetivos generales de este ensayo fueron evaluar el efecto del ácido oxálico sobre la población forética del ácaro y sobre *A. mellifera*. A continuación se presentan los análisis de las distintas variables estudiadas con el propósito de evaluar la hipótesis formulada para esta investigación.

### 4.1 Condición inicial de las colmenas sometidas al tratamiento con ácido oxálico.

Con el objeto de observar si las colmenas que ingresan al ensayo presentan iguales características en cuanto a porcentaje de infestación y caída natural de varroa se realizaron análisis para determinar si existen diferencias en estas variables dentro del total de colmenas estudiadas.

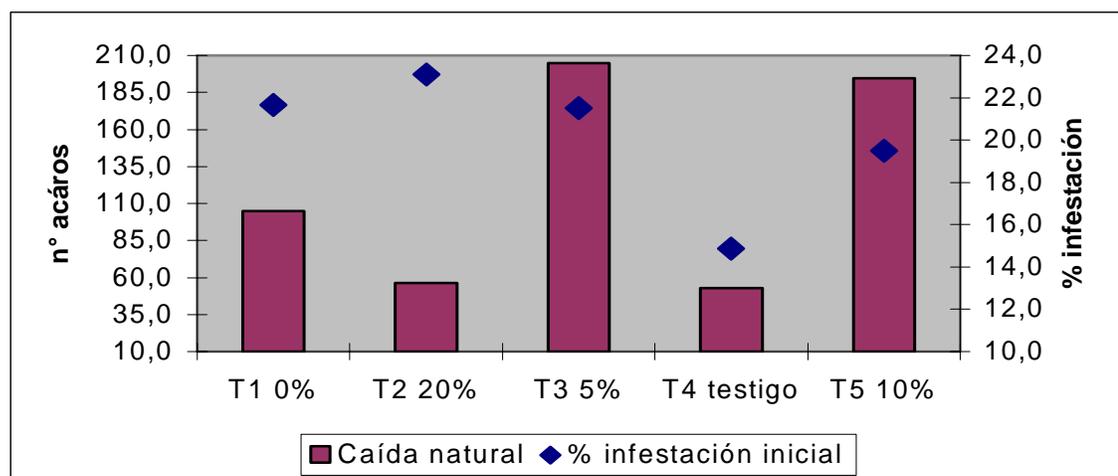
#### 4.1.1 Evaluación del porcentaje de infestación inicial de las colmenas.

Según GOMEZ (2000), infestaciones inferiores al 5% sobre las abejas adultas son toleradas por éstas, sobre el 5% de infestación se hace necesario un control del ácaro. Por esto, para el ensayo se seleccionaron colmenas con más de un 5% de infestación. En el Anexo 5 se presentan los porcentajes de infestación inicial de las colmenas con las que se trabajó.

El análisis estadístico determinó que no existen diferencias significativas con respecto al porcentaje de infestación entre las colmenas que ingresaron al ensayo (Figura 7 y Anexo 10), presentando infestaciones que varían entre un  $14.85 \pm 7.6\%$  hasta un  $23.10 \pm 13.29\%$ , para los tratamientos testigo y 20% de ácido oxálico, respectivamente (Anexo 11).

**4.1.2 Evaluación de la caída natural de varroa.** Para conocer si existen diferencias en la variable caída natural de varroas se sometieron estos datos a análisis estadístico (Anexo 12).

Según el análisis estadístico realizado no existen diferencias significativas entre los distintos grupos de colmenas con respecto a la caída normal de varroas (Figura 7 y Anexo 13). Los valores para esta observación fluctuaron entre  $53.0 \pm 26.21$  y  $205.0 \pm 137.45$  ácaros caídos en las colmenas seleccionadas, en seis días de observación, para los tratamientos testigo y 5% de ácido oxálico, respectivamente.



**FIGURA 7** Condición inicial de las colmenas seleccionadas para el ensayo, con respecto a porcentaje de infestación inicial y caída natural de varroas.

#### **4.2 Evaluación del efecto del ácido oxálico sobre *Apis mellifera*.**

Con respecto a la toxicidad del ácido oxálico y la tolerancia de las abejas a esta sustancia, los resultados reseñados en la literatura no son homogéneos y en algunos casos se han señalado daños a la colmena que han producido su despoblación (ARCULEO, 2000; BARBERO *et al.*, 1997; BRODSGAARD *et al.*, 1999; CHARRIERE *et al.*, 1999). En algunas colmenas se puede producir un debilitamiento en primavera, bajo ciertas condiciones no definidas

(CHARRIERE y IMDORF, 2001; Büchler, 2000; Charriere y Imdorf, 1999; Liebig, 1998; citados por CHARRIERE y IMDORF, 2002).

Por otra parte MARIANI *et al.* (2002), aplicando un jarabe al 7% de ácido oxálico no encontraron modificaciones en el comportamiento y desarrollo normal de la colmena. BARBERO *et al.* (1997), también reseñan, que aplicando ácido oxálico no se ha apreciado ningún daño en abejas adultas, en la reina y en las colonias que invernan y reanudan su actividad normalmente.

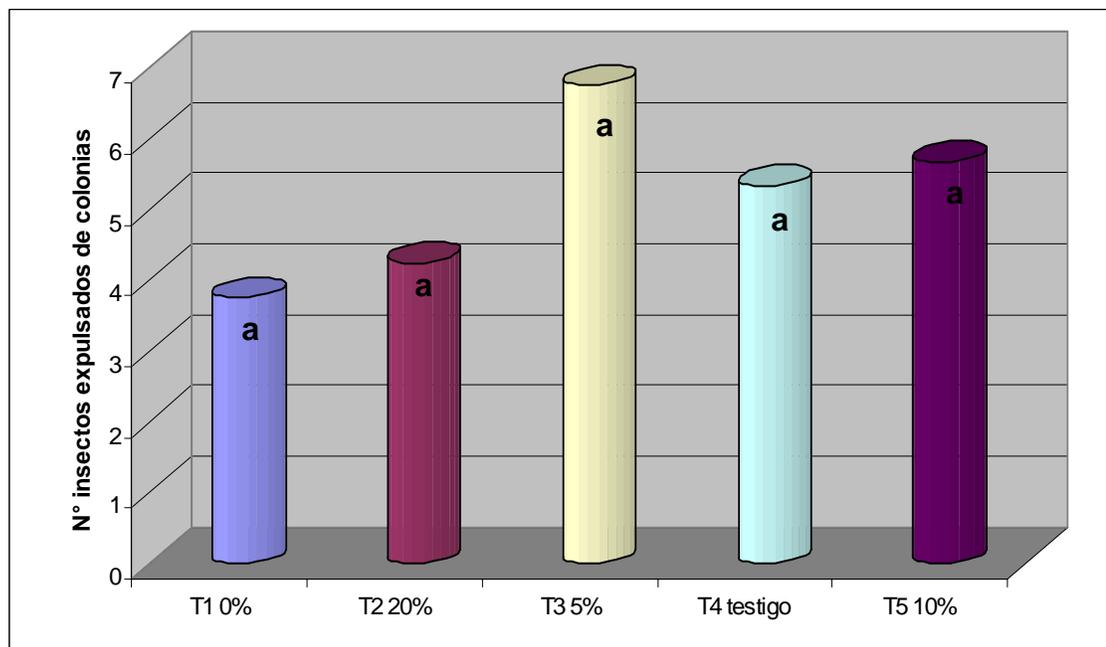
Con el propósito de observar si la aplicación reiterada del ácido oxálico en colonias de abejas melíferas tiene algún efecto sobre éstas, a continuación se presenta la discusión de resultados para las variables de pillaje, abejas muertas y condición final de las colmenas.

**4.2.1 Pillaje observado en las colmenas en observación.** El pillaje es la respuesta que tienen las abejas guardianas de una colmena, frente a otros individuos ajenos a ésta, que pretenden ingresar para robar el alimento. Esto se observa en la piquera, donde las abejas o insectos extraños son expulsados activamente por los miembros de la colonia que está siendo saqueada (LESSER, 1998).

Colmenas débiles, están expuestas al pillaje por otras más fuertes, ya que los aromas azucarados que emiten las primeras estimulan la llegada de individuos extraños.

Al aplicar el ácido oxálico en solución azucarada, tal vez pudiera favorecer la conducta de pillaje entre el grupo de colmenas que están siendo estudiadas, y por otra parte favorecer también el robo de alimento por parte de las “chaquetas amarillas”, esto estimulado por el aroma desprendido por la sustancia azucarada aplicada en las distintas colmenas.

Los datos observados de abejas y chaqueta amarillas expulsadas por las abejas guardianas de las distintas colmenas fueron sometidos a análisis estadístico (Anexo 14), los cuales no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados para el total de individuos expulsados desde las colmenas variaron entre  $3.75 \pm 0.95$  y  $6.75 \pm 2.21$  individuos (Figura 8 y Anexo 15), para el tratamiento al 0 y 5% de ácido oxálico, respectivamente.



\*Letras distintas indican diferencias a la prueba SKN al 5% entre tratamientos

**FIGURA 8** Pillaje promedio total observado entre los distintos tratamientos.

El hecho de no observarse pillaje por efecto de la aplicación del ácido oxálico en solución azucarada, puede deberse a que este ácido es inodoro, por lo tanto no estaría modificando los aromas de las colmenas. Con respecto al azúcar contenida en la solución, no influyó en la conducta de pillaje, tal vez por que todas las colmenas tenían este aroma y las abejas no se vieron atraídas por una u otra familia, o bien la concentración del azúcar fue la mínima y no favoreció esta conducta. En experiencias realizadas por MARIANI *et al.* (2002),

no encontraron modificaciones en el comportamiento normal de la colonia luego de la aplicación del ácido oxálico en concentración del 5%.

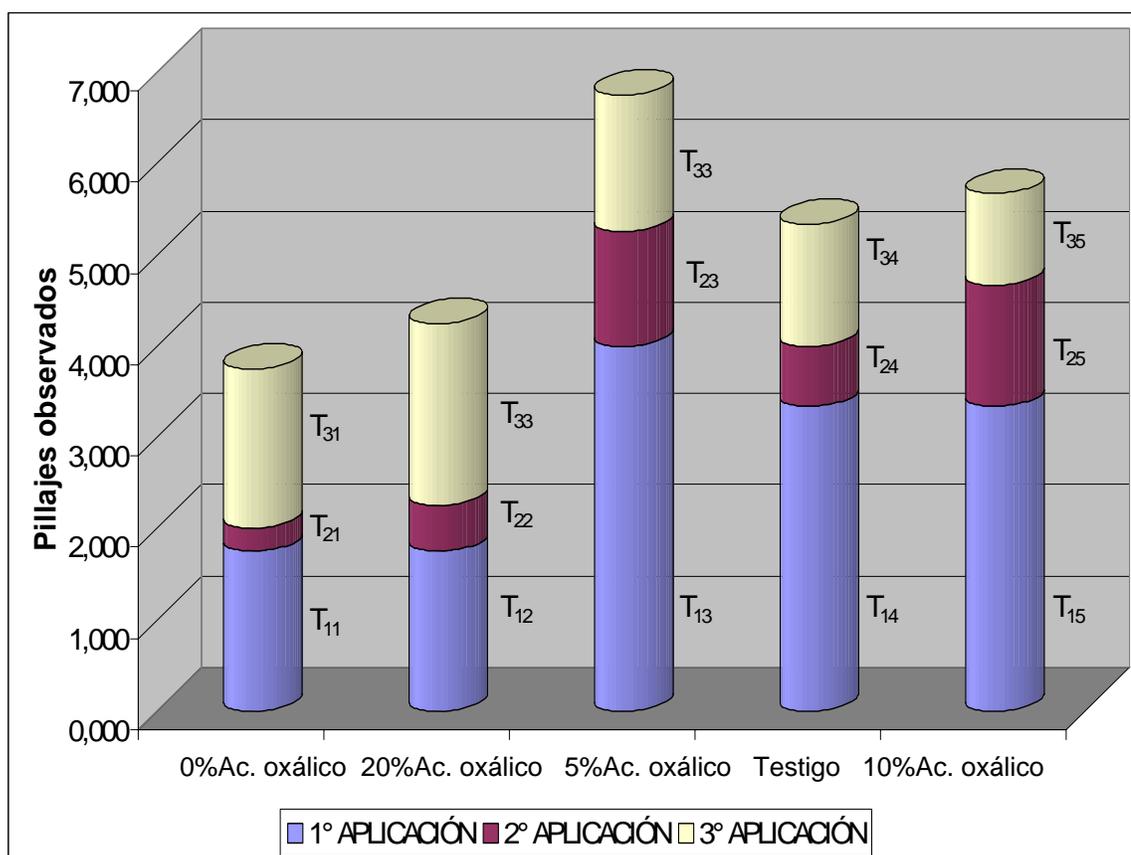
En evaluaciones con aceite esencial de mentol, realizadas por PORTALES (2003), los valores de pillaje obtenidos fueron de  $1.02 \pm 1.26$ ,  $2.15 \pm 1.80$ ,  $2.03 \pm 2.28$  y  $4.57 \pm 3.021$  para los tratamientos testigos, mentol 9g, 18g y 27g, respectivamente. En el presente ensayo los valores de pillaje observados fueron mayores, lo cual se debería a que esta conducta es más frecuente observarla cuando hay escasez de alimento, ya que el ensayo con mentol fue realizado en período de primavera (25 de noviembre al 20 de diciembre del 2003) y el presente en otoño.

De esta manera, el ácido oxálico presenta una ventaja en el control de varroa con respecto a los aceites esenciales, ya que estos últimos favorecen la conducta de pillaje, esto ha sido señalado por NOEL (1997), IMDORF *et al.*, (1995), RITTER (1993) y PORTALES (2003). Además, una de las principales causas de diseminación del ácaro es la deriva y pillaje hacia otras colmenas (VANDAME *et al.*, 1998a; MORENO, s.f).

Según JEAN-PROST (1995) y ELLIS y BAXENDALE (1996), en períodos de escasez de néctar y en presencia de colmenas débiles, la conducta de pillaje puede favorecer la infestación o reinfestación de éstas. Según MILANI *et al.* (1993), encontraron que a una colmena puede llegar cifras mayores a 100 ácaros/día/colmena producto de la reinfestación provocada por el pillaje, por otra parte, VANDAME *et al.*, (1998a), señalan valores de 70 ácaros por día.

Con respecto a las diferencias de pillaje, considerando el efecto parcial de cada aplicación, el análisis estadístico no determinó diferencias significativas dentro de éstas (Anexos 16, 17 y 18). En el Figura 9 y Anexo 19 se muestran los valores obtenidos para esta variable, cabe mencionar que a simple vista se

puede observar que en la primera aplicación de ácido oxálico, los valores de pillajes fueron levemente mayores a las restantes, esto se puede explicar por la temperatura de ese día en cuestión la que ascendió a los 16.6°C (Anexo 9), lo que pudo haber favorecido la actividad de los insectos. No se observa en la primera aplicación una relación entre las dosis de ácido oxálico aplicadas y el pillaje, lo cual descartaría un efecto del ácido oxálico sobre este comportamiento. El pillaje de la cuarta aplicación no se registró debido a condiciones climáticas desfavorables.



**FIGURA 9** Pillaje promedio observado dentro de aplicaciones.

**4.2.2 Mortalidad de *A. mellifera*.** Cabe destacar que un producto varroicida no debe aumentar la mortalidad de las abejas, y si llegara a ocurrir ésta debería ser la mínima posible, para de esta manera no provocar un desmedro en la colonia de abejas. Esta mortalidad de abejas sólo podría ser aceptable en

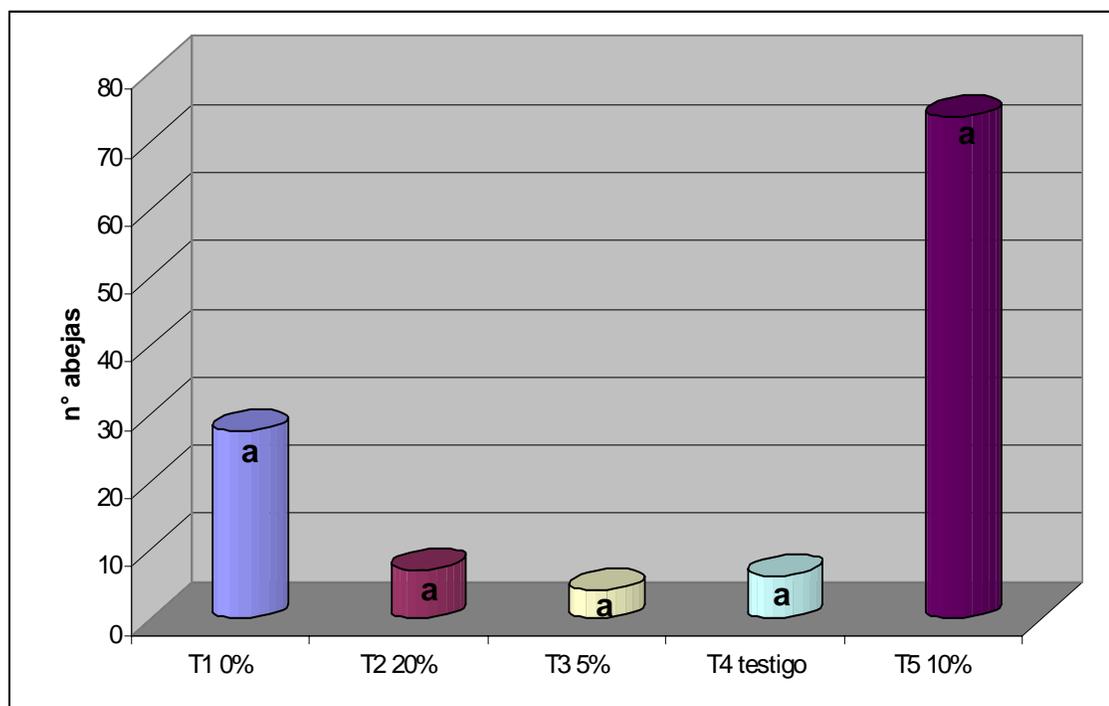
épocas donde hay postura de la reina, ya que de esta manera las abejas son reemplazadas rápidamente.

Es reseñado en la literatura que la aplicación de ácido oxálico en solución azucarada, ya sea por medio de goteo o aspersión, tiene un efecto detrimental sobre la sobrevivencia de las colonias y su futuro desarrollo primaveral. En observaciones realizadas por CHARRIERE y IMDORF (2002), usando concentraciones de ácido oxálico de 3%, 3.7% y 4.5% en soluciones azucaradas 1:1, indican que la población de la colonia disminuye en casi un 50%, pero que ésta se recobra en la próxima primavera con manejos adecuados de la colmena. También CHARRIERE *et al.* (1999), aplicando jarabe con 10% de ácido oxálico no registraron un aumento en la mortalidad de las abejas, durante dos semanas posteriores a la aplicación.

Por otra parte, BRODSGAARD *et al.* (1999), señalan que el efecto perjudicial del ácido oxálico sobre la abeja se produciría al momento en que ésta ingiere la solución y estaría causando daño en los tejidos del sistema digestivo de la misma.

Por esto mediante el análisis de los datos de abejas muertas encontradas sobre las trampas de varroas se determinó si existe algún efecto pernicioso sobre las abejas.

Al momento de analizar los datos sobre las abejas encontradas muertas, el análisis estadístico no arrojó diferencias significativas entre los distintos tratamientos con ácido oxálico y el tratamiento testigo (Anexo 20). Tampoco se observó un efecto de las dosis en la mortalidad. Los valores promedios de abejas muertas encontradas variaron entre  $4.25 \pm 2.26$  y  $73.66 \pm 102.12$ , para los tratamientos al 5 y 10% de ácido oxálico, respectivamente (Figura 10 y Anexo 21).



\*Letras distintas indican diferencias a la prueba SNK al 5%, entre tratamientos.

**FIGURA 10 Total de abejas muertas por tratamiento.**

Si esta muerte de abejas fuera causa de la aplicación de las distintas concentraciones de ácido oxálico, uno esperaría una relación directa entre la concentración del producto y la cantidad de abejas muertas encontradas. En este ensayo no se observó esta relación, y es así como para el tratamiento con la aplicación de ácido al 10%, se encontraron  $73.66 \pm 103.12$  abejas muertas, mientras que para una concentración mayor de ácido oxálico (20%), se observó una mortalidad menor de abejas  $7.25 \pm 2.62$ . Debido a estos antecedentes podemos asumir que esta mortalidad de abejas se debió a factores ajenos a la aplicación del producto que podrían estar relacionados con la fortaleza de las colmenas de este grupo, y esto relacionado con la carga de varroas dentro de las colmenas, ya que las colmenas tratadas con ácido oxálico al 10% inicialmente tenían una alta caída natural de varroas (Figura 7), aunque estadísticamente no se encontraron diferencias estadísticas para este

parámetro. Esto podría explicar una mayor debilidad de este grupo de colmenas y por consiguiente una mayor susceptibilidad al ácido oxálico.

Al comparar los datos de PORTALES (2003), quien encontró entre 0.07 y 0.18 abejas muertas por día, y los del presente ensayo, 0.16 y 2.9 abejas muertas por día, se puede apreciar una mortalidad natural de abejas que en general es baja, pero para los valores obtenidos en este ensayo fueron un poco superiores, con respecto al ensayo citado, producto probablemente de la época en que se realizan los ensayos, ya que en otoño hay una menor postura de la reina y la abeja que está quedando en la colmena para pasar el invierno es más vieja, y por lo tanto más propensa a morir debido a las inclemencias del clima y factores exógenos como el manejo y aplicación de productos.

Con respecto a las diferencias que se pudieran encontrar con respecto al número de abejas muertas, considerando los efectos parciales de cada aplicación, los análisis estadísticos realizados a los datos, no mostraron diferencias significativas para los distintos tratamientos (Cuadro 9 y Anexos 22, 23, 24 y 25).

Ahora dejando de lado los resultados obtenidos de los análisis estadísticos, y observando los promedios de abejas muertas encontradas para cada aplicación y el total de abejas muertas encontradas (Figura 10, Figura 11 y Cuadro 10), se puede evidenciar que dentro de cada aplicación siempre fue mayor el número de abejas muertas encontradas para los tratamientos 0 y 10% de ácido oxálico. Para esta observación no se encontró respuesta lógica al analizar los resultados obtenidos con las otras variables estudiadas, lo que se puede deber al error experimental del ensayo realizado<sup>2</sup>.

---

<sup>2</sup> CARRILLO, R (2006). Ingeniero Agrónomo, M. Sc., Ph. D. Universidad Austral de Chile. Comunicación Personal.

**CUADRO 9 Abejas muertas encontradas dentro de cada aplicación.**

Abejas muertas											
Trat <sup>5</sup>	1°		2°		3°		4° Aplicación				
	Aplicación	Trat	Aplicación	Trat	Aplicación	Trat	(promedio±SD) <sup>4</sup>				
	(mediana) <sup>1</sup>		(mediana) <sup>2</sup>		(mediana) <sup>3</sup>						
T <sub>14</sub>	0.00	a	T <sub>24</sub>	1.00	a	T <sub>34</sub>	0.00	a	T <sub>44</sub>	2.33±3.21	a
T <sub>11</sub>	1.00	a	T <sub>21</sub>	4.00	a	T <sub>31</sub>	2.00	a	T <sub>41</sub>	4.24±6.50	a
T <sub>13</sub>	0.00	a	T <sub>23</sub>	1.00	a	T <sub>33</sub>	1.50	a	T <sub>43</sub>	1.25±1.25	a
T <sub>15</sub>	6.00	a	T <sub>25</sub>	9.00	a	T <sub>35</sub>	2.00	a	T <sub>45</sub>	37.00±53.77	a
T <sub>12</sub>	0.00	a	T <sub>22</sub>	4.00	a	T <sub>32</sub>	0.00	a	T <sub>42</sub>	3.25±3.77	a

<sup>1,2,3</sup>. Letras distintas indican diferencias estadísticas para Kruskal-Wallis al 5%, para cada aplicación.

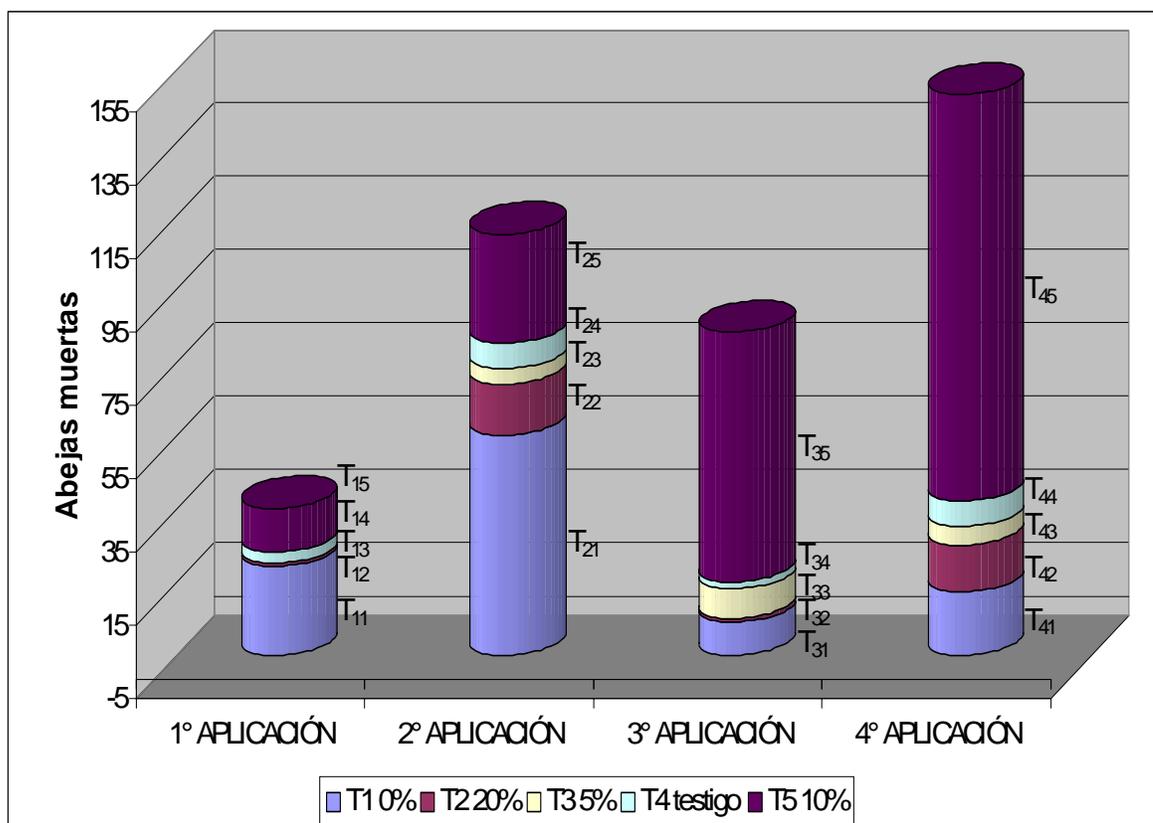
<sup>4</sup>. Letras distintas indican diferencias a la prueba SNK al 5%, para cada aplicación.

<sup>5</sup>. Tratamiento.

**CUADRO 10 Promedio de abejas muertas encontradas, luego de cada aplicación.**

Abejas muertas							
Trat <sup>1</sup>	1° Aplicación	Trat	2° Aplicación	Trat	3° Aplicación	Trat	4° Aplicación
T <sub>14</sub>	1.00	T <sub>24</sub>	2.33	T <sub>34</sub>	0.67	T <sub>44</sub>	2.33
T <sub>11</sub>	6.00	T <sub>21</sub>	15.00	T <sub>31</sub>	2.25	T <sub>41</sub>	4.25
T <sub>13</sub>	0.00	T <sub>23</sub>	1.00	T <sub>33</sub>	2.00	T <sub>43</sub>	1.25
T <sub>15</sub>	3.00	T <sub>25</sub>	10.00	T <sub>35</sub>	22.67	T <sub>45</sub>	37.00
T <sub>12</sub>	0.25	T <sub>22</sub>	3.50	T <sub>32</sub>	0.25	T <sub>42</sub>	3.25

<sup>1</sup>. Tratamiento.



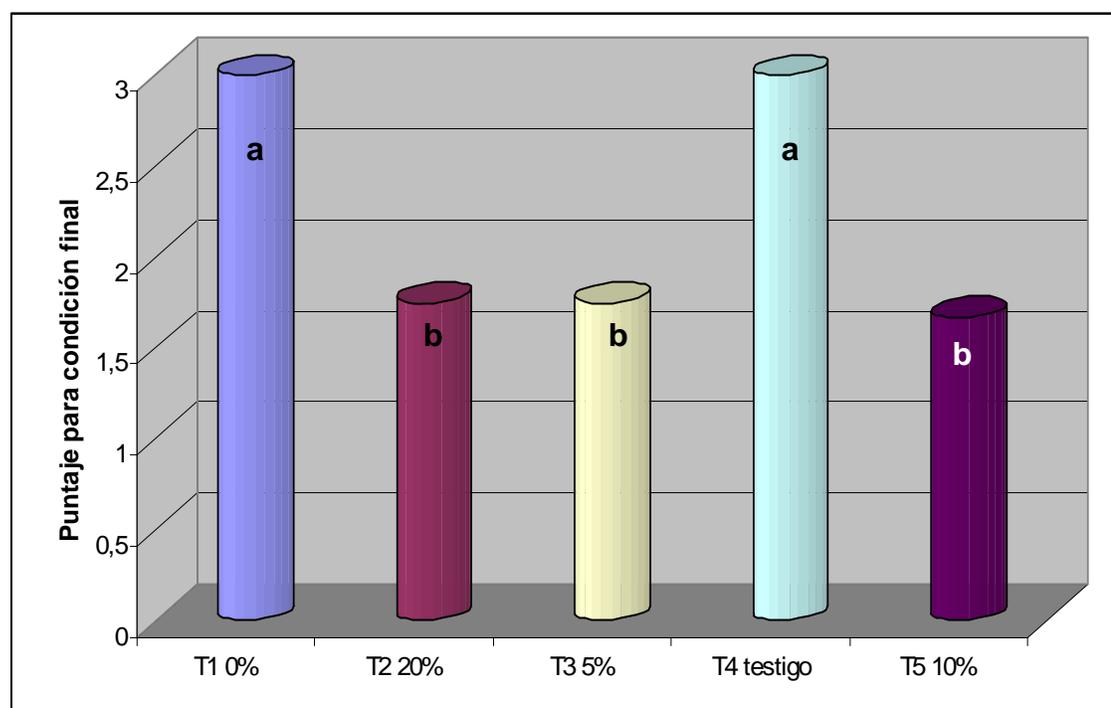
**FIGURA 11** Número de abejas muertas encontradas, dentro de cada aplicación.

**4.2.3 Condición final presentada por las colmenas.** Relacionado con la variable anteriormente discutida, la evaluación de la condición final que presentaron las colmenas luego de la aplicación reiterada de ácido oxálico, se muestra como un punto interesante de analizar para observar el efecto del ácido sobre las familias de abejas.

Estos valores relativos asignados a cada condición final presentada por los distintos grupos de colmenas, al ser sometidos a análisis estadístico arrojaron diferencias significativas (Anexo 26).

En el Figura 12 y Anexo 27, se puede apreciar el claro efecto detrimental que tiene el ácido oxálico sobre la vida de las abejas. Los grupos de colmenas

que no fueron sometidas a la aplicación del ácido (tratamiento 0% y tratamiento testigo), mostraron una condición final con un puntaje promedio de 3 (buena), mientras que las colmenas a las cuales se les aplicó el ácido oxálico mostraron un puntaje menor al obtenido por los tratamientos antes mencionados, puntaje promedio de 2 (regular) para los tratamientos con 10 y 20% y puntaje de 1.5 para el tratamiento al 5% de ácido oxálico, por lo tanto se rechaza la hipótesis de que el ácido oxálico, aplicado en período otoñal, tiene efecto sobre la población forética del ácaro *Varroa destructor*, sin alterar el comportamiento y desarrollo normal de su hospedero *A. mellifera*.



\*Letras distintas indican diferencias estadísticas para Kruskal-Wallis al 5%, entre los tratamientos.

**FIGURA 12 Condición final presentada por las colmenas luego de cuatro aplicaciones con ácido oxálico.**

Según CHARRIERE *et al.* (1999), se puede observar un debilitamiento general de la colmena cuando inician su actividad en primavera, cuando se aplica una solución de ácido oxálico al 10%.

Con estos datos se corrobora lo observado por ARCULEO (2000); CHARRIERE y IMDORF (2001) relacionado con el efecto nocivo que tiene el ácido oxálico sobre las abejas. También se corrobora la relación positiva de su concentración con la densidad poblacional que se puede encontrar en la colmena al final de tratamiento.

Uno esperaría que sí el ácido oxálico tiene un efecto negativo sobre las abejas, éste debiera de haberse reflejado en la variable antes estudiada (número de abejas muertas), pero no fue así. Esto tal vez se deba a que la abeja al ingerir el jarabe junto con el ácido, provoque algún trastorno en los sistemas vitales de la misma, y ésta al “sentir” que va a morir, abandone la colmena y lo haga lejos de ésta, como un mecanismo para salvaguardar la integridad de la colmena<sup>3</sup>.

#### **4.3 Evaluación del efecto del ácido oxálico sobre *Varroa destructor*.**

A continuación se exponen los resultados obtenidos para las variables relacionadas con el efecto que tiene el ácido oxálico sobre el ácaro *V. destructor*.

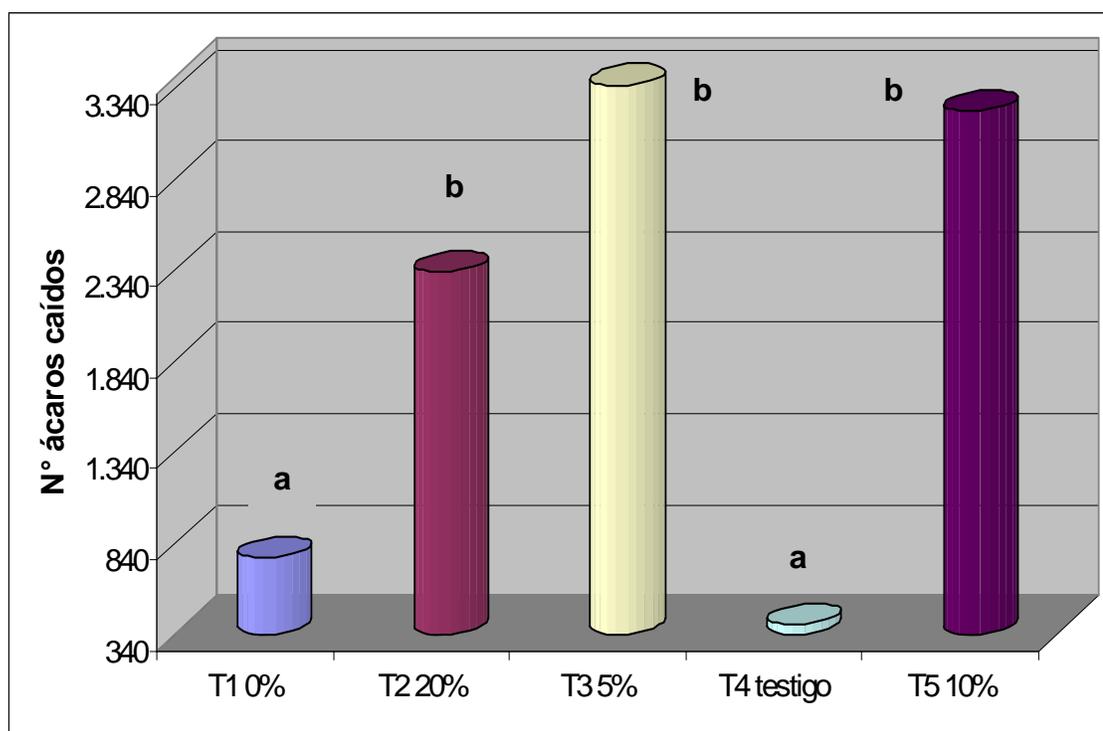
**4.3.1 Caída de varroas.** La evaluación de este parámetro considero el recuento de las varroas caídas sobre la trampa en un lapso de cinco días, ya sea muertas o vivas, se incluyeron éstas últimas ya que la trampa al contener vaselina las dejaba atrapada, sin la posibilidad de volver a reinfestar a las abejas.

Al someter a análisis estadístico los datos de caída de varroas, estos denotaron diferencias significativas con respecto al testigo (Anexos 28 y 29).

---

<sup>3</sup> NEIRA, M. (2005). Ingeniero Agrónomo, Profesor Apicultura, Universidad Austral de Chile. Comunicación Personal.

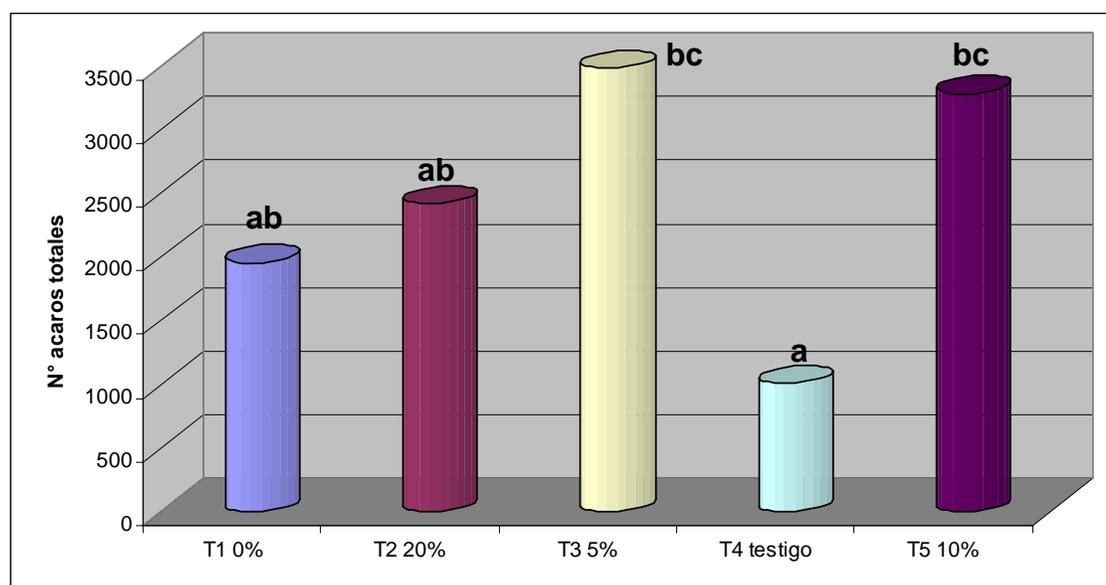
Luego de este análisis se puede evidenciar un claro efecto del ácido sobre los ácaros foréticos. Para los tratamientos que no recibieron ácido oxálico, tratamiento testigo y tratamiento 0% los promedios de ácaros caídos fueron de  $391.33 \pm 126.27$  y  $757.25 \pm 465.73$ , respectivamente, mientras que los ensayos con ácido oxálico la caída promedio de ácaros fue de  $3353.75 \pm 1465.13$ ,  $3213.00 \pm 222.70$  y  $2331.00 \pm 899.02$ , para los tratamientos al 5, 10 y 20% de ácido (Figura 13 y Anexo 30). Por el sólo hecho de la aplicación del ácido, están cayendo sobre el 500% de las varroas que caen naturalmente. Según BARBERO *et al.* (1997), la idea de una aplicación otoñal de ácido oxálico es provocar una limpieza radical de varroas y ojalá dentro de la colmena no queden más de 20 ácaros.



\*Letras distintas indican diferencias a la prueba SNK al 95%, entre los tratamientos.

**FIGURA 13 Promedio ácaros totales caídos en los distintos tratamientos.**

Aunque estadísticamente los valores de caída promedio de ácaros para los tratamientos con ácido oxálico son iguales, se esperaría que el tratamiento con 20% del ácido fuera superior a los tratamientos con menor concentración. Según PORTALES (2003), esta discrepancia en los resultados se podría explicar por la cantidad de ácaros existentes en las colmenas. Al observar los datos de ácaros totales presentes en las colmenas (Anexo 31), y ordenarlos de menor a mayor, tenemos testigo, 0% oxálico, 20% oxálico, 10% oxálico y 5% oxálico, orden que se repite al ordenar los datos de ácaros totales caídos por tratamientos (Anexo 30). Esto hace suponer que la caída de varroas en esta investigación está relacionada no sólo con la efectividad de los tratamientos, sino también con el número total de ácaros que existen en las colmenas, valor que estadísticamente es diferente para los distintos tratamientos (Figura 14 y Anexos 31, 32 y 33). Esta observación la reafirma un análisis de correlación entre la cantidad total de ácaros existentes en las colmenas y el total de ácaros caídos dentro de cada tratamiento, dando un coeficiente de correlación de 0.95 (Anexo 34).



Letras distintas indican diferencias a la prueba SNK al 95%, entre los tratamientos.

**FIGURA 14 Promedio ácaros presentes en las colmenas.**

CALDERONE (1999), indica que entre el porcentaje de infestación y la caída de ácaros no existe una relación, ya que colmenas con un mismo porcentaje de infestación pueden tener un número diferente de abejas y por lo tanto un número diferentes que ácaros que pueden ser afectados por los tratamientos. Esto es reafirmado por HIGES *et al.* (1999), quienes en un ensayo utilizando rotenona, no encontraron una relación entre las eficacias obtenidas con el vigor de las colmenas ni con la población total de ácaros existentes.

Según lo antes expuesto el análisis de caída de varroas no sería un parámetro muy exacto para medir la eficacia de un tratamiento varroicida, salvo que todas las colmenas presentaran la misma cantidad de varroas, pero si puede ser útil para cuantificar el efecto acaricida de un producto.

Esta caída de ácaros esta sobrestimada por la caída natural de ácaros, la que según WEBSTER *et al.* (2000), un 44% corresponde a ácaros vivos que caen naturalmente dentro de las colmenas.

4.3.1.1 Caída parcial de varroas dentro de cada aplicación. Al someter a análisis estadístico los datos sobre la caída de varroas, pero viendo las diferencias dentro de cada oportunidad de aplicación, los resultados muestran sólo diferencias para la primera aplicación, mientras que en las posteriores aplicaciones de ácido oxálico no se registraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos (Anexos 35, 36, 37, 38 y 39).

Para la primera aplicación, los tratamientos con ácido oxálico fueron muy superiores al testigo y tratamiento sin ácido, la caída promedio registrada fue de  $170.66 \pm 70.35$  para el testigo y  $260.25 \pm 151.64$  para el tratamiento 0% ácido oxálico, mientras que para los tratamientos con 5, 10 y 20% de ácido la caída registrada fue de  $2242.75 \pm 1012.84$ ,  $2909.67 \pm 512.13$  y  $1931.00 \pm 550.70$  respectivamente (Cuadro 11). Para las siguientes aplicaciones los valores de

caída del ácaro no sobrepasaron los 200 individuos, salvo en la segunda aplicación, el tratamiento con 5% de ácido que registró una caída de  $578.50 \pm 446.98$  ácaros (Cuadro 11).

**CUADRO 11 Promedio de ácaros caídos dentro de cada aplicación.**

Ácaros caídos (promedio $\pm$ SD)						
Trat <sup>1</sup>	1° Aplicación			Trat	2° Aplicación	
T <sub>14</sub>	170.66 $\pm$ 70.35	a		T <sub>24</sub>	117.66 $\pm$ 55.19	a
T <sub>11</sub>	260.25 $\pm$ 151.64	a		T <sub>21</sub>	167.00 $\pm$ 114.77	a
T <sub>13</sub>	2242.75 $\pm$ 1012.84	b		T <sub>23</sub>	578.50 $\pm$ 446.98	a
T <sub>15</sub>	2909.67 $\pm$ 513.13	b		T <sub>25</sub>	210.66 $\pm$ 221.12	a
T <sub>12</sub>	1931.00 $\pm$ 550.70	b		T <sub>22</sub>	194.00 $\pm$ 233.76	a
3° Aplicación			4° Aplicación			
T <sub>34</sub>	67.66 $\pm$ 26.15	a		T <sub>44</sub>	35.33 $\pm$ 25.57	a
T <sub>21</sub>	174.00 $\pm$ 106.66	a		T <sub>41</sub>	156.00 $\pm$ 103.96	a
T <sub>23</sub>	360.75 $\pm$ 463.00	a		T <sub>43</sub>	171.75 $\pm$ 112.63	a
T <sub>25</sub>	56.33 $\pm$ 37.07	a		T <sub>45</sub>	36.33 $\pm$ 52.69	a
T <sub>22</sub>	130.00 $\pm$ 74.93	a		T <sub>42</sub>	76.00 $\pm$ 76.54	a

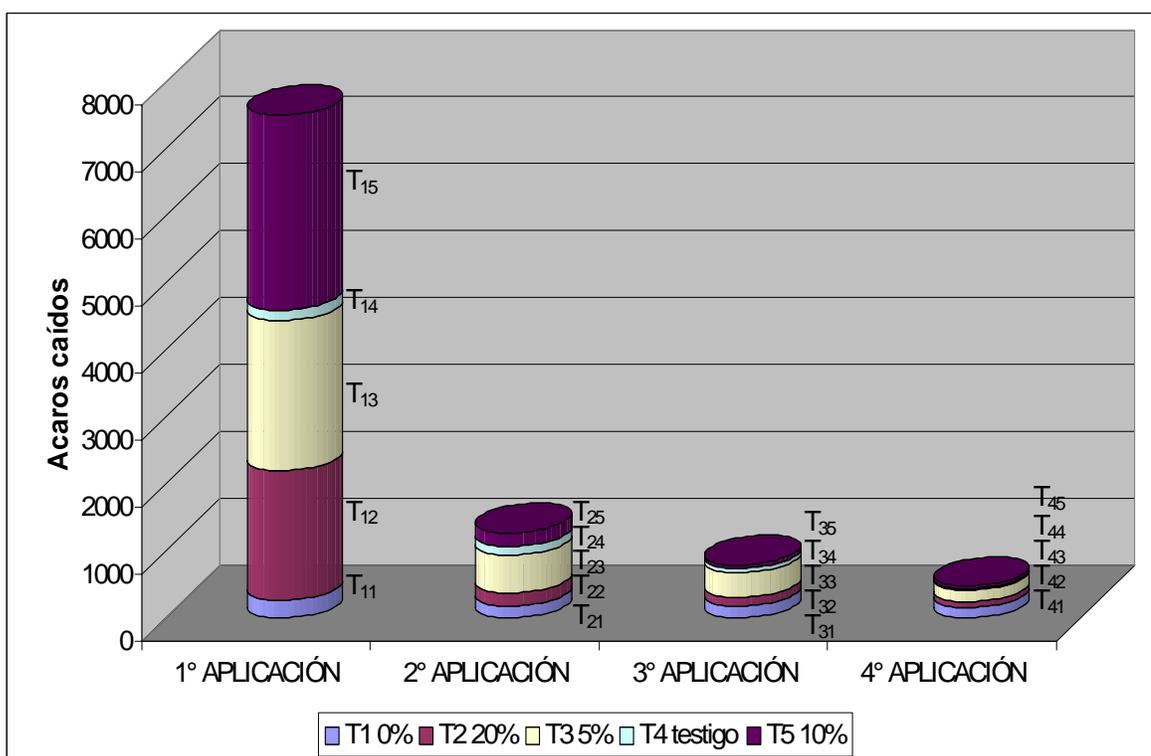
\* Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 95%, dentro de cada aplicación.

<sup>1</sup>. Tratamiento

Con esto se corrobora lo dicho por BARBERO *et al* (1997), que la caída máxima de varroas se puede observar al tercer día de la aplicación y que luego disminuye paulatinamente, hasta cesar al cabo de 10 días, esto ocurre en ausencia de cría, mientras que existiendo cría luego de una cuarta aplicación de ácido oxálico, todavía es posible registrar caída de varroas (aplicaciones cada 4 días). En experiencias realizadas por MARIANI *et al* (2002), encontraron que la máxima mortalidad de varroas se puede observar 24 horas post-aplicación, esta

caída representa el 63% de la eficacia media, para una aplicación de ácido oxálico al 5%.

Al observar el Cuadro 11 y Figura 15, se puede apreciar claramente el buen efecto de derribe que posee el ácido sobre los ácaros foréticos, cayendo la mayor proporción de éstos sólo con la primera aplicación, ya que la caída para las siguientes se mantiene constante y en baja cantidad. Luego de la primera aplicación de ácido oxálico, están cayendo en promedio entre 386 a 581 ácaros por día, y según IMDORF y CHARRIERE (1999), cayendo más de 30 ácaros por día se obtiene un control inmediato de la parasitosis.



**FIGURA 15 Promedio de ácaros caídos dentro de cada aplicación.**

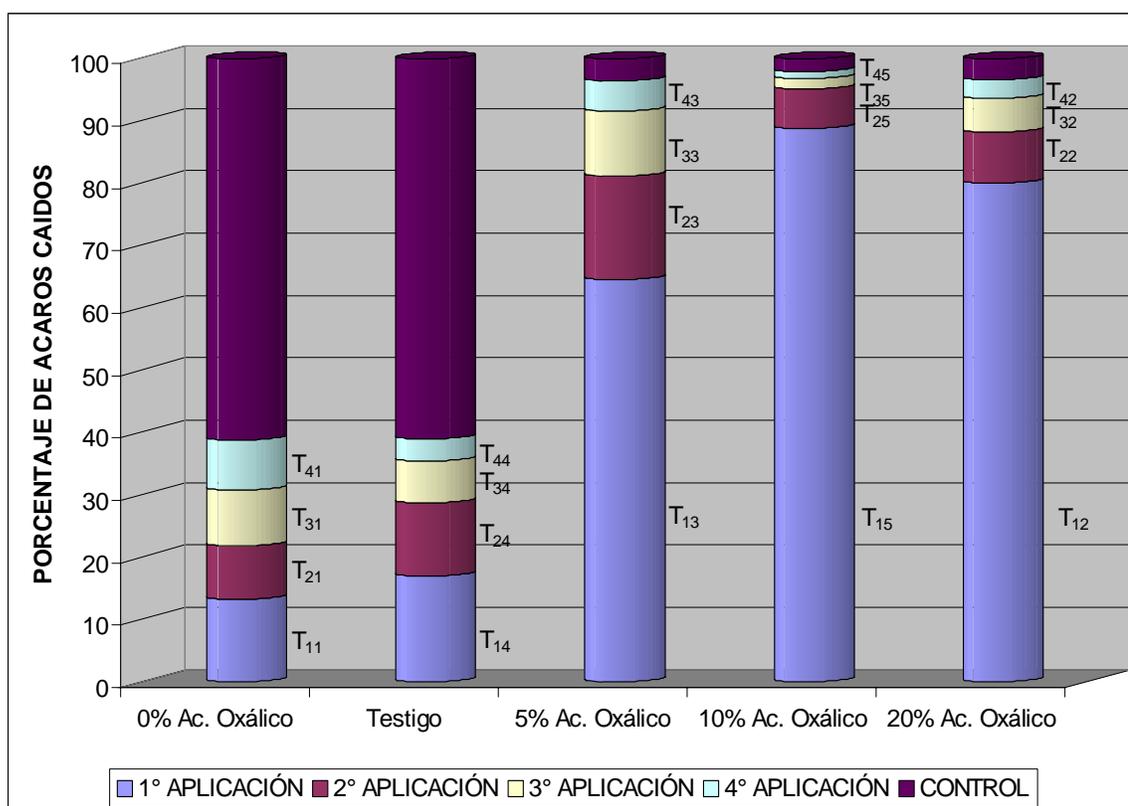
En la Figura 16 se puede apreciar de mejor manera este efecto de derribe del ácido sobre los ácaros foréticos. Para los tratamientos con 5, 10 y 20% de ácido oxálico, en la primera aplicación caen sobre el 50% de los ácaros presentes en las colmenas, y se observa claramente que ha mayor

concentración del ácido el efecto de derribe es positivamente proporcional a éste, con una concentración del 5% caen, en la primera aplicación alrededor del 64.48% de los ácaros presentes en la colmena, mientras que para los tratamientos con 10 y 20% caen el 88.71 y 80.07% de los ácaros, respectivamente.

Al hacer un cálculo sobre estos datos, y asumiendo que en época de otoño en la colmena hay unos 35000 individuos y viendo el porcentaje de ácaros que cae por efecto del ácido oxálico, se puede llegar a un valor empírico, que luego de la primera aplicación de ácido oxálico la infestación de varroas sobre abejas adultas fue del orden del 2.02 a 2.56%, valor de infestación aceptable y manejable para colmenas que están en proceso productivo, y de esta manera comenzar la primavera con una baja tasa de infestación que puede ser controlada con otros métodos alternativos (cuadros zanganeros, aceites esenciales).

El cálculo antes realizado se puede hacer para la segunda aplicación de ácido oxálico, en la cual el porcentaje acumulado de ácaros caído es de 81.1, 95.1 y 88.1% para los tratamientos al 5, 10 y 20% respectivamente (Figura 16). De esta manera, luego de la segunda aplicación de ácido oxálico, el porcentaje de infestación de varroa sobre abejas adultas desciende a valores del orden de 0.28 a 1.08%.

Por otra parte, luego de las cuatro aplicaciones de ácido oxálico, para los tratamientos 5, 10 y 20%, la cantidad promedio de ácaros residuales fue de  $124.50 \pm 41.22$ ,  $67.00 \pm 64.11$  y  $80.50 \pm 23.81$ , respectivamente (Cuadro 12), valores sin diferencia estadística, entre ellos (Anexos 40 y 41). Estos valores equivalen a alrededor un 2 a 3% (Figura 16), con lo que estaríamos obteniendo infestación del orden del 0.14 a 0.21%.



**FIGURA 16** Porcentaje acumulado de ácaros caídos para cada tratamiento.

En el título del subcapítulo 4.3.2 se observó que las cuatro aplicaciones del ácido tienen efecto nocivo sobre la población de abejas, ahora con lo antes expuesto y asumiendo una baja cantidad de cría operculada dentro de la colmena, que es posible observar en período de otoño, se podría disminuir el número de aplicaciones del ácido para que el efecto nocivo sobre las abejas también sea mínimo. Según BARBERO *et al.* (1997), la repetición de una aplicación con ácido oxálico debe realizarse siempre y cuando caigan más de 200 ácaros luego de una determinada aplicación.

En los tratamientos que no recibieron ácido oxálico (testigo y tratamiento al 0%), la caída de ácaros residuales por efecto del Apistan<sup>®</sup> es 60.97 y 91.21% (Figura 16), lo que en promedio equivale a  $611.33 \pm 98.00$  y  $1194.75 \pm 436.40$

ácaros, respectivamente (Cuadro 12). Con esto podemos observar que la caída natural de varroas en estas colmenas y para un período de 25 días, es de 39.03 y 38.79% para los tratamientos testigo y 0% de ácido oxálico, respectivamente. Datos que no se alejan a los propuestos por WEBSTER *et al.* (2000), quien señala que un 44% de las varroas caen en forma natural

**CUADRO 12 Promedio ácaros caídos por efecto del Apistan®.**

Tratamientos	Acaros caídos (promedio±DS)	
T5 10%	67.00±64.11	a
T2 20%	80.50±23.81	a
T3 5%	124.50±41.22	a
T4 testigo	611.33±98.00	b
T1 0%	1194.75±436.40	c

Letras distintas indican diferencias a la prueba SNK al 95%.

#### 4.3.2 Porcentaje de infestación de las distintas colmenas en observación.

El análisis del porcentaje de infestación de varroas sobre abejas adultas tiene por objetivo observar como varia ésta luego de la primera y cuarta oportunidad de aplicación de ácido oxálico y así ver la capacidad del ácido de disminuir esta carga de varroas sobre las abejas.

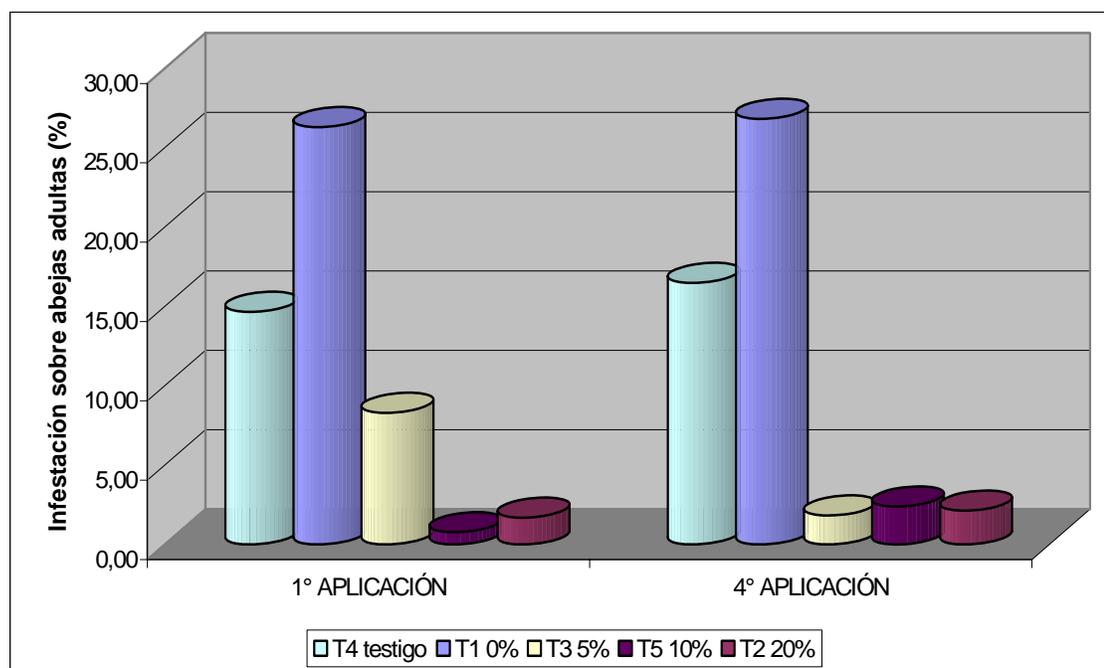
Al someter los datos al análisis estadístico correspondiente, éste arrojó diferencias significativas, para los distintos tratamientos en la primera y cuarta aplicación de ácido oxálico (Anexos 42, 43 y 44).

Luego de la primera aplicación los valores promedios de infestación sobre abejas adultas, para los tratamientos con ácido oxálico descendieron a  $8.28 \pm 6.70$ ,  $0.76 \pm 1.32$  y  $1.67 \pm 1.91\%$ , para los tratamientos al 5, 10 y 20% de ácido oxálico (Figura 17 y Anexo 45). Estos grupos de colmenas al inicio del

ensayo tenían un porcentaje de infestación de  $21.52 \pm 1.53$ ,  $19.48 \pm 6.42$  y  $23.10 \pm 13.29\%$ , respectivamente (Anexo 11). Esta importante disminución del porcentaje de infestación nos ratifica lo expuesto en el título 4.3.1.1 sobre la buena capacidad de derribe del ácido oxálico sobre el ácaro, y es otro dato importante a considerar para la realización de una sola aplicación y así aminorar el efecto perjudicial sobre las abejas.

Las colmenas que no recibieron tratamiento con ácido oxálico (tratamiento testigo y tratamiento 0%), presentaron  $14.65 \pm 8.90$  y  $26.28 \pm 4.04\%$  de infestación sobre abejas adultas, respectivamente, luego de la primera aplicación (Anexo 45). Estas colmenas inicialmente tenían un nivel de infestación del  $14.85 \pm 7.63\%$  para el tratamiento testigo y  $21.64 \pm 8.65\%$  para el tratamiento 0% ácido oxálico (Anexo 11). Estos niveles de infestación se mantuvieron constantes para el caso del testigo y aumentaron para el grupo de colmenas tratadas sólo con jarabe. Esta observación era de esperar ya que al transcurrir el tiempo fueron emergiendo las pocas crías operculadas presentes en estas colmenas.

Luego de la cuarta aplicación, los porcentajes de infestación promedio sobre abejas adultas para las colmenas tratadas con ácido oxálico fueron  $1.82 \pm 3.23$ ,  $2.39 \pm 1.50$  y  $2.13 \pm 1.09\%$  para los tratamientos al 5, 10 y 20%, respectivamente (Anexo 45). Aquí se observa un pequeño aumento en este indicador para las colmenas tratadas con 10 y 20% de ácido, con respecto a la primera aplicación. Este hecho se puede explicar por la mayor pérdida de abejas que experimentaron estas colmenas al recibir mayor cantidad de ingrediente activo en cada tratamiento, no así la colmena tratada con 5% de ácido oxálico, que luego de la cuarta aplicación disminuyó el porcentaje de infestación con respecto a la primera aplicación.



**FIGURA 17** Porcentaje de infestación promedio luego de las aplicaciones de ácido oxálico.

Como era de esperar, en los tratamientos que no recibieron ácido oxálico el porcentaje de infestación fue en aumento, llegando a valores de  $16.47 \pm 10.29$  y  $26.82 \pm 1.7\%$  para los tratamientos testigos y 0% ácido oxálico, respectivamente (Figura 17). Con este hecho queda clara la necesidad de un control otoñal de la varroa, ya que niveles de infestación de esta magnitud harán colapsar colmenas en producción, ya sea durante el invierno o bien a inicios de la primavera siguiente.

4.3.2.1 Porcentaje de infestación de varroa luego de la aplicación del producto control. Para tener una idea del efecto sobre el derribe de ácaros por efecto del Apistan<sup>®</sup> y corroborar la alta efectividad mencionada por sus fabricantes, es que luego de la aplicación de este producto se realizaron tomas de muestras de abejas para ver el porcentaje de infestación sobre las abejas

adultas. Estos datos al someterlos a análisis arrojaron diferencias significativas (Anexos 46 y 47).

Al observar los datos promedios de infestación sobre abejas adultas (Figura 18 y Anexo 47), los tratamientos con ácido oxálico, tratamiento 5, 10 y 20%, presentan porcentajes de infestación cercanos a cero,  $0.16 \pm 0.33$ ,  $0.17 \pm 0.29$  y  $0.29 \pm 0.55\%$ , respectivamente. Los valores de infestación para los tratamientos que no recibieron ácido se mantienen mayores al 5%,  $7.50 \pm 8.03\%$  para el testigo y  $5.17 \pm 8.08\%$  para el tratamiento 0%, esto era de esperar ya que estas colmenas al llegar al final del ensayo presentaban una carga de varroas mayores a las que recibieron tratamiento.

#### **4.4 Efectividad en el control de varroa de los distintos tratamientos.**

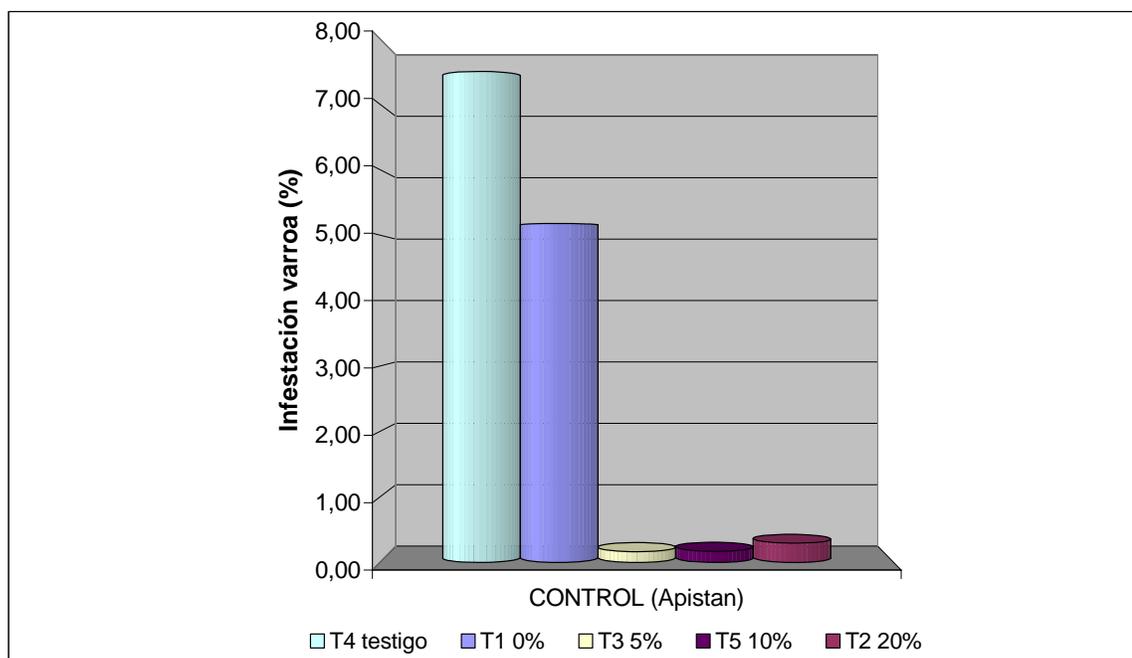
Otra forma de evaluar la efectividad de un tratamiento acaricida, es comparar las varroas caídas por efecto del tratamiento con un producto de eficacia conocida (HIGES y LLORENTE, 1997).

Con estos resultados podemos corroborar lo mencionado por los fabricantes de Apistan<sup>®</sup>, este producto tiene una alta efectividad en el control de varroa, bajando los porcentajes de infestación a niveles tolerables para una producción sostenible en el tiempo.

Al calcular la eficacia de las cuatro aplicaciones de ácido oxálico, según la ecuación n° 3.1, y luego ésta someterla a análisis estadístico, los resultados muestran que hay diferencias significativas para los distintos tratamientos (Anexo 48).

Se puede observar una alta eficacia para los tratamientos con ácido oxálico, así los tratamientos al 5, 10 y 20% de concentración provocaron una eficacia promedio de  $96.21 \pm 0.63$ ,  $97.90 \pm 2.07$  y  $96.49 \pm 1.06\%$  respectivamente

(Figura 19 y Anexo 49). Según estos datos la aplicación del ácido oxálico es altamente eficaz en el control del ácaro, ya que para Colin y Faucon (1984), citados por HIGES y LLORENTE (1997), un tratamiento acaricida para que sea realmente eficaz debe por lo menos matar al 95% de los ácaros presentes en la colmena.

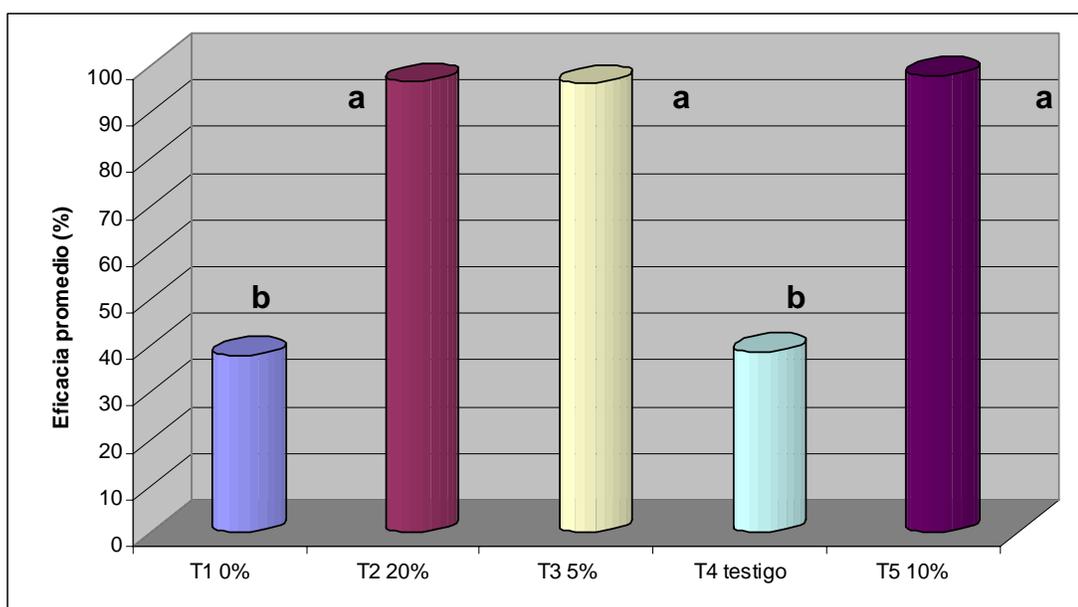


**FIGURA 18 Porcentaje de infestación promedio luego de la aplicación de Apistan®.**

Esta capacidad de bajar el nivel de varroas sobre las abejas con la aplicación del ácido oxálico es comparada con la eficacia de productos químicos como Amitraz, la cual alcanza al 95% (HIGES *et al.*, 1999) y cercana al fluvalinato y flumetrina que asciende al 100% (FERRER *et al.*, 1991), y la de los aceites esenciales que varía entre 90 a 97% (IMDORF y CHARRIERE, 1999).

Estas altas eficacias también son señaladas por CHARRIERE y IMDORF (2002), quienes encontraron eficacias mayores al 95% al aplicar concentraciones del ácido de 3, 3.7 y 4.5%, cabe destacar que estos autores

encontraron que la adición del ácido en solución azucarada tiene una mejor efectividad sobre el control de varroa y además, el producto es mejor tolerado por las abejas. Es así como la aplicación de una solución azucarada en concentración 1:1 (azúcar/agua) con un 4.5% de ácido oxálico, es mejor tolerado por las abejas y tiene mayor efectividad que la misma concentración del ácido, pero en jarabe 1:2 (azúcar/agua). Eficacias sobre el 81% también fueron encontradas por MARIANI *et al.* (2002), aplicando soluciones azucaradas al 33%p/v con un 7% de ácido oxálico, tres veces a intervalos de 7 días. Además, ARCULEO (2000), señala eficacias de 94.1% sin cría de abejas y 82.8% con cría, para la aplicación del ácido al 10% en solución azucarada 1:1, y 87% sin cría, para concentraciones del ácido al 7% en jarabe 1:1, y CHAERRIERE *et al.* (1999), encontró eficacias promedio del 98.5% en 95 colmenas tratadas con ácido oxálico al 10%.



\*Letras distintas indican diferencias estadísticas para Kruskal-Wallis al 95%, entre los tratamientos.

**FIGURA 19 Eficacia promedio en porcentaje de los distintos tratamientos.**

Al comparar estos resultados obtenidos, pero con el método de aplicación a través de aspersiones, los resultados son semejantes,

CHARRIERE *et al.* (1999), aplicando soluciones al 3% de ácido oxálico por este método, encontró eficacias del 98.3% y 97.4%, para ensayos realizados en los años 1994 y 1995, respectivamente.

La buena eficacia del ácido oxálico es sólo posible de encontrar cuando la aplicación se hace sobre colmenas que presentan una mínima cantidad de cría, ya que este ácido no afecta las varroas que se encuentran al interior de las celdillas operculadas (CHARRIERE y IMDORF, 1999; CHARRIERE y IMDORF, 2001). En ensayos realizados por los investigadores FLORES *et al.* (1997), aplicando este ácido en concentraciones de 3.4, 3.7 y 2.9%, en presencia de cría, encontraron eficacias promedios de 52.28, 40.66 y 39.16%, respectivamente.

Bajo estos resultados se puede observar en el ácido oxálico un importante efecto sobre las varroas, ahora este efecto no podría llamarse varroicida, ya que al momento de la contabilización de los ácaros caídos, se encontraron una gran cantidad de estos vivos. Esto nos hace suponer que el ácido en la solución azucarada al estar sobre el cuerpo de las abejas, y éstas al pasarlo a otras a través del estrecho contacto que existe, provocaría un efecto de confusión sobre los ácaros los cuales caen sobre la trampa que contiene vaselina, que los retiene. Al estar estos ácaros varios días capturados sobre la trampa y sin poderse alimentarse mueren de inanición. Esto pone de manifiesto la importancia de complementar el tratamiento con ácido oxálico con una trampa para varroa cubierta de vaselina u otra sustancia inerte que los adhiera.

En los tratamientos que no recibieron ácido oxálico, esta eficacia promedio, correspondería a la caída natural del ácaro, la que fue de  $38.71 \pm 10.44\%$  para el tratamiento testigo y  $37.96 \pm 14.65$  para el tratamiento 0% (Figura 19 y Anexo 49), valores no muy lejanos a los calculados en el título 4.3.1.1 para caída natural del ácaro.

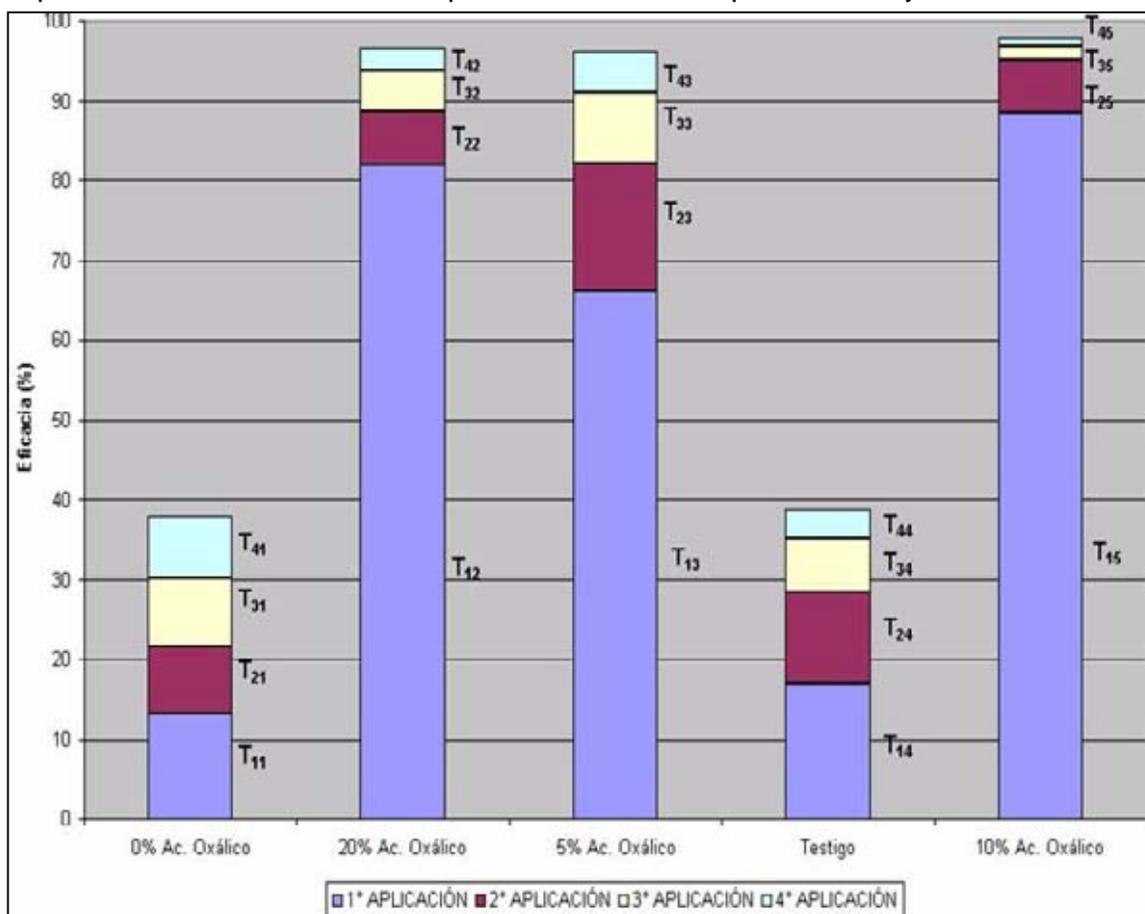
Un dato importante de analizar, es que esta caída natural de varroa que alcanza al 40% de los ácaros que pueden existir en las colmenas, al existir una baja carga sobre las abejas, y en la llamada “apicultura orgánica” se puede controlar con la introducción de trampas impregnadas con vaselina, y así poder eliminar periódicamente los ácaros que se desprenden de las abejas naturalmente, los que de otra manera las reinfestarían.

Por otra parte, IMDORF y CHARRIERE (1999), señalan que el control alternativo del ácaro, es sólo útil si se usa una estrategia de control, con monitoreos del porcentaje de infestación en período de primavera-verano, y en período verano-otoño con la aplicación de tratamientos prolongados de ácido fórmico o timol y en otoño con ácido oxálico.

Al analizar las eficacias parciales de cada aplicación, como una eficacia acumulada, el análisis estadístico mostró diferencias significativas sólo para la primera, tercera y cuarta aplicación, dentro de la segunda aplicación no se encontraron diferencias significativas para los distintos tratamientos (Anexos 50, 51, 52, 53, 54, 55 y 56).

En los resultados entregados en el Figura 20 y Anexo 57 y, podemos ver claramente como se obtienen eficacias en la primera aplicación, de  $66.05 \pm 17.00$ ,  $88.39 \pm 12.09$  y  $81.92 \pm 6.91\%$  para los tratamientos 5, 10 y 20% de ácido oxálico, respectivamente. Estos datos se acercan a los entregados por BARBERO *et al.* (1997), quien en la primera aplicación de 10% ácido oxálico en jarabe azucarado 1:1, obtuvo una eficacia del 70%. Ahora, al observar la eficacia acumulada para la segunda aplicación del ácido esta es de 82.09, 94.99 y 88.55% para los tratamientos al 5, 10 y 20%, respectivamente (Anexo 57) y ya en la tercera aplicación los tres tratamientos con ácido oxálico superan 90% de eficacia. Estos datos son corroborados por los entregados por BARBERO *et al.* (1997), quien tras la segunda aplicación de ácido oxálico

encontró una eficacia del 95%. Con estos datos podemos reafirmar, que para disminuir el efecto nocivo del ácido sobre las abejas, realizar sólo dos o tres aplicaciones del ácido, ya que la efectividad que se alcanza con este bajo número de repeticiones del tratamiento es suficiente para mantener una población de ácaros tolerable por las abejas, eso sí, habría que estar seguro de que exista dentro de las colmenas una baja cantidad de cría operculada y en lo especial, que este a punto de nacer, ya que de otra manera se necesitaría repetir el tratamiento con el respectivo menoscabo para las abejas.



**FIGURA 20 Eficacia acumulada promedio de los distintos tratamientos con ácido oxálico.**

Sobre la eficacia acumulada para los tratamientos que no recibieron ácido oxálico, que corresponden a la caída acumulada natural del ácaro, estos valores se mantuvieron bajos y ya en la tercera aplicación alcanzan de 35.11%

para el tratamiento testigo y 30.16% para los tratamientos con 0% de ácido oxálico y en la cuarta aplicación bordean el 40% de caída natural (Anexo 57).

Al realizar un análisis de regresión lineal con los datos de la caída acumulada (“eficacia acumulada”) para el tratamiento testigo (Figura 21 y Anexo 58), se obtiene una ecuación con un coeficiente de correlación  $r$  de 0.98, de esta manera se puede calcular cuanto tiempo se necesita para que la caída natural del ácaro sea de determinado valor, es así como para obtener una caída natural del 50% de los ácaros presentes, son necesario 30 días aproximadamente, ya que desde la formula se puede calcular el número de aplicación, y ésta se realizó cada cinco días.

Este es un dato importante de considera en una apicultura en la cual se quiere dejar de aplicar productos que contaminan la miel; si las colmenas tuvieran una baja carga de varroas y mínima cantidad de crías, y luego se realizara un manejo en el cual con una o dos aplicaciones de ácido oxálico se derribara una importante cantidad de ácaros, posteriormente se podría manejar las colmenas con la introducción de trampas de varroas cubiertas con vaselina, para eliminar estos ácaros que caen naturalmente y así obtener porcentajes de infestación sobre las abejas tolerables por éstas.

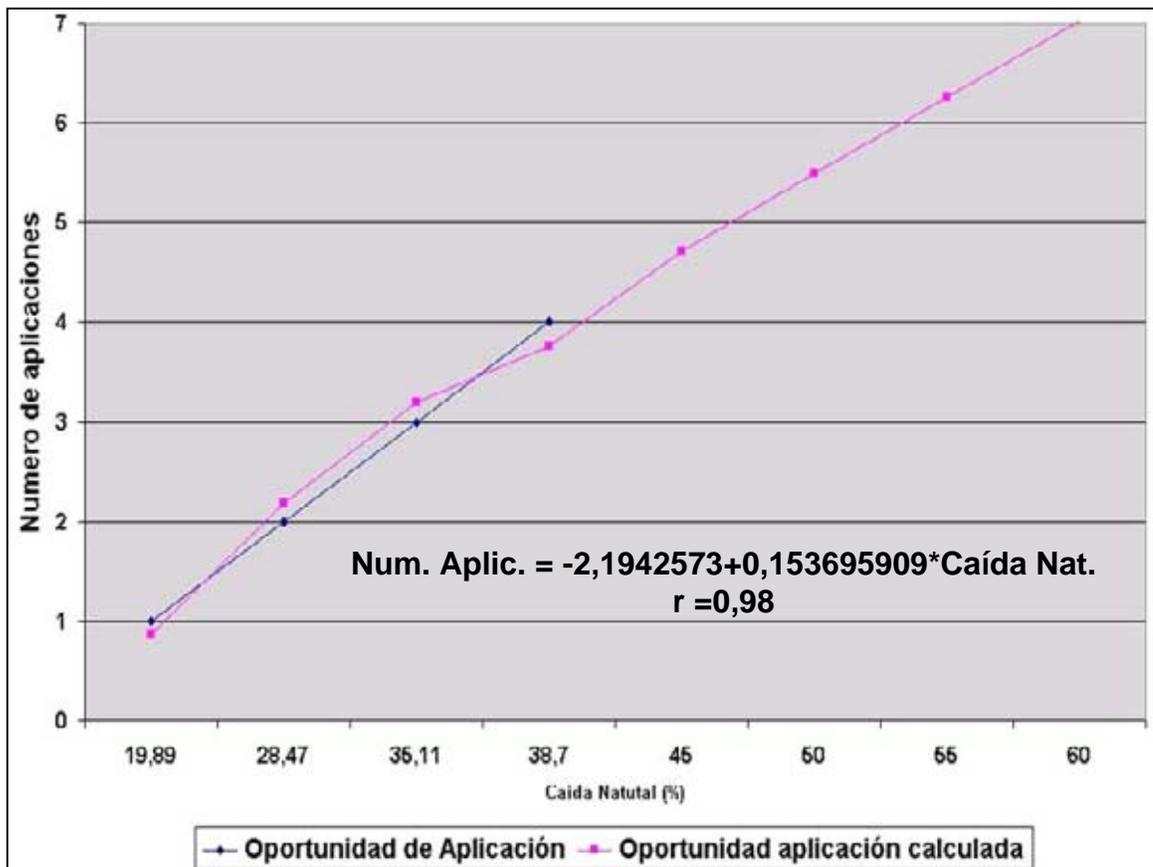


FIGURA 21 Regresión lineal para el número de aplicación.

## 5 CONCLUSIONES.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación y de acuerdo a las condiciones en la cual fue llevada a cabo, es que se puede concluir:

- La aplicación de las distintas concentraciones del ácido oxálico no modificó la conducta de pillaje dentro de las colmenas en estudio.
- No se registraron diferencias de abejas muertas entre los distintos tratamientos con ácido oxálico con respecto al testigo, eso sí, las tres concentraciones del ácido 5, 10 y 20%, provocan una notable disminución de la población de abejas dentro de la colmena.
- Se observó un buen efecto de “derribe” del ácido oxálico sobre las varroas foréticas, es así como para la segunda aplicación del ácido ya habían caído el 81.1, 95.1 y 88.1% de los ácaros presentes en las colmenas, para los tratamientos al 5, 10 y 20% respectivamente.
- El ácido oxálico ayuda a disminuir el porcentaje de infestación sobre las abejas adultas. Luego de la primera aplicación del ácido estos valores descendieron a 8.29, 0.76 y 1.68% para los tratamientos al 5, 10 y 20% de concentración, respectivamente. Estos grupos de colmenas inicialmente presentaban niveles de infestación de 21.5, 18.2 y 2.11% para los tratamientos antes mencionados.

- Se observó una alta eficacia del ácido oxálico en el control de varroa, la que en promedio ascendió a 96.2, 97.9 y 96.4%, para los tratamientos al 5, 10 y 20% de concentración, respectivamente.

## 6 RESUMEN.

Se llevó a cabo un ensayo en un apiario ubicado a 4.89Km. al noreste de la ciudad de La Unión (Décima Región), propiedad del Sr. Rodolfo Klasseen, para determinar los efectos del ácido oxálico sobre el parásito *Varroa destructor* y su hospedero *Apis mellifera*, en periodo otoñal. Los objetivos específicos fueron determinar los efectos sobre el pillaje, mortalidad de abejas y variación en la población de estos insectos, con respecto a los efectos sobre el ácaro, se propuso determinar la efectividad del producto en el control del mismo, así como la variación en la caída y porcentajes de infestación sobre las abejas de la cámara de cría.

El ensayo se realizó entre el 4 de abril y el 5 de mayo del 2002, se utilizaron 20 colmenas tipo Jumbo, divididas en 5 tratamientos con 4 repeticiones. Los tratamientos consistieron en 3 dosis de ácido oxálico (5, 10 y 20% p/v, diluidos en jarabe azucarado al 50%p/v), un tratamiento que consistió en la aplicación de jarabe azucarado al 50%p/v y un quinto tratamiento que correspondió al testigo. Los tratamientos fueron dosificados con una jeringa, de cada uno de éstos se aplicó 5cc por espacio entre marcos realmente ocupados por abejas, los que se repitieron 4 veces a intervalos de 5 días.

Los resultados obtenidos demuestran que el ácido oxálico en las tres concentraciones evaluadas tiene una buena eficacia en el control del ácaro, mayor al 95%, logrando disminuir drásticamente la carga parasitaria sobre las abejas, observado a través de la variación en el porcentaje de infestación y caída de ácaros.

En cuanto a los efectos evaluados sobre las abejas, las aplicaciones de las distintas concentraciones del ácido no alteraron la conducta de pillaje, ni los recuentos de abejas muertas encontradas en el piso de las colmenas, eso sí, se observó una clara disminución en la densidad poblacional de las abejas luego de las cuatro repeticiones del tratamiento, en comparación con las colmenas que no recibieron el producto.

## SUMMARY.

The research was carried out in an apiary located in the La Unión county, property of Mr. Rodolfo Klaseen, to determinate the effects of oxalic acid, on *Varroa destructor* and his host *Apis mellifera*. The specific objectives were to determinate the effects on food robbing, death of bees, variation in the population of bees, falling of varroas, infestation level and effectiveness of the treatments.

The experiment was carried out through out april 4<sup>th</sup> to may 25<sup>th</sup> of 2002, 20 hives Jumbo type were used, divided in 5 treatments with 4 replicates. The treatments consisted in oxalic acid (5, 10 and 20% w/v, diluted syrup 50%w/v), syrup 50%w/v and control. Treatments were applied with a syringe, 5cc were trickling into the frame realy occupied by bees, this was divided in 4 aplications made every 5 days.

The results demonstrated 95% of control with any treatments with oxalic acid, reducing varroa bee parasitism and increasing the mite falling down.

In relation to the effects found on the bees, the different concentrations of oxalic acid did not modificate food robbing and the number of dead bees found in the floor of hive, however, the population density of bees was drastically reduced after the four applications of oxalic acid, in comparison with the control treatment.

## 7 BIBLIOGRAFÍA.

- ANDERSON, D; y TRUEMAN, J. 2000. *Varroa destructor*. <<http://www.barc.usda.gov/psi/brl/mite-vj.htm>>. (20 jul 2002).
- ARCULEO, P. 2000. Ácido oxálico, experiencia realizada en el Sur de Italia. *Vida Apícola (España)* 102: 44-48.
- BAILEY, L. 1984. *Patología de las abejas*. Zaragoza, España. Acribia. 139p.
- BAKER, K; COOK, J; GARRETT, S. 1974. *Biological control of plant pathogens*. San Francisco, Estados Unidos. W. H. Freeman. 433p.
- BARBERO, R; PANELLA, F, y BONIZZONI, L. 1997. Ácido oxálico y el tratamiento de limpieza radical de otoño-invierno. *Vida Apícola (España)* 85: 8-13.
- BRODSGAARD, C; JENSEN, S; HANSEN, C; y HANSEN, H. 1999. Spring treatment with oxalic acid in honeybee colonies as varroa control. <<http://www.agrsci.dk/plb/cjb/oxal-djf.htm>>. (20 jul 2002).
- BUCHLER, R; y DRESCHER, W. 1990. Variance and heritability of the capped developmental stage in european *Apis mellifera* and its correlation with increased *Varroa jacobsoni* Oud. infestation. *Journal of Apicultural Research (Inglaterra)* 29(3): 172-176.

- CALDERONE, N. 1999. Evaluation of formic acid and a 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.
- CALDERONE, N; 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 o Economic Entomology (USA)* 88(5): 1211-1215.
- CASADO, D; RIVERA, A; GARCIA, E; LORENZO, P; y GARCIA, J. 2002. Eficacia de tres tratamientos antivarroa en distintas zonas de Galicia. *Vida Apícola (España)* 111: 43-46.
- CASANUEVA, M. 1992. Acarofauna asociada con *Apis mellifera* L. Primeros registros para Chile de *Varroa jacobsoni* Oudemans y *Melittiphis alvearius* (Berlese) (Acari, Mesostigmata). *Boletín de la Sociedad Biológica de Concepción (Chile)* 63: 51-53.
- CASTILLO, R. 1992. Varroasis, grave amenaza para la apicultura y la agricultura de nuestro país. *Chile Hortofrutícola* 5(26): 19-22.
- CHARRIERE, J, IMDORF, A. 2001. Trickling treatment with oxalic acid: trials during 1999/2000 and recommendations for Central Europe. <[http://www.apis.admin.ch/index\\_e.htm](http://www.apis.admin.ch/index_e.htm)>. 20 julio 2002.
- CHARRIERE, J, y IMDORF, A. 2002. Oxalic acid treatment by trickling against *Varroa destructor*. recommendations for use in central Europe and under temperate climate conditions. *BeeWorld (Inglaterra)* 83(2): 51-60.

- CHARRIERE, J, y IMDORF, A; FLURI, P. 1999. Ácido oxálico ¿qué podemos esperar de su empleo en la lucha contra Varroa?. Vida Apícola (España) 96: 18-20.
- CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA, SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO (SAG). 1994. Control de la varroasis de las abejas. Convenio FAO-SAG. 20p.
- COMUNIDAD ECONOMICA EUROPEA, 1999. Reglamento (CE) n°1804/1999, sobre la producción agrícola ecológica y su indicación en los productos agrarios y alimenticios (Diario Oficial n° L222 de 24/08/1999 p.0001-0028). <<http://www.ctv.es/USER/beepress/docs/LegislacionUE.htm>> (20 jul 2002).
- DE FELIPE, M; y VANDAME, R. 1999. Curso de capacitación sobre control alternativo de Varroa en la apicultura. <[http://www.apicultura.com/articulos/control\\_varroa/index.htm](http://www.apicultura.com/articulos/control_varroa/index.htm)>. (20 jul 2002).
- DE JONG, D. 1990. Mites: Varroa and other parasites of brood. In Morse, R; Nowogrodzki, R (ed), Honey Bee Pest, Predators, and Disease. Comstock Publishing Associates a Division of Cornell University Press, London. pp:201-218.
- DE JONG, D; GONCALVES, L; y MORSE, R. 1984. Dependence on climate of the virulence of *Varroa jacobsoni*. BeeWorld (Inglaterra) 65(3): 117-121.
- ELLIS, M. y BAXENDALE, F.1996. Managing varroa in the widwest. (online). <<http://www.ianr.unl.edu/pubs/insects/g1302.htm#hpr>>. (20. sep 2001).

- FAUCON, J. 1999. Varroasis, mecanismos de resistencia de la abeja. *Vida Apícola (España)* 97: 57-59.
- FERRER, M; MARTINEZ, A; y SANCHEZ, C. 1991. Comparative test of fluvalinate and flumethrin to control *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Journal of Apicultural Research (Inglaterra)* 30(2): 103-106.
- FERRER, M; MORENO, C; MARTINEZ, A; SANCHEZ, C; y GRACIA, M. 1995. Field trials of treatments against *Varroa jacobsoni* using fluvalinate and flumethrin strips in honey bee colonies containing sealed brood. *Journal of Apicultural Research (Inglaterra)* 34(3): 147-152.
- FLORES, J, PUERTA, F; RUIZ, J, y RUZ, J. 2001. Comportamiento higiénico, ensayos para la selección de abejas tolerantes a Varroa. *Vida Apícola (España)* 106: 45-50.
- FLORES, J; RUIZ, J; RUZ, J, PUERTA, F; CAMPANO, F; y GARCIA, E. 2002. Eficacia limitada de la vaselina en el control de Varroa. *Vida Apícola (España)*, 112: 35-38.
- FLORES, J; RUIZ, J; RUZ, J; PUERTA, F; y CAMPANO, F. 1997. Control de Varroasis, Investigación sobre tratamientos alternativos en el sur de España. *Vida Apícola (España)* 84: 45-49.
- FREDES, F. 1993. Varroasis: Un nuevo problema parasitario para Chile. *Monografías Medicina Veterinaria (Chile)* 15 (1-2): 11-16.
- FRIES, S; CAMAZINE, S; y SNEYD; J. 1994. Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: a model and a review. *BeeWorld (Inglaterra)* 75(1): 5-28.

- GERSON, U; MOZES-KOCH; R; y COHEN, E. 1991. Enzyme levels used monitor pesticide resistance in *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* (Inglaterra) 30(1): 17-20.
- GOMEZ, A. 1998. Nosemosis, Varroasis, situación actual. 1998. *Vida Apícola* (España) 88: 51-54.
- GOMEZ, P. 2000. La varroasis en España, situación actual. *Vida Apícola* (España) 102: 49-53.
- GOMEZ, P; y VILA, C. 2001. Vaseline C, Una posibilidad a considerar en la lucha contra el ácaro. *Vida Apícola* (España) 105: 39-41.
- GREGORC, A; y PLANINC, I. 2005. The Control of *Varroa destructor* in Money bee colonies using the thymol-based acaricide – Apiguard. *American Bee Journal* (Estados Unidos) 145(8): 672-675.
- GROBOV, O. 1977. Varroasis de las abejas. **In** Apimondia, la varroasis enfermedad de las abejas melíferas. Apimondia, Bucarest. pp.52-78.
- HIGES, M, y LLORENTE, J. 1997. Timol, ensayo de eficacia en el control de la varroosis en colmenas de producción. *Vida Apícola* (España) 81: 14-17.
- HIGES, M; LLORENTE, J; SANZ, A; PEREZ, J; SUAREZ, M; BERNAL, J; y JIMENEZ, J. 1999. Rotenona, Eficacia acaricida en el control de la varroosis de *Apis mellifera*. *Vida Apícola* (España) 95: 45-48.
- HIGES, M; LLORENTE, J; y SANZ, A. 1998. VARROA, Sensibilidad al fluvalinato. *Vida Apícola* (España) 89: 41-45.

- HOPPE, H; y RITTER, W. 1989. Use of heat and Wintergreen oil for treatment of varroasis. *Apidologie* 20(5): 30-32. (Original no consultado), Compendiado en: *Review of Agricultural Entomology: Serie B* 1991. 79(11-12):337 n°2475.
- IMDORF, A; BOGDANOV, S; KILCHENMANN, V. y MAQUELIN, C. 1995. Apilife var: a new varroacide with thymol as the main ingredient. *Bee World (Inglaterra)* 76(2): 77-83.
- IMDORF, A; y CHARRIERE, J. 1999. Alternative Varroa control. <[http://www.apis.admin.ch/index\\_e.htm](http://www.apis.admin.ch/index_e.htm)>. (20 jul 2002).
- JEAN PROST, P. 1995. *Apicultura, conocimiento de la abeja, manejo de la colmena*. 2° ed. Madrid, España. Mundi Prensa. 741p.
- KANGA, L; JAMES, R, GRACIA, C; y GALLEGOS, S. 2001. Biological control of the honeybee parasite, *Varroa destructor* with entomopathogenic hyphomycetes. <[http://www.esa.confex.com/esa/2001/techprogram/paper\\_1640.htm](http://www.esa.confex.com/esa/2001/techprogram/paper_1640.htm)>. (20 jul 2002).
- KORPELA, S, AARHUS, A; FRIES, I; y HENSEN, H. 1992. *Varroa jacobsoni* Oud. in cold climates: population growth, winter mortality and influence on the survival of honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research (Inglaterra)* 31(3/4): 157-164.
- KRAUS, B. 2000. Preferencias de *Varroa jacobsoni* por abejas (*Apis mellifera*) de diferente edad. *Vida Apícola (España)* 103: 49-55.
- LAMPKIN, N. 1998. *Agricultura ecológica*. Madrid, España. Mundi Prensa. 743p.

- LESSER, R. 1998. Manual de Apicultura Moderna. 2°ed. Santiago, Chile. Universitaria. 213p.
- LITTLE, T; y HILLS, F. 1976. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. D.F, México. Trillas. 270p.
- MARIANI, F, RODRIGUEZ, G; MARTINEZ, E; DEL HOYO, M; BEDASCARRASBURE, E; y SCHMIT, E. 2002. Ácido oxálico en el control de *Varroa destructor* en Argentina. Vida Apícola (España) 113: 25-31.
- MARTIN, R; PERES, J; ROJO, N; SANZ, A; SUAREZ, M; DE LA CRUZ, M; HIGES, M. 2005. Estudio de la toxicidad del ácido oxálico para *Apis mellifera* mediante la determinación del DL<sub>50</sub>. Fundación Catedra Iberoamericana (UIB). <[http://www.uib.es/catedra\\_iberamericana/publicaciones/seae/mesa5/acido.html](http://www.uib.es/catedra_iberamericana/publicaciones/seae/mesa5/acido.html)>. (12 ene 2006).
- MERCK, 1999/2000. Reactivos Productos Químicos, Catalogo de Productos. Merck KGaA. Darmstadt, Alemania. 1440p.
- MILANI, N; NAZZI, F y GREATTI, M. 1993. La reinfestazione degli apiari trattati: una frequente causa di insuccesso nella lotta contro *Varroa jacobsoni*. Api Nostra Amica (Italia) 15(5): 4-9.
- MINISTRY OF AGRICULTURE AND FORESTRY, NEW ZEALAND. 2002. Guidelines on use of oxalic acid for varroa control. <<http://www.nba.org.nz/varroa/Oxalic-acid-guideline.pdf>>. (20 jul 2002).
- MORENO, A. s.f. Manual Control de Enfermedades Apícolas (Descripción, Diagnóstico y Tratamiento). Red Nacional Apícola, Chile. 60p.

- MORITZ, R. 1991. Manual del Apicultor Aficionado. Martinez Roca, Barcelona, España. 140p.
- MUTINELLI, F; CREMASCO, S; NANETTI, A; MASSI, S; ARCULEO, P; y ARTESE, F. 1996. Control de la varroasis en Italia, ensayos con diferentes métodos de aplicación del ácido fórmico. Vida Apícola (España) 77: 38-44.
- NOEL, R. 1997. The "hygienic factor" and essential oils. American Bee Journal (USA) 137(12): 863-864.
- PETTIS, J; SHIMANUKI, H; y FELDLAUFER, M. 1999. Detección de Varroas resistentes al fluvialinato. Vida Apícola (España) 94: 51-55.
- PORTALES, D. 2003. Aplicación primaveral de mentol para el control de *Varroa destructor* Anderson y Trueman, en *Apis mellifera* L.. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 143p.
- RAMIREZ, W; y OTIS, G. 1986. Developmental phases in the life cycle of *Varroa jacobsoni*, an ectoparasitic mite on honeybees. BeeWorld (Inglaterra) 67(3): 92-97.
- RITTER, W. 1993. Chemical control: options and problems. In Matheson, A. (ed.). Living whit varroa. London, England. IBRA pp. 17-24.
- ROSAS, L. 1997. Aplicación otoñal de aceites esenciales y ácido fórmico para el control de *Varroa jacobsoni* Oud. en *Apis mellifera*. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 85p.

- ROSENKRANZ, P; TEWARSON, N; SINGH, A; y ENGELS, W. 1993. Differential hygienic behaviour towards *Varroa jacobsoni* in capped worker brood of *Apis cerana* depends on alien escent adhering to the mites. *Journal of Apicultural Research* (Inglaterra) 32(2): 89-93.
- SNEDECOR, G. 1964. *Métodos estadísticos aplicados a la investigación agrícola y biológica*. D.F, México. Continental. 626p.
- SOKAL, R; y ROHLF, F. 1979. *Biometria, Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Madrid, España. H. Blume. 832p.
- STELL, R; y TORRIE, J. 1997. *Bioestadística, Principios y procedimientos*. 2<sup>a</sup> ed. D.F, México. McGraw-Hill. 622p.
- SWIENTY A/S. s.f. Colmena de Poliuretano. <http://www.swienty.com/Spanish/hives-rea.html>. (20 jul 2002).
- UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE. 2005. Boletín número 3, Proyecto Apícola Fondo SAG-64. Universidad Austral de Chile, Servicio Agrícola y Ganadero; Red Nacional Apícola, Exportadores. Valdivia, Chile. 8p
- VANDAME, R, COLIN, M; y OTERO, G. 1998a. Tolerancia a Varroa. *Vida Apícola* (España) 88: 45-50.
- VANDAME, R, COLIN, M; y OTERO, G. 1998b. Ensayos con abejas europeas y africanizadas en México, estudio de la tolerancia. *Vida Apícola* (España) 89: 39-40.

VANDAME, R, COLIN, M; y OTERO, G. 1998c. . Ensayos con abejas europeas y africanizadas en México, Explicación de la Tolerancia. *Vida Apícola (España)* 90: 12-19.

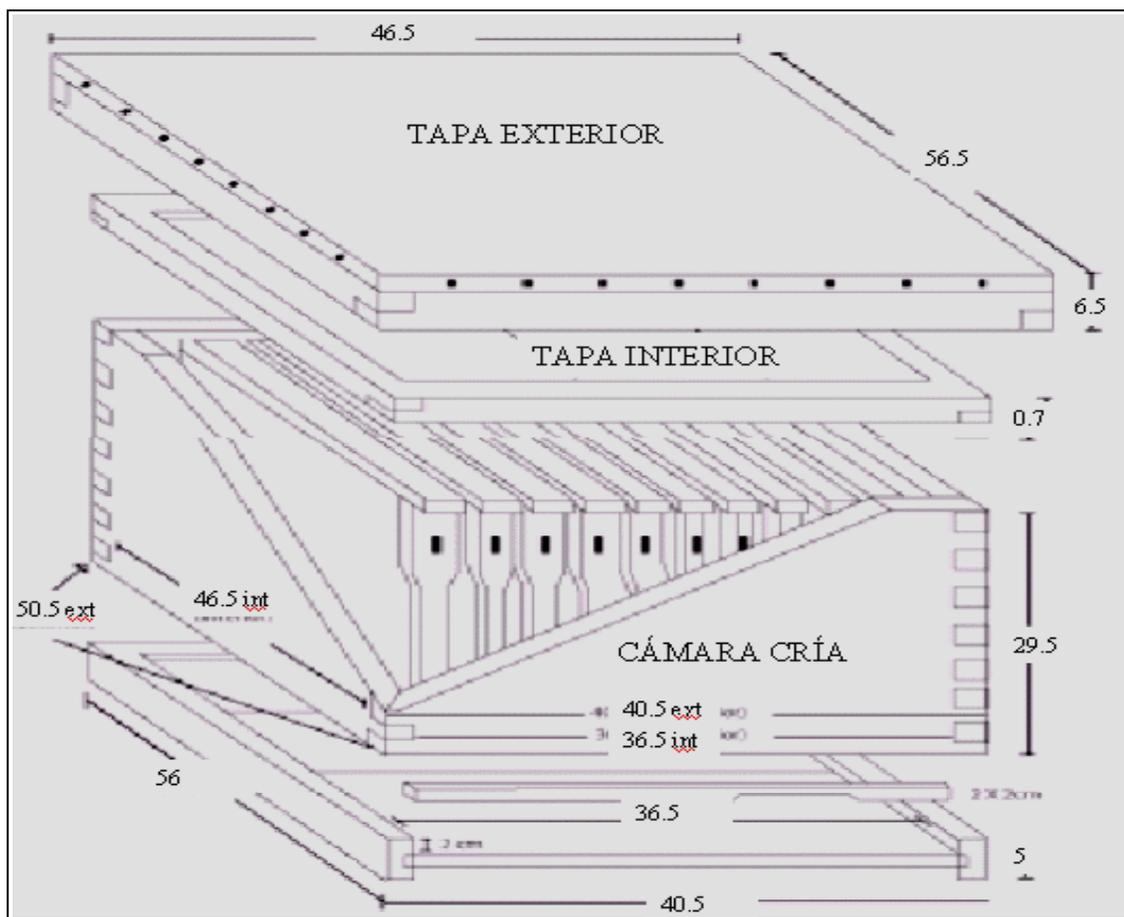
VANDAME, R. 2000. Control Alternativo de *Varroa* en la Apicultura. <<http://www.geocities.com/sitioapicola/organica/remy/remyvandame.html>>. (20 jul 2002).

WEBSTER, T; THACKER, E y VORISEK, F. 2000. Live *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae) Fallen from Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies. *Journal of Economic Entomology (USA)* 93(6): 1596-1601.

ZHANG, Z. 2000. Notes on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) parasitic on honeybees in New Zealand. <[http://www.nhm.ac.uk/hosted\\_sites/acarology/saasp.html](http://www.nhm.ac.uk/hosted_sites/acarology/saasp.html)>. (20 jul 2002).

**ANEXOS**

### ANEXO 1 Dimensiones en centímetros de la colmena Jumbo.

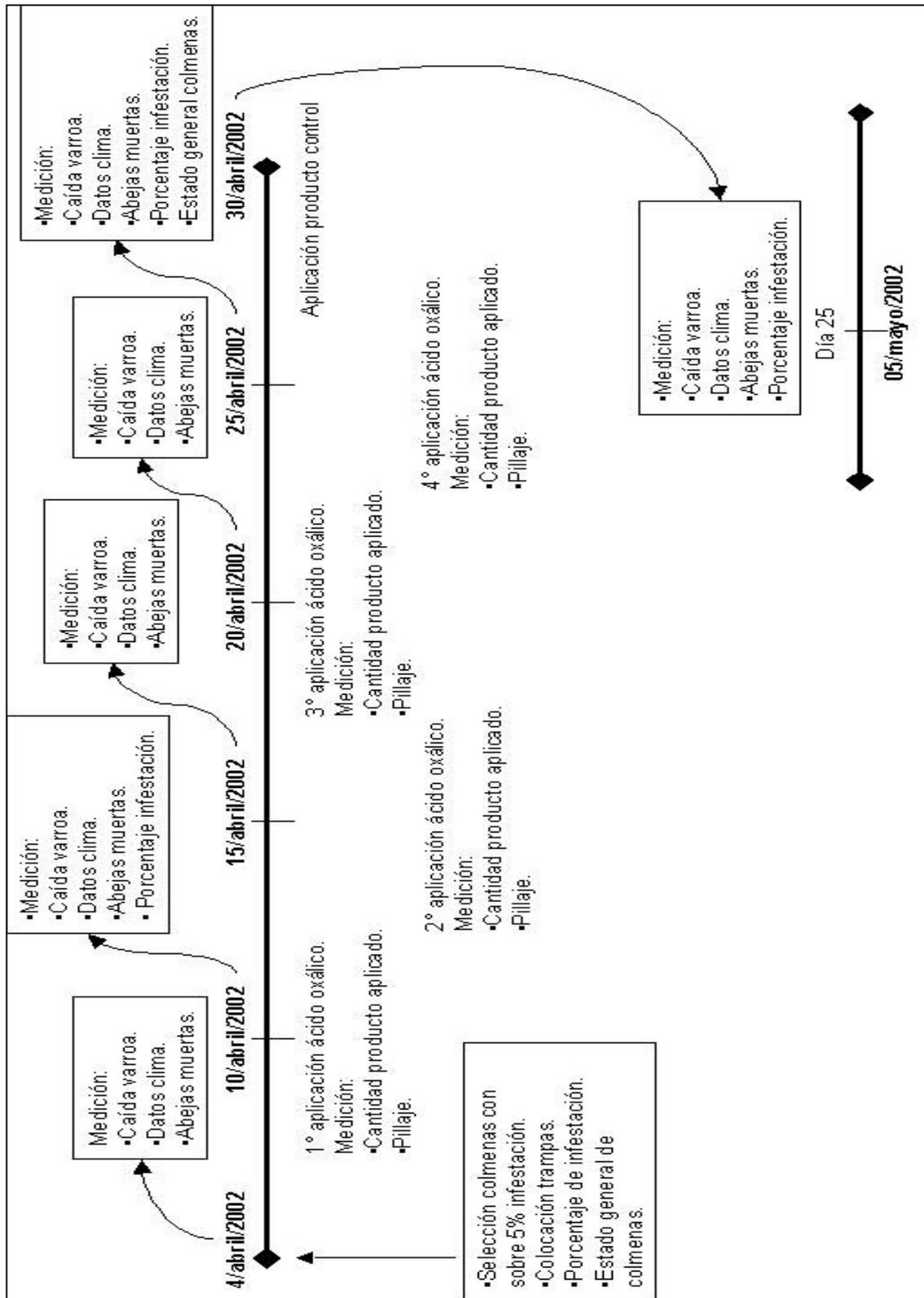


FUENTE: Adaptado de MORITZ, (1991); SWIENTY A/S, (s.f).

### ANEXO 2 Trampa para varroas utilizadas en el ensayo (izq.), y colocación sobre el piso de la colmena (der.).



**ANEXO 3 Cronograma de actividades realizadas durante el ensayo.**



**ANEXO 4 Caída de varroas durante el ensayo.**

Tratamiento	Repetición	Condición inicial	Caída Varroa (n°)				Control
			1° aplic.	2° aplic.	3° aplic.	4° aplic.	
T1 0%	A11	221	482	339	331	303	1069
T1 0%	A5	91	160	104	102	129	812
T1 0%	A16	50	234	109	150	58	1075
T1 0%	A4	57	165	116	113	134	1823
T2 20%	A9	95	2047	109	101	74	67
T2 20%	A23	8	1455	44	48	41	85
T2 20%	A24	28	1561	96	146	6	58
T2 20%	A18	94	2661	527	225	183	112
T3 5%	A1	155	2720	220	97	142	123
T3 5%	A7	164	2060	1178	1051	338	159
T3 5%	A12	95	918	255	92	93	67
T3 5%	A19	406	3273	661	203	114	149
T4 testigo	A8	46	120	72	40	47	610
T4 testigo	A15	31	141	102	71	53	710
T4 testigo	A13	82	251	179	92	6	514
T5 10%	A25	90	2335	466	98	97	141
T5 10%	A10	34	3072	84	44	2	32
T5 10%	A14	127	3322	82	27	10	28

**ANEXO 5 Evolución del porcentaje de infestación de varroa a través del ensayo.**

Tratamiento	Repetición	Infestación (%)			
		Condición inicial	1° aplic.	4° aplic.	Control
T1 0%	A11	11.26	28.40	26.78	17.18
T1 0%	A5	23.76	20.37	24.42	0.72
T1 0%	A16	32.04	27.13	27.68	0.00
T1 0%	A4	19.53	29.25	28.41	2.81
T2 20%	A9	38.11	1.56	3.33	1.13
T2 20%	A23	8.11	0.00	0.68	0.00
T2 20%	A24	29.44	0.76	2.29	0.05
T2 20%	A18	16.76	4.39	2.22	0.00
T3 5%	A1	28.33	6.03	0.00	0.00
T3 5%	A7	13.25	9.30	0.00	0.00
T3 5%	A12	7.52	0.91	0.62	0.66
T3 5%	A19	36.98	16.91	6.66	0.00
T4 testigo	A8	19.86	22.88	22.72	16.60
T4 testigo	A15	6.07	5.19	4.60	1.38
T4 testigo	A13	18.64	15.89	22.11	4.52
T5 10%	A25	10.11	2.29	4.02	0.00
T5 10%	A10	24.11	0.00	1.05	0.00
T5 10%	A14	20.62	0.00	2.10	0.51

**ANEXO 6 Pillaje de abejas y “chaquetas amarillas” observado durante el ensayo.**

		n° abejas expulsadas								
		1° aplic.			2° aplic.			3° aplic.		
Tratamiento	Repetición	A	Ch	Σ	A	Ch	Σ	A	Ch	Σ
T1 0%	A11	1	0	1	1	0	1	2	1	3
T1 0%	A5	0	1	1	0	0	0	0	3	3
T1 0%	A16	2	0	2	0	0	0	1	0	1
T1 0%	A4	2	1	3	0	0	0	0	0	0
T2 20%	A9	1	0	1	0	0	0	1	0	1
T2 20%	A23	1	0	1	0	0	0	1	1	2
T2 20%	A24	4	0	4	0	1	1	0	0	0
T2 20%	A18	1	0	1	0	1	1	3	2	5
T3 5%	A1	1	2	3	0	2	2	1	0	1
T3 5%	A7	5	0	5	1	0	1	0	2	2
T3 5%	A12	2	0	2	1	0	1	0	1	1
T3 5%	A19	3	3	6	0	1	1	2	0	2
T4 testigo	A8	1	0	1	0	1	1	0	0	0
T4 testigo	A15	6	0	6	0	0	0	0	3	3
T4 testigo	A13	3	0	3	0	1	1	1	0	1
T5 10%	A25	5	0	5	0	3	3	0	0	0
T5 10%	A10	4	0	4	1	0	1	0	2	2
T5 10%	A14	1	0	1	0	0	0	1	0	1

\*A: abejas expulsadas de la colmena.

\*Ch: “chaquetas” expulsadas de la colmena.

**ANEXO 7 Abejas muertas durante el ensayo.**

Tratamiento	Repetición	abejas muertas (n°)			
		1° aplic.	2° aplic.	3° aplic.	4° aplic.
T1 0%	A11	22	50	5	1
T1 0%	A5	1	2	3	14
T1 0%	A16	1	6	1	1
T1 0%	A4	0	2	0	1
T2 20%	A9	0	0	0	7
T2 20%	A23	0	5	0	0
T2 20%	A24	1	3	1	6
T2 20%	A18	0	6	0	0
T3 5%	A1	0	1	0	1
T3 5%	A7	0	1	0	1
T3 5%	A12	0	1	5	0
T3 5%	A19	0	1	3	3
T4 testigo	A8	3	5	2	0
T4 testigo	A15	0	1	0	1
T4 testigo	A13	0	1	0	6
T5 10%	A25	0	0	0	3
T5 10%	A10	6	21	66	99
T5 10%	A14	6	9	2	9

**ANEXO 8 Condición inicial y final de las colmenas tratadas con ácido oxálico.**

Tratamiento	Repetición	Puntaje relativo	
		Condición inicial	Condición final
T1 0%	A11	3	3
T1 0%	A5	3	3
T1 0%	A16	3	3
T1 0%	A4	3	3
T2 20%	A9	3	2
T2 20%	A23	3	2
T2 20%	A24	3	1
T2 20%	A18	3	2
T3 5%	A1	3	2
T3 5%	A7	3	1
T3 5%	A12	3	3
T3 5%	A19	3	1
T4 testigo	A8	3	3
T4 testigo	A15	3	3
T4 testigo	A13	3	3
T5 10%	A25	3	2
T5 10%	A10	3	2
T5 10%	A14	3	1

**ANEXO 9 Humedad relativa y temperatura registrada durante los días en que se aplico ácido oxálico.**

	Temp °C	% HR
Condición inicial	15.9	44
1° aplic.	16.6	57
2° aplic.	15.2	45
3° aplic.	15.8	42
4° aplic.	13.3	47
Control	16.2	36

**ANEXO 10 Análisis de varianza para el porcentaje de infestación inicial de las colmenas seleccionadas para el ensayo.**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	136.027	4	34.0067	0.31	0.8678ns
Dentro de grupos	1542.29	14	110.78		
Total	1681.31	18			

\*ns: no significativo.

**ANEXO 11 Nivel de infestación de varroas sobre abejas adultas al comienzo del ensayo, en porcentaje.**

Tratamientos	Porcentaje de infestación inicial (promedio±SD)
T4 testigo	14.85±7.63 a
T1 0%	21.64±8.65 a
T3 5%	21.52±1.53 a
T5 10%	19.48±6.42 a
T2 20%	23.10±13.29 a

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5% entre tratamientos.

**ANEXO 12 Análisis de varianza para la caída natural de varroas de las colmenas seleccionadas para el ensayo (datos modificados por Log(caída normal)).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	1.166	4	0.2915	1.97	0.1546ns
Dentro de grupos	2.07129	14	0.14795		
Total	3.23729	18			

\*ns: no significativo.

**ANEXO 13 Número promedio de ácaros caídos sobre las trampas al comienzo del ensayo.**

Tratamientos	Ácaros caídos (promedio±SD)	
T4 testigo	53.00±26.21	a
T1 0%	104.75±79.54	a
T3 5%	205.00±137.45	a
T5 10%	194.50±224.93	a
T2 20%	56.25±44.91	a

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%, entre tratamientos.

**ANEXO 14 Análisis de varianza para el pillaje total observado en las distintas colmenas en tratamiento.**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	22.1944	4	5.54861	0.93	0.4767ns
Dentro de grupos	77.5833	13	5.96795		
Total	99.7779	17			

\*ns: no significativo.

**ANEXO 15 Pillaje total promedio observado en las colmenas, para el total del período experimental.**

Tratamientos	Pillaje total por tratamiento (promedio±SD)	
T4 testigo	5.33±3.51	a
T1 0%	3.75±0.95	a
T3 5%	6.75±2.21	a
T5 10%	5.66±3.21	a
T2 20%	4.25±2.21	a

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5% entre tratamientos.

**ANEXO 16 Análisis de varianza para el pillaje observado dentro de la primera aplicación (datos modificados por Log(pillaje dentro de primera aplicación)).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	0.473124	4	0.118281	1.31	0.3175ns
Dentro de grupos	1.17426	13	0.0903274		
Total	1.64738	17			

\*ns: no significativo.

**ANEXO 17 Análisis de varianza para el pillaje observado dentro de la segunda aplicación (datos modificados por Log(pillaje dentro de segunda aplicación)+1).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	0.184849	4	0.0462122	1.42	0.2825ns
Dentro de grupos	0.42349	13	0.0325762		
Total	0.608339	17			

\*ns: no significativo.

**ANEXO 18 Análisis de varianza para el pillaje observado dentro de la tercera aplicación.**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	2.02778	4	0.506944	0.23	0.9155ns
Dentro de grupos	28.4167	13	2.1859		
Total	30.4444	17			

\*ns: no significativo.

**ANEXO 19 Pillaje promedio observado luego de cada aplicación de ácido oxálico.**

Pillaje (promedio±SD)								
Trat <sup>1</sup>	1° Aplicación	Trat	2° Aplicación	Trat	3° Aplicación			
T <sub>14</sub>	3.33±2.51	a	T <sub>24</sub>	0.66±0.57	a	T <sub>34</sub>	1.33±1.52	a
T <sub>11</sub>	1.75±0.95	a	T <sub>21</sub>	0.25±0.50	a	T <sub>31</sub>	1.75±1.50	a
T <sub>13</sub>	4.00±1.82	a	T <sub>23</sub>	1.25±0.5	a	T <sub>33</sub>	1.50±0.57	a
T <sub>15</sub>	3.33±2.08	a	T <sub>25</sub>	1.33±1.52	a	T <sub>35</sub>	1.00±1.00	a
T <sub>12</sub>	1.75±1.50	a	T <sub>22</sub>	0.5±0.57	a	T <sub>32</sub>	2.00±2.16	a

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5% dentro de cada aplicación.

<sup>1</sup>. Tratamiento.

**ANEXO 20 Análisis de varianza para el total de abejas muertas durante el ensayo (datos modificados por Log(total abejas muertas)).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	1.57043	4	0.392608	1.55	0.2457ns
Dentro de grupos	3.29317	13	0.25332		
Total	4.8636	17			

\*ns: no significativo

**ANEXO 21 Promedio total de abejas muertas por tratamiento.**

Tratamientos	Abejas muertas (promedio $\pm$ SD)	
T4 testigo	6.33 $\pm$ 4.04	a
T1 0%	27.50 $\pm$ 34.9	a
T3 5%	4.25 $\pm$ 2.26	a
T5 10%	73.66 $\pm$ 103.12	a
T2 20%	7.25 $\pm$ 2.62	a

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%, entre tratamientos.

**ANEXO 22 Análisis de Kruskal Wallis para abejas muertas dentro de primera aplicación.**

Tratamiento	Tamaño de la muestra	Rango promedio	Prueba estadística	p-valor
T <sub>11</sub> 0%	4	12.50		
T <sub>14</sub> testigo	3	9.00		
T <sub>13</sub> 5%	4	6.00	6.15793	0.18766ns
T <sub>15</sub> 10%	3	13.00		
T <sub>12</sub> 20%	4	7.75		

\*ns: no significativo

**ANEXO 23 Análisis de Kruskal Wallis para abejas muertas dentro de segunda aplicación.**

Tratamiento	Tamaño de la muestra	Rango promedio	Prueba estadística	p-valor
T <sub>21</sub> 0%	4	12.87		
T <sub>24</sub> testigo	3	7.83		
T <sub>23</sub> 5%	4	5.50	4.76944	0.1782ns
T <sub>25</sub> 10%	3	11.50		
T <sub>22</sub> 20%	4	9.87		

\*ns: no significativo

**ANEXO 24 Análisis de Kruskal Wallis para abejas muertas dentro de tercera aplicación.**

Tratamiento	Tamaño de la muestra	Rango promedio	Prueba estadística	p-valor
T <sub>31</sub> 0%	4	11.62		
T <sub>34</sub> testigo	3	7.50		
T <sub>33</sub> 5%	4	10.25	3.52909	0.473469ns
T <sub>35</sub> 10%	3	11.83		
T <sub>32</sub> 20%	4	6.37		

\*ns: no significativo

**ANEXO 25 Análisis de varianza para abejas muertas dentro de la cuarta aplicación (datos modificados por Log(abejas muertas en cuarta aplicación)+1).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	1.65663	4	0.414158	1.84	0.181ns
Dentro de grupos	2.922573	13	0.225056		
Total	4.58236	17			

\*ns: no significativo

**ANEXO 26 Análisis de Kruskal-Wallis para la condición final de las distintas colmenas en tratamiento.**

Tratamiento	Tamaño de la muestra	Rango promedio	Prueba estadística	p-valor
T1 0%	4	14.50		
T4 testigo	3	14.50		
T3 5%	4	6.75	11.6504	0.0201495*
T5 10%	3	5.83		
T2 20%	4	6.25		

\*significativo al 5%

**ANEXO 27 Condición final presentada por las distintas colmenas sometidas al tratamiento con ácido oxálico.**

Tratamientos	Condición final de las colmenas (mediana)	
T4 testigo	3.00	a
T1 0%	3.00	a
T3 5%	1.50	b
T5 10%	2.00	b
T2 20%	2.00	b

\*Letras distintas indican diferencias estadísticas para Kruskal-Wallis al 5%.

**ANEXO 28 Análisis de varianza para la caída total de ácaros dentro de los distintos tratamientos (datos modificados por Log(total de ácaros caídos)).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	2.3647	4	0.591174	17.48	0.0000*
Dentro de grupos	0.439724	13	0.033825		
Total	2.80442	17			

\*significativo al 5%

**ANEXO 29 Prueba de Student-Newman-Keuls, para la caída total de ácaros dentro de los distintos tratamientos (datos modificados por Log(total de ácaros caídos)).**

Método SNK 95%			
Tratamientos	Tamaño de muestra	Promedio	
T4 testigo	3	391.33	a
T1 0%	4	757.25	a
T3 5%	4	3353.75	b
T5 10%	3	3213.00	b
T2 20%	4	2331.00	b

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%

**ANEXO 30 Promedio total de ácaros caídos por tratamiento.**

Tratamientos	Total ácaros caídos (promedio±SD)	
T1 0%	391.33±126.27	a
T4 testigo	757.25±465.73	a
T2 20%	2331.00±899.02	b
T5 10%	3213.00±222.70	b
T3 5%	3353.75±1465.13	b

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 95%.

**ANEXO 31 Promedio de ácaros presentes en las colmenas.**

Tratamientos	Ácaros presentes en colmenas (promedio±SD)		
T1 0%	1002.67±99.98	a	
T4 testigo	1952.00±579.85	a	b
T2 20%	2411.50±917.05	a	b
T5 10%	3280.00±170.71		b
T3 5%	3478.25±1506.29		b

Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 95%.

**ANEXO 32 Análisis de varianza para el total de ácaros presentes en las colmenas (datos modificados por Log(total de ácaros)).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	0.559494	4	0.19873	5.99	0.0058*
Dentro de grupos	0.303482	13	0.023344		
Total	0.862976	17			

\*significativo al 5%

**ANEXO 33 Prueba de Student-Newman-Keuls, para el número de ácaros presentes en las colmenas de los distintos tratamientos.**

Método SNK 95%				
Tratamientos	Tamaño de muestra	Promedio		
T4 testigo	3	1002.67	a	
T1 0%	4	1952.00	a	b
T3 5%	4	3478.25		b
T5 10%	3	3280.00		b
T2 20%	4	2411.50	a	b

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%

**ANEXO 34 Análisis de correlación entre el número total de varroas existentes en las colmenas y las varroas caídas, por efecto de los tratamientos.**

Total colmena (X)	Total caída (Y)	
2524	1455	<p style="text-align: center;">Formula</p> $r^2 = \frac{[n \sum xy - (\sum x \sum y)]^2}{[n \sum x^2 - (\sum x)^2] \times [n \sum y^2 - (\sum y)^2]}$ <p style="text-align: center;"> <math>\Sigma x = 44215</math>                      <math>\Sigma y = 36581</math>  <math>\Sigma xy = 117579917</math>              <math>\Sigma x^2 = 132603313</math>  <math>\Sigma y^2 = 110094387</math>  <math>r^2 = 0.90</math>  <math>r = 0.95</math> </p>
1307	495	
1626	551	
2351	528	
2398	2331	
1673	1588	
1867	1809	
3708	3596	
3302	3179	
4786	4627	
1425	1358	
4400	4251	
889	279	
1077	367	
1042	528	
3137	2996	
3234	3202	
3469	3441	

**ANEXO 35 Análisis de varianza para el número de ácaros caídos en la primera aplicación de ácido oxálico (datos modificados por Log(ácaros caídos)).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	4.69677	4	1.17419	34.73	0.0000*
Dentro de grupos	0.439523	13	0.0338094		
Total	5.1363	17			

\*significativo al 5%

**ANEXO 36 Prueba de Student-Newman-Keuls, para el número de ácaros caídos en la primera aplicación de ácido oxálico.**

Método SNK 95%			
Tratamientos	Tamaño de muestra	Promedio	
T <sub>14</sub> testigo	3	170.66	a
T <sub>11</sub> 0%	4	260.25	a
T <sub>13</sub> 5%	4	2242.75	b
T <sub>15</sub> 10%	3	2909.67	b
T <sub>12</sub> 20%	4	1931.00	b

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%

**ANEXO 37 Análisis de varianza para el número de ácaros caídos en la segunda aplicación de ácido oxálico (datos modificados por Log(ácaros caídos)).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	0.94835	4	0.237087	1.92	0.1676ns
Dentro de grupos	1.60828	13	0.123714		
Total	2.55663	17			

\*ns: no significativo

**ANEXO 38 Análisis de varianza para el número de ácaros caídos en la tercera aplicación de ácido oxálico (datos modificados por Log(ácaros caídos)).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	0.938094	4	0.234524	2.24	0.1211ns
Dentro de grupos	1.36175	13	0.10475		
Total	2.29984	17			

\*ns: no significativo

**ANEXO 39 Análisis de varianza para el número de ácaros caídos en la cuarta aplicación de ácido oxálico (datos modificados por Log(ácaros caídos)).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	2.99764	4	0.749411	2.69	0.0784ns
Dentro de grupos	3.6279	13	0.278753		
Total	6.62143	17			

\*ns: no significativo

**ANEXO 40 Análisis de varianza para el número de ácaros caídos por efecto del Apistan® (datos modificados por  $\sqrt{(\text{ácaros caídos} + \frac{1}{2})}$ ).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	2018.81	4	504.70	40.76	0.0000*
Dentro de grupos	160.981	13	12.3831		
Total	2179.79	17			

\*significativo al 5%.

**ANEXO 41 Prueba de Student-Newman-Keuls, para el número de ácaros caídos por efecto del Apistan®.**

Método SNK 95%				
Tratamientos	Tamaño de muestra		Promedio	
T4 testigo	3	611.33		b
T1 0%	4	1194.75		c
T3 5%	4	124.50	a	
T5 10%	3	67.00	a	
T2 20%	4	80.50	a	

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%.

**ANEXO 42 Análisis de varianza para el porcentaje de infestación de varroa sobre abejas adultas, luego de la primera aplicación de ácido oxálico.**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	1663.78	4	415.946	15.14	0.0001*
Dentro de grupos	357.148	13	27.4729		
Total	2020.93	17			

\*significativo al 5%.

**ANEXO 43 Prueba de Student-Newman-Keuls, para porcentaje de infestación de varroa sobre abejas adultas, luego de la primera aplicación de ácido oxálico.**

Método SNK 95%				
Tratamientos	Tamaño de muestra	Promedio		
T4 testigo	3	14.65	b	
T1 0%	4	26.28		c
T3 5%	4	8.28	a	b
T5 10%	3	0.76	a	
T2 20%	4	1.67	a	

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%.

**ANEXO 44 Análisis de Kruskal-Wallis para porcentaje de infestación de varroa sobre abejas adultas, luego de la cuarta aplicación de ácido oxálico.**

Tratamiento	Tamaño de la muestra	Rango promedio	Prueba estadística	p-valor
T4 testigo	3	12.66		
T1 0%	4	16.50		
T3 5%	4	4.50	12.99	0.0113247*
T5 10%	3	7.00		
T2 20%	4	7.00		

\*significativo al 5%.

**ANEXO 45 Porcentaje de infestación sobre abejas adultas observados durante el ensayo.**

Porcentaje de infestación					
Tratamientos	1° Aplicación (promedio±SD)*		4° Aplicación (mediana)**		4° Aplicación (promedio)
T4 testigo	14.65±8.90	b	22.11	b	16.47±10.29
T1 0%	26.28±4.04		27.23	b	26.82±1.73
T3 5%	8.28±6.70	a	0.31	a	1.82±3.23
T5 10%	0.76±1.32	a	2.10	a	2.39±1.50
T2 20%	1.67±1.91	a	2.25	a	2.13±1.09

\*letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%.

\*\*letras distintas indican diferencias estadísticas para Kruskal Wallis al 5%.

**ANEXO 46 Análisis de Kruskal-Wallis para porcentaje de infestación de varroa sobre abejas adultas, luego de la aplicación de Apistan®.**

Tratamiento	Tamaño de la muestra	Rango promedio	Prueba estadística	p-valor
T4 testigo	3	15.66		
T1 0%	4	12.37		
T3 5%	4	6.12	9.02985	0.0603577ns
T5 10%	3	6.33		
T2 20%	4	7.75		

\*ns: no significativo.

**ANEXO 47 Porcentaje de infestación de varroa sobre abejas adultas, luego de la aplicación de Apistan®.**

Porcentaje de infestación				
Tratamientos	Promedio±SD	Mediana*		
T4 testigo	7.50±8.03	4.52	a	b
T1 0%	5.17±8.08	1.76	a	b
T3 5%	0.16±0.33	0.00	a	
T5 10%	0.17±0.29	0.00	a	
T2 20%	0.29±0.55	0.02	a	

\*letras distintas indican diferencias estadísticas para Kruskal Wallis al 5%.

**ANEXO 48 Análisis de Kruskal-Wallis para la efectividad de los distintos tratamientos con ácido oxálico.**

Tratamiento	Tamaño de la muestra	Rango promedio	Prueba estadística	p-valor
T4 testigo	3	4.00		
T1 0%	4	4.00		
T3 5%	4	11.25	13.0175	0.0111904*
T5 10%	3	15.00		
T2 20%	4	13.25		

\*significativo al 5%.

**ANEXO 49 Eficacia promedio de los distintos tratamientos con ácido oxálico.**

Eficacia de los tratamientos			
Tratamientos	Promedio±SD	Mediana*	
T4 testigo	38.71±10.44	34.07	b
T1 0%	37.96±14.65	35.87	b
T3 5%	96.21±0.63	96.44	a
T5 10%	97.90±2.07	99.01	a
T2 20%	96.49±1.06	96.93	a

\*Letras distintas indican diferencias estadísticas para Kruskal-Wallis al 95%.

**ANEXO 50 Análisis de varianza para la variación de efectividad en la primera aplicación de ácido oxálico.**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	18036.5	4	4509.13	40.23	0.0000*
Dentro de grupos	1457.1	13	112.085		
Total	19493.6	17			

\*significativo al 5%.

**ANEXO 51 Prueba de Student-Newman-Keuls, para la variación de efectividad en la primera aplicación de ácido oxálico.**

Método SNK 95%			
Tratamientos	Tamaño de muestra	Promedio	
T1 0%	4	13.18	a
T4 testigo	3	16.89	a
T3 5%	4	66.05	b
T5 10%	3	88.39	c
T2 20%	4	81.92	b c

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%.

**ANEXO 52 Análisis de varianza para la variación de efectividad en la segunda aplicación de ácido oxálico (datos transformados por  $\text{Log}(\text{efectividad acumulada})+1$ ).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	0.460664	4	0.115166	1.94	0.1644ns
Dentro de grupos	0.773413	13	0.0594933		
Total	1.23408	17			

\*ns: no significativo.

**ANEXO 53 Análisis de varianza para la variación de efectividad en la tercera aplicación de ácido oxálico (datos transformados por  $\text{Log}(\text{efectividad acumulada})+1$ ).**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	0.614744	4	0.153686	3.45	0.096*
Dentro de grupos	0.579752	13	0.0445963		
Total	1.1945	17			

\*significativo al 5%.

**ANEXO 54 Prueba de Student-Newman-Keuls, para la variación de efectividad en la tercera aplicación de ácido oxálico.**

Método SNK 95%				
Tratamientos	Tamaño de muestra		Promedio	
T4 testigo	3	6.64	b	
T1 0%	4	8.99	b	
T3 5%	4	8.73	b	
T5 10%	3	1.75	a	
T2 20%	4	5.24	b	

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%.

**ANEXO 55 Análisis de varianza para la variación de efectividad en la cuarta aplicación de ácido oxálico.**

Fuente de variación	S.C.	G.L.	C.M.	F ratio.	P-value
Entre grupos	92.8192	4	23.2048	3.45	0.0394*
Dentro de grupos	87.4113	13	6.72394		
Total	180.23	17			

\*significativo al 5%.

**ANEXO 56 Prueba de Student-Newman-Keuls, para la variación de efectividad en la cuarta aplicación de ácido oxálico.**

Método SNK 95%					
Tratamientos	Tamaño de muestra	Promedio			
T4 testigo	3	3.59	a	b	
T1 0%	4	7.78		b	
T3 5%	4	5.11	a	b	
T5 10%	3	1.14	a		
T2 20%	4	2.69	a	b	

\*Letras distintas indican diferencia a la prueba SNK al 5%.

**ANEXO 57 Eficacia acumulada promedio de las distintas aplicaciones con ácido oxálico.**

Trat <sup>1</sup>	1° aplicación (promedio±SD)		Trat	2° aplicación (promedio±SD)		Prom. Acum.
T <sub>14</sub>	16.89±6.23	a	T <sub>24</sub>	11.58±4.89	a	28.47
T <sub>11</sub>	13.18±5.01	a	T <sub>21</sub>	8.25±3.66	a	21.43
T <sub>13</sub>	66.05±17.00	b	T <sub>23</sub>	16.04±7.43	a	82.09
T <sub>15</sub>	88.39±12.09	c	T <sub>25</sub>	6.60±7.14	a	94.99
T <sub>12</sub>	81.92±6.91	b c	T <sub>22</sub>	6.63±5.16	a	88.55

Trat	3° aplicación (promedio±SD)		Prom. Acum.	Trat	4° aplicación (promedio±SD)		Prom. Acum.
T <sub>34</sub>	6.64±2.16	a	35.11	T <sub>44</sub>	3.59±2.62	a b	38.70
T <sub>31</sub>	8.73±3.45	a	30.16	T <sub>41</sub>	7.78±3.84	b	37.94
T <sub>33</sub>	8.99±8.76	a	91.08	T <sub>43</sub>	5.11±2.06	a b	96.19
T <sub>35</sub>	1.75±1.22	b	96.74	T <sub>45</sub>	1.14±1.68	a	97.88
T <sub>32</sub>	5.24±2.16	a	93.79	T <sub>42</sub>	2.69±1.90	a b	96.48

\*Letras distintas indican SNK al 95%, entre tratamientos.

<sup>1</sup>. Tratamiento.

**ANEXO 58 Análisis de regresión lineal para el número de aplicación.**

Número Aplic. (Y)	Caída natural (X)
1	19.89
2	28.47
3	35.11
4	38.7

$b = 0.15$ $a = -2.19$ $r^2 = 0.97$ $r = 0.98$ $y = -2.19 + 0.15x$	<p>Formula:</p> $b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad a = \bar{y} - b\bar{x}$ $r^2 = \frac{[n \sum xy - (\sum x \sum y)]^2}{[n \sum x^2 - (\sum x)^2] \times [n \sum y^2 - (\sum y)^2]}$
	$\Sigma x = 122.17$ $\Sigma y = 10$ $\Sigma xy = 336.96$ $\Sigma x^2 = 3936,55$ $\Sigma y^2 = 30$ $\bar{x} = 30.54$ $\bar{y} = 2.5$