

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA DE AGRONOMÍA

**Evaluación de la caída natural de *Varroa destructor* Anderson & Trueman
(Acari: Varroidae) en colonias de *Apis mellifera* L. (Hym: Apidae), como
indicador indirecto del nivel de infestación en condiciones otoñales de la
provincia de Valdivia**

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

David Salvador Aymans Rojas

VALDIVIA – CHILE

2007

PROFESOR PATROCINANTE

Miguel Angel Neira Caamaño
Ing. Agr.

PROFESORES INFORMANTES

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

Claudia Dussaubat Arriagada
Ing. Agr.

INDICE DE MATERIAS

Capitulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Varroosis	3
2.2	Antecedentes históricos del ácaro	3
2.3	Distribución mundial	4
2.4	Antecedentes nacionales	4
2.5	Características del ácaro	5
2.5.1	Origen	5
2.5.2	Taxonomía	5
2.5.3	Morfología de la hembra adulta	5
2.5.4	Morfología del macho	5
2.6	Ciclo biológico de varroa	6
2.7	Factores que influyen en la enfermedad	8
2.8	Diagnóstico de la enfermedad	10
2.9	Nivel de infestación crítico	12
2.9.1	Nivel de infestación crítico en crías	12
2.9.2	Nivel de infestación crítico en abejas adultas	13
2.9.3	Nivel de infestación crítico para caída natural de varroas	13
2.10	Control de la enfermedad	13
2.10.1	Control físico	14
2.10.2	Control mecánico	14
2.10.3	Control biológico	14
2.10.4	Control químico	15
2.10.5	Control alternativo	16
2.10.5.1	Ácidos orgánicos	16

Capítulo		Página
2.10.5.1.1	Uso de ácido fórmico	16
2.10.5.2	Uso de componentes de aceites volátiles	17
3	MATERIAL Y METODO	18
3.1	Ubicación del ensayo	18
3.2	Material	18
3.2.1	Material biológico	18
3.2.2	Material no biológico	18
3.2.2.1	Material de colmena	18
3.2.2.2	Material de trabajo apícola	18
3.2.2.3	Material de diagnóstico	18
3.2.3	Material químico	19
3.2.4	Otros materiales	19
3.3	Metodología del ensayo	19
3.3.1	Marco general del ensayo	19
3.3.2	Diseño experimental	21
3.3.3	Período experimental y actividades a realizar	21
3.3.4	Mediciones y observaciones	21
3.4	Análisis de los datos	21
4.	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	23
4.1	Caída natural diaria como indicador de los niveles de infestación pre y post aplicación de ácido fórmico	23
4.2	Mortalidad de abejas en el piso de la colmena	26
5	CONCLUSIONES	28

6	RESUMEN	29
	SUMMARY	30
7	BIBLIOGRAFÍA	31
	ANEXOS	37

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Medicamentos veterinarios de uso apícola indebido no registrados en el SAG	16
2	Mortalidad de las abejas entre distintos periodos de aplicación de ácido fórmico y rangos de caída natural de varroa	26

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Hembra y macho de <i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman	6
2	Ciclo de desarrollo de la abeja y ciclo de desarrollo de <i>V. destructor</i>	8
3	Forma de aplicación del ácido fórmico	20
4	Relación obtenida entre el nivel de infestación obtenido con método de doble tamiz v/s caída natural en el periodo de pre-aplicación de ácido fórmico	23
5	Relación obtenida entre el nivel de infestación obtenido con método de doble tamiz v/s caída natural en el periodo de post-aplicación de ácido fórmico	24

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Colmenar Estación Experimental Santa Rosa	38
2	Descripción química y física del ácido fórmico	39
3	Descripción de las trampas de caída de varroa	40
4	Material de diagnóstico del nivel de infestación	41
5	Implementación del dispensador de ácido fórmico	42
6	Cronograma de actividades	43
7	Rangos de caída natural de varroa	44
8	Descripción de los tramos de caída natural de varroa	45
9	Caída y nivel de infestación en los periodos de pre y post aplicación de ácido fórmico	46
10	Abejas muertas según fecha de muestreo	47
11	Análisis de regresión para el nivel de infestación y caída natural, en el período de pre-aplicación de ácido fórmico	48
12	Análisis de regresión para el nivel de infestación y caída natural, en el período de post-aplicación de ácido fórmico	49
13	Tabla de coeficientes de correlación según grados de libertad	50
14	Análisis de Kruskal Wallis para la variable mortalidad, para los distintos rangos de caída natural de varroa	51

1 INTRODUCCIÓN

La varroosis de la abeja melífera *Apis mellifera* L. es considerada como la enfermedad de mayor impacto económico para esta especie en el mundo, la cual es provocada por el ácaro ectoparásito *Varroa destructor* Anderson & Trueman.

Como medida de control de esta enfermedad se han planteado diversos tratamientos con agentes naturales y artificiales, los cuales no han logrado dar una solución satisfactoria al problema. En Chile existen sólo dos productos registrados por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) para su uso en el control de la enfermedad en abejas, estos son en base a flumetrina y amitraz como ingredientes activos (i.a.). Pero el uso de ambos productos se ve restringido fundamentalmente por dos motivos: la posible contaminación que pudiesen dejar en mieles y ceras en algunas épocas del año, y la importancia de la rotación de productos para no producir resistencia. Ante esta situación se utilizan otros productos llamados “alternativos”, dentro de los que se encuentra el ácido fórmico.

El control del ácaro, debe ir siempre acompañado de seguimientos, uno de pre-aplicación, para poder conocer en una primera instancia la población de ácaros existente en una colmena, a fin de tomar la decisión de qué tipo de control hacer; y finalmente, se debe efectuar otro seguimiento posterior a los tratamientos, para poder conocer la efectividad de éstos.

Se conocen varios métodos para el monitoreo, descritos por GOODWIN y VAN EATON (2001), dentro de los que resalta el método de caída natural diaria y el método de doble tamiz para determinar el nivel de infestación, siendo éste último el establecido por el SAG (1994). Ambos son utilizados en el país pero existe bastante discrepancia sobre la relación existente entre dichos métodos; en base a esto se plantea la siguiente hipótesis de investigación:

La caída natural de varroa bajo las condiciones de la provincia de Valdivia, es un indicador del nivel de infestación pre y post aplicación del tratamiento otoñal de *Varroa destructor* con ácido fórmico.

El objetivo general es la utilización de la caída natural de varroa como indicador indirecto para estimar el nivel de infestación, en los periodos de pre y post aplicación.

Como objetivos específicos se plantean:

- Medir la correlación entre el nivel de infestación evaluado con el doble tamiz y la caída natural de varroa en dos periodos, pre y post aplicación.
- Determinar si el tratamiento con ácido fórmico produce algún efecto tóxico sobre las abejas, medido a través de la mortalidad.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Varroosis

La varroosis es una parasitosis externa de las abejas causada por ácaros, uno de los más importantes es *V. destructor*, que afecta a las larvas, prepupas, pupas, adultos de zánganos, obreras y raramente a las reinas, a las que succiona la hemolinfa (REYES y MUÑOZ, 2003), determinándose un consumo de 0,1 mg en sólo 2 horas (FREDES, 1993), causando deformaciones en alas, patas, abdomen y predisponiéndolas a otras enfermedades (REYES y MUÑOZ, 2003).

2.2 Antecedentes históricos del ácaro

El primer reporte de ácaros del género Varroa se realizó en 1904. Un investigador de apellido Oudemans identificó al ácaro como *Varroa jacobsoni*, un parásito obligado de la abeja asiática *Apis cerana* Fabricius (DE FELIPE y VANDAME, 1999), también denominada *Apis indica* Fabricius (DELAPLANE, 2001). En colonias de *A. cerana*, varroa no llega a provocar un gran daño dentro de la colonia debido a que las abejas toleran y llegan a limpiar las varroas de las crías y de ellas mismas (DE FELIPE y VANDAME, 1999).

Posteriormente, hacia comienzos de la década de 1960 pasó a infestar a *Apis mellifera* L., distribuyéndose así por Europa (LESSER, 2001).

Debido a su importancia en la apicultura, científicos pusieron su atención sobre este ácaro de Asia, y por tres décadas el nombre *V. jacobsoni* llenó las páginas de revistas de apicultura.

Estudios recientes demuestran que *V. jacobsoni* es una especie compleja que contiene 18 diferentes variantes genéticas las que pertenecen a dos especies: *V. jacobsoni* y *V. destructor* (ANDERSON y TRUEMAN, 2000).

A través de investigaciones posteriores se determinó que *V. destructor* era la responsable del colapso de la población de *A. mellifera* alrededor del mundo. Una batería de medidas de control, principalmente química, fue desarrollada y los apicultores cambiaron los años de agricultura empresarial libre de pesticidas por una que era virtualmente pesticida-dependiente (DELAPLANE, 2001).

2.3 Distribución mundial

Según DELAPLANE (2001), *V. destructor* predominaba en el continente asiático, mientras *V. jacobsoni* predominaba en el archipiélago de Indonesia.

V. destructor se extendió por todo el mundo, con dos genotipos sobre *A. mellifera* hoy identificables – el genotipo Corea conocido así en Europa, Este medio, África, Asia y América, y el genotipo Japón / Tailandia documentado de Japón, Tailandia y América. El genotipo Corea es no solamente el más extendido, sino también el más virulento (DELAPLANE, 2001).

En América Latina los primeros antecedentes sobre el ácaro indican que éste habría sido detectado por primera vez en 1973, específicamente en colmenas de la República del Paraguay (LESSER, 2001).

2.4 Antecedentes nacionales

En cuanto a Chile, en 1988 se diagnosticó por primera vez en abejas ingresadas al país (FREDES, 1993); luego hasta el año 1991, según la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), Chile se clasificaba como un país con la enfermedad no comprobada y que incluía medidas tales como prohibición de importación desde países infestados, cuarentena, precauciones en la frontera y sacrificio sanitario (FREDES, 1993).

V. destructor se detectó por primera vez en Chile en marzo de 1992, en el sector denominado Aguas Buenas de la comuna de San Fernando, 34° 35' lat. Sur; 71° 60' long. oeste, VI región (HINOJOSA y GONZALEZ, 2004; NEIRA *et. al.*, 2003), y significó un duro golpe a la actividad apícola nacional (HINOJOSA y GONZALEZ, 2004).

2.5 Características del ácaro

En la descripción de varroa es necesario considerar los siguientes antecedentes:

2.5.1 Origen. Según DELAPLANE, 2001, el origen de esta especie es la isla Indonesia de Java.

2.5.2 Taxonomía. Según ANDERSON y TRUEMAN (2000), *V. destructor* se clasifica de la siguiente manera:

Phylum : Artropoda.
 Subphylum : Chelicerata.
 Clase : Arachnida.
 Subclase : Acari.
 Orden : Mesostigmata.
 Familia : Varroidae.
 Género : *Varroa*.
 Especie : *V. destructor* (Anderson & Trueman).

2.5.3 Morfología de la hembra adulta. Según BARRIGA y NEIRA (1988), las características morfológicas de la hembra (FIGURA 1a) son:

Tamaño : 1,0 – 1,7 x 1,5 – 1,99 mm.
 Color : Pardo a pardo oscuro (rojizo).
 Forma : Cuerpo aplanado dorso ventralmente, ligeramente convexo en el dorso, con forma transversal – oval.
 Cuerpo : Piloso, muy desarrollado.

2.5.4 Morfología del macho. Según BARRIGA y NEIRA (1988), el macho de varroa (FIGURA 1b) posee las siguientes características:

Tamaño : 0,8 – 0,97 x 0,7 – 0,93 mm.
 Color : Blanco grisáceo o amarillento.

Forma : Cuerpo casi redondo, débilmente esclerotizado.
 Cuerpo : Densamente piloso.

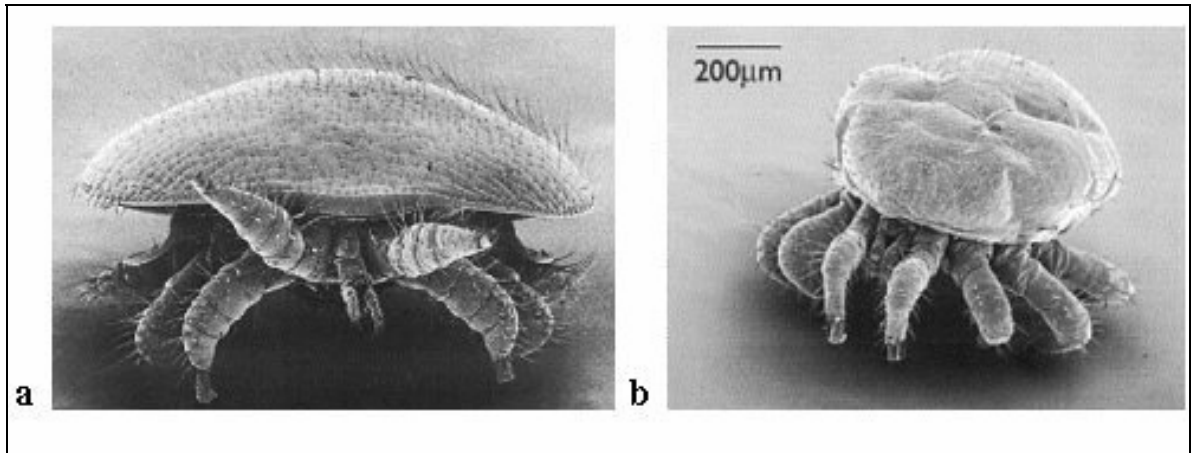


FIGURA 1: Hembra (a) y macho (b) de *Varroa destructor* Anderson & Trueman.

FUENTE: IBRA, 1997 citado por HAWTHORN, C. (1999)

2.6 Ciclo biológico de varroa

El ciclo de vida de varroa se inicia cuando una hembra madre deja a la abeja adulta y penetra a una celda ocupada por cría de obrera o zángano próxima a ser operculada (DE FELIPE y VANDAME, 1999).

En general los ácaros prefieren poner sus huevos en las celdas de los zánganos, pero cuando el ataque es intenso los ponen también en las crías de otras castas de la colonia (CORNEJO, 1993; JANDRICIC y OTIS, 2003); esta preferencia por los zánganos puede variar entre un 3,1 a un 12,1 veces más de ácaros invadiendo las celdas de zánganos, que otras celdas (JANDRICIC y OTIS, 2003).

Una vez dentro de la celda, la hembra (o fundadora) permanece adormecida, entre el alimento de la larva, probablemente debido a la baja concentración de oxígeno o a la alta concentración de dióxido de carbono existente en el alimento (DE FELIPE y VANDAME, 1999); aquí se alimentan de la hemolinfa de las larvas, y a los 2 a 3 días de ocluirse la celdilla, estimulada por una hormona producida por las crías comienza la oviposición (FREDES, 1993).

En su estadía en las celdillas sólo las hembras se alimentan de hemolinfa, pues los quelíceros de los machos sirven exclusivamente para la transmisión de esperma (FREDES, 1993).

La hembra pone varios huevos a intervalos de 30 horas por cada uno. El primero de ellos luego de una incubación de 24 horas, da origen a una larva la que pasa por 2 estadios ninfales, que al cabo de 7 a 8 días, producen generalmente una hembra, en tanto los ácaros machos provienen del segundo huevo, luego de una evolución más corta de 5 a 6 días (FREDES, 1993). Sin embargo, investigaciones realizadas por DE FELIPE y VANDAME (1999) plantean que el primer huevo da origen a un macho y los demás a hembras.

En las celdas de obreras el ácaro puede poner un máximo de 6 huevos y en la de los zánganos hasta 7 huevos, y el número de descendientes que puede producir dependerá de la duración del desarrollo de la abeja, y la velocidad de desarrollo es variable según se origine una hembra o un macho, 220 a 242 horas y 213 a 220 horas, respectivamente (DE FELIPE y VANDAME, 1999).

El parásito sólo puede reproducirse durante el periodo de operculación de las abejas, por lo tanto, cuanto más largo es dicho período más numerosa puede ser la descendencia (NEIRA, 1998).

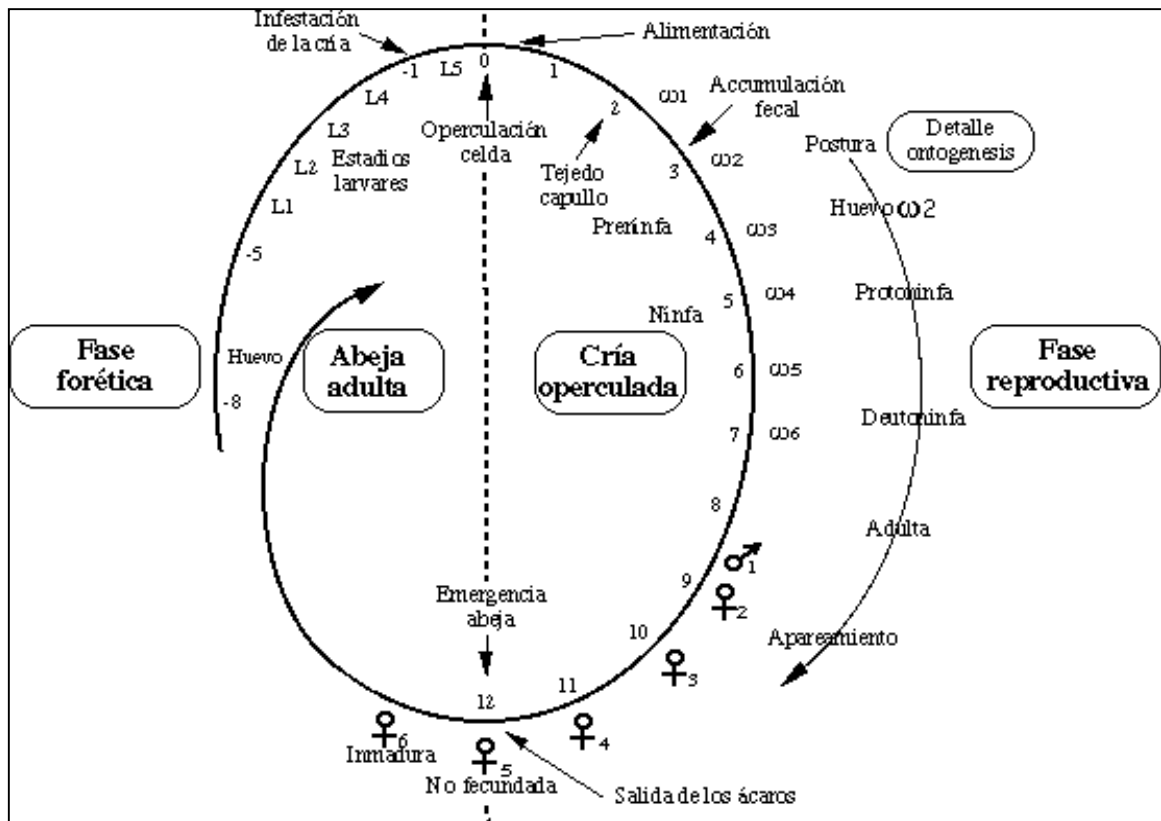


FIGURA 2. Ciclo de desarrollo de la abeja (al interior del círculo), y ciclo de desarrollo de *V. destructor* (fuera del círculo).

FUENTE: DE FELIPE y VANDAME (1999).

2.7 Factores que influyen en la enfermedad

La población de varroa no crece en todas las colonias con la misma rapidez, existen diversas circunstancias y factores que influyen en el crecimiento de la población del parásito; un primer factor es la estacionalidad y otro es la localización geográfica (PADILLA, 2005).

Diferencias climáticas locales y estacionales parecen ser una determinante importante de la severidad de las infestaciones de varroa. En primavera y otoño la infestación en crías es más alta que en verano (DE JONG, 1990). FREDES (1993), explica que “por el desarrollo de la abeja, suele encontrarse un mayor número de

ácaros en las celdillas durante los meses de primavera – verano y en las abejas adultas en los meses de invierno, por disminuir la actividad de cría”.

Otra consideración es el concepto de “resistencia a la enfermedad”, el cual ha sido desarrollado por autores como PADILLA (2005), él plantea que una determinada colmena puede ser resistente o tolerante a varroa, por diferentes causas, tales como:

- A-. Bajo nivel reproductivo del parásito, debido a:
 - a) Alta infertilidad o baja tasa reproductiva de varroa.
 - b) El tiempo de operculación de las celdillas es más corto de lo habitual y las nuevas varroas mueren por inmadurez.
 - c) Las hembras de varroa realizan menos ciclos reproductivos de los habituales.

- B-. Alta mortandad de los parásitos, a causa de:
 - a) Las abejas atacan a los parásitos situados sobre sus compañeras (comportamiento de grooming).
 - b) Las abejas extraen un elevado porcentaje de cría parasitada (comportamiento higiénico).
 - c) Las varroas tienen una alta tasa de mortalidad debido a algún factor ambiental. (Ej. altas temperaturas).

Otro factor de resistencia a varroa que se plantea dice relación con la relativa inocuidad de varroa sobretodo en Latino América, aparentemente atribuible en parte baja, a los mecanismos de resistencia en abejas africanizadas. Generalmente los niveles de infestación en abejas europeas y primera generación de híbridos europeos / africanizados son más altos que en colonias africanizadas “tipo silvestre” mantenidas bajo las mismas condiciones (DE JONG, 1990).

Variaciones en la población de varroa pueden favorecer el desarrollo de la enfermedad, provocando un aumento natural de la población a través de dos procesos: la reproducción de los ácaros en las celdas de crías y la influencia de nuevos ácaros que entran en la colonia a través de infestaciones (Laboratorio Central de Ciencias de

Inglaterra CSL, 2006). Sin embargo, el contagio más habitual es la transmisión por contacto, siendo las principales causas de la expansión de varroa el pillaje, la deriva, el ir y venir de los zánganos, las manipulaciones descuidadas del apicultor y la trashumancia no controlada de las colmenas, a lo que hay que sumar la no detección precoz de la enfermedad (Proapis, 2002 citado por MONDACA, 2004).

2.8 Diagnóstico de la enfermedad

Un diagnóstico correcto y oportuno en el colmenar y en el laboratorio antes de aplicar un tratamiento, es clave para lograr un control efectivo de la enfermedad y evitar la presencia de concentraciones altas de residuos de plaguicidas en la miel y cera (CHILE, SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO, 1994). Es imperativo que todos los apicultores incluyan en su secuencia de exámenes regulares de colonias, una búsqueda visual de ácaros sobre abejas y crías (DIETZ y HERMANN, 1988).

Primero se requiere reconocer al ácaro y poder diferenciarlo del piojo de las abejas (*Braula coeca* Nitzsch), ya que ambos son de dimensiones parecidas (BARRIGA y NEIRA, 1988). Un apicultor podría determinar la presencia de varroa en un apiario con diversas opciones:

A) Una técnica rápida se basa en la remoción de la superficie de los panales de cría con un cuchillo aserrado y sacudir el marco en la tapa de la colmena para retirar las pupas, pudiendo ver el ácaro rápidamente en los cuerpos blancos de las crías de zánganos (DE JONG, 1990). Una vez contabilizado el número de pupas y el número de varroas, se utiliza la siguiente fórmula de acuerdo al CSL (2006):

$$\% \text{ de infestación en crías} = \frac{N^{\circ} \text{Varroas}}{N^{\circ} \text{Pupas}} \times 100 \quad (2-1)$$

B) Otro método es la *caída natural* de ácaros, que consiste en el uso de un piso insertado para colectar los desechos de la colmena, es el procedimiento más fácil y

comúnmente usado en Europa para determinar la presencia de ácaros. El procedimiento puede ser usado en cualquier época del año, pero los mejores resultados han sido obtenidos cuando se ha usado en el otoño. Un piso insertado esencialmente consta de una pieza inferior de cartulina blanca que recibe los desechos y una parte superior de rejilla, que impide que las abejas remuevan los desechos, incluidos los ácaros (DIETZ y HERMANN, 1988; CSL, 2006).

BARRIGA y NEIRA (1988) plantean que luego de colocar el piso se debe poner el total de residuos de la cartulina en alcohol, en donde los residuos de cera se disolverán, mientras que abejas y ácaros se mantienen flotando en el líquido pudiendo ser observados a la lupa.

C) Pero sin duda el método más usado mundialmente para la determinación del grado de infestación de varroa, es el de “*doble tamiz*” (DT), que consiste en la obtención de un número fijo de abejas desde la cámara de cría, que varía desde 200 – 400 (DE JONG, 1990) o 30 – 100 (CHILE SAG, 1994), en frascos de 200 mL con tapa rosca (DE LA SOTA y BACCI, 2004). Las muestras son llevadas al laboratorio y son mezcladas con aproximadamente 80 a 100 mL de agua y 1 gota de detergente líquido casero; se tapan y agitan brevemente para que los ácaros sean desprendidos de las abejas, y se deja en reposo por un lapso corto de tiempo. Luego son filtrados en un “*doble tamiz*”, que consiste en una botella plástica abierta en ambos lados, que posee en su parte superior una malla metálica para la retención de las abejas, y en su extremo inferior un colador de malla fina que servirá para retener las varroas. Posterior al filtrado se les aplica un chorro de agua para soltar las varroas. Después se procede al desmontaje del colador y se cuentan:

- Número de abejas total
- Número de varroas retenidas

Los valores obtenidos son introducidos en la fórmula propuesta por CHILE, SAG, (1994):

$$\% \text{ de infestación en abejas adultas} = \frac{N^{\circ} \text{ Varroas}}{N^{\circ} \text{ Abejas}} \times 100 \quad (2-2)$$

Sin embargo, a pesar de que este método es tal vez el más utilizado por los apicultores, investigadores ingleses dudan de la exactitud con la que determina el grado real de infestación de varroa, ya que para la mayor parte de los apicultores es difícil dar una buena estimación del número de abejas obreras de sus colmenas; o también el hecho de que pueden haber más de una varroa por abeja (CSL, 2006).

2.9 Nivel de infestación crítico

Para CHILE, SAG (1994), se denomina “umbral de control” o “nivel de infestación crítico de varroosis” a la población de varroa que provoca daños irreparables en las familias de abejas. Asimismo, se puede asumir la existencia de niveles de infestación tolerables dentro de la colmena, y son aquellos en que los daños económicos causados por el parásito son inferiores a los costos del tratamiento (NEIRA *et al.*, 2003). VANDAME (2000), afirma que el nivel tolerable de varroa por parte de las abejas es explicado por el principio de que el ácaro no es patógeno por su sola presencia; sin embargo, aunque se encuentren valores tolerables del parásito, se debe considerar que el ácaro pudiese ser patógeno por las enfermedades virales y bacterianas que activa o transmite entre colmenas.

El nivel de infestación crítico de varroosis variará de acuerdo al método de diagnóstico de la enfermedad:

2.9.1 Nivel de infestación crítico en crías. Corresponde a los resultados de la relación entre la cantidad de varroas por pupas expresado en porcentaje; y se considera grave si es igual o mayor a 10%, y se recomienda hacer tratamiento con productos indicados para varroas en abejas, de preferencia algún producto de origen natural (CHILE SAG, 1994).

2.9.2 Nivel de infestación crítico en abejas adultas. Corresponde a los resultados de la relación entre la cantidad de varroas por abeja, expresado en porcentaje; si es igual o mayor al 5%, se considera grave. En definitiva se deben mantener siempre las colmenas en niveles bajo un 3%, y si el nivel se incrementa al 5% se hace tratamiento, idealmente en una época en que el número de crías sea bajo o inexistente, esto corresponde a períodos desde inicios de otoño en adelante, evitando todo tratamiento durante la época de cosecha excepto cuando se supera el 5% de infestación (CHILE, SAG, 1994).

Cabe señalar que ambos niveles críticos de infestación variarán de acuerdo a la época del año en que se desarrolle el diagnóstico, por ejemplo, un 10% de crías o adultos infestados se tolera para períodos con temperaturas ambientales más bajas, no así durante el verano, donde un 10% puede incrementarse a un 30% o más, resultando mortal para la colonia (De Jong ,1997 citado por BARRÍA, 2000).

2.9.3. Nivel de infestación crítico para caída natural de varroas. Autores como IMDORF *et al.*, (2003), en base a experimentos realizados con caída natural de ácaros en Europa en condiciones de otoño, señalan la existencia de un nivel de varroa en el cual las colmenas no se ven afectadas y que corresponde a una caída de a lo más 10 ácaros por día, en donde la disminución de la población por este tratamiento sería de aproximadamente 2000 ácaros, con lo cuál no se pone en riesgo la sobrevivencia de la colmena. A partir de estos experimentos señala que existe una fuerte correlación (> 0,8) entre la caída natural del ácaro y la población estacional de varroa, obteniendo una caída natural por debajo de los 0,2 ácaro por día, lo que corresponde a aproximadamente 500 ácaros en una colonia.

2.10 Control de la enfermedad

En los últimos años se han evaluado diversos tratamientos, como la aplicación de productos químicos tradicionales, y métodos de control alternativo y biológico (NEIRA *et al.*, 2003); sin embargo, en pocos años el ácaro desarrolla resistencia a los productos químicos con los que se controla, por lo tanto es necesario evaluar los productos sintéticos autorizados, y sustancias naturales alternativas para el control (REYES y MUÑOZ, 2003).

IMDORF *et al.*, (2003), señala que al momento de establecer un control sobre varroa se deben considerar varios aspectos como las condiciones del clima, los periodos de flujo de miel, el manejo apícola y el desarrollo de la población de varroa, que determinan el tratamiento estratégico con que apuntar a mantener la población de *V. destructor* bajo el umbral de daño en colonias de abejas.

Los métodos de control de varroa son:

2.10.1 Control físico. Se refiere a un tratamiento térmico de control, en donde la colmena se debe someter a una temperatura que no debe ser mayor a 48 °C, en donde se afecta el normal desarrollo de la población de varroa (RITTER, 1981; BARRIGA y NEIRA, 1988).

2.10.2 Control mecánico. Es un método que comprende la introducción de panales zanganeros en colonias infestadas hasta la operculación de las celdillas, de tal forma de permitirle a los ácaros ingresar a las celdillas para luego eliminarlos junto con los panales, lográndose reducciones cercanas al 54% de los ácaros (RITTER, 1981). Este método sin embargo es usado con escepticismo ya que su eficacia es muy limitada, y suele ser costoso y laborioso (YÁNEZ, 2004).

2.10.3 Control biológico. La mayor ventaja de este método es la ausencia de contaminación en los productos, así también como la introducción de patógenos (bacterias, hongos, virus) los cuales eliminan el ácaro pero no a las abejas (DIETZ y HERMANN, 1988).

Ejemplos claros son los citados por YÁNEZ (2004), en relación al trabajo desarrollado por instituciones de Estados Unidos y del Reino Unido sobre la búsqueda e identificación de hongos entomopatógenos que actúan sobre varroa, por ejemplo cepas de *Hirsutella thompsonii* Fisher y *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin, quienes actúan sobre el ácaro a temperaturas similares a las que se mantienen las colmenas.

2.10.4 Control químico. Para combatir el parásito se ha propuesto el empleo de diversos métodos, pero al parecer los de mayor eficacia corresponden al empleo de sustancias químicas de acción específica para eliminar ácaros. Estos son los llamados acaricidas (Neira, 1992 citado por YÁNEZ, 2004). Sin embargo, con muchas plagas de ácaros, el uso repetido de químicos ha terminado en el desarrollo de formas resistentes a pesticidas en ácaros. Otro problema con el uso de acaricidas es la posibilidad de contaminación de cera o miel (DE JONG, 1990).

Con excepción del piretroide fluvalinato (Apistan®), flumetrina (Bayvarol®), amitraz (Amitraz 6.25%®, Apivar® y Colmesan®), o coumaphos (CheckMite®), ningún otro químico ha sido aprobado (DIETZ y HERMANN, 1988), aunque ya se sabe que los tratamientos con productos químicos que permiten cierto control de la parasitosis tienen grandes inconvenientes (REYES y MUÑOZ, 2003; YÁNEZ, 2004).

En nuestro país la utilización de los piretroides, y del fluvalinato en especial, se ha realizado en preparaciones caseras administradas en forma indiscriminada y sin ningún tipo de control. Aunque en determinadas zonas, se sigan utilizando estas formulaciones caseras con relativo éxito, es probable que ello pueda haber generado resistencia en las poblaciones locales del parásito, dado que se ha comenzado a observar un aumento de la mortalidad de las abejas, aún en colmenas que han sido tratadas (MORENO, 2001).

Actualmente los únicos medicamentos veterinarios de uso apícola con registro SAG para el control de varroa son flumetrina y amitraz, como ingredientes activos, en sus diferentes nombres comerciales (CHILE, SAG, 2007). En el CUADRO 1 se observan los medicamentos veterinarios de uso apícola indebidamente no registrados en el SAG:

CUADRO 1. Medicamentos veterinarios de uso apícola indebido no registrados en el SAG.

Nombre Comercial	Principio Activo	Comentarios Técnicos / Efectos Negativos
Mavrick	Fluvalinato	* Residuos en la miel y su consiguiente RECHAZO en los centros acopiadores (pérdida económica para el productor). * Daños en la salud humana. * Pérdidas directas en las colmenas, como una baja en la producción de miel, muerte de abejas y baja postura, entre otros.
Apistán	Fluvalinato	
Tablitas de Fluvalinato	Fluvalinato	
Asuntol	Coumaphos	

FUENTE: CHILE, SAG (2007).

2.10.5 Control alternativo. La tendencia actual es el uso de productos naturales como parte de una estrategia de control integrado (NEIRA *et al.*, 2003).

Según IMDORF *et al.*, (1996) la lucha alternativa propone el uso de sustancias activas que son:

2.10.5.1 Ácidos orgánicos. Entre ellos están los ácidos fórmico, láctico y oxálico, donde los problemas de residuos son prácticamente inexistentes.

2.10.5.1.1 Uso de ácido fórmico. El ácido fórmico es un compuesto químico orgánico presente en la naturaleza. Se encuentra en la miel, en la mordedura de las hormigas, en las frutas, etc., y su uso más común ha sido en la industria de conservación de alimentos. Desde los años 70 comenzó a ser utilizado para el control de plagas en vegetales con mucho éxito, de ahí su empleo en el control de varroa. La ventaja de utilizar el ácido fórmico se debe a que por el hecho de ser muy volátil se evapora en tan sólo tres semanas, y en consecuencia, no contamina los productos de la colonia. Además, es de bajo costo y no crea resistencia. Ha tenido una buena aceptación en Europa, pero debe ser utilizado con ciertas medidas de precaución: por ser un ácido

corrosivo, puede quemar la piel o causar problemas respiratorios por inhalación de vapores al momento de la aplicación (DE FELIPE y VANDAME, 1999) (ANEXO 2).

En el interior de las colmenas, el ácido actúa por evaporación alcanzando tanto a los ácaros que se encuentran sobre la abeja adulta como a los que están en fase reproductiva dentro de las celdas de cría. Los ácaros afectados por ácido fórmico, a través de su sistema respiratorio, muestran una inhibición de la respiración y aparecen fuertemente acidificados, aunque no muestran necrosis de sus tejidos ni efectos corrosivos (EGUARAS, 2004).

2.10.5.2 Uso de componentes de aceites volátiles. Los aceites esenciales son volátiles con aromas, y están constituidos por un grupo heterogéneo de compuestos orgánicos; se sitúan en glándulas, pelos o canales secretores de las plantas, presentándose con mayor concentración dentro de las angiospermas que pertenecen a las familias: apiáceas, asteráceas, labiadas, magnoliáceas, mirtáceas, rutáceas y umbelíferas (ARBERT *et al.*, 2003).

Según IMDORF *et al.* (1999), en largas selecciones de pruebas, muchos aceites han mostrado una significativa actividad acaricida, unos repeliendo varroa, otros atrayéndola y algunos matándola. Sin embargo, de más de 150 aceites esenciales probados, sólo muy pocos resultaron eficaces al ser aplicados en colmenas en pruebas de campo.

Para PADILLA (2005), dentro de éstos se destacan el timol, el mentol y eucaliptol, y de los productos naturales probados el timol es una de las opciones más recomendables. Para aplicarlo hay que cuidar la dosis y emplear un sistema que permita una liberación progresiva del principio activo.

Sin embargo, en nuestro país, productos tales como los ácidos orgánicos, y los derivados de aceites esenciales no cuentan con el respaldo de la autoridad sanitaria animal, y no se han realizado estudios que avalen su efectividad en el uso apícola, ni su inocuidad, tanto para las abejas, como para los humanos (CHILE, SAG, 2007).

3 MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Ubicación del ensayo

Este se llevó a cabo en el colmenar instalado en la Estación Experimental Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile (ANEXO 1), comuna de Valdivia. Su ubicación geográfica corresponde a 39° 47' 25" latitud sur y 73° 13' 53" longitud oeste, cuya altitud es de 12 m.s.n.m.

3.2 Material

Los materiales necesarios para el ensayo fueron divididos en materiales biológicos, no biológicos, químico y otros materiales.

3.2.1 Material biológico. Se compone originalmente por 49 colonias de abeja europea *Apis mellifera*. L, infestadas con *Varroa destructor* Anderson & Trueman.

3.2.2 Material no biológico. Se subdivide en:

3.2.2.1 Material de colmena. Son las partes que forman las 49 colmenas tipo Langstroth, tales como pisos, cubre piqueras, marcos, entretechos y techos.

3.2.2.2 Material de trabajo apícola. Es el material utilizado en el trabajo directo en el colmenar y se compone por traje apícola, ahumador, palanca Root y acículas de pino para producir humo.

3.2.2.3 Material de diagnóstico. Este se compone por los materiales utilizados en la determinación del nivel de infestación, tales como trampas de caída de varroa (ANEXO 3) y los utilizados en el diagnóstico del nivel de infestación según el método del doble tamiz (ANEXO 4).

3.2.3 Material químico. En el trabajo experimental, el compuesto químico utilizado fue ácido fórmico con un 98 a 100 % de pureza, el cual se diluyó hasta alcanzar una concentración de 70 % v/v.

3.2.4 Otros materiales. Corresponde a los dispensadores de ácido fórmico (ANEXO 5) y a todos los materiales que fueron utilizados en el conteo de los varroas y abejas, tales como pinza, placa Petri, contador manual, lupa universal con lente de aumento integrada, lápiz, plumones y cuaderno de terreno.

3.3 Metodología del ensayo

Para el desarrollo del ensayo se trabajó en base al siguiente marco general:

3.3.1 Marco general del ensayo. La secuencia de eventos experimentales contempló:

a) Diseño, fabricación e instalación inicial de trampas de caída de varroa. La metodología plantea el uso de pisos trampas que se ubican en la base de cada colmena (DIETZ y HERMANN, 1988). Para este caso, corresponden a placas de poli carbonato cubiertas con una capa de vaselina sólida y sobre ella una malla plástica. La vaselina sólida es utilizada con el objetivo de adherir los ácaros caídos a la placa, impidiendo que estos vuelvan a reinfestar a otras abejas. Por otra parte, la cubierta de malla plástica permite la recolección de abejas muertas u otros elementos que pudiesen ser desprendidos de los marcos.

Se recolectaron datos de caída de varroa para un período de 7 días, denominando a esta fase *caída natural* de varroa de pre-aplicación.

b) Paralelamente se procedió a la toma de muestras de abejas de cada colmena a partir del marco central para el diagnóstico del nivel de infestación por el método del doble tamiz.

c) Posteriormente se acondicionó un dispositivo para inducir la caída de varroa sobre los pisos trampas (FIGURA 3). Para tal efecto se utilizó ácido fórmico diluido al 70 % v/v, que fue vertido a través de una jeringa en dos dispensadores por colmena,

cada uno recibiendo 120 ml. Cada dispensador estuvo compuesto por una bolsa plástica sellada superiormente y rellena en su interior por vermiculita, material que permite una lenta liberación de gases. Esta se realizó a través de 2 orificios en las bolsas, que se distribuyen a razón de 1 cm² a cada extremo lateral de la mitad de la bolsa.

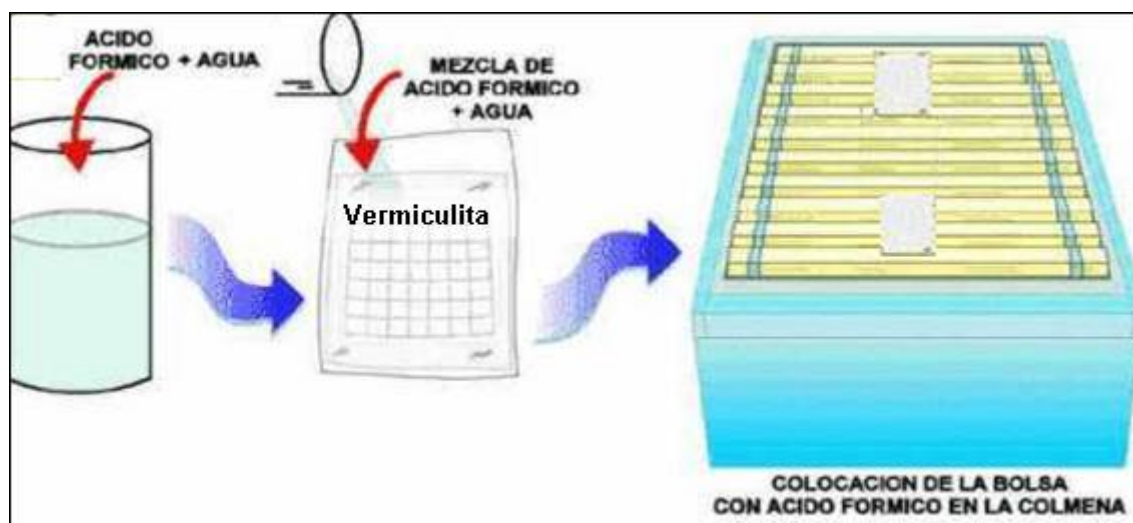


FIGURA 3. Forma de aplicación del ácido fórmico.

FUENTE: Modificado de VANDAME (2000).

Una vez preparados los dispensadores, fueron puestos en la parte superior entre los marcos de cada colmena, eligiendo los marcos más alejados del núcleo de la colonia. La caída de las bolsas fue evitada con pinzas metálicas que sostuvieron cada dispensador.

Los dispensadores fueron mantenidos dentro de la colmena por un período de 21 días. Durante éste período se registraron los posibles efectos secundarios del uso de ácido fórmico, observando la mortalidad de abejas adultas a través de conteos visuales del deceso de abejas sobre los pisos trampas, cuya frecuencia fue de 7 y 15 días, ya que a partir de los 15 días no existe efecto del ácido fórmico dentro de la colmena (EGUARAS, 2004).

d) Una vez retirados los dispensadores de ácido fórmico, el ensayo contempló un registro de la infestación denominado de post-aplicación a través de los métodos de caída natural y doble tamiz.

3.3.2 Diseño experimental. Se consideró como base de cada tratamiento el nivel de caída natural de varroa, el cual fue dividido en rangos de caída según lo propuesto por GOODWIN y VAN EATON (2001) e IMDORF *et al.* (2003), quienes señalan que las colmenas con caídas naturales de 0 a 10 varroas / día, toleran la acción del ácaro, permitiendo la sobrevivencia de éstas (ANEXO 7). En base a ello, se designaron tres rangos de caída natural diaria de varroa, 0 a 10, 11 a 20 y mayor a 20 (ANEXO 8).

3.3.3 Período experimental y actividades a realizar. Se inició el día 8 de abril de 2005, y se prolongó hasta julio del mismo año, la descripción de actividades se representa en el ANEXO 6.

3.3.4 Mediciones y observaciones. Estas se realizaron de acuerdo a los parámetros que se evaluaron:

- Caída natural de varroa pre-aplicación y post-aplicación del ácido fórmico, lo cual se expresó en ácaros caídos en 24 horas (ANEXO 9).
- Nivel de infestación de varroa en abeja adulta según metodología del “doble tamiz”, pre-aplicación y post-aplicación del ácido fórmico, cuya unidad de medición es porcentaje (%) del total de la población de abejas (ANEXO 9).
- Mortalidad de abejas adultas, fue medida como “*número de abejas adultas muertas*” (ANEXO 10) en los períodos pre-aplicación, durante la aplicación y post-aplicación.

3.4 Análisis de los datos

El análisis estadístico contempló la realización de análisis de correlación y pruebas no paramétricas según la variable y objetivo a resolver.

Con el fin de medir la correlación existente entre los métodos de evaluación, doble tamiz y caída natural se realizó una regresión lineal (ANEXOS 11 y 12) y se determinó el coeficiente de correlación con los datos obtenidos, cuya variable

independiente es el nivel de infestación obtenido con el método de doble tamiz y la dependiente es la caída natural de ácaros, considerando dos períodos, uno previo y otro posterior a la aplicación del ácido fórmico (MORALES, 2005).

Además, a través de un análisis estadístico no paramétrico se examinó la mortalidad de las abejas durante el ensayo, utilizando la prueba de variables no paramétricas de Kruskal-Wallis (TRIOLA, 2000)

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa computacional STATGRAPHICS PLUS 5.0 y Microsoft Excel.

4 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Caída natural diaria como indicador de los niveles de infestación pre y post aplicación de ácido fórmico

En el estudio se determinó la correlación que existe entre el nivel de infestación en abejas adultas obtenido con el método de doble tamiz y la caída natural diaria de ácaros; para lo cuál se consideró el número de ácaros diario que abandonan la abeja y caen en el piso de la colmena, según lo descrito por GOODWIN y VAN EATON (2001); e IMDORF *et al.*, (2003) y la determinación del porcentaje de infestación en abejas adultas a través del método de doble tamiz descrito por el SAG (1994).

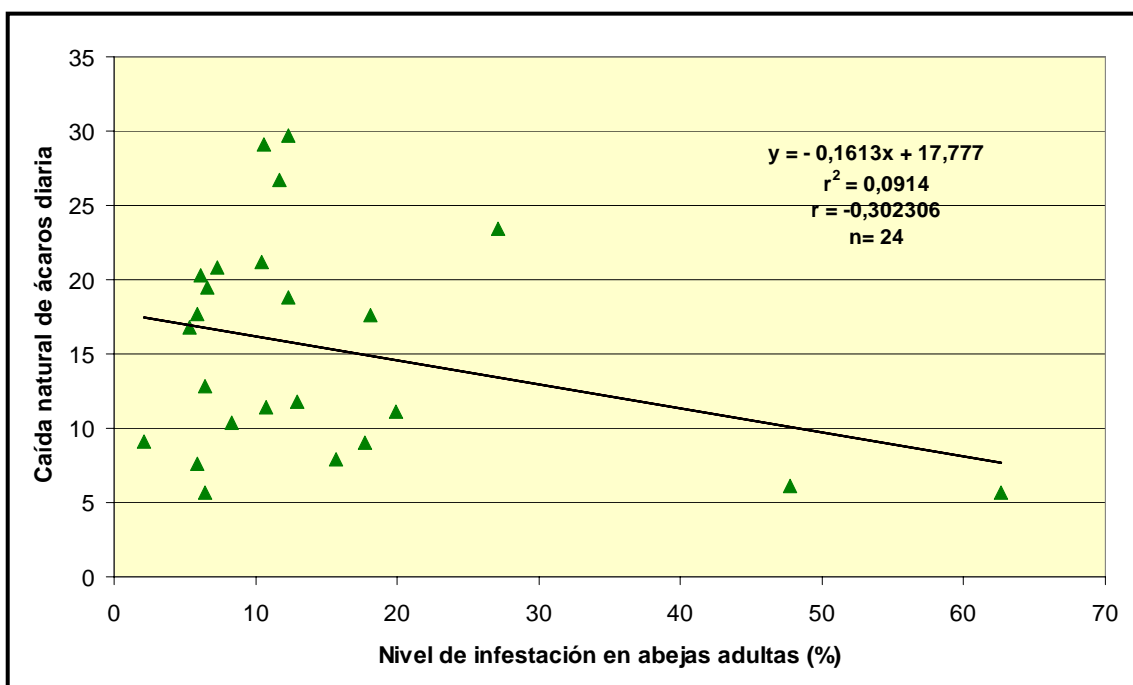


FIGURA 4. Relación obtenida entre el nivel de infestación obtenido con método de doble tamiz v/s caída natural en el periodo de pre-aplicación de ácido fórmico.

Al analizar la correlación existente entre ambos métodos de evaluación de varroa, esto es a través del doble tamiz y de caída natural de varroa, no se encontró una correlación estadísticamente significativa entre ambos, para el período pre-aplicación, ya que ésta se encuentra por debajo de lo establecido en la tabla r para $n=24$ (ANEXO 13) (FIGURA 4).

En el período de post-aplicación (FIGURA 5) ocurre algo similar pero que evidencia en mayor grado la nula asociación entre los niveles de infestación medidos a través de ambos métodos; ya que como se observa, el índice de correlación es negativo y muy cercano a 0 .

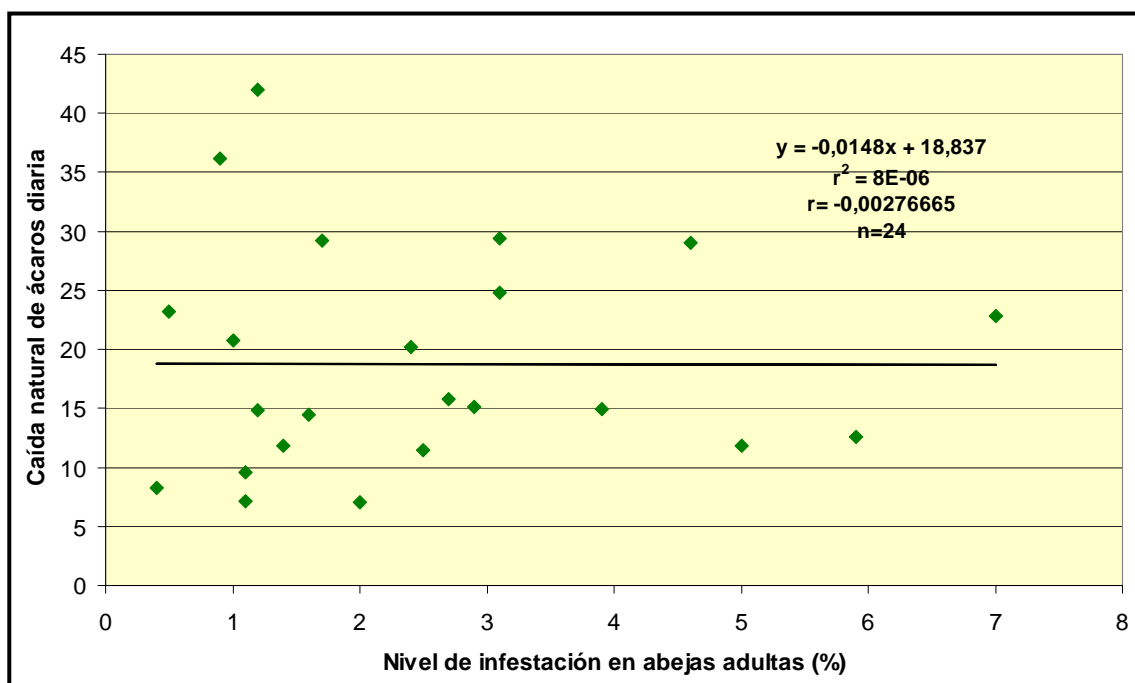


FIGURA 5. Relación obtenida entre el nivel de infestación obtenido con método de doble tamiz v/s caída natural en el período de post-aplicación de ácido fórmico.

Según lo anteriormente expuesto, sería imposible establecer relación alguna entre los métodos de doble tamiz y la caída de ácaros diaria para determinar los niveles de infestación, lo que concuerda claramente con lo señalado por CALDERONE, (1999), quien determinó que no existe una relación entre el porcentaje de infestación

medido a través del método de doble tamiz y la caída diaria de ácaros, ya que colmenas con un mismo porcentaje de infestación pueden tener una población distinta de abejas. Por lo tanto, un número diferente de ácaros que pueden estar afectándolas. WEBSTER, *et al.* (2000) señalan además, que es muy difícil establecer relación entre ambos métodos, ya que la caída puede variar entre un 39-50% entre colmenas con un mismo nivel de infestación en abeja adulta. En nuestro país, investigaciones realizadas por EBERHARDT (2007) en la Región Metropolitana en condiciones otoñales, demostraron la existencia de correlaciones positivas pero estadísticamente no significativas entre el nivel de infestación obtenido con el método del doble tamiz y la caída natural de varroa, en períodos de pre y post aplicación de tratamientos con ácido fórmico.

Sin embargo, otros autores no concuerdan con esto, ya que ellos han determinado la existencia de una relación positiva entre ambos métodos. Es el caso de BRODSGAARD y BRODSGAARD (1998), los que describen un modelo lineal para la relación entre ambos métodos; concordando con CATALAYUD y VERDÚ (1993), quienes señalan que existe una correlación positiva entre ambos métodos, recalcando además, que la caída natural diaria de ácaros sería un excelente método de determinación del nivel de infestación de ácaros existente en la colmena. La diferencia en los resultados obtenidos en estos casos, como en la presente investigación se debería a que la metodología usada para determinar el nivel de infestación, a partir de un sólo cuadro de cría, no sería el adecuado (CATALAYUD y VERDÚ, 1993; MARCANGELI, 1995, EBERHARDT, 2007). MARCANGELI, 1995, determinó que para que exista una correlación entre ambos métodos, la muestra debe ser tomada de los tres marcos centrales, ya que de esta forma sería más representativo y disminuiría además la posibilidad de error de sobreestimar o subestimar el nivel de infestación en las colmenas. Esto último sería importante establecerlo, ya que en éste ensayo, sólo se tomó una muestra del marco central, siendo quizás ésta la razón de la ausencia de correlación entre ambos métodos de monitoreo.

En relación a qué método sería el más práctico, existen también discrepancias, ya que como señalan OSTIGUY y SAMMATARO (2000), el método de caída natural resulta muy laborioso al momento de contabilizar los ácaros, pues se pueden encontrar

más de 1000 ácaros y por lo tanto, resulta difícil de realizar claramente. Por este motivo elaboraron una metodología de conteo estratificado de las varroas en los pisos, que disminuye el tiempo de trabajo, obteniendo como resultado que contando sólo un 33% de las celdas, se puede estimar el total de ácaros presentes en la colmena y la caída natural diaria en los pisos. Para MARCANGELI (1995) el método de caída sería el más eficiente y el que menos tiempo le significa al apicultor, además de ser el que mejor representa la población de ácaros en la colmena.

Habría que llevar a cabo un análisis más exhaustivo para determinar qué método de evaluación es el más adecuado, analizando entre otras cosas el tiempo que lleva realizarlos y los costos relacionados.

4.2 Mortalidad de abejas en el piso de la colmena

Se evaluó el efecto del ácido fórmico en la mortalidad de las abejas contabilizando cada abeja encontrada muerta en el piso de la colmena.

Para el análisis se llevó a cabo una prueba no paramétrica (ANEXO 14) la que no arrojó diferencias estadísticamente significativas (CUADRO 2).

CUADRO 2. Mortalidad de las abejas entre distintos períodos de aplicación de ácido fórmico y rangos de caída natural de varroa.

Rangos de caída natural de varroa (Caída varroa / Día)	Período		
	Pre-aplicación (Abejas muertas / Día)	Durante la aplicación (Abejas muertas / Día)	Post-aplicación (Abejas muertas / Día)
0-10	27,40a	33,25a	33,70a
11-20	30,55a	46,91a	47,77a
>20	44,00a	33,17a	25,17a

Prueba de Kruskal Wallis. Letras distintas de cada columna indican diferencias estadísticamente significativas (DHS 5%).

Respecto al efecto del ácido fórmico para algunos autores, este puede ser letal cuando las concentraciones utilizadas no son las adecuadas para las condiciones climáticas preponderantes durante el periodo de aplicación (DE FELIPE y VANDAME, 1999). Según esto, queda de manifiesto que las concentraciones utilizadas fueron las correctas para éste ensayo, ya que no causaron ningún efecto tóxico sobre las abejas que provocara un aumento en el deceso de éstas. Ello se relaciona a lo que señala VANDAME (2000) quien resalta, que el uso de ácido fórmico no trae ninguna consecuencia para las abejas, siempre y cuando, no se utilice una concentración demasiado alta.

Otros autores como RADEMACHER *et al.* (1996), se refieren a que el mayor problema que tiene el ácido fórmico a la hora de utilizarlo en las colmenas, es que las crías de las abejas a punto de nacer, las abejas jóvenes y/o las reinas pueden sufrir algún tipo de daño.

5 CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en base a la metodología planteada se llega a las siguientes conclusiones:

No existe una correlación entre el nivel de infestación de varroa medido por el método de doble tamiz y la caída natural, para ninguno de los periodos evaluados (pre y post aplicación de ácido fórmico). Por lo tanto, teniendo como referente el método de doble tamiz, la caída diaria de varroas no puede ser empleada como un indicador del nivel de infestación en las colmenas para condiciones otoñales de la provincia de Valdivia.

El tratamiento con ácido fórmico no produjo ningún efecto sobre las abejas en lo que respecta variaciones en la mortalidad.

Se recomienda evaluar las metodologías actuales de determinación del grado de infestación, considerando la época del año en que se aplican, y las posibles modificaciones que pudiesen sufrir, tal es el caso del método del doble tamiz y la sugerencia de tomar la muestra de abejas adultas a partir de más de un marco central de la colmena.

6 RESUMEN

La varroosis de la abeja mellífera *Apis mellifera* L. se considera como la enfermedad de mayor impacto económico para esta especie en el mundo. Esta enfermedad es provocada por el ácaro ectoparásito *Varroa destructor* Anderson & Trueman. El control del ácaro debe tener un monitoreo de pre y post-aplicación de un tratamiento, a fin de conocer inicialmente la población de ácaros existente en la colmena, para decidir que control hacer, y luego un monitoreo para conocer la efectividad de los tratamientos. Existen varios métodos para el monitoreo, descritos por GOODWIN y VAN EATON (2001); e IMDORF *et al.*, (2003) dentro de los que resalta el método de caída natural diaria y el método de doble tamiz para determinar el nivel de infestación; siendo este último usado por el Servicio Agrícola y Ganadero (1994). Ambos métodos son utilizados en el país, pero existe bastante discrepancia sobre la relación existente entre ellos. Con esta base, se plantea el ensayo, para determinar la relación existente entre ambos métodos en los períodos antes señalados, y además el efecto en la mortalidad de las abejas que pudiese producir el uso de ácido fórmico para el control del ácaro. El ensayo se llevo a cabo en la Estación Experimental Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile durante los meses de abril y julio de 2005. El diseño experimental consistió en 3 rangos diferentes de caída natural diaria de varroa, la cual se midió en el período de pre-aplicación y post-aplicación; el criterio utilizado se basó en los rangos de caída que señalan; GOODWIN y VAN EATON (2001) e IMDORF *et al.*, (2003). En todas las colmenas se realizó una sola aplicación de 240 ml de ácido fórmico al 70%. Las variables evaluadas fueron: nivel de infestación de abeja adulta por el método de doble tamiz, caída natural y mortalidad de abejas en el piso de la colmena. A partir de esto, se determinó que no existe una correlación entre el nivel de infestación medido por el método del doble tamiz y la caída natural de varroa de la colmena en un marco de cría, para ninguno de los períodos evaluados (pre y post aplicación), por lo que la caída diaria de varroas no puede ser utilizada como un indicador del nivel de infestación en colmenas en la provincia de valdivia. El tratamiento con ácido fórmico no produjo ningún efecto sobre la mortalidad de las abejas.

SUMMARY

The varroasis of the *Apis mellifera* L. bee is considered to be the disease of major economic impact for this species in the world. This disease is provoked by the ectoparasite mite *Varroa destructor* Anderson & Trueman. The control of the mite must have a monitoring of pre and post application, related of knowing in the first instance the existing population of mites in the beehive, to decide of what type of control do, and finally a later monitoring to know the efficiency of these. Several exist methods for the monitoring described by GOODWIN and VAN EATON (2001); and IMDORF *et al.*, (2003), of these highlights to determine the level of infestation, the method of natural daily fall and the method of double sieve; being the last one currently use by Agricultural and Cattle Service (1994). Both are used in the country, but exists a lot of discrepancy on the existing relation among both; on the basis of this there appears this experiment that seeks to determine the existing relation between both, in the periods before indicated, and besides this the effect in the mortality of the bees that could produce the use of formic acid for mite control. The experiment was carried out on the Experimental Station Santa Rosa of the Austral University of Chile during April and July of 2005. The experimental design consisted of 3 different ranges from natural daily fall of varroa, which were measured in the period of pre and post application; the used criteria were based in the ranges of fall indicated by GOODWIN and VAN EATON (2001) and IMDORF *et al.*, (2003). For all the beehives was realize a single application of 240 ml of formic acid (70%). The evaluated variables were: infestation level of adult bee measured by the method of double sieve, natural daily fall and mortality of bees in the floor of the beehive. From this were determined that does not exist a correlation among the level of infestation measured by the method of double sieve and the natural fall of the beehive for any of the evaluated periods (pre and post application), because of this daily fall of varroas cannot be used as an indicator of the infestation level in the beehive in the Valdivia Province. The treatment with formic acid did not produce any effect on the mortality of the bees.

7 BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, D. y TRUEMAN, J. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* (Holanda) 24: 165 – 168.
- ARBERT, C.; BITTNER, M.; CASANUEVA, M.; MARTINEZ, M.; BECERRA, J. y SILVA, M. 2003. Análisis fenético, estudio químico y de actividad biológica de los aceites esenciales de la familia monimiaceae, nativa de Chile. Resumen XLVI Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile, XII Reunión Anual de la Sociedad de Ecología de Chile. (On Line) <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-97602003000300016&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0716-9760> (26.mar.2007).
- BARRIA, M. 2000. Efectos de la aplicación de timol y mentol sobre *Varroa jacobsoni* OUD. y su hospedero *Apis mellifera* L. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 93 p.
- BARRIGA, J. y NEIRA, M. 1988. *Varroa jacobsoni*, peligro potencial para las abejas en Chile. In: Seemann, P. y Neira, M. (eds), Tecnología de la producción apícola. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. Chile. pp: 31-45.
- BRODSGAARD, C. y BRODSGAARD, H. 1998. Monitoring method as a basis for need-based control of varroa mites (*Varroa jacobsoni*) infesting honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Atla-alternatives to laboratory animals* (EEUU) 26 (4): 413-419.
- CALATAYUD, F. y VERDÚ, M. 1993. Hive debris count in honeybee colonies: a method to estimate the size of small populations and rate of growth to the mite *Varroa*

jacobsoni Oud. (Mesostigmata:Varroidae). Experimental and Applied Acarology (Holanda) 17:889-894.

CALDERONE, N. 1999. Evaluation of formic acid and thymol – based blend of natural products for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in colonies of honey bees, *Apis mellifera*. Journal of Economic Entomology (EEUU) 92(2): 253-260.

CENTRAL SCIENCE LABORATORY (CSL), 2006. (On line) <<http://www.csl.gov.uk/science/organ/environ/bee/diseases/varroa/monitoringvarroa.cfm>> (07.mar.2006).

CORNEJO, L. 1993. Apicultura práctica en América Latina. Boletín de servicios agrícolas de la FAO N ° 105. Ediciones FAO. Roma. Italia. 168 p.

CHEMFINDER.COM, 2003. 2003. Chemfinder. (on line) <<http://www.chemfinder.com/02849/html>> (21.Oct.2005)

CHILE, SERVICIO DE AGRICOLA Y GANADERO (SAG). 1994. Control de la varroosis de las abejas. Boletín técnico 1. Departamento de protección pecuaria. Proyecto control varroosis FAO / SAG. Santiago. Chile. 20 p.

_____, 2007. Medicamentos veterinarios de uso apícola registrados por el SAG. (On line)<http://www.sag.gob.cl/portal/page?_pagied=133,125155&=PORTAL> (19.mar.2007)

DE LA SOTA, M. y BACCI, M. 2004. Manual de procedimientos enfermedades apícolas. (On line) <http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/sanidad/_manualvarroa2.pdf> (3. jun.2005).

DELAPLANE, K. 2001. *Varroa destructor*: revolution in the making. Bee World (Inglaterra) 82(4): 157-159.

- DE FELIPE, M. y VANDAME, R. 1999. Curso de capacitación sobre control alternativo de Varroa en apicultura. (On line) <http://www.culturaapicola_.com.ar/apuntes/sanidad/curso%20varroa.pdf> (17. jun. 2005).
- DE JONG, D. 1990. Mites: Varroa and other parasites of brood. In: Morse, R. y Nowogrodzki, R. (eds). Honey bee pests, predators and diseases. 2^a ed. USA. Cornell University Press. pp 200-218.
- DIETZ, A. y HERMANN, H. 1988. Biology, detection and control of *Varroa jacobsoni*: A parasitic mite on honey bees. Lei-Act. Georgia. USA. 80 p.
- EBERHARDT, C. 2007. Caída natural de *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Mesostigmata: Varroidae) como indicador del nivel de infestación y efecto del tratamiento otoñal con ácido fórmico sobre la colmena en la región Metropolitana, Chile. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 68 p.
- EGUARAS, M. 2004. El ácido fórmico como agente de control de *Varroa destructor* en Argentina. (On line) <http://www.apiculturagalega_.org/modules.php?name=News&file=article&sid=29>(23.jun.2005).
- FREDES, F. 1993. Varroasis: un nuevo problema parasitario en Chile. Monografías de Medicina Veterinaria (Chile) 15 (1-2): 11-16.
- GOODWIN, M. y VAN EATON, C. 2001. Control of varroa, A guide for New Zealand Beekeepers. New Zealand, Ministry of Agriculture and Forestry. (On line). <<http://www.biosecurity.govt.nz/pests-diseases/animals/varroa/guidelines/control-of-varroa-guide.pdf>> (19.may.2005)
- HAWTHORN, C. 1999. Inducible honey bee viruses associated with *Varroa jacobsoni*. (On line) <<http://www.chphd.com/PhD/Chapter1.php>> (12.mar.2007)

- HINOJOSA, A. y GONZÁLEZ, D. 2004. Prevalencia de parásitos en *Apis mellifera* L. en colmenares del secano costero e interior de la VI Región, Chile. *Parasitología Latinoamericana* (On line) <http://www.scielo.cl/scielo.p?script=sci_arttext&pid=sci_arttext&pid=S0717-771220040030008&lng=es&n_rm=iso> (18.jul.2005)
- IMDORF, A.; BOGDANOV, R.; IBÁÑEZ, N. y CALDERONE W. 1999. Use of the essential oils for the control of *Varroa jacobsoni*. (On line) <<http://www.alp.admin.ch/themen/00502/00515/00521/index.html?lang=en>> (12.mar.2007)
- _____ ; CHARRIERE, J.; MAQUELIN, C.; KILCHENMANN, V. y BACHOFEN, B. 1996. Alternative varroa control. *American Bee Journal* (EEUU) 136(3): 189-193.
- _____ ; CHARRIERE, J.; KILCHENMANN, V.; BOGDANOV, S.; FLURI, P. 2003. Alternative strategy in central Europe for the control of *Varroa destructor* in honey bee colonies. (On line) <www.apimondia.org/apiact_a/articles/2003/imdorf_2.pdf>. (22.Jun.2005).
- JANDRICIC, S. y OTIS, G. 2003. The potential for using male selection in breeding honey bees resistant to *Varroa destructor*. *Bee World* (Inglaterra) 84(4): 155-164.
- LESSER, R. 2001. *Manual de apicultura moderna*. Universitaria. Santiago. Chile. 224 p.
- MARCANGELI, J. 1995. Aplicación de una nueva técnica para determinar los niveles de infestación de *Varroa jacobsoni* en colmenas de *Apis mellifera*. <www.culturaapicola.com.ar/apuntes/sanidad/aplicacion> On line (24 mar.2006).
- MONDACA, M. 2004. Evaluación del comportamiento de acicalamiento (grooming) de abejas *Apis mellifera* L. con relación al ácaro *Varroa jacobsoni* Oud., en la comuna de Padre Las Casas, IX^a región. (On line) <http://www.uct.cl/biblioteca/tesison_line/marcia-mondaca/tesis.pdf> (20.oct.2005)

- MORALES, E. 2005. Diseño experimental a través del análisis de varianza y modelo de regresión lineal. Una guía práctica para entender la ciencia estadística. Andros Impresores. Santiago, Chile. 248p.
- MORENO, A. 2001. Manual control de enfermedades apícolas (descripción, diagnóstico y tratamientos). Red Nacional Apícola. (On line) <<http://www.promer.cl/getdoc.php?docid=751>> (08.mar.2007)
- NEIRA, M. 1998. Apicultura. In: Amtmann, C.; Mujica, F. y Vera, B. (eds). Pequeña agricultura en la Región de Los Lagos. Universidad Austral de Chile. pp: 261-295.
- _____; HEINSOHN, P.; CARRILLO, R.; BÁEZ, A. y FUENTEALBA, J. 2003. Efecto de aceites esenciales de lavanda y laurel sobre el ácaro *Varroa destructor* Anderson&Trueman (Acari: Varroidae). (On line) <[http://www.alerce.inia.cl/agriculturattec/documentos/v.64\(03\)/NR3_1506%20p%20238-244.pdf](http://www.alerce.inia.cl/agriculturattec/documentos/v.64(03)/NR3_1506%20p%20238-244.pdf)>. (23.jun.2005).
- OSTIGUY, N. y SAMMATARO, D. 2000. A simplified technique for counting *Varroa jacobsoni* Oud. on sticky boards. *Apidologie* (Francia) 31(5):707-716.
- PADILLA, F. 2005. Patología apícola. (On line) <http://www.uco.es/dptos/zoo_logia/Apicultura/pato_adu2.htm> (23.jun.2005).
- RADEMACHER, E; POLACZEK, B. y SCHRICKER, B. 1996. Una nueva forma de aplicación del ácido fórmico. *Vida Apícola* (España) 79:15-20.
- REYES, J. y MUÑOZ, R. 2003. Acaricidas sintéticos y naturales para el control de *Varroa destructor* en colmenas de *Apis mellifera* L. (On line) <<http://www.uaaan.mx/DirInv/Rdos2003/ecologia/syntetic.pdf>> (25.jun.2005).
- RITTER, W. 1981. *Varroa* disease of the honey bee *Apis mellifera*. *Bee World* (Inglaterra) 62(4): 141-151.

TRIOLA, M. 2000. Estadística elemental. Ciudad de México. México. 791 p.

UNIVERSITY OF CONNECTICUT, 2006. Critical values of the pearson product moment correlation coefficient. (On line) <<http://www.gifted.uconn.edu/Siegle/research/correlation/corrchrt.htm>> (22.nov.2006)

VANDAME, R. 2000. Control alternativo de varroa en la apicultura. (On line) <<http://www.apicultura.com/articulos/control-varroa/curso2.htm>> (11.Sep.2005).

WEBSTER, T., THACKER, E. y VORISEX, F. 2000. Live *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata:Varroidae) fallen from honey bee (Hymenoptera:Apidae) colonies. Journal of Economic Entomology (EEUU) 93(6):1596-1601.

YÁNEZ, G. 2004. Evaluación de dos formas de aplicación de vaselina líquida, para el control del ácaro *Varroa jacobsoni* Oudemans en abejas *Apis mellifera*, en la comuna de Freire, sector San Ramón, IX región, durante el período otoñal 2002. (On line) <http://www.uct.cl/biblioteca/tesison_line/gabriela-yanez/tesis.pdf>. (06.jul.2005).

ANEXOS

ANEXO 1. Colmenar Estación Experimental Santa Rosa, Universidad Austral de Chile



ANEXO 2. Descripción química y física del ácido fórmico

Nombre común	: Acido fórmico.
Nombre químico	: Acido metanoico.
Fórmula empírica	: CH ₂ O ₂
Peso molecular	: 46,02 (C: 26,10%; H: 4,38%; O: 69,52%).
Color	: Incoloro.
Olor	: Picante.
Viscosidad	: 1966 poise.
Índice de refracción	: 1,3714.
Punto de ebullición	: 107 / 106 / 108 °C.
Punto de fusión	: 8,4 ° C.
Densidad	: 1,220 g/cm ³ .
Solubilidad	: Miscible. Soluble en alcohol, éter y soluciones acuosas.
Incompatibilidad	: Oxidantes fuertes, caústicos fuertes, ácido sulfúrico concentrado.
Toxicidad	: En humanos es peligrosamente caústico para la piel.
Uso	: Decalcificador, uso industrial y de análisis químico.

FUENTE: CHEMFINDER (2003).

ANEXO 3. Descripción de las trampas de caída de varroa

Los materiales utilizados para la confección de las trampas fueron:

- Placas de poli carbonato de 35 x 44 cm.
- Palos de maqueta.
- Malla plástica.
- Vaselina sólida.
- Silicona.
- Hilo de cáñamo.

ANEXO 4. Material de diagnóstico del nivel de infestación según método del doble tamiz

Para tal procedimiento se utilizaron:

- 49 frascos plásticos de 200 cc.
- Lavalozza Quix® líquido.
- Un colador doble.

ANEXO 5. Implementación del dispensador de ácido fórmico

Se confeccionaron 98 dispensadores, cada uno compuesto por:

- Una bolsa de plástico de 10 x 15 cm.
- Una placa de vermiculita de 10 x 7 cm y de 2,5 cm de espesor.

En el proceso de elaboración se utilizó:

- Mechero.
- 2 Jeringas plásticas de 60 cc.
- Pinzas metálicas.
- Cuchillo cartonero.
- Regla de medir.

ANEXO 6. Cronograma de actividades

Actividad	SEMANAS DEL AÑO 2005															
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Fabricación de trampas	X															
1ª instalación de trampas de caída		X														
Recolección de muestras para diagnóstico por doble tamiz		X														
Primer retiro de trampas y toma de datos de varroa caída			X													
Recolección de datos de abeja muerta pre aplicación			X													
2ª instalación de trampas de caída							X									
Instalación de dispensadores de ácido fórmico							X									
Recolección de datos abeja muerta a 7 días de la aplicación								X								
Recolección de datos abeja muerta a 14 días de la aplicación									X							
Recolección de datos abeja muerta a 21 días de la aplicación										X						
Segundo retiro de trampas y toma de datos de varroa caída										X						
3ª instalación de trampas de caída										X						
Recolección de muestras para diagnóstico por doble tamiz										X						
Tercer retiro de trampas y toma de datos de varroa caída											X					
Recolección de datos abeja muerta a 35 días de la aplicación											X					
4ª instalación de trampas de caída											X					
Ultimo retiro de trampas y toma de datos de varroa caída														X		

ANEXO 7. Rangos de caída natural de varroa.

Tramos	Varroas caídas naturalmente / día	Evolución de la colmena
1	0 a 10	Alta sobre vivencia
2	11 a 20	Media sobre vivencia
3	Mayor a 20	Baja sobre vivencia

FUENTE: Adaptado a partir de GOODWIN y VAN EATON (2001) e IMDORF *et al.*, (2003)

ANEXO 8. Descripción de los tramos de caída natural de varroa.

Tramo de caída de varroa / día	Fecha	30-04-2005		n
	Actividad	Caída Natural sin aplicación		
	Nº Colmena	Nº Varroas	Prom. diario	
0 a 10	31	15	2,1	10
	43	37	5,3	
	63	41	5,9	
	69	41	5,9	
	59	43	6,1	
	35	45	6,4	
	73	45	6,4	
	41	46	6,6	
	57	51	7,3	
88	58	8,3		
11 a 20	45	73	10,4	11
	97	74	10,6	
	100	75	10,7	
	86	82	11,7	
	53	86	12,3	
	78	86	12,3	
	49	90	12,9	
	64	110	15,7	
	98	124	17,7	
	26	127	18,1	
> a 20	84	190	27,1	3
	99	334	47,7	
	62	438	62,6	

ANEXO 9. Caída y nivel de infestación en los períodos de pre y post aplicación de ácido fórmico.

	Pre-aplicación		Post-aplicación	
Rango de caída	Caída de varroas (Nº varroas / 24 horas)	Nivel de infestación (%)	Caída de varroas (Nº varroas / 24 horas)	Nivel de infestación (%)
0 a 10	2,1	9,1	1,1	9,6
0 a 10	5,3	16,8	1,6	14,5
0 a 10	5,9	17,7	2,7	15,8
0 a 10	5,9	7,6	5,0	11,8
0 a 10	6,1	20,3	3,1	24,8
0 a 10	6,4	12,8	1,2	14,8
0 a 10	6,4	5,7	0,5	23,2
0 a 10	6,6	19,5	0,9	36,2
0 a 10	7,3	20,8	4,6	29,0
0 a 10	8,3	10,4	2,5	11,5
11 a 20	10,4	21,2	7,0	22,8
11 a 20	10,6	29,1	3,1	29,4
11 a 20	10,7	11,4	5,9	12,6
11 a 20	11,7	26,7	1,7	29,2
11 a 20	12,3	18,8	3,9	14,9
11 a 20	12,3	29,7	1,2	42,0
11 a 20	12,9	11,8	2,3	14,7
11 a 20	15,7	7,9	0,4	8,3
11 a 20	17,7	9,0	2,9	15,1
11 a 20	18,1	17,6	2,4	20,2
11 a 20	19,9	11,1	1,4	11,8
> 20	27,1	23,4	1,0	20,8
> 20	47,7	6,1	2,0	7,0
> 20	62,6	5,7	1,1	7,1

ANEXO 10. Abejas muertas según fecha de muestreo

Fecha	30-04-2005	05-06-2005	12-06-2005	19-06-2005	03-07-2005
Rango de caída	Nº abejas muertas	Nº abejas muertas	Nº abejas muertas	Nº abejas muertas	Nº abejas muertas
0 a 10	8	3	1	7	10
0 a 10	5	4	1	4	11
0 a 10	66	15	5	1	27
0 a 10	3	20	0	6	6
0 a 10	5	14	5	11	3
0 a 10	3	6	12	6	1
0 a 10	5	3	4	0	0
0 a 10	4	10	6	21	19
0 a 10	8	9	27	27	9
0 a 10	9	7	14	8	3
11 a 20	10	2	16	28	13
11 a 20	5	12	23	12	11
11 a 20	5	4	5	23	15
11 a 20	12	11	9	49	24
11 a 20	13	4	64	9	24
11 a 20	14	15	83	17	13
11 a 20	9	3	10	0	8
11 a 20	9	2	32	25	18
11 a 20	2	9	22	4	6
11 a 20	3	11	56	13	2
11 a 20	3	3	10	3	37
> 20	18	3	3	0	15
> 20	42	7	1	3	4
> 20	0	1	6	3	12

ANEXO 11. Análisis de regresión para el nivel de infestación y caída natural, en el período de pre-aplicación de ácido fórmico. Modelo lineal: $Y = a + b \cdot X$

Variable dependiente: Caída natural				
Variable independiente: Nivel de infestación de abejas adultas				
Parámetro	Estimado	Error	T- estadístico	Valor P
Intercepto	23,3229	6,49234	3,5923	0,0016
Pendiente	0,566583	0,380886	1,4875	0,1511

Fuente de variación	SC	GL	CM	Valor P
Modelo	405,362	1	405,362	0,1511
Residual	4030,21	22	183,191	
Total (Corr.)	4435,57	23		

ANEXO 12. Análisis de regresión para el nivel de infestación y caída natural, en el período de post-aplicación de ácido fórmico. Modelo lineal: $Y = a + b \cdot X$

Variable dependiente: Caída natural				
Variable independiente: Nivel de infestación de abejas adultas				
Parámetro	Estimado	Error	T- estadístico	Valor P
Intercepto	2,4966	0,853396	2,92556	0,0081
Pendiente	0,000516	0,040714	0,012678	0,9900
Fuente de variación	SC	GL	CM	Valor P
Modelo	0,000526	1	0,0005265	0,9900
Residual	68,7856	21	3,2755	
Total (Corr.)	68,7861	23		

ANEXO 13. Tabla de coeficientes de correlación según grados de libertad.

Grados de libertad (n-2)	$\alpha=0.05$
1	0,997
2	0,950
3	0,878
4	0,811
5	0,755
6	0,707
7	0,666
8	0,632
9	0,602
10	0,576
11	0,553
12	0,532
13	0,514
14	0,497
15	0,482
16	0,468
17	0,456
18	0,444
19	0,433
20	0,423
25	0,381
30	0,349
35	0,325
40	0,304
45	0,288
50	0,273
60	0,250
70	0,232
80	0,217
90	0,205
100	0,195

FUENTE: Modificado de University of Connecticut (2006)

ANEXO 14. Análisis de Kruskal Wallis para la variable mortalidad, para los distintos rangos de caída natural de varroa.

Período	Tamaño muestra	Orden
0-10 ácaros / Pre aplicación	10	27,4
0-10 ácaros / Durante aplicación	10	33,25
0-10 ácaros/ post aplicación	10	33,7
11-20 ácaros / Pre aplicación	11	30,54
11-20 ácaros / Durante aplicación	11	46,90
11-20 ácaros/ post aplicación	11	47,77
>20 ácaros / Pre aplicación	3	44,00
>20 ácaros / Durante aplicación	3	33,16
>20 ácaros/ post aplicación	3	25,16

Test estadístico: 10,4695

P-Valor: 0,233607