



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias

Escuela de Ciencias

PROFESOR PATROCINANTE

Miguel Neira Camaño

Instituto de Producción y Sanidad Vegetal

Facultad de Ciencias Agrarias

“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-B EN LA ETAPA LARVAL DE LAS ABEJAS OBRERAS *Apis mellifera* L. (Hym: Apidae) EN CONDICIONES NATURALES, EN LA CIUDAD DE VALDIVIA Y CONCEPCIÓN”

Tesis de Grado presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de **Licenciado en Ciencias Biológicas.**

CAROLINA ANDREA GONZÁLEZ VEGA

VALDIVIA – CHILE

2007

Agradecimientos

Al Profesor Miguel Neira por permitir que participara en este proyecto y brindarme su apoyo y conocimientos.

A las Profesoras Gladis Ruíz y Charlotte Lovengreen por la colaboración y sugerencias en la realización de ésta tesis.

A mis padres José y Rosa por el gran amor y apoyo. Gracias por entregarme valores, enseñarme el verdadero sentido de la responsabilidad y aceptar y entender todos los caminos que he tomado en mi vida y hacer de mí la persona que soy.

A mis amigos y compañeros en especial a aquellos que siempre estuvieron en los momentos más difíciles durante la permanencia en esta ciudad, como olvidar las maratones de estudio, la búsqueda del tronco seco etc.

A mi amiga y compañera Carito por acogerme en su casa y escucharme en los momentos de alegrías y tristezas, acompañarme en la culminación de este proceso y por la entrega de una amistad verdadera y sincera.

A mi pololo, compañero y amigo Javier, te agradezco por entregarme tu cariño, amor y comprensión.

ÍNDICE

Índice.....		I
Lista de abreviaturas		V
Índice de tablas.....		VI
Índice de figuras.....		IX
1	RESUMEN.....	1
1.1	Abstract	3
2	INTRODUCCIÓN.....	5
2.1	Características generales de las abejas	7
2.1.1	Descripción de las tres castas de una colonia, obreras, reina y zánganos	7
2.2	Biología de una obrera	9
2.2.1	Huevo	9
2.2.2	Larva	9
2.2.3	Pupa	10
2.2.4	Adulto	11
2.3	Enfermedades comunes en la colmena	11
2.3.1	Acarapisosis	12
2.3.2	Varroosis	12
2.4	Actividad apícola	13
2.5	Caracterización de la capa de ozono	13
2.5.1	El ozono atmosférico y su relación con la radiación ultravioleta	14

2.6	Caracterización de la radiación ultravioleta	15
2.6.1	Descripción de la radiación ultravioleta	15
2.6.2	Variaciones de la Radiación ultravioleta	16
2.7	Efectos de la radiación ultravioleta en los sistemas biológicos	17
2.7.1	Daños y reparaciones causados por la radiación ultravioleta	17
2.7.2	Efectos biológicos de la radiación ultravioleta en seres humanos	18
2.8	Efectos de la radiación en animales vertebrados	19
2.9	Efectos de la radiación en animales invertebrados	20
2.10	Efectos de la radiación en plantas	22
3	MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1	Área de estudio	25
3.2	Materiales	27
3.2.1	Utilización de colmena	27
3.2.2	Indumentaria	27
3.2.3	Herramientas	27
3.2.4	Instrumentos	27
3.3	Selección de colmenas y marcos	29
3.4	Determinación del horario y tiempo de exposición	30
3.5	Estudio de mortalidad de larvas obreras de abejas <i>Apis mellifera</i> L. por efecto de la radiación UV-B	30
3.6	Estudio de viabilidad de larvas obreras de las abejas <i>Apis mellifera</i> L	33
3.7	Análisis de laboratorio para describir la anatomía externa de la abeja después del tratamiento a radiación	35

3.8	Análisis estadístico	35
4	RESULTADOS	37
4.1	Determinación de presencia o ausencia de Varroosis y Acaroposis en la colonia de abejas	37
4.2	Determinación de Temperatura y Humedad relativa	38
4.3	Estudio de mortalidad de larvas de abejas <i>Apis mellifera</i> L. por efecto de la radiación UV-B	42
4.3.1	Determinación de mortalidad de larvas obreras de abejas <i>Apis mellifera</i> L. en la ciudad de Valdivia	42
4.3.2	Determinación de mortalidad de larvas obreras de abejas <i>Apis mellifera</i> L. en la ciudad de Concepción	50
4.4	Estudio de viabilidad de larvas obreras de abejas <i>Apis mellifera</i> L	51
4.4.1	Determinación de viabilidad de larvas obreras de abejas <i>Apis mellifera</i> L. en la ciudad de Valdivia	51
4.4.2	Determinación de viabilidad de larvas obreras de abejas <i>Apis mellifera</i> L. en la ciudad de Concepción	55
4.4.3	Determinación de abejas obreras con estado de desarrollo retrasado en la ciudad de Valdivia	56
4.4.4	Determinación de abejas obreras con estado de desarrollo retrasado en la ciudad de Concepción	60
4.4.5	Estudio de la coloración púrpura de los ojos de abejas obreras expuestas a radiación solar en Valdivia	61

4.4.6	Estudio de la coloración púrpura de los ojos de abejas obreras expuestas a radiación solar en Concepción	65
5	DISCUSIÓN	67
5.1	Determinación de mortalidad de larvas obreras <i>Apis mellifera</i> L. por efecto de la radiación UV-B	70
5.2	Estudio de viabilidad de larvas obreras <i>Apis mellifera</i> L. expuestas a luz natural	72
5.3	Conclusiones	76
6	LITERATURA CITADA	78

LISTA DE ABREVIATURAS

CFC _s	=	Clorofluorocarbonados
RUV-A	=	Radiación Ultravioleta-A
RUV-B	=	Radiación Ultravioleta-B
RUV-C	=	Radiación Ultravioleta-C
O ₃	=	Ozono
nm	=	Nanómetros

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Porcentaje de infestación del ácaro <i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman en la cría y adultos de abejas europeas <i>Apis mellifera</i> L. Colmena 1, 2 y 12 ubicadas en Valdivia y número 15 en Concepción	38
Tabla 2	Temperatura (°C) registrada a las 09:00 am y 15:00 pm entre los meses de enero a marzo de 2006 en la ciudad de Valdivia, durante el período de estudio	39
Tabla 3	Temperatura (°C) registrada a las 09:00 am y 15:00 pm entre el 27 de febrero y 04 de marzo de 2006 en la ciudad de Concepción, durante el período de estudio	40
Tabla 4	Humedad relativa (%) registrada a las 09:00 am y 15:00 pm entre los meses de enero a marzo de 2006 en Valdivia	41
Tabla 5	Humedad relativa (%) registrada a las 09:00 am y 15:00 pm entre el 27 de febrero y 04 de marzo de 2006 en la ciudad de Concepción, durante el período de estudio	42
Tabla 6	Porcentaje de mortalidad larval de abejas obreras <i>Apis mellifera</i> L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales en la ciudad de Valdivia. Dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) obtenidas en las exposiciones diarias por 3 min durante 6 días del mes de enero de 2006	46
Tabla 7	Porcentaje de mortalidad larval de abejas obreras <i>Apis mellifera</i> L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales en la ciudad de Valdivia. Dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) registradas en las exposiciones diarias por 3 min durante 6 días del mes de febrero de 2006	47

Tabla 8	Porcentaje de mortalidad larval de abejas obreras <i>Apis mellifera</i> L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales en la ciudad de Valdivia. Dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) registradas en las exposiciones diarias por 3 min durante 6 días del mes de marzo de 2006	48
Tabla 9	Porcentaje de mortalidad larval de abejas obreras <i>Apis mellifera</i> L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales en la ciudad de Concepción. Dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) registradas en las exposiciones diarias por 3 min durante 6 días, del 27 de febrero al 04 de marzo de 2006	50
Tabla 10	Porcentaje de viabilidad larval de abejas obreras <i>Apis mellifera</i> L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales por 3 min durante 6 días en enero, febrero y marzo de 2006 en Valdivia	53
Tabla 11	Porcentaje de viabilidad larval de abejas obreras <i>Apis mellifera</i> L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales por 3 min durante 6 días, del 27 de febrero al 04 de marzo de 2006 en Concepción	55
Tabla 12	Porcentaje de abejas obreras que retrasan su desarrollo al ser sometidas a exposiciones a radiación en condiciones naturales a las 12:00, 13:00 y 14:00 h en los 3 meses de estudio en Valdivia	58
Tabla 13	Porcentaje de abejas obreras que retrasan su desarrollo al ser sometidas a exposiciones a radiación en condiciones naturales a las 12:00, 13:00 y 14:00 h desde el 27 de febrero al 04 de marzo de 2006 en Concepción. * Indica mortalidad completa de la muestra, por lo que no hay registro de abejas con desarrollo retrasado	60

Tabla 14	Porcentaje de abejas obreras que presentan una coloración de ojos púrpura al ser sometidas a exposiciones a radiación en condiciones naturales a las 12:00, 13:00 y 14:00 h en los 3 meses de estudio en Valdivia	62
Tabla 15	Porcentaje de abejas obreras que presentan una coloración de ojos púrpura al ser sometidas a exposiciones a radiación en condiciones naturales a las 12:00, 13:00 y 14:00 h desde el 27 de febrero al 04 de marzo de 2006 en Concepción. * Indica la mortalidad completa de la muestra por lo que no hay abejas con ojos de color púrpura	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ubicación de las colmenas experimentales en la Parcela el Aromo, Concepción	26
Figura 2	Ubicación de las colmenas experimentales en el Fundo Santa Rosa, Universidad Austral de Chile, Valdivia	26
Figura 3	A, Colmena tipo Langstroth con 10 marcos o cuadros, los 3 señalados de color blanco se expusieron al tratamiento; B, Círculo de color blanco indica la sección con huevos de abejas obreras que fueron utilizadas para realizar el tratamiento	32
Figura 4	Período de exposición a una fuente de radiación en condiciones naturales durante 3 min. El círculo de color blanco de cada marco indica la sección que contiene las larvas sometidas al tratamiento	32
Figura 5	A, Vista transversal de abejas obreras en etapa de pupa; B, Vista superior del marco. Círculo rojo indica larvas en proceso de sellado de la celdilla y el círculo blanco muestra larvas operculadas, proceso que dura 12 días	34
Figura 6	Larva de abeja obrera que mide 11 mm de longitud y el círculo rojo indica la presencia del ácaro <i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman	37
Figura 7	A, círculo blanco indica las celdillas con huevos, que una vez en etapa de larva serán expuestas a una fuente de radiación en condiciones naturales; B, día 5 de la etapa larval, círculo azul indica la ausencia de larvas (mortalidad) y blanco la sobrevivencia larval	43

Figura 8	Variación de las dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) registrada durante enero a marzo del 2006 en la ciudad de Valdivia a las 09:00, 12:00, 13:00 y 14:00 h	44
Figura 9	Correlación entre la intensidad de radiación UV-B y la mortalidad y viabilidad de larvas de abejas obreras expuestas a fuentes de radiación en condiciones naturales en Valdivia, encontradas durante enero a marzo de 2006 en diferentes horarios de exposición	45
Figura 10	Comparación de la mortalidad promedio para los cuatro tratamientos (9:00 am, 12:00,13:00 y14:00 pm). Valores de F y grados de libertad resultante de la ANOVA, P valor significativo ($P<0.05$). Línea roja bajo barras unen promedios en los cuales no se encontraron diferencias significativas ($P> 0.05$, resultado de Prueba Tuckey). Líneas azules sobre las barras muestran el rango de dispersión con el intervalo de confianza al 0.95	49
Figura 11	Variación de las dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) registrada durante el 27 de feb al 04 de mar de 2006 en la ciudad de Concepción a las 09:00, 12:00, 13:00 y 14:00 h	51
Figura 12	A , Círculo blanco indica la disminución de viabilidad larval; B , muestra control de 35 mm de alto x 70 mm de largo con un alto porcentaje de viabilidad, flecha azul indica nacimiento de una abeja	52
Figura 13	Comparación de la viabilidad promedio para los cuatro tratamientos (9:00 am, 12:00,13:00 y14:00 pm). Valores de F y grados de libertad resultante de la ANOVA, P valor significativo ($P<0.05$). Línea roja bajo barras unen promedios en los cuales no se encontraron diferencias significativas ($P> 0.05$, resultado de	

en los cuales no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$, resultado de Prueba de Tuckey's). Líneas azules sobre las barras muestran Líneas azules sobre las barras muestran el rango de dispersión con el intervalo de confianza al 0.95 el intervalo de confianza al 0.95 **54**

Figura 14 Abejas en diferentes estados de desarrollo. Con mayor frecuencia se encontró el día 20 después de colocado el huevo abejas número 4 y 5 **56**

Figura 15 Comparación de desarrollo retrasado promedio para los cuatro tratamientos (9:00 am,12:00,13:00 y14:00 pm). Valores de F y grados de libertad resultante de la ANOVA, P valor significativo ($P < 0.05$). Línea roja bajo barras unen promedios en los cuales no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$, resultado de Prueba de Tuckey's). Líneas azules sobre las barras muestran Líneas azules sobre las barras muestran el rango de dispersión con el intervalo de confianza al 0.95 el intervalo de confianza al 0.95 **59**

Figura 16 El círculo rojo de la imagen A indica la coloración púrpura de los ojos característica de las abejas que no han completado su desarrollo. Círculo blanco de la imagen B indica la coloración ceniza, propia de las abejas en estado adulto **61**

Figura 17 Comparación de la coloración púrpura de los ojos promedio para los cuatro tratamientos (9:00 am, 12:00,13:00 y14:00 pm). Valores de F y grados de libertad resultante de la ANOVA, P valor significativo ($P < 0.05$). Línea roja bajo barras unen promedios en los cuales no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$, resultado de Prueba de Tuckey's). Líneas azules sobre las barras muestran Líneas azules sobre las barras muestran el rango de dispersión con el

intervalo de confianza al 0.95 el intervalo de confianza al 0.95 64

1. RESUMEN

En los últimos años se ha registrado un aumento gradual de radiación ultravioleta sobre la superficie terrestre como consecuencia de la disminución de la capa de ozono, producto de la acción de los clorofluorocarbonados (CFC_s), causando efectos en los ecosistemas terrestres como en las plantas, microorganismos y algunos animales.

En el experimento se pretende establecer el efecto que produce la RUV-B en la etapa larval de *Apis mellifera* L. para lo cual se emplearon colonias de abejas europeas durante enero a marzo de 2006 en Valdivia, y del 27 de febrero al 04 de marzo del mismo año en Concepción. Se utilizaron marcos con larvas los que se expusieron a radiación UV-B solar en condiciones naturales durante 3 min por 6 días consecutivos a diferentes horarios, un grupo a las 12:00 h el segundo a las 13:00h y el tercero a las 14:00 h. Además se contaba con marcos que servían de control, los que sólo se exponían a las 09:00 h para que no se vieran afectados por la radiación UV-B. Se determinó la mortalidad y viabilidad larval y mediante un análisis de correlación se verificó el grado de intensidad de estas variables con la radiación UV-B. Para el caso de la viabilidad se determinó si las larvas presentaban alguna anomalía en su anatomía externa.

Las larvas de abejas obreras al ser expuestas a luz directa del sol durante 3 minutos a las 12:00, 13:00 y 14:00 h siempre presentaron una mayor mortalidad en comparación con las control que se expusieron a las 09:00 h. La mortalidad promedio más baja observada en Valdivia fue de un 46.1% registrada en marzo a las 12:00 h, en comparación con el grupo control que presentó un 29%; en Concepción se obtuvo un 58.4% a las 14:00 h con un control de 33.4%. La mortalidad promedio más alta en Valdivia se registró en enero con un 76% a las 12:00 h cuyo control mostró un 18.5% y en Concepción fue de 90.7%. Simultáneamente una de las dosis de

radiación promedio de 6 días más altas registradas en Valdivia fue de $31739.4 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ en enero a las 12:00 h, esto responde a la intensidad de asociación entre las variables, con un $R^2 = 0.8705$.

Las larvas que sobrevivieron a las exposiciones realizadas durante las 12:00, 13:00 y 14:00 h en Valdivia y Concepción manifestaron un estado retrasado de desarrollo y por ende una coloración de ojos púrpura que es propia de los estadios menos avanzados, registrándose en Valdivia el mayor número de individuos con éstas características en enero a las 12:00 h con un 100% de individuos con retraso en comparación al grupo control que mostró un 47%.

Tanto para la mortalidad, viabilidad, estado de desarrollo retrasado y ojos púrpura no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los horarios de exposición pero si con respecto al control.

1.1. ABSTRACT

In the last years it has registered a gradual increase of the ultraviolet radiation over the terrestrial surface, this is a consequence of ozone layer's decrease, it is a product of the chlorofluorocarbonados action (CFCS), causing effects in the terrestrial ecosystems, plants, microorganisms and some animals.

In this experiment was used colonies of Europe bees *Apis mellifera* L. the dates was registered for three month (january, february, march 2006) in the Valdivia city, and for two months (27 february to 04 march 2006) in the Concepción city. Was utilized mark whit larva's, it was exposed to source of radiation UV-B in natural conditions during 3 min for 6 days a different schedule, the first group to them 12:00 hours, the second group to them 13:00 hours and the third group to them 14:00 hours. A control mark was exposed to them 9:00 hours in order that they not look affected for the radiation UV-B. The mortality and the larval viability was determined, this variables was analyzed whit a correlation analysis, for verified the intensity grade of this variables with UV-B radiation. Furthermore the larval was revised to observe some abnormality in the extern anatomy.

Worker bees s larva's to the being exposed to the suns direct light to them 12:00, 13:00, 14:00 h always they showed a high mortality as compared with them control exposed to them 9:00 h. The lowest average mortality observed in Valdivia city was a 46,1%, registered in march to them 12:00 h, the control group showed a 29% average mortality for the same month and hours. In Concepción city the lowest average mortality observed was a 58.4% to them 14:00 h, the control group showed a 33.4 %. The highest average mortality in Valdivia city was registered on january 76%, to them 12:00 h. The control show a 18:54%. The highest average mortality in

Concepción city was a 90.7%.The highest level of radiation register in Valdivia was a 31739.4 $\mu\text{J}/\text{cm}^2$ on January to them 12:00 h, this is a response of the association intensity between variables, with a $R^2 = 0.8705$.

The larva's that survived to the realized exposition during them 12:00, 13:00, and 14:00 h, in Valdivia, and Concepción manifested a retrace state of development and as a consequence and eyes coloration purple, that is own of the less advanced stadiums, checking in individuals bigger number with these characteristic to them 12:00 h in Valdivia with a 100% of individuals with retrace and compared with control that shows a 47%.

For the mortality, viability, state of retrace development and purple eyes there is not exist significant statistical difference between schedule of exposition, but have difference with the control.

2. INTRODUCCIÓN

Desde el año 1970 se ha observado un debilitamiento y una disminución constante y gradual de la capa de ozono estratosférico, principalmente en la zona austral y en la época de primavera y verano (Skerrati *et al.*, 1998), excepto en el cinturón ecuatorial (Bojkov, 1995 citado por Araneda, 1997).

El ozono (O_3) es un gas que se produce naturalmente por medio de una serie de reacciones fotoquímicas, donde la radiación UV disocia las moléculas de oxígeno, en oxígeno atómico, los radicales que resultan de la reacción se van combinando con una molécula de oxígeno para generar el ozono (McQuarrie & Rock, 1984 citado por Balkenhol, 2002). En estas reacciones se requiere además de moléculas de nitrógeno (N_2) u oxígeno (O_2) que tienen por finalidad eliminar el exceso de energía de la molécula de ozono. Una vez formado el ozono es disociado nuevamente por acción de los rayos ultravioleta (Posso, 1999).

El ozono se encuentra mayoritariamente entre los 10 y 50 kilómetros de altura, en la estratósfera, denominado ozono de altura o estratosférico, es muy beneficioso, ya que absorbe la radiación UV, permitiendo la existencia de vida en la tierra. También se encuentra ozono en menor medida, entre la superficie terrestre y los 10 kilómetros de altura. Este ozono es el llamado Troposférico o de nivel de suelo, el cual no cumple ningún papel beneficioso, más aún, debido a ser muy tóxico es un grave problema para las grandes urbes que lo generan (Posso, 1999).

En las últimas décadas se ha registrado una mayor cantidad de RUV sobre la superficie terrestre, producto de compuestos antropogénicos los que se utilizan para reemplazar compuestos empleados en la refrigeración y aire acondicionado (ej., dióxido de sulfuro y

amonio). Entre estas moléculas encontramos principalmente los (CFCs) con una vida media de 100 años en la atmósfera (Rowland, 1990) y los compuestos halogenados. Por lo tanto la disminución del ozono estratosférico está directamente relacionado con las moléculas que destruyen la capa de ozono, esto tiene como consecuencia el aumento de los niveles de RUV que alcanzan la superficie terrestre.

La Zona austral de América del sur, durante la primavera, se ve afectada por una disminución de la capa de ozono, lo que incide en un mayor paso de la RUV-B sobre la superficie terrestre, producto de una masa de aire pobre en ozono, la que se mueve hacia latitudes más bajas (Cabrera *et al.*, 1995). En Chile, zona central, la situación descrita anteriormente, se repite, disminuyendo significativamente el grosor del ozono en la ciudad de Santiago (Pinto *et al.*, 2004).

La ciudad de Valdivia está ubicada en la latitud 39.8°S y distante 12 Km de la costa del Pacífico, está fuera del área donde se produce la rápida destrucción del ozono estratosférico y más bien está protegida naturalmente por un cinturón de elevadas concentraciones de ozono que la circundan. Esto no quiere decir que estemos fuera de peligro, ya que en la primavera masas empobrecidas de ozono alcanzan la latitud de Valdivia, por lo tanto hay una mayor incidencia de radiación UV sobre la superficie terrestre (Lovengreen *et al.*, 2000).

La radiación UV-B debido a su baja energía penetra los tejidos levemente, dañando la capa superficial de las células en los organismos multicelulares, afectando los sistemas vivientes. Como este tipo de radiación es la que está llegando a la superficie terrestre, la cual tiene efectos nocivos, surge la problemática de estudiar los posibles efectos de la radiación UV-B sobre diferentes sistemas biológicos.

2.1. Características generales de las abejas

Las abejas se caracterizan por ser insectos sociales donde existe una verdadera división y especialización de las tareas, no sólo se deben estudiar desde el punto de vista individual y comportamiento de los miembros de la colonia, sino también considerar la sociedad en general.

En una familia de abejas, existen tres castas o tipos de individuos; la reina, obreras y zánganos. En condiciones normales deben existir entre 60.000 a 80.000 obreras, 1 reina y 0 a 400 zánganos.

2.1.1. Descripción de las tres castas de una colonia; obreras, reina y zánganos

Los individuos que componen la colonia realizan diferentes labores, las que van a depender del sexo y edad que presenten, donde las obreras se ocupan solamente de la construcción de panales, limpieza de la colmena, recolección de néctar y polen, ventilación, defensa de la familia, alimentación de larvas, etc. Los zánganos sólo se preocupan de fecundar a la reina, mientras que la misión de ésta última, es estrictamente reproductiva y dedicada toda su vida a la postura de huevos.

- **Obreras**

Son diploides (un complemento cromosómico de la reina y uno del macho) con 32 cromosomas. Las obreras son alimentadas los 3 primeros días con jalea real y luego con una mezcla de miel y polen lo que produce una castración alimentaria. Nacen después de 21 días de haber sido colocado el huevo, con un peso aproximado que está entre los 100 -130 mg, son de menor tamaño que la reina y zángano, presentando características intermedias entre ambas (Cornejo, 1993).

- **Reina**

La reina es diploide con 32 cromosomas, en la etapa larval se diferencia de las obreras por el tipo de alimentación que recibe tanto en cantidad como en calidad, ya que es alimentada por las nodrizas sólo con jalea real y demora 16 días en nacer desde que ha sido colocado el huevo. Pesa de 200 a 250 mg y es de mayor tamaño que las obreras, las alas no cubren el último tercio del abdomen (Cornejo, 1993).

Según los antecedentes descritos anteriormente las reinas se encargan de colocar los huevos que darían origen a obreras o zánganos. En ocasiones existen al interior de la colmena obreras con ovarios activados, que tienen la capacidad de colocar huevos infértiles haploides desarrollándose sólo machos, por lo tanto, las obreras vigilantes presentan un mecanismo que les permite diferenciar entre huevos colocados por obreras o por la reina, donde los primeros tienen una mayor posibilidad de ser retirados de la celdilla por las obreras vigilantes. Esta situación se genera a causa de una diferencia cualitativa y cuantitativa en los productos químicos que están asociados con las reinas y obreras ponedoras, lo cual es usado como una señal por las obreras vigilantes para saber específicamente la maternidad del huevo (Oldroyd *et al.*, 2002).

- **Zánganos**

Nacen de huevos con óvulos no fecundados, proceso denominado partenogénesis, es decir, son hijos directos de la reina y por lo tanto haploides, con un número de 16 cromosomas. Son alimentados con jalea real los tres primeros días, luego con una mezcla de miel y polen. Después de 24 días en que la reina ha colocado el huevo, nace el zángano, pesa de 180 a 200 mg, con el cuerpo más desarrollado, cabeza casi esférica, tórax y abdomen más grande y ancho que las obreras y reinas; las alas cubren el abdomen (Cornejo, 1993).

2.2. Biología de una obrera

Las obreras presentan una metamorfosis completa, con estados denominados huevo, larva, pupa y adulto, la cual da lugar al ciclo biológico que tiene una duración de 21 días.

2.2.1. Huevo

Miden entre 1.5 – 1.6 mm de longitud y 0.3 mm de diámetro, de color blanquecino, forma alargada y ligeramente convexa, redondeada en los extremos. Consta esencialmente de citoplasma rico en sustancias nutritivas y del núcleo, y está cubierto por dos membranas, la vitelina y el corion (Snodgrass, 1956; Cornejo, 1993; Jean-Prost, 1998).

Con la división y multiplicación posterior del núcleo comienza el crecimiento y desarrollo del embrión apareciendo una red traqueal blanca. Una hora más tarde se desarrolla una línea dorso-ventral y el embrión comienza a doblarse tocando la superficie con su cabeza, lo que permite mover las partes bucales en la posición correcta para poder alimentarse en la etapa larval. Cuando el embrión está completamente desarrollado nace la larva eclosionando el huevo (Snodgrass, 1956; Collins, 2004).

2.2.2. Larva

Se asemeja a un pequeño gusano con una cabeza diminuta y un cuerpo dividido en 13 segmentos o anillos sin patas ni alas, mide 1,6 mm de longitud. Son alimentadas por sustancias secretadas (jalea real y otros nutrientes) por las mandíbulas de las nodrizas. Si las larvas no son alimentadas mueren, desintegrándose en la celdilla, las que posteriormente son retiradas por las obreras, dejando limpio el lugar para que la reina vuelva a colocar sus huevos (Collins, 2004).

Durante la fase larval, la larva experimenta cinco estadios de desarrollo que ocurren con una muda después de cada fase. Iniciándose al cuarto día de colocado el huevo (L_1), quinto día (L_2), sexto día (L_3), séptimo día (L_4), octavo día (L_5) y noveno día (larva al final del quinto día) (Jean-Prost, 1998).

Luego de completar el desarrollo larval se produce el operculado de la celdilla, donde la larva vuelve su cabeza hacia el opérculo pasando por dos fases, de prepupa o larva extendida y pupa (Cornejo, 1993).

2.2.3. Pupa

En esta fase se produce la operculación o sellado de la celdilla con cera y el insecto sufre su mayor metamorfosis, pasando de larva a adulto con una clara diferenciación en cabeza, tórax y abdomen que ocurre el día 11 después de colocado el huevo. También aparecen los apéndices bucales, las antenas y los órganos motrices del tórax (2 pares de alas y 3 pares de patas), los ojos comienzan a cambiar su pigmentación el día 13 pasando de rosado a púrpura y ceniza , finalmente la fase concluye con la formación y desarrollo en el abdomen de las glándulas odoríferas, los órganos reproductivos, el aguijón, etc., casi todas las estructuras internas y externas del cuerpo del insecto, produciéndose la desoperculación de la celdilla, abandonándola convertido en un adulto activo (Snodgrass, 1956).

El conjunto de huevos, larvas y pupas se desarrollan al interior de la colmena a una temperatura entre los 34 y 35° C, y una humedad relativa aproximada de un 60 a 80% (Snodgrass, 1956; Cornejo, 1993; Collins & Mazur, 2006).

2.2.4. Adulto

En los primeros 9 a 10 días de su existencia producen un alimento a través de las glándulas hipofaríngeas, conocido como jalea real. Con este producto alimentan a la reina, a todos los huevos recién eclosionados y larvas en estadios menos avanzados. Una vez cumplidos los 9 a 10 días del primer trabajo, cesa la función de las glándulas y comienza a activarse la glándula cerera; así se transforma la abeja obrera en constructora de las celdas hexagonales.

Durante su estadía en el interior de su colmena, realizan varios trabajos, como ventilar la colmena cuando sube mucho la temperatura, el aseo, la labor de vigilancia; otras alimentan a la reina y a las larvas. Estos roles y funciones y su distribución tan perfecta, obedecen a la acción de ciertas feromonas que regulan las actividades.

Recién después de los 20 días de servicio interno, las abejas se transforman en recolectoras, pasando a ser una proveedora de la colonia.

La obrera es el único insecto en la tierra que es capaz de producir tres elementos como, jalea real, cera y veneno, además de recolectar de la naturaleza néctar, polen y propóleos (Lesser, 1998).

2.3. Enfermedades comunes en la colmena

Las abejas son afectadas por una serie de enfermedades de carácter bacteriano, viral, fungoso y parasitario. Entre las más comunes destacan la Acarapisosis y Varroosis, ambas son enfermedades parasitarias que en caso de presentarse en porcentajes muy altos pueden causar la muerte de la colonia.

2.3.1. Acarapisosis

Es una parasitosis de las tráqueas de las abejas adultas causada por el ácaro *Acarapis woodi* Rennie. Los ácaros se multiplican en los tubos respiratorios y se alimentan de la hemolinfa de la abeja. Las abejas se contaminan unas a otras en el interior de la colmena y de una colmena a otra por la deriva o el pillaje.

Si el número de ácaros es importante, las tráqueas son obstruidas por los parásitos, ocasionando una falta de oxigenación al insecto. Lesionan las articulaciones de las alas cuyos movimientos dejan de ser ordenados y las abejas acaban por morir agotadas por la pérdida de hemolinfa, envenenadas por las secreciones del ácaro y asfixiadas por la obstrucción y destrucción de las tráqueas (Jean-Prost, 1998).

2.3.2. Varroosis

Varroa destructor Anderson y Truemann es un ácaro que ha causado grandes problemas en la apicultura mundial, principalmente, en países de clima templado donde extermina colmenas si no es controlado con productos químicos, que son contaminantes de los productos generados por las abejas, aunque existe la tendencia mundial de controlarla con aceites esenciales y ácidos orgánicos de cadena corta, otros productos menos contaminantes que no han mostrados aún generar resistencias (Anderson y Trueman, 2000). El incremento del porcentaje de varroas se produce cuando aumenta la oferta de alimento para las abejas, dado que redundo en una mayor población de abejas, por una mejor disponibilidad de nutrientes y una mayor disponibilidad de crías, lugar donde el parásito se multiplica, reproduce y se alimenta, principalmente durante los estadios de pupa y larva tardío. Su acción destructiva crea un conjunto de circunstancias negativas para el desarrollo de una familia de abejas (Neira, 1999). Entre las que encontramos,

nacimiento de abejas débiles, no útiles, disminuyen su resistencia y nacen con malformaciones, que limitan su conducta.

2.4. Actividad apícola

Debido a la variada geografía de nuestro país, existe un enorme potencial de flora melífera, con aportes de néctar y/o polen, que se sustenta en varias especies, tales como el ulmo, teneo, arrayán entre otras plantas nativas y una gran diversidad de cultivos y malezas silvestres (Neira, 1999).

Según Lesser (1995) citado por Ríos (2001), Chile tiene una capacidad potencial de colocación de colmenas de entre 2.5 y 3 millones de unidades. Además indica que los colmenares se concentran en la zona Centro - Sur, donde extensas praderas de trébol y flora endémica favorecen la obtención de néctar de buena calidad.

En los últimos años se ha constatado un gran incremento del número de apicultores y colmenas, aprovechando la rica y variado flora apícola, permitiendo ampliar sus fronteras y diversificar sus productos (Neira, 1999).

2.5. Caracterización de la capa de ozono

La capa de ozono funciona como un compuesto vital, ya que ayuda a filtrar los rayos ultravioleta provenientes del sol y evita que aproximadamente el 90% de la radiación UV atraviese la atmósfera y cause algún daño en los sistemas biológicos.

En los últimos años se ha registrado un adelgazamiento o disminución de la capa de ozono producto de la acción de sustancias tóxicas como los clorofluorocarbonados, generando una mayor incidencia de radiación UV sobre la superficie terrestre.

2.5.1. El ozono atmosférico y su relación con la radiación ultravioleta

Cicerone *et al.*, (1974); Molina & Rowland, (1974) han demostrado que las sustancias químicas producidas por el hombre son responsables del agotamiento observado de la capa de ozono. Los compuestos que agotan la capa de ozono contienen diversas combinaciones de los elementos químicos cloro, flúor, bromo, carbono, conocidos como los CFC_s, los que tienen una gran duración en el ambiente (Rowland, 1990). Los CFC_s, el tetracloruro de carbono y el metilcloroformo son gases importantes producidos por el hombre que agotan la capa de ozono y que han sido utilizados en muchas aplicaciones incluidas la refrigeración, el equipo de aire acondicionado, la espumación, la limpieza de componentes electrónicos, etc. Otro grupo importante de halocarbonos producidos por el hombre son los halones que contienen carbono, bromo, flúor y (en algunos casos) cloro y que han sido principalmente utilizados como extintores de incendios.

El ozono estratosférico forma un escudo protector, actuando como un filtro, absorbiendo gran parte de la radiación ultravioleta, incluyendo la radiación UV-B que es perjudicial a nivel biológico, por lo tanto sólo una pequeña parte llega a la superficie terrestre (Tocho *et al.*, 1993).

En algunas partes de la Antártida se ha observado una disminución de la cantidad del ozono estratosférico de aproximadamente un 60% durante la primavera antártica (septiembre-noviembre).

En las regiones polares árticas, ocurre un proceso similar que ha llevado también a un agotamiento químico importante del ozono de la columna durante la última parte del invierno y en la primavera, en seis de los últimos nueve años. La pérdida del ozono desde enero hasta finales de marzo ha sido frecuentemente del 20-25%, y las pérdidas por períodos más breves han sido superiores, dependiendo de las condiciones meteorológicas en la estratósfera del Ártico.

Disminuciones más pequeñas pero también significativas en la estratósfera se han observado en otras regiones más pobladas de la tierra. Aumentos de la radiación UV-B en la superficie han sido observados en relación con disminuciones locales del ozono estratosférico, tanto con instrumentos de base terrestre como con instrumentos a bordo de satélites (Roy *et al.*, 1990).

En la zona austral de América del Sur, durante la época primaveral, se ha producido un importante aumento de la radiación UV-B, producto de una masa empobrecida de ozono que alcanza las latitudes más bajas (Cabrera *et al.*, 1995; Kirchhoff *et al.*, 1997; Rousseaux *et al.*, 1999). Estas condiciones también afectan la zona central de Chile (Cabrera & Fuenzalida, 1999).

En la ciudad de Santiago el grosor del estrato de ozono también está disminuyendo significativamente por lo que hay una mayor incidencia de la radiación UV-B sobre la superficie terrestre (Pinto & Lizana, 2004).

2.6. Caracterización de la radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta dependiendo del tipo de longitud de onda se divide en tres tipos; UV-A, UV-B y UV-C. La radiación UV-B, la cual es biológicamente activa está influenciada por diferentes factores externos que causan variaciones diarias.

2.6.1. Descripción de la radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta forma parte del espectro solar, comprende desde la región de los rayos X hasta la región visible dependiendo del tipo de longitud de onda.

La radiación ultravioleta se subdivide en tres tipos :

- a) **Radiación UV-A (315-400 nm)** : es débilmente absorbida por el ozono estratosférico, biológicamente no es muy activa y su intensidad en la superficie no varía con el contenido del ozono atmosférico (Caldwell, 1978).
- b) **Radiación UV-B (280-315 nm)** : es absorbida parcialmente por el ozono estratosférico, biológicamente muy activa y varía su intensidad proporcionalmente de acuerdo a la cantidad de ozono que tenga contenida la atmósfera (Caldwell *et al.*, 1998).
- c) **Radiación UV-C (100-280 nm)** : es altamente energética y nociva para los seres vivos, afortunadamente es absorbida totalmente por la atmósfera por lo que no alcanza a llegar a la superficie terrestre (Madronich, 1992).

2.6.2. Variaciones de la Radiación ultravioleta

Según Diffey (1991), la RUV biológicamente activa que llega a la superficie terrestre es la UV-B, la que depende y está influenciada por diferentes parámetros o factores externos, adicionales a la concentración total de O₃, causando variaciones diarias de radiación tales como:

Ángulo de incidencia del sol: la probabilidad de que la radiación sea absorbida o dispersada antes de llegar a la superficie terrestre depende de la distancia que debe recorrer antes de alcanzar el punto considerado. Esta distancia dependerá del ángulo que forma el sol con el cenit (ángulo Z). El valor de este ángulo depende de la estación, latitud y hora del día (Lissi & Sanhueza, 1996 citado por Nuñez, 2002).

2.7. Efectos de la radiación ultravioleta en los sistemas biológicos

El incremento de radiación UV se asocia con la reducción del ozono estratosférico. Esto genera una mayor incidencia de radiación UV sobre los diferentes sistemas biológicos, provocando en éstos efectos nocivos, llegando a ser letales en algunos casos.

2.7.1. Daños y reparaciones causados por la radiación ultravioleta

Los niveles crecientes de la RUV-B producto de la destrucción del ozono han incitado a la realización de muchas investigaciones en diferentes ecosistemas.

En los humanos se han observado daños como el eritema, que causa enrojecimiento de la piel que no ha sido expuesta previamente, atribuible a un aumento continuo de sangre por dilatación de la superficie de los vasos sanguíneos, debilitamiento del sistema inmunológico y daños a la vista (Lovengreen *et al.*, 2002).

En Punta Arenas, Chile (53° latitud Sur), se presentaron relatos asociados a dolencias oculares y dermatológicas en humanos y animales por el exceso de exposiciones a RUV-B en regiones con reducción de la capa de ozono. Los registros dermatológicos y oftalmológicos fueron sistemáticamente realizados y los diagnósticos se asociaron a la exposición de radiación UV-B (Schein *et al.*, 1995 citado por Araneda, 1997).

Krizek y Chalker-Scott (2005), estudiaron el impacto biológico producto de la reducción drástica del ozono estratosférico (causado por los CFC_s y otros gases) y el incremento de la radiación ultravioleta biológicamente efectiva en ecosistemas terrestres y acuáticos. En esta investigación se dedujo que la radiación provoca lesiones a nivel del DNA, induciendo a un efecto reductor de las plantas, especialmente las herbáceas. También provoca un impacto en la

interacción entre planta e insecto fitófago, afectando la estructura de la comunidad y/o diversidad de las especies.

En el ambiente marino la radiación ultravioleta es un factor ecológico significativo, que puede tener efectos de importancia en los organismos planctónicos y materia orgánica disuelta. La penetración de la radiación ultravioleta en la columna de agua en un futuro cercano puede verse alterada debido a las interacciones entre la reducción drástica del calentamiento global y el ozono, pudiendo tener efectos importantes en la fotosíntesis de las actividades bacterianas, fotosíntesis fitoplanctónicas y transformaciones fotoquímicas de la materia orgánica disuelta (Tedetti & Sempere, 2006).

2.7.2. Efectos biológicos de la radiación ultravioleta en seres humanos

Las exposiciones prolongadas y reiteradas al sol, provocan en el hombre diferentes tipos de efectos que pueden ser agudos o crónicos, los que son limitados a la piel y ojos por la baja penetración a los tejidos humanos.

- **Efectos de la radiación en la piel.**

Existen evidencias de que la radiación ultravioleta está relacionada en el corto plazo con el enrojecimiento de la piel (eritema), aunque favorece la síntesis de Vitamina-D, y en un plazo mayor con el desarrollo de cáncer a la piel, cataratas y supresión del sistema inmune. Sin embargo, la información cuantitativa de niveles de RUV que recibe la población chilena en diferentes regiones del país es muy escasa (Lovengreen *et al.*, 2002).

El aumento de UV-B en la población, tiene efectos agudos y crónicos. En los agudos encontramos las quemaduras solares y la fototoxicidad inducida, si hay ingesta de fármacos; y los

crónicos pueden provocar cambios como: envejecimiento prematuro, adelgazamiento irregular de la epidermis, telangiectasias, lentigos, queratosis actínicas, carcinoma espino celular, carcinoma baso celular y melanoma (Aranibar *et al.*, 2003).

El desarrollo de cáncer producto de la radiación ultravioleta, depende de ciertos factores fenotípicos de cada persona, como, el tipo de piel, color del cabello, luminosidad de los ojos y la tendencia a exponerse a la radiación. Además algunos estudios epidemiológicos han demostrado que las personas que trabajan al aire libre tienen mayor posibilidad de tener cáncer, debido a las exposiciones más prolongadas y muchas veces sin protección (Diffey, 1991).

- **Efectos de la radiación en los ojos.**

Diffey (1986) investigó sobre los efectos que tiene la radiación en los ojos, describiendo que las enfermedades más comunes son conjuntivitis y fotoqueratitis, las que se producen por inflamación de las membranas que cubren el interior de las cavidades de los ojos y la córnea respectivamente. Otra enfermedad muy común es la catarata pudiendo ser parcial o completa, afectando directamente la transparencia del cristalino.

2.8. Efectos de la radiación en animales vertebrados

Existen evidencias considerables de que la absorción de dosis elevadas de radiación ultravioleta en la superficie corporal de los bovinos constituye un factor importante causante de neoplasia. Diversos estudios han demostrado que la piel es permeable a la penetración de la radiación solar, especialmente de las ondas cortas, evidenciando que las dosis de radiación efectiva absorbida por el cuerpo depende de la estructura física, de la coloración de la piel y de la pigmentación de la epidermis (Da Silva *et al.*, 2001).

Los niveles subletales de radiación ultravioleta pueden resultar selectivos para muchas respuestas sencillas en anfibios larvales, como pigmentación oscura o la preferencia por microhabitats protegidos de radiación. Tanto *Ambystoma barbouri* y *Ambystoma texanum* se oscurecen en respuesta a la radiación y cuando se les da de escoger un refugio, significativamente incrementa la proporción por usar microhabitats más profundos. En conjunto, estos cambios en el comportamiento y color pueden afectar la dieta larval, competencia y tasas de predación y pueden así, alterar la estructura comunitaria acuática (García *et al.*, 2004).

Formicki *et al.*, (2003) estudiaron el efecto de la radiación UV-A y UV-B sobre el consumo de oxígeno en larvas de la rana común (*Bufo bufo*). Los niveles ambientales de UV-A y especialmente UV-B pueden afectar las tasas metabólicas de las larvas de rana viviendo en hábitat de poca profundidad. La respiración alterada puede retardar el desarrollo, así como incrementar la susceptibilidad de los embriones y larvas a patógenos ecológicamente relevantes.

Tanto la radiación ultravioleta como los contaminantes ambientales pueden afectar a los anfibios en todos sus estadios biológicos. La exposición a la luz ultravioleta y ciertos contaminantes pueden matar a los anfibios e inducir efectos subletales en embriones, larvas y adultos, más aún la RUV y los contaminantes pueden interactuar unos con otros sinérgicamente (Blaustein *et al.*, 2003).

2.9. Efectos de la radiación en animales invertebrados

En embriones de *Strongylocentotus droebachiensis* (erizo de mar) la RUV-B a una profundidad de 1-3 m resulta en un daño significativo al DNA. Si este no puede ser reparado se programa la muerte celular o apoptosis. Los embriones de los erizos de mar expuestos a RUV-B exhiben concentraciones significativamente mayores de proteínas de la enzima antioxidante

superóxido dismutasa y las actividades transcripcionales p53 y p21. La muerte celular y una disminución en la supervivencia de los embriones de erizo de mar son causados por efectos directos e indirectos de exposición a la RUV-B (Lesser & Barry, 2003).

Estudios realizados en embriones pré-blastodérmicos de diferentes especies de insectos mostraron un bloqueo en su desarrollo normal o también se puede describir como un desarrollo tardío, producto de la exposición a la radiación ultravioleta (Perondini, 1984).

Faruki & Kundu (2005) estudiaron el efecto de la radiación ultravioleta en *Bombyx mori* L. y observaron que al irradiar las larvas sufren una reducción en su peso y además se incrementa la mortalidad de estas, dependiendo de las dosis de radiación.

Negishi *et al.*, 2001 plantearon la importancia de conocer el efecto de la radiación UV-A en las actividades biológicas de los organismos sobre la tierra, específicamente en larvas de *Drosophila melanogaster* las que manifestaron una actividad mutagénica a nivel de las alas producto de la radiación.

Los embriones de *Chironomus dorsalis* cuyo polo anterior es expuesto a radiación ultravioleta antes de la formación del blastodermo, desarrollan un doble abdomen en la región anterior, como consecuencia de la inactivación de determinantes citoplasmáticos cuya función normal sería inducir a las células pre-blastodérmicas a formar estructuras de cabeza y tórax. Mientras que cuando el polo posterior de los embriones fueron irradiados con radiación ultravioleta aparecen embriones con una duplicación de los segmentos cefálicos (Yajima, 1964 citado por Espencer & De Jong, 1994).

Bertholf (1933) citado por Araneda (1997), demostró que la luz UV produce en los huevos y larvas de obreras y reinas de abejas *Apis mellifera* una mayor mortalidad que las control, que no han sido expuestas a radiación UV-B. Además comprobó que las longitudes de

ondas cortas en comparación con longitudes de ondas largas causan efectos nocivos, como disminución en la postura de reinas adultas. Mientras que la segunda influyó positivamente aumentando la postura de las reinas.

Machado (1986 ; 1991) citado por Araneda (1997) estudió el efecto de la RUV en abejas africanizadas y embriones de 0-6 h de edad, comprobando que para ambos casos disminuye la viabilidad. A medida que se aumenta el tiempo de exposición, mayor es la mortalidad observada en comparación con el grupo control.

Al irradiar embriones de *Apis mellifera* de 0-3 h de edad durante 5, 30 y 60 seg estos presentaron mortalidades acentuadas en comparación con el grupo control, la que va siendo mayor a medida que se aumenta el tiempo de irradiación. También la radiación ultravioleta provoca en los embriones una inhibición en su desarrollo normal o un desarrollo tardío en comparación con los embriones no irradiados (Espencer & De Jong 1994).

2.10. Efectos de la radiación en plantas

La mayoría de los estudios han enfocado la atención en las respuestas fisiológicas y el crecimiento de las plantas ante el aumento de la RUV-B sobre *Brassica nigra*, observándose que el UV-B es perjudicial para el crecimiento y florecimiento de esta especie, pero no así en la calidad de la polinización, por lo que no se vio afectada la interacción con los insectos polinizadores (Feldheim & Conner, 1996).

La RUV-B inhibe la expansión de la planta reduciendo su biomasa durante el crecimiento de ésta, produciendo un efecto indirecto en algunos insectos coleópteros bajando su ataque a las plantas que han recibido RUV-B durante su desarrollo (Ballaré *et al.*, 1996).

En *Sphagnum magellanicum* la RUV-B afecta su crecimiento normal, pero no así su biomasa. En el caso de *Tetroncium magellanicum* la radiación reduce el desarrollo y crecimiento de la hoja y su rizoma (Robson *et al.*, 2003).

Las plantas de mora que fueron irradiadas con UV presentaron una disminución de la cantidad de gusanos de seda, esto se atribuye al bajo contenido de sacarosa en el follaje de la planta, por lo que los gusanos preferían las plantas que no habían sido irradiadas con UV, afectando la interacción de la planta-insecto (Yazawa *et al.*, 1992 citado por Caldwell *et al.*, 1998).

Tanto Valdivia como Concepción son ciudades que presentan una alta productividad y desarrollo apícola a nivel nacional, además muestran una incidencia importante de radiación ultravioleta sobre la superficie terrestre a mediados de la primavera y verano, períodos en los cuales hay un gran desarrollo de la actividad apícola, por lo tanto, se hace necesario e indispensable realizar un estudio sobre el efecto que tiene la radiación UV-B en las larvas de abejas obreras *Apis mellifera* L.

- **HIPÓTESIS DE TRABAJO:**

La etapa larval de abejas obreras *Apis mellifera* L. (Hymenóptera : Apidae) es susceptible a la exposición de la radiación UV-B en condiciones naturales, en el horario de mayor incidencia sobre la superficie de la tierra, 12:00, 13:00 y 14:00 h, provocando en ella efectos dañinos que ocasionan mortalidad.

- **OBJETIVO GENERAL:**

Establecer el efecto que produce la radiación UV-B en la etapa larval de las abejas obreras *Apis mellifera* L.

- **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Determinar el porcentaje de mortalidad de las larvas que son expuestas a una fuente natural de radiación solar.
2. Describir los efectos de la radiación UV-B en las larvas que sobreviven al tratamiento.
3. Establecer los niveles de radiación que afectan a las larvas de abejas obreras *Apis mellifera* L.
4. Proponer manejos que eviten los daños por efecto de la exposición a la radiación ultravioleta en los períodos con mayor intensidad.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área de estudio

Este estudio se realizó en dos ciudades, Concepción (Octava región) y en Valdivia (Décima región).

En Concepción las colmenas experimentales fueron situadas en un campo ubicado a $36^{\circ} 49'$ latitud Norte y $73^{\circ} 03'$ longitud Oeste (Fig. 1) y en Valdivia se utilizaron las colmenas del Fundo Santa Rosa situado $39^{\circ} 45'5$ latitud Sur y $73^{\circ} 14'$ latitud Oeste, el que pertenece a la Universidad Austral de Chile (Fig. 2).

El experimento se realizó en Enero (23 al 28), Febrero (16 al 21) y Marzo (14 - 15 y 17 - 18) en la ciudad de Valdivia. En Concepción se llevó a cabo del día 27 de febrero al 4 de Marzo del 2006.

Los horarios de exposición fueron los mismos para las dos ciudades nombradas anteriormente. El primer tratamiento fue a las 09:00 (control), el segundo a las 12:00 h, el tercero a las 13:00 h y el último tratamiento fue a las 14:00 h con una duración de 3 minutos de exposición cada uno.



Fig. 1: Ubicación de las colmenas experimentales en la Parcela el Aromo, Concepción.



Fig. 2: Ubicación de las colmenas experimentales en el Fundo Santa Rosa, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

3.2. Materiales

3.2.1. Utilización de colmena

El modelo de las colmenas empleadas fue del tipo Langstroth las que se caracterizan por poseer 10 cuadros o marcos móviles, es decir que se pueden retirar o reemplazar por otros. Además se componen de una serie de estructuras básicas como el techo, entretapa y piso, permitiendo una mayor protección y movilidad de éstas.

3.2.2. Indumentaria

Para la manipulación de las colmenas se dispuso de una ropa especial que protege de las picaduras y otras molestias causadas por las abejas. Estas consistieron en caretas protectoras, un mameluco de color blanco para no atraer a las abejas y guantes de cuero.

3.2.3. Herramientas

Para un mejor manejo de las colmenas se ocupó un ahumador y una palanca de acero inoxidable, el primero libera humo proveniente de la combustión de acículas de pino, tranquilizando a las abejas reduciendo sus picaduras y el segundo, permite sacar los marcos de la colmena. Por último se ocupó una estructura metálica en forma de mesa, donde se colocaron los marcos con crías para ser sometidos al tratamiento.

3.2.4. Instrumentos

Para la cuantificación de la RUV y el efecto que podría tener ésta en la etapa larval de las abejas, se usó un espectrorradiómetro UV de alta resolución. El instrumento mide la irradianza

solar en el intervalo ultravioleta (290 a 400 nm nanómetros invisible) y parte del espectro visible (400-605 nanómetros) con una resolución espectral de 0.6 nm en un tiempo inferior a 15 minutos. Los datos para corregir la variabilidad minuto a minuto (por paso de nubes) se analizaron además los registros de un radiómetro UV de filtros. obtenidos del espectralradiómetro fueron facilitados por el Instituto de Física de la Universidad Austral de Chile y El Departamento de Geofísica de la Universidad de Concepción entregó los datos medidos.

El peso de las abejas que sobrevivieron y resistieron a la radiación, se obtuvo mediante la utilización de una balanza electrónica ET-300 B (mg). Esta variable anatómica se consideró con la finalidad de determinar si la RUV podría haber causado alguna anomalía a nivel corporal.

Para determinar la presencia o ausencia de Varroosis y Acarapisosis en abejas, se utilizó una guía de métodos de muestreo de abejas adultas y crías, elaborada por la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile junto al Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) (Neira, 2005).

Las muestras fueron tomadas de la cámara de cría seleccionando los marcos centrales y el número de abejas por muestra fue de aproximadamente 200 abejas y para el caso de muestras de crías se utilizó un trozo de panal de 15 x 15 cm.

El porcentaje de infestación de varroa se basó en la observación y recuento del ácaro en abeja adulta y cría, el que se realizó previo al experimento para trabajar con colmenas sanas y que la mortalidad final del experimento no se vea afectada.

En abejas adultas se utilizó un sistema de doble filtro, en el que se colocaban las abejas y un chorro de agua a presión sobre las abejas para soltar las varroas, lo que permitía contar el número de abejas total y el número de varroas retenidas en el colador, para posteriormente desarrollar la siguiente fórmula:

$$\% \text{ infestación en adultos} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de varroas} * 100}{\text{N}^\circ \text{ de abejas}} \quad (3.2.4.1)$$

En el caso de las crías se cortaron trozos del panal operculados, a los cuales se les retiraba el opérculo y se sacaba la pupa o larva para observar si hay varroas sobre ella o al interior de la celdilla. Luego se contaba el número de celdillas con ácaros y se desarrollaba la siguiente fórmula:

$$\% \text{ infestación en celdillas} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de celdillas con ácaro} * 100}{\text{N}^\circ \text{ de abejas}} \quad (3.2.4.2)$$

Para determinar presencia o ausencia de acarapisosis en la colmena, se realizó una observación microscópica del ácaro, para lo cual se maceraron 50 trozos de la parte anterior del tórax en ácido láctico y luego se observaron las tráqueas en una lupa estereoscópica. Una muestra se considera positiva cuando se observa al microscopio ácaros de las tráqueas en la muestra.

Los datos de temperatura y humedad relativa fueron facilitados por el Instituto de Geociencias de la Universidad Austral de Chile y el Departamento de Aeronáutica civil de Concepción.

3.3. Selección de colmenas y marcos

Se procedió a marcar las colmenas con letreros, en los que se establecía el horario de exposición y número de tratamiento, por lo que se trabajó con un total de 12 colmenas en Valdivia y 4 en Concepción. Se utilizaron 4 colmenas / mes (3 repeticiones /colmena) de las cuales tres se sometieron a tratamiento y una se dejaba como control, luego de escoger las colmenas se marcaron con alfileres de color los cuadros que contenían una postura uniforme,

eligiendo una sección del marco de 5 cm de alto x 5 cm de largo, con un número de 100 individuos aproximadamente, los que fueron expuestos a luz natural.

3.4. Determinación del horario y tiempo de exposición

El horario de exposición de los marcos con larvas de abejas obreras comprendió la fase de mayor intensidad de radiación, correspondiendo a las 12:00, 13:00, 14:00 h respectivamente y el cuadro control se exponía a las 09:00 h, período de menor intensidad de radiación ultravioleta.

Espencer & De Jong (1994) irradiaron (con RUV-B directa) embriones de *Apis mellifera* con un máximo de 1 min. Para determinar el tiempo de duración de las exposiciones a la luz natural se ensayó con diferentes tiempos, con un máximo de 20 min y un mínimo de 2 min, observando que a mayor tiempo de exposición mayor fue la mortalidad, estableciendo como tiempo de tratamiento 3 min.

3.5. Estudio de mortalidad de larvas obreras de abejas *Apis mellifera* L. por efecto de la radiación UV-B

Una vez marcados tanto la colmena a utilizar (Fig. 3.A) y los cuadros con huevos (Fig. 3.B), se procedió a esperar que completaran esta fase y pasaran a la etapa de larva, proceso que ocurre al cuarto día después de colocado el huevo. Iniciada esta etapa los cuadros o marcos con larvas se colocaron sobre una estructura metálica (la que tenía una altura aproximada de unos 50 cm sobre el suelo) y se exponían a luz natural (Fig. 4) en el período de las 12:00 h por 3 min (12:00 – 12:03 h) completado este tiempo se devolvían los marcos a la colmena correspondiente. Este procedimiento se realizó de igual manera en el horario de las 13:00 y 14:00 h respectivamente y el control a las 09:00 h. En cada hora de tratamiento se expusieron tres marcos

por colmena durante los meses de enero, febrero y marzo en Valdivia. En Concepción sólo se emplearon dos marcos por colmena desde el 27 de febrero al 04 de marzo. El número de colmenas utilizadas fue de cuatro por mes de tratamiento, de las cuales una fue empleada como control, con un total de 16 colmenas, 12 usadas en Valdivia y 4 en Concepción.

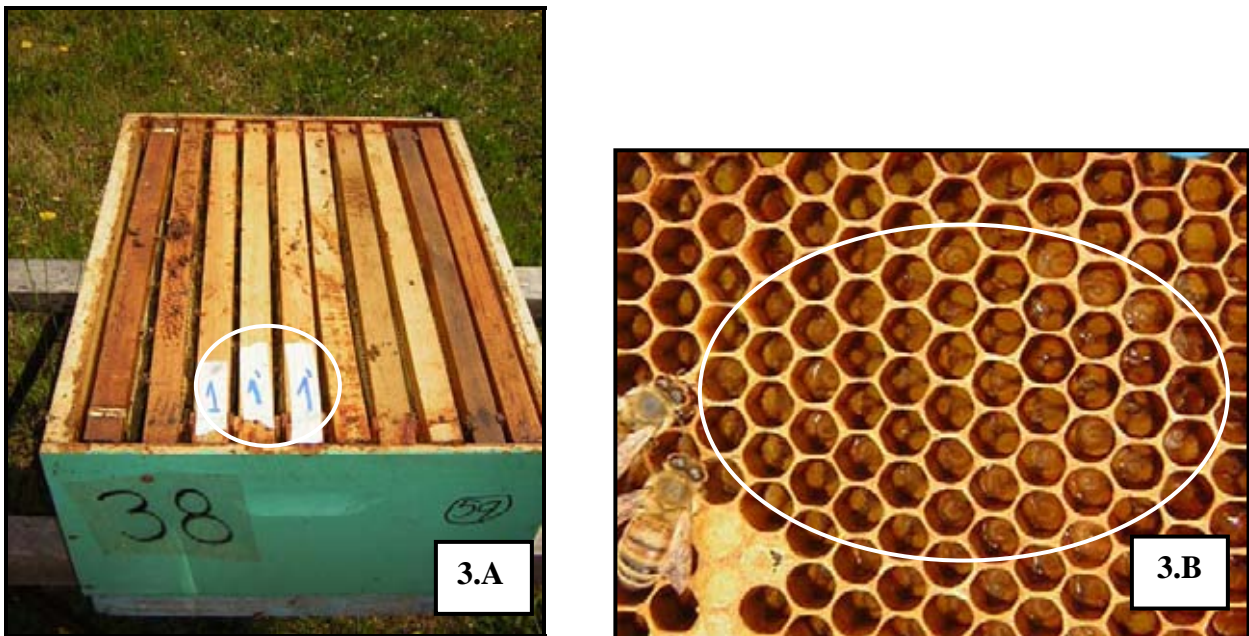


Fig. 3: **A**, Colmena tipo Langstroth con 10 marcos o cuadros, los 3 señalados de color blanco se expusieron al tratamiento; **B**, Círculo de color blanco indica la sección con huevos de abejas obreras que fueron utilizadas para realizar el tratamiento.



Fig. 4: Período de exposición a una fuente de radiación en condiciones naturales durante 3 min. El círculo de color blanco de cada marco indica la sección que contiene las larvas sometidas al tratamiento.

Este tratamiento se realizó en forma continuada durante 6 días a partir de iniciada la fase larval de la abeja obrera, ya que éste es el tiempo que demora en completar dicha etapa. Por lo tanto se realizó un conteo de larvas iniciales y finales para así poder establecer el grado de mortalidad y determinar si se generan diferencias significativas entre las larvas que se encuentran en la primera y última etapa larval.

Para corregir los efectos de la mortalidad natural se utilizó la fórmula propuesta por Schneider & Orelli citada por Carrillo, 1973; permitiendo de esta manera determinar la verdadera eficacia del tratamiento.

$$\% \text{ mortalidad corregida} = \frac{(\% \text{ mortalidad tratamiento} - \% \text{ mortalidad testigo}) * 100}{(100 - \% \text{ mortalidad testigo})} \quad (3.5.1)$$

3.6. Estudio de viabilidad de larvas obreras de las abejas *Apis mellifera* L

Completada la etapa larval la abeja experimenta otra fase denominada pupa (Fig. 5.A), se caracteriza por sellar la celdilla (Fig. 5.B) en la cual se encontraba inicialmente el huevo, procediendo a realizar un seguimiento a aquellas larvas que sobrevivieron al tratamiento de radiación y que pasaron a la etapa de pupa operculada. Este período consta de 12 días el que finaliza con la desoperculación de la celdilla emergiendo una abeja adulta el día 21 después de haber sido colocado el huevo. Por lo tanto un día antes de completar la fase, día 20, se cortaron las secciones (marcadas inicialmente) de los cuadros que fueron sometidos al tratamiento de radiación, para ser analizados en el laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile.

El estudio de viabilidad consistió en 2 fases, la primera, establecer la cantidad de larvas que sobrevivieron a las exposiciones a luz natural y la segunda determinar si éstas larvas una vez convertidas en adultas presentarían alguna anomalía a nivel anatómico o mostraban características morfológicas normales.

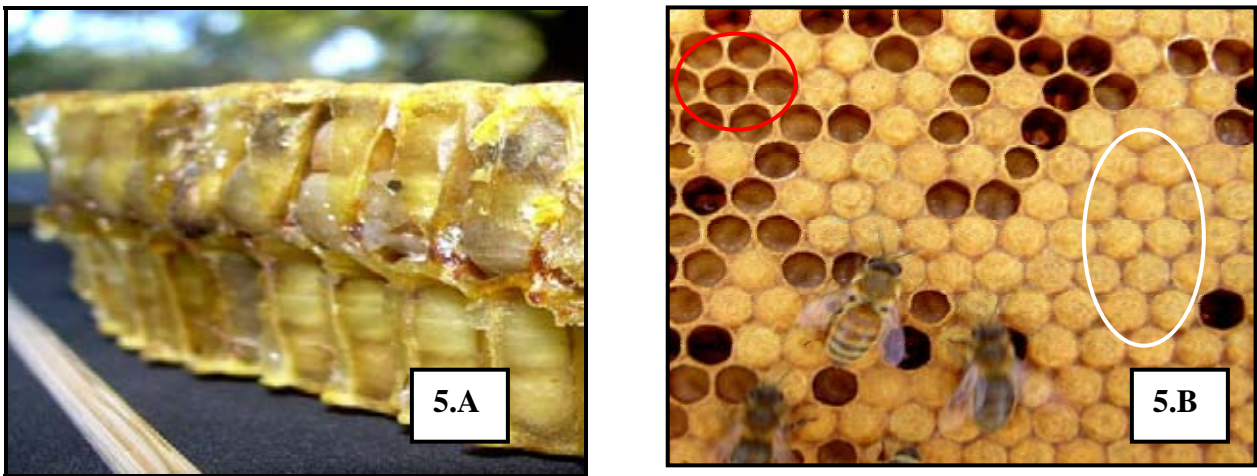


Fig. 5: **A**, Vista transversal de abejas obreras en etapa de pupa; **B**, Vista superior del marco. Círculo rojo indica larvas en proceso de sellado de la celdilla y el círculo blanco muestra larvas operculadas, proceso que dura 12 días.

3.7. Análisis de laboratorio para describir la anatomía externa de la abeja después del tratamiento a radiación

Las muestras obtenidas de las colmenas se analizaron en el laboratorio con la finalidad de revisar su anatomía externa, considerando presencia o ausencia de cabeza, tórax y abdomen y las estructuras correspondientes: antenas, patas y alas. Además se determinó su peso en una balanza analítica, y el color de los ojos para establecer la edad aproximada de los individuos.

Se consideraron las variables descritas anteriormente para verificar si el tratamiento causó alguna anomalía en la anatomía externa de las abejas que sobrevivieron a las exposiciones de luz natural durante 3 min.

3.8. Análisis estadístico

Para testear la susceptibilidad se tomaron datos de la respuesta de mortalidad de las larvas de abejas *Apis mellifera* L. sometidas a diferentes horas de exposición de luz natural (09:00, 12:00, 13:00 y 14:00 h) y el estudio de viabilidad, en el que se consideraron las variables de número de individuos con estado de desarrollo retrasado y el color púrpura de los ojos (ambos expresados en porcentajes), fueron estudiados por medio de un análisis de varianza (ANOVA) a una vía, con la prueba de Tuckey, para encontrar diferencias significativas tanto en los tratamientos de mortalidad como viabilidad ($P < 0.05$) (Scheffler, 1981).

Con la finalidad de cumplir con los supuestos de una ANOVA se realizó un test de Levene's para comprobar la homogeneidad de varianza u homocedasticidad ($P > 0.05$).

Para demostrar que la variación de mortalidad y viabilidad está asociada con la variación de la intensidad de radiación UV-B se realizó un análisis de correlación.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa computacional STATISTICA 6.0 (Statsoft, Inc., USA).

4. RESULTADOS

4.1. Determinación de presencia o ausencia de Varroosis y Acaropisosis en la colonia de abejas

De las dieciséis colmenas seleccionadas, doce situadas en la ciudad de Valdivia y cuatro ubicadas en Concepción, sólo se registró la presencia del ácaro *Varroa destructor* Anderson & Trueman (en larvas y adultos) (Fig. 6) en cuatro colmenas con bajos porcentajes de infestación (tres colmenas de Valdivia y una de Concepción), lo que no afectaría en el desarrollo normal tanto de larvas como de las abejas adultas (Tabla N° 1). Con respecto al ácaro de las tráqueas *Acarapis woodi* Rennie (en abejas adultas), no se encontró presencia de éste en las dieciséis colmenas que formaran el universo estudiado.

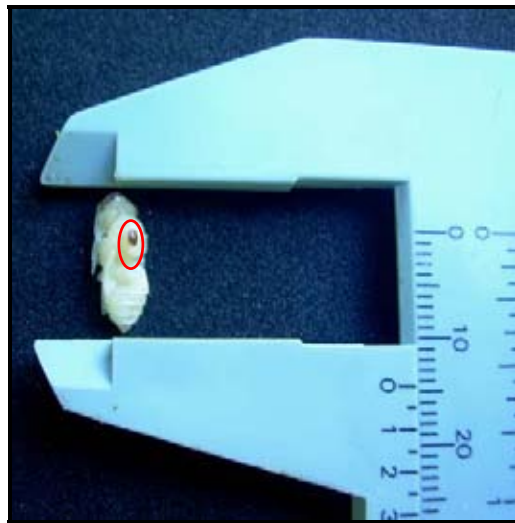


Fig. 6: Larva de abeja obrera que mide 11 mm de longitud y el círculo rojo indica la presencia del ácaro *Varroa destructor* Anderson & Trueman.

Tabla 1: Porcentaje de infestación del ácaro *Varroa destructor* Anderson & Trueman en la cría y adultos de abejas europeas *Apis mellifera* L. Colmena 1, 2 y 12 ubicadas en Valdivia y número 15 en Concepción.

N° Colmena	% Infestación	
	En cría	En adultos
1	6	3.5
2	4	3.0
12	5	3.0
15	1	1.0

4.2. Determinación de Temperatura y Humedad relativa

La temperatura máxima en la ciudad de Valdivia se registró en el mes de enero, con un promedio de 15.2 °C a las 9:00 am y 24.4 °C a las 15:00 pm. La mínima se registró en marzo, con un promedio de 10.6 °C a las 9:00 am y 18.2 °C a las 15:00 pm (Tabla N° 2).

Tabla 2: Temperatura (°C) registrada a las 09:00 am y 15:00 pm entre los meses de enero a marzo de 2006 en la ciudad de Valdivia, durante el período de estudio.

Fecha	Temperatura (°C) 09:00 am	Temperatura (°C) 15:00 pm
23 - ene - 2006	15.4	21.5
24 - ene - 2006	14.5	23.1
25 - ene - 2006	15.8	24.6
26 - ene - 2006	14.0	25.6
27 - ene - 2006	15.0	25.2
28 - ene - 2006	16.8	26.9
Promedio	15.2	24.4
16 - feb - 2006	15.6	20.4
17 - feb - 2006	14.4	19.0
18 - feb - 2006	16.8	23.8
19 - feb - 2006	16.2	26.1
20 - feb - 2006	15.1	23.5
21 - feb - 2006	17.0	19.4
Promedio	15.8	22.0
14 - mar - 2006	10.2	18.4
15 - mar - 2006	11.2	19.0
17 - mar - 2006	8.8	17.2
18 - mar - 2006	12.4	19.5
Promedio	10.6	18.5

En la ciudad de Concepción la temperatura máxima se registró el día 04 de marzo a las 15:00 pm con 27 °C y la mínima se obtuvo a las 9:00 am el día 27 de febrero con 6.2 °C (Tabla N° 3).

Tabla 3: Temperatura (°C) registrada a las 09:00 am y 15:00 pm entre el 27 de febrero y 04 de marzo de 2006 en la ciudad de Concepción, durante el período de estudio.

Fecha	Temperatura (°C) 09:00 am	Temperatura (°C) 15:00 pm
27 - feb - 2006	6.2	22.5
28 - feb - 2006	8.0	23.6
Promedio	7.1	23.0
01 - mar - 2006	12.0	23.2
02 - mar - 2006	12.8	25.0
03 - mar - 2006	11.0	26.8
04 - mar - 2006	8.0	27.0
Promedio	10.9	25.5

Respecto al porcentaje de humedad relativa registrada en la ciudad de Valdivia, se obtuvo un promedio de 98% en marzo y la mínima observada fue de 76.1% en enero, ambos valores se registraron a las 9:00 am. A las 15:00 pm se alcanzó un promedio mínimo de 56% correspondiente a enero y una máxima de 67.3% en febrero (Tabla N° 4).

Tabla 4: Humedad relativa (%) registrada a las 09:00 am y 15:00 pm entre los meses de enero a marzo de 2006 en Valdivia.

Fecha	Humedad relativa (%)	
	09:00 am	15:00 pm
23 - ene - 2006	76	59
24 - ene - 2006	81	55
25 - ene - 2006	73	51
26 - ene - 2006	72	51
27 - ene - 2006	79	60
28 - ene - 2006	76	60
Promedio	76.1	56
16 - feb - 2006	96	75
17 - feb - 2006	98	62
18 - feb - 2006	92	66
19 - feb - 2006	98	51
20 - feb - 2006	98	66
21 - feb - 2006	90	84
Promedio	95.3	67.3
14 - mar - 2006	98	63
15 - mar - 2006	98	59
17 - mar - 2006	98	55
18 - mar - 2006	98	70
Promedio	98	61.7

Para Concepción la humedad relativa mínima registrada a las 9:00 h fue un 88% y una máxima de 96% para los días 02 de marzo y 27 de febrero respectivamente. En el horario de las 15:00 h la mínima registrada no superó el 37% correspondiente al día 03 de marzo y la máxima alcanzada fue de 46% el 04 de marzo (Tabla N° 5).

Tabla 5: Humedad relativa (%) registrada a las 09:00 am y 15:00 pm entre el 27 de febrero y 04 de marzo de 2006 en la ciudad de Concepción, durante el período de estudio.

Fecha	Humedad relativa (%)	
	09:00 am	15:00 pm
27 - feb - 2006	96.0	40.0
28 - feb - 2006	93.0	36.0
Promedio	94.5	38.0
01 - mar - 2006	90.0	43.0
02 - mar - 2006	88.0	40.0
03 - mar - 2006	95.0	37.0
04 - mar - 2006	95.0	46.0
Promedio	92.0	41.5

La temperatura y humedad relativa registradas para la ciudad de Valdivia y Concepción durante los meses de tratamiento, enero, febrero y marzo del 2006 no presentaron valores que pudiesen influenciar y afectar la etapa larval de las abejas.

4.3. Estudio de mortalidad de larvas de abejas *Apis mellifera* L. por efecto de la radiación UV-B

4.3.1. Determinación de mortalidad de larvas obreras de abejas *Apis mellifera* L. en la ciudad de Valdivia

La mortalidad aumentó cuando las larvas fueron expuestas en condiciones naturales a la radiación solar (Fig. 7.A, B), en comparación con el grupo control. No se observó diferencia mortalidad promedio respecto al horario de exposición (12:00, 13:00 y 14:00 h), pero sí con respecto a las colmenas utilizadas como control cuyas revisiones se realizaron a las 09:00 h, período en que no hay una mayor incidencia de radiación UV-B sobre la superficie terrestre.

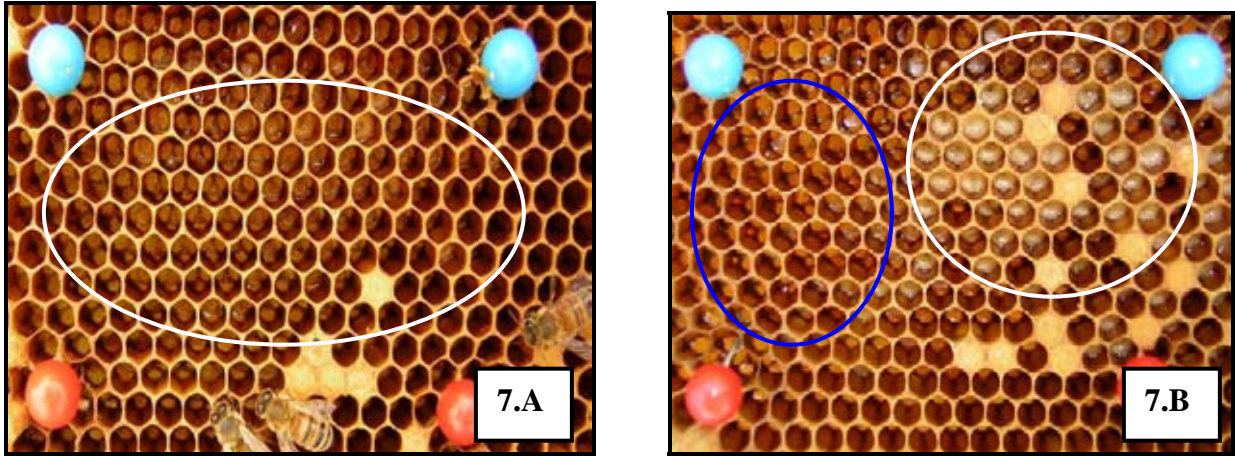


Fig. 7: **A**, círculo blanco indica las celdillas con huevos, que una vez en etapa de larva serán expuestas a una fuente de radiación en condiciones naturales; **B**, día 5 de la etapa larval, círculo azul indica la ausencia de larvas (mortalidad) y blanco la sobrevivencia larval.

Las colmenas utilizadas como control en Valdivia presentaron mortalidades larvales de un 18.5, 27.5 y 29% correspondientes a los meses de enero, febrero y marzo respectivamente. La mortalidad larval promedio más alta se obtuvo en enero a las 12:00 h con un 76% y la más baja fue de un 46.1% ésta se alcanzó en marzo a las 12:00 h.

Los resultados de la Tabla N° 6 indican que a las 09:00 h se obtuvo una dosis de radiación de $4302.0 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ lo que produjo un 18.5% de mortalidad larval y a las 12:00, 13:00 y 14:00 h fue de 76.0, 65.7 y 51.0% respectivamente con dosis de radiación ultravioleta de 31739.4, 28530.0 y $32274.0 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ que se corresponden con los horarios nombrados anteriormente. En los meses siguientes de tratamiento febrero (Tabla N° 7) y marzo (Tabla N° 8) bajaron los índices de radiación (Fig. 8) disminuyendo levemente la mortalidad larval.

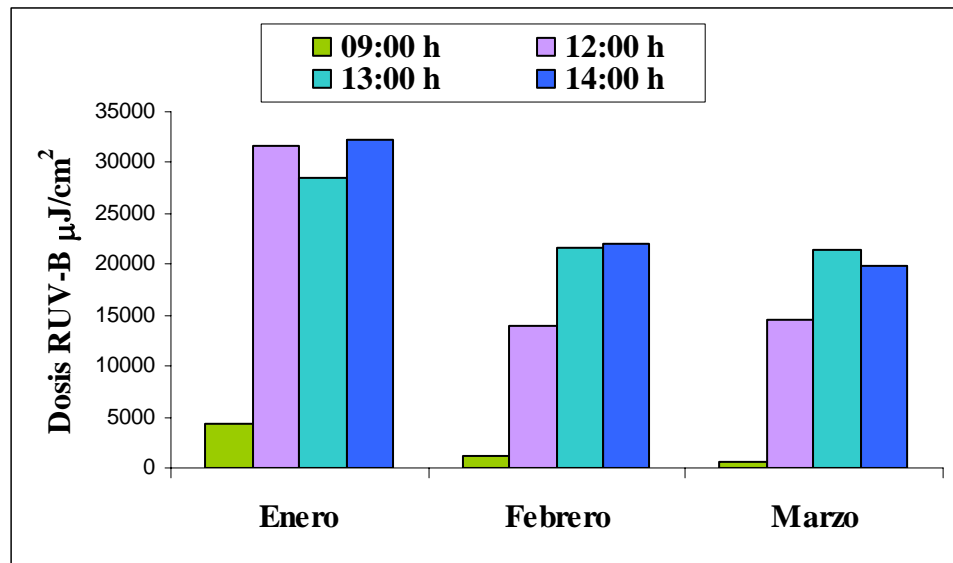


Fig. 8: Variación de las dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) registradas durante enero a marzo de 2006 en la ciudad de Valdivia a las 09:00, 12:00, 13:00 y 14:00 h.

El análisis de correlación realizado entre las variables de mortalidad larval y radiación UV-B tiene un coeficiente de correlación de 0.8705 con un $P = 0.00003$, a medida que aumenta la radiación UV-B los valores de mortalidad acrecientan, lo contrario sucede con la viabilidad que presenta un $R^2 = 0.9028$ y un $P = 0.00001$ por lo que al aumentar la radiación UV-B disminuye la viabilidad de las larvas obreras (Fig. 9).

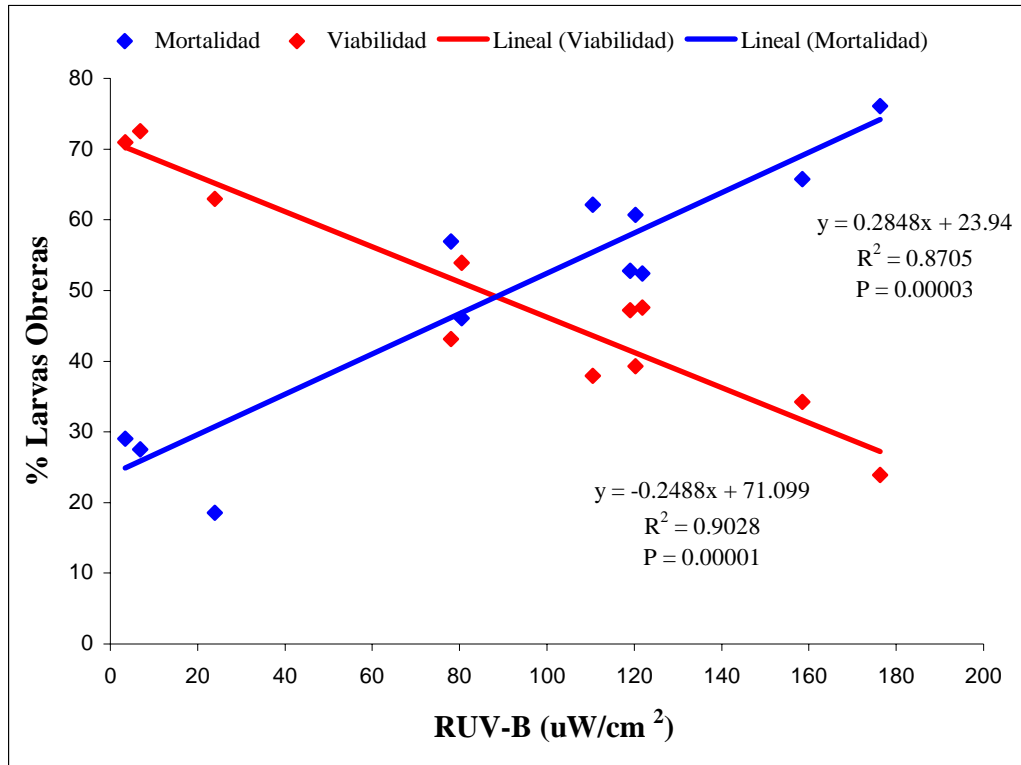


Fig. 9: Correlación entre la intensidad de radiación UV-B y la mortalidad y viabilidad de larvas de abejas obreras expuestas a fuentes de radiación en condiciones naturales en Valdivia, durante enero a marzo de 2006 en diferentes horarios de exposición.

Tabla 6: Porcentaje de mortalidad larval de abejas obreras *Apis mellifera* L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales en la ciudad de Valdivia. Dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) obtenidas en las exposiciones diarias por 3 min durante 6 días del mes de enero (23 al 28) de 2006.

Hora de exposición	Colmenas	% de mortalidad larval	Dosis UV-B $\mu\text{J}/\text{cm}^2$
09:00 - 09:03	Control	18.5	4302.0
12:00 - 12:03	1.1	80.1	31739.4
12:00 - 12:03	1.2	77.4	31739.4
12:00 - 12:03	1.3	70.7	31739.4
	Promedio	76.0	31739.4
09:00 - 09:03	Control	18.5	4302.0
13:00 - 13:03	2.1	82.6	28530.0
13:00 - 13:03	2.2	65.9	28530.0
13:00 - 13:03	2.3	48.6	28530.0
	Promedio	65.7	28530.0
09:00 - 09:03	Control	18.5	4302.0
14:00 - 14:03	3.1	57.4	32274.0
14:00 - 14:03	3.2	37.2	32274.0
14:00 - 14:03	3.3	58.4	32274.0
	Promedio	51.0	32274.0

Tabla N° 7: Porcentaje de mortalidad larval de abejas obreras *Apis mellifera* L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales en la ciudad de Valdivia. Dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) registradas en las exposiciones diarias por 3 min durante 6 días del mes de febrero (16 al 21) de 2006.

Hora de exposición	Colmenas	% de mortalidad larval	Dosis UV-B $\mu\text{J}/\text{cm}^2$
09:00 - 09:03	Control	27.5	1224.0
12:00 - 12:03	4.1	71.7	14040.0
12:00 - 12:03	4.2	54.0	14040.0
12:00 - 12:03	4.3	45.0	14040.0
	Promedio	56.9	14040.0
09:00 - 09:03	Control	27.5	1224.0
13:00 - 13:03	5.1	80.9	21654.0
13:00 - 13:03	5.2	45.0	21654.0
13:00 - 13:03	5.3	56.1	21654.0
	Promedio	60.7	21654.0
09:00 - 09:03	Control	27.5	1224.0
14:00 - 14:03	6.1	71.3	21929.4
14:00 - 14:03	6.2	46.2	21929.4
14:00 - 14:03	6.3	39.7	21929.4
	Promedio	52.4	21929.4

Tabla 8: Porcentaje de mortalidad larval de abejas obreras *Apis mellifera* L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales en la ciudad de Valdivia. Dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) registradas en las exposiciones diarias por 3 min durante 4 días del mes de marzo (14-15 y 17-18) de 2006.

Hora de exposición	Colmenas	% de mortalidad larval	Dosis UV-B $\mu\text{J}/\text{cm}^2$
09:00 - 09:03	Control	29.0	612
12:00 - 12:03	7.1	52.3	14490.0
12:00 - 12:03	7.2	45.3	14490.0
12:00 - 12:03	7.3	40.6	14490.0
	Promedio	46.1	14490.0
09:00 - 09:03	Control	29.0	612
13:00 - 13:03	8.1	54.0	21420.0
13:00 - 13:03	8.2	36.5	21420.0
13:00 - 13:03	8.3	67.9	21420.0
	Promedio	52.8	21420.0
09:00 - 09:03	Control	29.0	612
14:00 - 14:03	9.1	80.8	19890.0
14:00 - 14:03	9.2	55.9	19890.0
14:00 - 14:03	9.3	49.6	19890.0
	Promedio	62.1	19890.0

La ANOVA a 1 vía muestra que existen diferencias entre las horas de exposición (12:00, 13:00 y 14:00) con un $P < 0.005$.

Tabla de ANOVA para determinación de mortalidad de abejas obreras en Valdivia.

Efecto	SS	D	MS	F	P
hora exposición	3097	3	1032	4,842	,008

La prueba a posteriori de Tukey, indicó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los horarios de exposición (12:00, 13:00 y 14:00 h) $P > 0.05$ (Fig. 10).

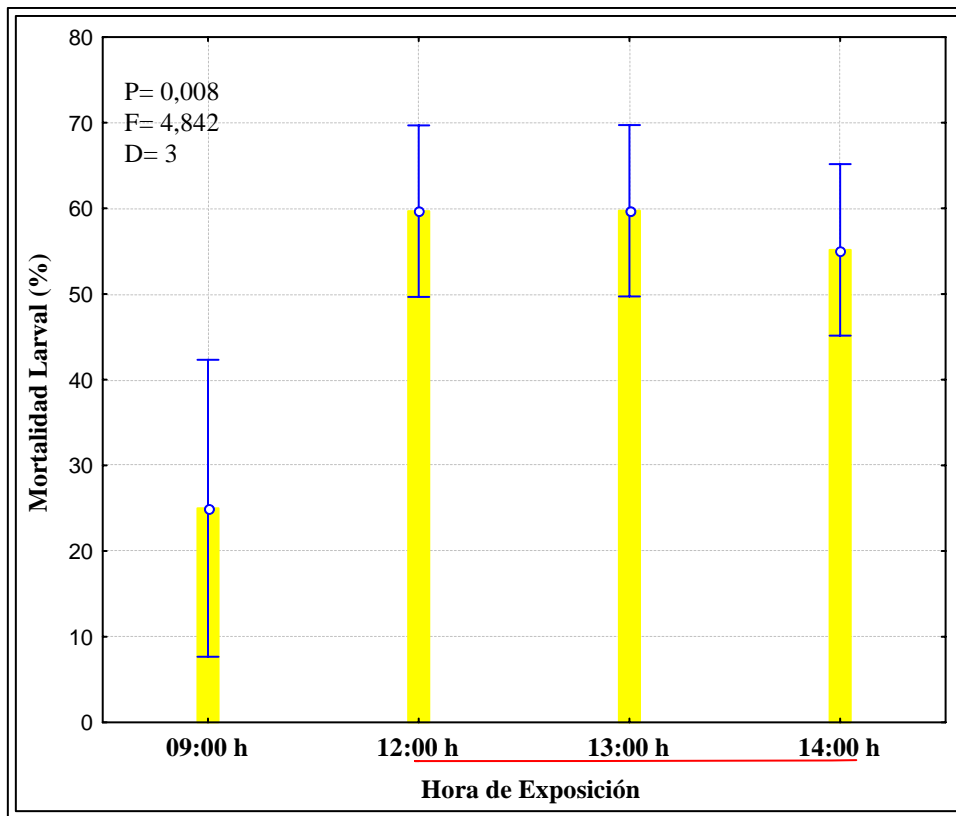


Fig. 10: Comparación de la mortalidad promedio para los cuatro tratamientos (9:00 am, 12:00,13:00 y14:00 pm). Valores de F y grados de libertad resultante de la ANOVA, P valor significativo ($P<0.05$). Línea roja bajo barras unen promedios en los cuales no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$, de acuerdo a prueba de Tuckey's). Líneas azules sobre las barras muestran los rangos de dispersión con el intervalo de confianza al 0.95.

4.3.2. Determinación de mortalidad de larvas obreras de abejas *Apis mellifera* L. en la ciudad de Concepción

En Concepción la mortalidad larval registrada durante los días 27 de febrero al 04 de marzo de 2006 en los horarios de las 12:00, 13:00 y 14:00 h no presentaron variaciones con respecto al horario de exposición.

La mortalidad larval registrada en el control fue de un 33.4% a las 09:00 h en comparación con un grupo sometido al tratamiento cuyo promedio de mortalidad fue de 90.7% a las 12:00 h (Tabla N° 9).

Las dosis de radiación UV-B a las que estuvieron expuestas las larvas de abejas variaron de 5760.0 μ J/cm² registrada a las 09:00 h a 35397.0 μ J/cm² observada a las 14:00 h (Fig. 11).

Tabla 9: Porcentaje de mortalidad larval de abejas obreras *Apis mellifera* L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales en la ciudad de Concepción. Dosis de radiación UV-B (μ J/cm²) registradas en las exposiciones diarias por 3 min durante 6 días, del 27 de febrero al 04 de marzo de 2006.

Hora de exposición	Colmenas	% de mortalidad larval	Dosis UV-B μ J/cm ²
09:00 - 09:03	Control	33.4	6060.0
12:00 - 12:03	1.1	81.5	25701.3
12:00 - 12:03	1.2	100	25701.3
	Promedio	90.7	25701.3
09:00 - 09:03	Control	33.4	6060.0
13:00 - 13:03	2.1	57.9	31785.3
13:00 - 13:03	2.2	86.9	31785.3
	Promedio	72.4	31785.3
09:00 - 09:03	Control	33.4	6060.0
14:00 - 14:03	3.1	74.1	35397.3
14:00 - 14:03	3.2	42.7	35397.3
	Promedio	58.4	35397.3

Los resultados obtenidos demuestran que la radiación UV aumenta la mortalidad de las larvas que son sometidas al tratamiento (una exposición diaria/6días), en comparación con el grupo control.

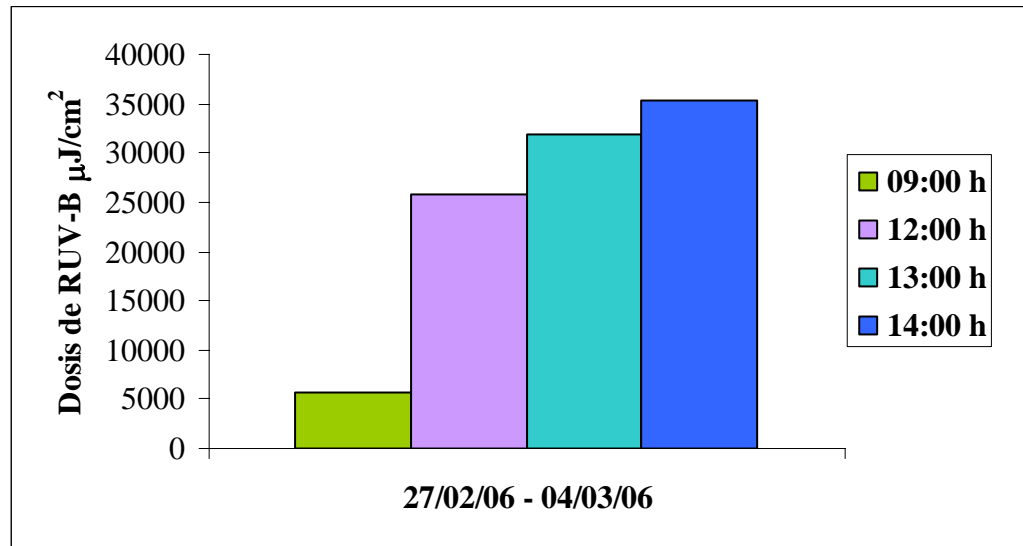


Fig. 11: Variación de las dosis de radiación UV-B ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$) registrada durante el 27 de febrero al 04 de marzo de 2006 en la ciudad de Concepción a las 09:00, 12:00, 13:00 y 14:00 h.

4.4. Estudio de viabilidad de larvas obreras de abejas *Apis mellifera* L

4.4.1. Determinación de viabilidad de larvas obreras de abejas *Apis mellifera* L. en la ciudad de Valdivia

Los resultados de viabilidad obtenidos durante los meses de estudio arrojaron que al exponer los marcos con larvas a luz natural por 3 min durante 6 días, disminuyen su viabilidad con respecto al grupo control (Fig. 12). Registrándose una viabilidad promedio en Valdivia de un 23.9% en enero a las 12:00 h en comparación con el grupo control que fue de un 81.4% y en marzo a la misma hora de exposición se obtuvo un 53.9% (Tabla N° 10).

En lo que respecta al peso que presentaban las abejas que resistieron a la radiación se mantuvo entre los 110 – 130 mg característico de los estadios pupales avanzados y adulto.

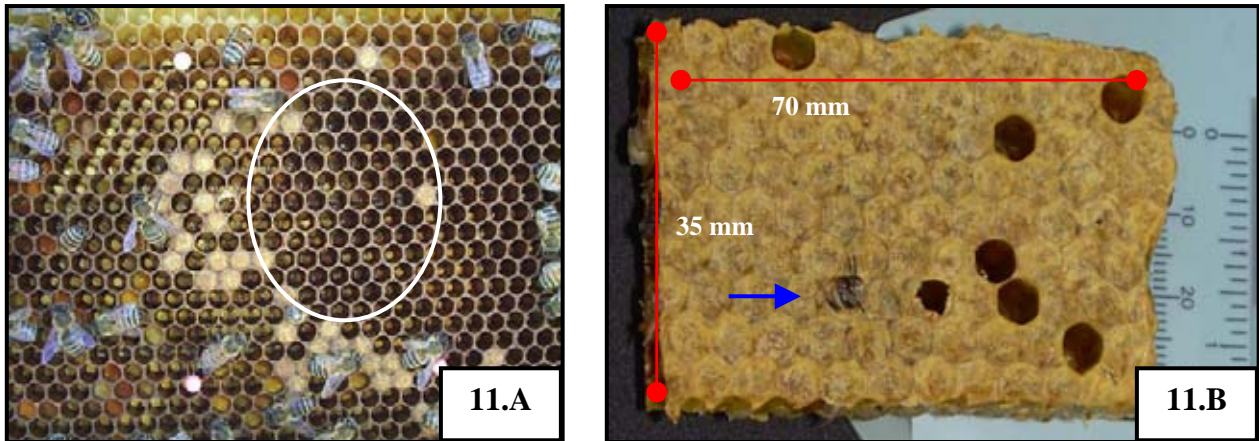


Fig. 12: **A**, Círculo blanco indica la disminución de viabilidad larval; **B**, muestra control de 35 mm de alto x 70 mm de largo con un alto porcentaje de viabilidad, flecha azul indica nacimiento de una abeja.

Tabla 10: Porcentaje de viabilidad larval de abejas obreras *Apis mellifera* L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales por 3 min durante 6 días en enero, febrero y marzo de 2006 en Valdivia.

Hora de exposición	% Viabilidad		
	enero	febrero	marzo
Control			
09:00 - 09:03	81.4	72.5	71.0
12:00 - 12:03	19.9	28.3	47.7
12:00 - 12:03	22.6	46.0	54.7
12:00 - 12:03	29.3	55.0	59.4
Promedio	23.9	43.1	53.9
Control			
09:00 - 09:03	81.4	72.5	71.0
13:00 - 13:03	17.3	19.0	46.0
13:00 - 13:03	34.0	54.9	63.5
13:00 - 13:03	51.4	43.8	32.1
Promedio	34.2	39.2	47.2
Control			
09:00 - 09:03	81.4	72.5	71.0
14:00 - 14:03	42.5	28.6	19.2
14:00 - 14:03	62.8	53.7	44.1
14:00 - 14:03	41.5	60.2	50.4
Promedio	48.9	47.5	37.9

La ANOVA a 1 vía muestra que existen diferencias entre las horas de exposición (12:00, 13:00 y 14:00) con un $P < 0.005$.

Tabla de ANOVA para determinación de viabilidad de abejas obreras en Valdivia.

Efecto	SS	D	MS	F	P
hora exposición	3097	3	1032	4,837	,008

El test a posteriori Tuckey aplicado para determinar entre que medias existen diferencias estadísticamente significativas, arrojó que hay diferencias solo entre el control y las expuestas (Fig. 13).

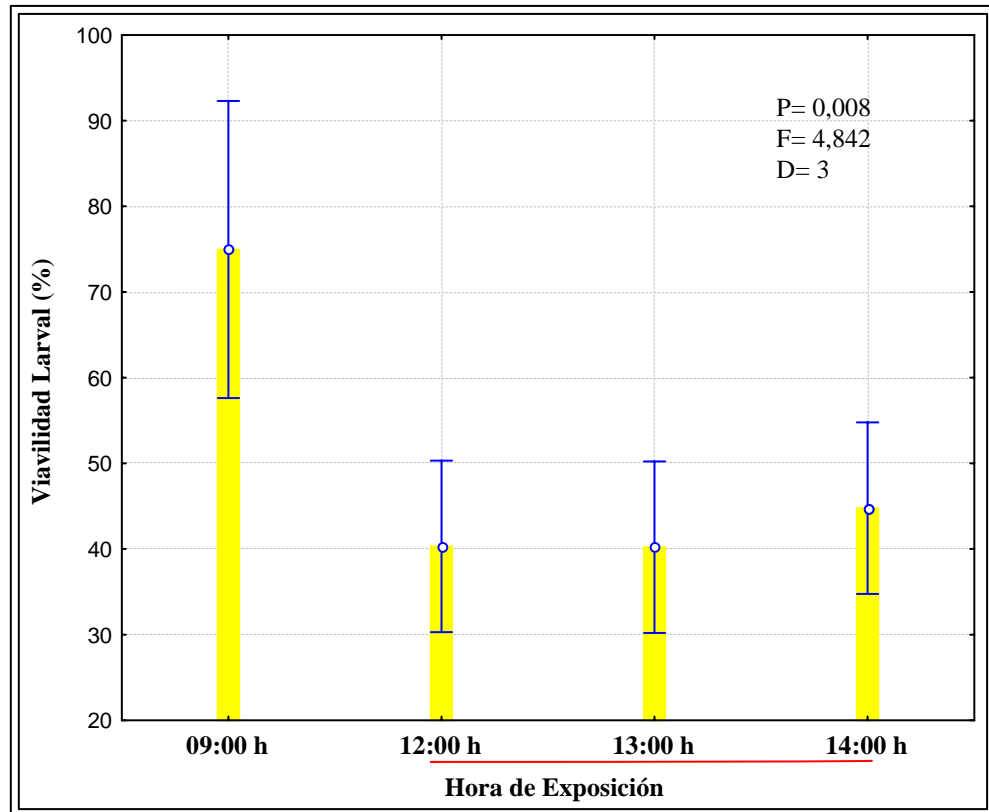


Fig. 13: Comparación de la viabilidad promedio para los cuatro tratamientos (9:00 am, 12:00,13:00 y14:00 pm). Valores de F y grados de libertad resultante de la ANOVA, P valor significativo ($P < 0.05$). Línea roja bajo barras unen promedios en los cuales no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$, resultado de Tuckey's *test a posteriori*). Líneas azules sobre las barras muestran los rangos de dispersión con intervalo de confianza al 0.95.

4.4.2. Determinación de viabilidad de larvas obreras de abejas *Apis mellifera* L. en la ciudad de Concepción

Los valores de viabilidad obtenidos durante el tiempo de experimentación disminuyeron con respecto al grupo control que presentó una sobrevivencia de un 66.6% en comparación con la muestra de las 12:00 h cuya sobrevivencia promedio fue de 9.2% (Tabla N° 11).

Tabla 11: Porcentaje de viabilidad larval de abejas obreras *Apis mellifera* L. expuestas a radiación solar en condiciones naturales por 3 min durante 6 días, del 27 de febrero al 04 de marzo de 2006 en Concepción.

Hora de exposición	% Viabilidad
	27 de febrero al 04 de marzo
Control	
09:00 - 09:03	66.6
12:00 - 12:03	18.5
12:00 - 12:03	0
Promedio	9.2
Control	
09:00 - 09:03	66.6
13:00 - 13:03	42.1
13:00 - 13:03	13.1
Promedio	27.6
Control	
09:00 - 09:03	66.6
14:00 - 14:03	25.9
14:00 - 14:03	57.3
Promedio	41.6

Estos resultados son similares a los obtenidos en Valdivia, por lo que la viabilidad de las larvas que fueron expuestas a radiación solar por un determinado tiempo (3 min) durante 6 días en comparación con el grupo control disminuyó.

Al igual que en Valdivia el peso de las abejas que sobrevivieron al tratamiento una vez que se realizó el análisis de la anatomía externa de la abeja fue de 110-130 mg.

4.4.3. Determinación de abejas obreras con estado de desarrollo retrasado en la ciudad de Valdivia

Las larvas que sobrevivieron a las exposiciones de radiación solar fueron analizados individualmente para determinar el estado de desarrollo (características morfológicas externas) en el que se encontraban, al momento de cumplir 20 días de haber sido colocado el huevo.

Durante enero el porcentaje promedio de larvas que presentaron un estado de desarrollo retrasado (Fig. 14) fue de un 100% a las 12:00 h, en febrero y marzo en el mismo horario se obtuvo un 83.8 y 67.6% respectivamente.

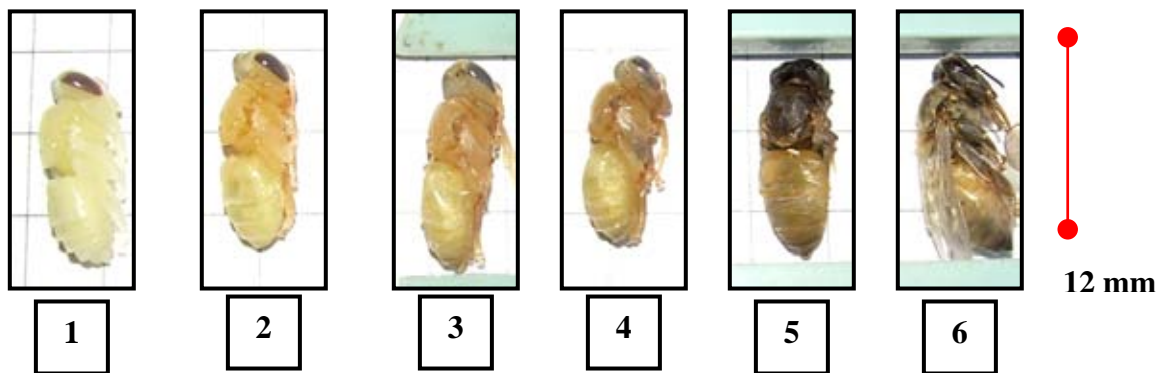


Fig. 14: Abejas en diferentes estados de desarrollo en la fase pupal.

A las 13:00 h del mes de enero fue registrado un promedio de 86.1% de individuos con un estado de desarrollo retrasado. En febrero y marzo a las 13:00 h fue obtenido un promedio de 72.4 y 54.9% de abejas con estado de desarrollo retrasado.

En enero los resultados registrados para las 14:00 h fue representado por un 81.30% de abejas con estado de desarrollo retrasado. En cambio para los meses de febrero y marzo se obtuvo como promedio un total de 76.81 y 47.42%.

El estado de desarrollo más frecuente fue el tipo 4 y 5 (74.4%) que corresponde a los 17 y 18 días de edad respectivamente. El grupo control que representa el porcentaje de individuos con estado de desarrollo retrasado fue el mismo para los diferentes horarios de exposición, el que correspondió a un 47% registrado en enero, un 56% en febrero y un 25% en marzo (Tabla N° 12).

Tabla 12: Porcentaje de abejas obreras que retrasan su desarrollo al ser sometidas a exposiciones a radiación en condiciones naturales a las 12:00, 13:00 y 14:00 h en los 3 meses de estudio en Valdivia.

Hora de exposición	% abejas obreras con estado retrasado de desarrollo			% abejas obreras con estado normal de desarrollo		
	Enero	Febrero	Marzo	Enero	Febrero	Marzo
Control						
09:00 - 09:03	47.0	56.0	25.0	53.0	44.0	75.0
12:00 - 12:03	100	100	70.8	0	0	29.1
12:00 - 12:03	100	74.4	64.5	0	25.5	35.4
12:00 - 12:03	100	77.1	67.5	0	22.8	32.5
Promedio	100	83.8	67.6	0	16.1	32.3
Control						
09:00 - 09:03	47.0	56.0	25.0	53.0	44.0	75.0
13:00 - 13:03	81.2	53.8	51.6	18.7	46.1	48.3
13:00 - 13:03	77.0	65.3	33.3	22.9	34.6	66.6
13:00 - 13:03	100	98.1	80.0	0	1.80	20.0
Promedio	86.1	72.4	54.9	13.8	27.5	45.0
Control						
09:00 - 09:03	47.0	56.0	25.0	53.0	44.0	75.0
14:00 - 14:03	98.0	51.8	42.8	1.90	48.1	57.1
14:00 - 14:03	75.8	89.1	48.0	24.1	10.8	52.0
14:00 - 14:03	70.0	89.4	51.4	30.0	10.5	48.5
Promedio	81.3	76.8	47.4	18.6	23.1	52.5

La ANOVA a 1 vía mostró diferencias significativas entre los estados de desarrollo retrasado (09:00, 12:00:13.00 y 14:00 h) ($P < 0.05$).

Tabla de ANOVA para determinación de desarrollo retrasado de abejas obreras en Valdivia.

Efecto	SS	D	MS	F	P
hora exposición	3940	3	1313	3.463	,031

Mediante el test de Tuckey se pudo establecer que no existen diferencias significativas entre las muestras con desarrollo retrasado que se expusieron a las 12:00, 13:00 y 14:00 h ($P < 0.05$) pero sí entre el control y las larvas que fueron sometidas al tratamiento en el horario de las 12:00 h ($P > 0.05$) (Fig. 15).

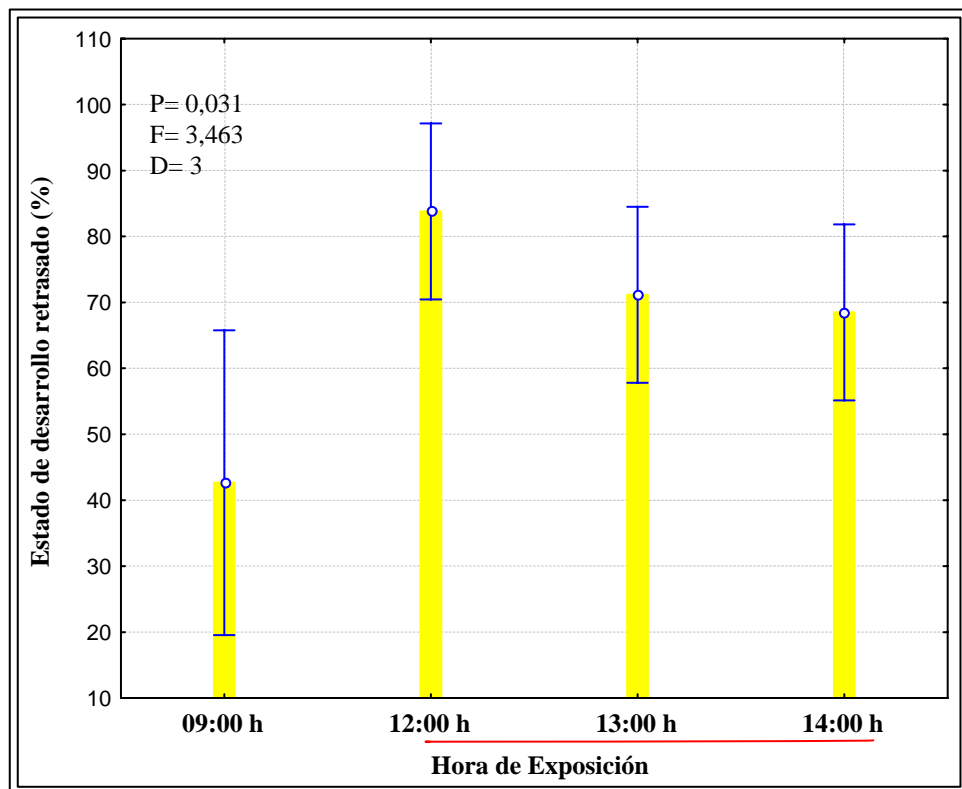


Fig. 15: Comparación de desarrollo retrasado promedio para los cuatro tratamientos (9:00 am, 12:00, 13:00 y 14:00 pm). Valores de F y grados de libertad resultante de la ANOVA, P valor significativo ($P < 0.05$). Línea roja bajo barras en promedios en los cuales no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$, resultado de Tuckey's *test a posteriori*). Líneas azules sobre las barras muestran los rangos de dispersión con el intervalo de confianza al 0.95.

4.4.4. Determinación de abejas obreras con estado de desarrollo retrasado en la ciudad de Concepción

En el tiempo que se realizó el experimento (27 de febrero al 04 de marzo del 2006) fue registrado en el grupo control un 60% de abejas que presentaron un estado de desarrollo retrasado.

A las 12:00 h el promedio de individuos que mostraron un estado de desarrollo retrasado correspondió al 33.3%. El promedio de individuos con estado de desarrollo retrasado registrado a las 13:00 y 14:00 h fue de un 57.9 y 80% respectivamente (Tabla N° 13).

Tabla 13: Porcentaje de abejas obreras que retrasan su desarrollo al ser sometidas a exposiciones a radiación en condiciones naturales a las 12:00, 13:00 y 14:00 h desde el 27 de febrero al 04 de marzo de 2006 en Concepción. * Indica mortalidad completa de la muestra, por lo que no hay registro de abejas con desarrollo retrasado.

Hora de exposición	% abejas obreras con estado retrasado de desarrollo			% abejas obreras con estado normal de desarrollo		
	27 de febrero	al	04 de marzo	27 de febrero	al	04 de marzo
Control						
09:00 - 09:03		60.0			40.0	
12:00 - 12:03		33.3			66.6	
12:00 - 12:03		*			*	
Promedio		16.6			33.3	
Control						
09:00 - 09:03		60.0			40.0	
13:00 - 13:03		53.3			46.6	
13:00 - 13:03		62.5			37.5	
Promedio		57.9			42.0	
Control						
09:00 - 09:03		60.0			40.0	
14:00 - 14:03		78.2			27.7	
14:00 - 14:03		81.8			18.1	
Promedio		80.0			22.9	

El 60% de abejas con estado retrasado de desarrollo encontrado en la muestra control de la ciudad de Concepción es superior al encontrado en Valdivia.

4.4.5. Estudio de la coloración púrpura de los ojos de abejas obreras expuestas a radiación solar en Valdivia

Durante las exposiciones a las 12:00 h en enero se obtuvo un promedio de 98.9% de abejas con ojos púrpura (Fig. 16). Para febrero y marzo, en el mismo horario, fue registrado un promedio de 63.3 y 67.6% de individuos con ojos de color púrpura.

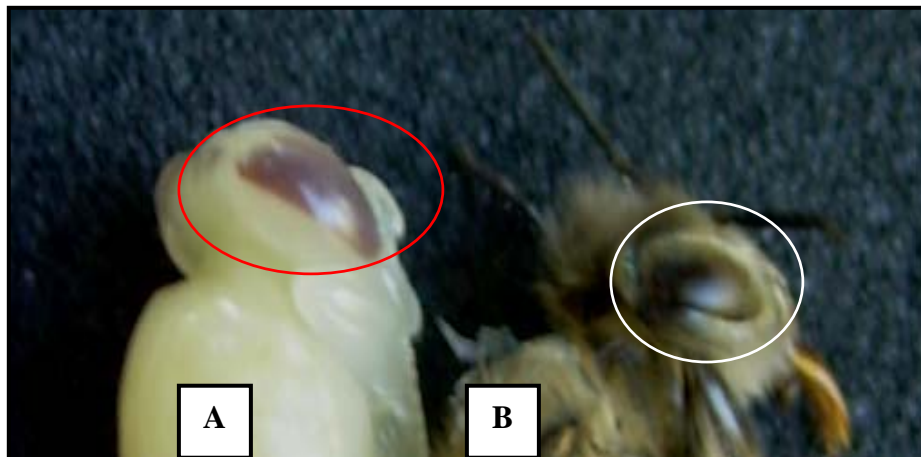


Fig. 16: El círculo rojo de la imagen A indica la coloración púrpura de los ojos característica de las abejas que no han completado su desarrollo. Círculo blanco de la imagen B indica la coloración ceniza, propia de las abejas en estado adulto.

En el horario de las 13:00 h para los meses de enero, febrero y marzo el promedio de individuos que fueron registrados con una coloración púrpura de los ojos, fue de un 80.5, 56.4 y 55.9% respectivamente.

El promedio del último registro obtenido a las 14:00 h en los meses de enero, febrero y marzo para el color de ojos púrpura, fue de un 72.5, 73.7 y 45% respectivamente.

El grupo control que representa el porcentaje de individuos con coloración de ojos púrpura fue el mismo para los diferentes horarios de exposición y correspondió a 41% registrado en enero, 45% en febrero y 25% en marzo (Tabla N° 14).

Tabla 14: Porcentaje de abejas obreras que presentan una coloración de ojos púrpura al ser sometidas a exposiciones a radiación en condiciones naturales a las 12:00, 13:00 y 14:00 h en los 3 meses de estudio en Valdivia.

Hora de exposición	% abejas obreras con ojos púrpura			% abejas obreras con ojos ceniza		
	Enero	Febrero	Marzo	Enero	Febrero	Marzo
Control						
09:00 - 09:03	41.0	45.0	25.0	59.0	55.0	75.0
12:00 - 12:03	100	73.5	70.8	0	26.4	29.1
12:00 - 12:03	100	63.8	64.5	0	36.1	35.4
12:00 - 12:03	96.7	52.6	67.5	3.2	47.3	32.5
Promedio	98.9	63.3	67.6	1.0	36.6	32.3
Control						
09:00 - 09:03	41.0	45.0	25.0	59.0	55.0	75.0
13:00 - 13:03	62.5	38.4	51.6	37.5	61.5	48.3
13:00 - 13:03	79.1	48.9	36.1	20.8	51.0	63.8
13:00 - 13:03	100	81.8	80.0	0	18.1	20.0
Promedio	80.5	56.4	55.9	19.4	43.5	44.0
Control						
09:00 - 09:03	41.0	45.0	25.0	59.0	55.0	75.0
14:00 - 14:03	98.0	51.8	40.0	1.9	48.1	60.0
14:00 - 14:03	63.7	89.1	45.0	36.2	10.8	55.0
14:00 - 14:03	55.7	80.2	50.0	44.2	19.7	50.0
Promedio	72.5	73.7	45.0	27.4	26.2	55.0

La ANOVA a 1 vía, muestra que la coloración púrpura de los ojos es característica de abejas que aún no han completado su desarrollo, por lo tanto se infiere que las exposiciones de las larvas a la luz natural pueden afectar significativamente ($P < 0.05$).

Tabla de ANOVA para determinación de la coloración púrpura de los ojos de abejas obreras en Valdivia.

Efecto	SS	D	MS	F	P
hora exposición	3582	3	1194	3,090	,045

Mediante el test a posteriori Tuckey se pudo determinar que no existen diferencias significativas entre las muestras con coloración púrpura de los ojos expuestos a las 13:00 y 14:00 h pero sí entre las muestras con tratamiento a las 12:00 h y el control (Fig. 17).

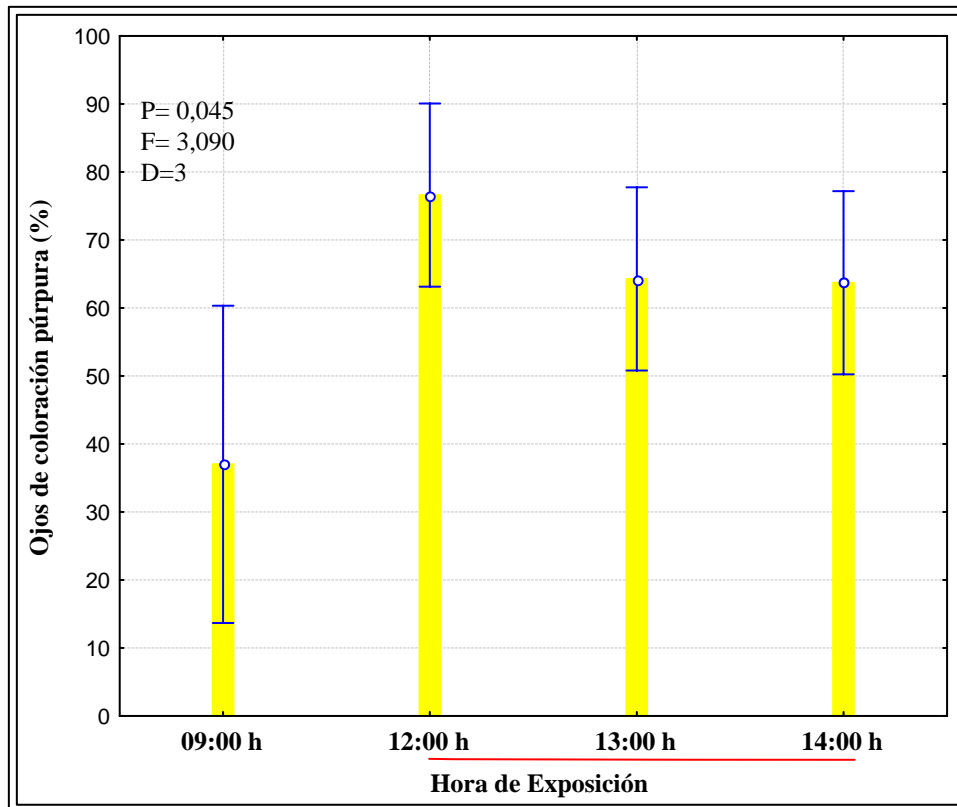


Fig. 17: Comparación de la coloración púrpura de los ojos promedio para los cuatro tratamientos (9:00 am, 12:00,13:00 y14:00 pm). Valores de F y grados de libertad resultante de la ANOVA, P valor significativo ($P < 0.05$). Línea roja bajo barras unen promedios en los cuales no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$, resultado de Tuckey's *test a posteriori*). Líneas azules sobre las barras muestran los rangos de dispersión con el intervalo de confianza al 0.95.

4.4.6. Estudio de la coloración púrpura de los ojos de abejas obreras expuestas a radiación solar en Concepción

Durante los 6 días de exposición de las larvas a luz natural, el promedio de los individuos que presentaron color de ojos púrpura fue de 25% a las 12:00 h. En el horario de las 13:00 y 14:00 h el promedio registrado fue de un 48.3 y 64.5% respectivamente. El grupo control presentó un 53.3% de abejas con ojos color púrpura (Tabla N° 15).

Tabla 15: Porcentaje de abejas obreras que presentan una coloración de ojos púrpura al ser sometidas a exposiciones a radiación en condiciones naturales a las 12:00, 13:00 y 14:00 h desde el 27 de febrero al 04 de marzo de 2006 en Concepción. * Indica la mortalidad completa de la muestra por lo que no hay abejas con ojos de color púrpura.

Hora de exposición	% abejas obreras con ojos púrpura	% abejas obreras con ojos ceniza
Control		
09:00 - 09:03	53.3	46.6
12:00 - 12:03	25.0	75.0
12:00 - 12:03	*	*
Promedio	12.5	37.5
Control		
09:00 - 09:03	53.3	46.6
13:00 - 13:03	46.6	53.3
13:00 - 13:03	50.0	50.0
Promedio	48.3	51.6
Control		
09:00 - 09:03	53.3	46.6
14:00 - 14:03	60.8	39.1
14:00 - 14:03	68.1	31.8
Promedio	64.5	35.4

Estos resultados permiten inferir que la radiación solar además de provocar un retraso en el desarrollo normal de las abejas, afecta la coloración de los ojos, persistiendo el color púrpura y no el ceniza que es característico de las abejas adultas.

5. DISCUSIÓN

El incremento de la radiación UV-B sobre la superficie terrestre se asocia con la disminución de la capa de ozono estratosférico causando que más sistemas biológicos estén expuestos a una mayor intensidad de radiación, lo que trae como consecuencia diversos efectos en los ecosistemas terrestres, que pueden ser hasta letales (Caldwell, *et al.*, 1998 y 2003).

En este experimento se consideró el comportamiento de las siguientes variables: presencia de acarapisosis y varroosis, temperatura y humedad relativa, con la finalidad de que el efecto de la radiación UV-B no se vea enmascarado por la presencia de alguna de las variables nombradas anteriormente.

Las abejas son afectadas por una serie de enfermedades de carácter bacteriano, viral, fungoso y parasitario, este último es el más común, por ende se analizó la presencia de dos enfermedades provocadas por ácaros, acarapisosis y varroosis. Para la primera se realizó una observación microscópica del ácaro, siendo negativas todas las muestras analizadas tanto en Valdivia como Concepción, según el protocolo de métodos y muestreos del SAG. Si los resultados obtenidos hubiesen sido positivos las tráqueas de las abejas adultas estarían infestadas con éste ácaro, provocando una falta de oxígeno, ocasionando la muerte. Además a nivel de colonia se produce una reducción en la longevidad de las abejas adultas lo que tiene como consecuencia una disminución en la productividad (Morse, A & Flottum K. 1997). También afecta los músculos del vuelo y las glándulas hipofaríngeas, que son las productoras de jalea real, alimento de las larvas, por tanto si se ven afectadas, la producción de jalea real disminuye bajando en calidad y cantidad y las larvas no reciben el mismo complejo nutricional, disminuyendo sus defensas y estado nutricional y por ende quedando más expuestas a ser

dañadas por cualquier afección, incluso llegando a la muerte. Esta es la principal importancia de estudiar la presencia del ácaro de las tráqueas, ya que los efectos conseguidos en las exposiciones podrían ser causa de la enfermedad y no de la acción de la radiación UV-B.

La presencia y cantidad de varroas por colmena se realizó mediante el análisis de porcentaje de infestación del ácaro a nivel de adulto (3.2.4.1) y cría (3.2.4.2). Según los resultados obtenidos sólo 4 colmenas de 16 manifestaron la presencia del ácaro en porcentajes inferiores al 5% (Tabla N° 1), los que están dentro de los niveles establecidos para no realizar tratamiento (Neira, M, 2003). La cantidad del ácaro encontrado no afecta el desarrollo normal de las larvas ni las actividades de las abejas adultas. En caso contrario, si los niveles de infestación fueran superiores al 10% (nivel crítico, según SAG) se sugiere tomar acciones para hacer algún tratamiento, ya que éste ácaro causa daños directos, como abejas con malformaciones o de menor peso, entre un 6.3 a 25% que el de una abeja sana, y efectos indirectos, como la presencia de otras enfermedades. Si se obtiene sobre un 30% de infestación resulta en una considerable mortalidad de la colonia, éstas son las razones por las cuales estudiar la presencia del ácaro, para atribuir los efectos encontrados en las larvas sometidas al tratamiento sólo a la radiación UV-B y no al efecto de este ectoparásito.

Las larvas de abejas obreras *Apis mellifera* L. se desarrollan al interior de la colmena a una temperatura que está entre los 32 – 34°C (Snodgrass, 1956; Cornejo, 1993; Collins & Mazur, 2006). La temperatura registrada durante el curso del experimento estuvo dentro de los índices establecidos tanto en la ciudad de Valdivia como Concepción (Tabla N° 2 y 3) respectivamente. Si la temperatura registrada durante los 6 días de estudio hubiese sido inferior a los 14°C se podría haber producido la muerte de las larvas, por ser ellas muy sensibles a los cambios de temperatura bajo este nivel.

La colmena se caracteriza por presentar en su interior una humedad relativa de un 60 – 80% (Collins & Mazur, 2006), en el período de estudio la humedad registrada en las 2 zonas de experimentación (Tabla N° 4 y 5) durante las exposiciones a luz natural, se mantuvo dentro de los niveles permitidos para el desarrollo normal de las larvas. Si se hubiesen observado niveles superiores al 80%, la colonia puede sufrir la presencia de enfermedades, en caso contrario, si los registros estudiados son inferiores a los establecidos (30%) las larvas y adultos pueden morir.

Según los valores registrados para temperatura y humedad relativa, se puede inferir que no afectaron los resultados obtenidos, ya que los índices o niveles observados están dentro de los rangos establecidos, permitiendo el desarrollo normal, tanto de las larvas, como de las actividades que realizan las abejas adultas.

Los resultados logrados durante el período de estudio revelaron que las larvas de obreras expuestas a radiación solar durante las 12:00, 13:00 y 14:00 h por 3 min en Valdivia y Concepción presentaron la misma respuesta. La mortalidad es fuertemente afectada en el grupo sometido al tratamiento, en comparación con el grupo control y según las variables consideradas como factores que afectan la mortalidad de las larvas podemos inferir que ésta supuestamente se atribuye únicamente al efecto de la radiación UV-B.

Beard 1972, en su estudio realizado en diferentes especies de insectos encontró que la radiación UV de onda corta causa diferentes respuestas en los insectos las que dependen de los sustratos sensitivos como las cutículas o el corion que pueden o no transmitir la radiación UV. En el caso de este estudio las larvas de abejas obreras demostraron ser sensibles a las exposiciones a luz natural, presentando altos porcentajes de mortalidad, además de un retraso en el desarrollo normal de las larvas que sobrevivieron al tratamiento. Observaciones similares han sido

reportadas por Araneda, 1997 donde el desarrollo de las larvas se reduce en 2 días aproximadamente cuando son expuestas a radiación UV.

5.1. Determinación de mortalidad de larvas obreras *Apis mellifera* L. por efecto de la radiación UV-B

Las revisiones que realizan los apicultores comienzan en la primavera con la búsqueda de la reina, determinación de la presencia de enfermedades, en general condiciones en las que se encuentra la colonia de abejas para la temporada de recolección de polen y néctar el que será transformado en miel. Simultáneamente en éste período se registran mayores índices de radiación UV sobre la superficie de la tierra alterando a diferentes ecosistemas, pudiendo afectar la producción apícola. Como por ejemplo en la isla de Chiloé, Chile, donde hay una reducción de la capa de ozono fue observada una disminución en la producción de Ulmo, la principal planta apícola de la región, bajando la producción de miel de 30-40Kg/año a 12-15Kg/año.(Espencer & De Jong, 1994). Este descenso en la elaboración de la miel se explica como una consecuencia del efecto de la radiación UV-B sobre el polen del Ulmo (*Eucryphia cordifolia*), el que está disminuyendo en calidad y cantidad, por tanto las abejas y otros insectos polinizadores disminuyen las visitas a estas plantas, bajando la floración y por ende la producción de miel. Por lo que es fundamental establecer alguna anomalía a nivel de las abejas y más específicamente en las larvas obreras que una vez adultas son las responsables de elaborar los productos como la miel, veneno y acopiar o recolectar el polen y propóleo, los que tienen diferentes beneficios.

Los resultados revelan que las muestras con larvas sometidas a exposiciones a luz natural por 3 min en los diferentes horarios y durante los 3 meses de tratamiento presentan una mortalidad promedio de 58.1% en comparación con el grupo control que no supera el 25%. Esto

concuera con lo descrito por Faruki y Kundu (1995) que realizaron estudios en el estado larval *Bombix mori* L. (gusano de seda) atribuyendo del todo la mortalidad observada a la dosis de radiación UV-B afectando más acentuadamente a los primeros estadios larvales que a los avanzados. Además esto estaría confirmando los resultados de Bertholf 1933, citado por Araneda 1997 quien argumentó que la radiación ultravioleta produce efectos negativos como la mortalidad de las abejas. Wharton en 1971 reportó que ninfas de *Periplaneta americana* al ser expuestas a dosis de radiación UV por 1 min mostraban mortalidades de hasta un 50%.

En la figura N° 10 se aprecia la diferencia de mortalidad que existe entre las larvas que fueron sometidas al tratamiento y las control. Pero no existen diferencias significativas entre las larvas expuestas a luz natural durante las 12:00, 13:00 y 14:00 h, ésta situación se explica porque no existe una mayor diferencia entre los niveles de radiación UV-B presentes en los tres horarios de tratamiento cuyo valor promedio mínimo a las 09:00 h fue de $612 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ (marzo) y el máximo correspondió a $4302 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ (enero) en Valdivia. En Concepción fue de $6060 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ en el mismo horario. Con respecto a los otros períodos de exposición es importante señalar que el 24 de enero hubo una dosis de $52872.0 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ en 3 minutos de exposición a las 12:00 h y los otros valores promedios de dosis de radiación fluctuaron entre 14040.0 y $31739.4 \mu\text{J}/\text{cm}^2$.

A pesar que los resultados logrados en Concepción no pudieron ser analizados estadísticamente debido al número de replicas ($n=2$) la mortalidad obtenida fue similar a la alcanzada en Valdivia.

No fue posible realizar una comparación entre las dosis de radiación obtenidas en Valdivia y Concepción ya que las exposiciones se realizaron en fechas diferentes, sólo se pudo hacer una observación con respecto a los valores obtenidos en las dos zonas de estudio,

destacando que en Concepción se alcanzó una mayor intensidad de radiación que en Valdivia, lo que podría explicar la mayor mortalidad obtenida.

En general los insectos con estados larvales menos avanzados son más sensibles a la radiación UV-B, los resultados de éste estudio confirman esta respuesta. Amy (1964) sugiere que en ciertas edades los insectos presentan compuestos que son sensibles a la radiación UV, como los ácidos nucleicos los que se ven más afectados en estadios de desarrollo más tempranos que en los más avanzados, esto explicaría que la mortalidad obtenida en la etapa larval de las abejas sea consecuencia de la edad que presentan las larvas al ser sometidas a radiación, siendo más sensibles al tratamiento.

Además según los resultados podemos inferir que existe una correlación positiva ($R^2 = 0.8705$) entre la mortalidad observada y la radiación UV-B existiendo una intensidad de asociación entre las dos variables estudiadas en Valdivia. Por lo tanto a medida que aumenta la radiación UV-B aumenta la mortalidad de las larvas.

5.2. Estudio de viabilidad de larvas obreras *Apis mellifera* L. expuestas a luz natural

De las larvas que fueron sometidas a las exposiciones a luz natural un 58.2% promedio total porcentaje murió durante el transcurso del tratamiento y un 41.8% sobrevivió, éste último fue observado al finalizar su etapa de crecimiento para establecer si se generan anormalidades a nivel morfológico a causa de la radiación UV.

Machado (1986) citado por Araneda 1997 verificó que existe una disminución en la viabilidad a medida que aumenta el tiempo de irradiación. Según los resultados de la Tabla N° 10 y 11 se puede inferir que la viabilidad de las larvas sometidas a las exposiciones disminuye en comparación con las control tanto en los tratamientos de Valdivia como Concepción.

A medida que suben los niveles de radiación disminuye la viabilidad, obteniendo de ésta manera una regresión lineal la que confirma ésta respuesta, relacionando la radiación UV-B con la viabilidad obtenida y establecer una intensidad de asociación, encontrándose una correlación de 0.9028. Estos datos pueden ser comparados con los obtenidos por Machado en 1986 y Araneda en 1997 quien sometió a radiación UV-B huevos de abejas de 0 a 6 h de edad obteniendo una menor viabilidad en comparación con el grupo control .

Además se encontró que aproximadamente 42% de las larvas que sobrevivieron a la radiación presentó un retraso en el desarrollo normal de las abejas de 74.4% (Fig. 15) y por ende una coloración púrpura de los ojos (Fig. 17) la que corresponde a la etapa larval o pupal y no a la adulta que debieran presentar al momento de salir de la celdilla operculada transformadas en adulto. Estos resultados se corresponden con los demostrados por Wharton 1971; Srivastava y Kumar (1990) citados por Araneda 1997, quienes señalaron que a causa de las exposiciones a radiación UV las larvas de insectos manifiestan un retardo en la pupación y por consiguiente un retardo en el crecimiento.

Es posible que el desarrollo retrasado de las abejas pertenecientes al grupo experimental sea una consecuencia de las exposiciones a radiación las que causarían una inhibición de la síntesis de proteínas, generando daños a nivel de DNA (Espencer & De Jong, 1994).

En Concepción se obtuvo un 60% de abejas con estado retrasado de desarrollo correspondiente al grupo control, superando a los resultados de Valdivia. Aparentemente esta situación se explica por la falta de reina en la colonia producto de un enjambre, el que consiste en la salida de la reina y obreras más viejas de la colmena. Ante esta circunstancia las obreras responden rápidamente originando a partir de los huevos colocados por la antigua reina una nueva. La falta de reina en la colonia de abejas produce una disminución en las actividades que

realizan normalmente las obreras como, recolección de polen o néctar y alimentación de las larvas lo que causaría un desarrollo retrasado en las larvas.

Además las larvas que sobrevivieron a las exposiciones a luz natural se les determinó su peso para verificar si presentaban alguna anomalía producto del tratamiento, esto no ocurrió obteniendo un peso normal, característicos de la edad que presentaban una vez analizadas. Estos resultados se corresponden con los obtenidos por Cornejo, 1993 quien indica el peso que muestran las abejas en cada etapa.

Es importante mencionar que las abejas cuando van a salir de la celdilla operculada lo hacen con la cabeza hacia el opérculo para poder rasgarlo y salir convertidas en adultas, pero se encontró un 5% de abejas en estado adulto en posición invertida. Esta respuesta se explica por un efecto indirecto que tiene la radiación UV-B sobre el alimento de las larvas. Las nodrizas son las encargadas de alimentar a las larvas depositando en las celdillas una gota de jalea real mezclada con polen y agua y las larvas se encuentran flotando en este alimento, por lo tanto al exponer los marcos con larvas a luz natural la radiación UV-B afectaría posiblemente en la cantidad o concentración del alimento y el nivel nutricional se perjudica lo que tiene como consecuencia un menor estado de vigor de las larvas, disminuyendo el carácter inmuno-defensivo de las abejas manifestándose posiblemente un virus que determina la posición invertida, en que se observaron las larvas en las celdillas en etapa de operculación.

En este estudio se ha demostrado que existe una mortalidad significativa y un retraso en el desarrollo normal de las larvas sometidas a exposiciones a radiación UV-B, lo que claramente sirve de alerta a los apicultores sobre los riesgos de las revisiones de los marcos con larvas en dirección directa al sol, en horarios donde hay una mayor incidencia de radiación y por tiempos prolongados, lo que afecta claramente en la producción apícola.

Dosis de radiación UV-B en Valdivia entre $31739.4 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ y $32274.0 \mu\text{J}/\text{cm}^2$ causaron un 58.18% de mortalidad promedio y un 74.47% de retraso promedio en el desarrollo normal de las abejas, demostrando que a mayores niveles de radiación ocasionan mayor mortalidad de las larvas, existiendo una correlación entre éstas dos variables. Los mayores niveles de radiación y mortalidad se registraron en Concepción (Tabla N° 9).

Los resultados de éste experimento revelaron que a mayor radiación UV-B mayor es la mortalidad y por ende menor es la viabilidad de las larvas de abejas obreras, las cuales mostraron un desarrollo retrasado y una coloración púrpura de los ojos que es característica de los estadios menos avanzados, producto de las exposiciones durante 3 min a radiación UV-B en condiciones naturales.

No se tienen antecedentes sobre el efecto de la radiación UV-B en las larvas de abejas obreras en condiciones naturales, para comparar con mayor exactitud los resultados obtenidos, por lo que se propone que más investigaciones se realicen en esta área y poder conseguir conclusiones más definitivas y con fundamentos mayores.

5.3. Conclusiones

Los resultados descritos anteriormente nos permiten concluir que:

1. Existe una alta mortalidad de larvas obreras de abejas *Apis mellifera* L. sometidas a exposiciones a radiación solar. A mayor dosis de radiación UV-B mayor es la mortalidad y menor es la viabilidad obtenida.
2. No existieron diferencias significativas ($P>0.05$) en la mortalidad de las larvas expuestas a luz natural en Valdivia durante las 12:00, 13:00 y 14:00 h pero sí con el grupo control 9:00 h.
3. No existieron diferencias significativas ($P>0.05$) en la viabilidad de las larvas sometidas al tratamiento en Valdivia a las 12:00, 13:00 y 14:00 h, las que presentaron un retraso en el desarrollo. La coloración púrpura de los ojos fue consecuencia del desarrollo retrasado de las larvas.
4. Los datos conseguidos en Concepción son similares a los de Valdivia en lo que respecta a la mortalidad y viabilidad (desarrollo retrasado y coloración púrpura de los ojos) aunque no pudieron ser analizados estadísticamente por el número de muestras ($n=2$).
5. Las mayores dosis de radiación UV-B fueron obtenidas en Concepción lo que resultó en una mortalidad superior a la lograda en Valdivia. En las dos zonas de estudio se utilizó el

mismo horario de exposición pero las fechas en que se realizó el tratamiento fueron diferentes.

6. Las exposiciones de los marcos con larvas en dirección directa al sol, en horarios donde hay una mayor incidencia de radiación y por tiempos prolongados pueden generar daños en las larvas lo que afectaría la producción apícola, por lo que se recomienda realizar las revisiones por tiempos inferiores a los 3 min y en horarios en los que hay un menor paso de radiación UV-B, o en su defecto en lugares sombreados que eviten incidencia directa de la luz solar.

6. LITERATURA CITADA

- Amy, R. (1964)** Ultraviolet sensitivity in the *Habrobracon* embryo. *Journal Experimental Zoology.*, 155, 43-56.
- Anderson, D and Trueman, J. (2000)** *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, 24, 165-189.
- Araneda, X. (1997)** Caracterização da sensibilidade diferencial dos efeitos da luz UV em abelhas Africanizadas e Européias. Tesis Magíster en Genética. Facultad de Medicina. Universidad de São Paulo, 87 pp.
- Aranibar, L., Cabrera, S., Honeyman, J. (2003)** Menores quemados por el sol y su relación con la radiación ultravioleta la cubierta de ozono, durante seis veranos (1996 a 2001) en Santiago de Chile (33,5°S). *Revista médica de Chile.*, 131, 1011-1022.
- Balkenhol, C. (2002)** Efecto de la radiación ultravioleta-B sobre la capacidad de germinación y desarrollo del tubo polínico en polen de *Gevuina avellana* Mol. (Proteaceae). Tesis, Escuela de Agronomía. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile., 65 pp.
- Ballaré, C., Scopel, A., Stapleton, A., Yanovsky, M. (1996)** Solar ultraviolet-B radiation affects seedling emergence, DNA integrity, plant morphology, growth rate and attractiveness to herbivore insects in *Datura ferox*. *Plant Physiology.*, 112, 161-170.

- Beard, R. (1972)** Letal action of UV irradiation on insects. *Journal of Economic Entomology.*, 65, 650-654.
- Blaustein, A., Romansic, J., Kiesecker, J., Hatch, A. (2003)** Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. *Diversity and Distributions.*, 2, 123-140.
- Cabrera, M and Fuenzalida, H. (1999)** Interannual variations of global UV radiation in Santiago. *Geophysical Research Letters.*, 26, 2945-2948.
- Cabrera, S., Bozzo, S., Fuenzalida, H. (1995)** Variations in UV radiation in Chile. *Journal of Photochemistry and Photobiology.*, 28, 137-142.
- Caldwell, M. (1978)** Ultraviolet radiation and plants. In: *Plant Physiology*. 2^a ed. Wadsworth Publishing Company Inc. U.S.A. 399 pp.
- Caldwell, M., Björn, L., C., Borman., Flint, S., Kulandaivelu, G., Teramura, A., Tevini, M. (1998)** Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.*, 46, 40-52.
- Caldwell, M., Ballaré, C., Borman, J., Flint, S., Björn, L., Teramura, A., Kulandaivelu, G., Tevini, M. (2003)** Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation and

interactions with other change factors. *Photochemistry Photobiology Science.*, 2, 29-38.

Carrillo, R. (1973) Eficacia de diversos insecticidas en el combate de cuncunillas negras en empastadas. *Agro Sur.*, 1: 45-50.

Cicerone, R., Stolarski, R., Walters, S. (1974) Stratospheric ozone destruction by man-made chlorofluoromethanes. *Science.*, 185, 1165-1166.

Collins, A. (2004) Variation in Time of Egg Hatch by the Honey Bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) *Annals of the Entomological Society America.*, 1, 140-146.

Collins, A and Mazur, P. (2006) Chill sensitivity of honey bee, *Apis mellifera*, embryos. *Cryobiology.*, 53, 22-27.

Cornejo, L. (1993) Apicultura práctica en América Latina. FAO. Roma, Italia., 168 pp.

Da Silva, R., La Scala, N., Lombardi P. (2001) Transmissão de Radiação Ultravioleta A através do Pelame e da Epiderme de Bovinos. *Revista brasileira zootecnia.*, 6:1939-1947.

Diffey, B. (1986) Ultraviolet radiation dosimetry and measurement. In: Radiation Dosimetry Physical and Biological Aspects. Editado por Colin G. Orton Plenum Press, New York, 328 pp.

- Diffey, B. (1991)** Solar ultraviolet radiation effects on biological systems. *Physics in Medicine and Biology.*, 36, 299-328.
- Espencer, A and De Jong, D. (1994)** A Radiação Ultraviolet e as Hábelas. Libro Resumen X Congreso Brasileiro de Apicultura. 227 pp.
- Faruki, S and Kundu, P. (2005)** Sensitivity of the silkworm, *Bómbix mori* L. (Lepidóptera: Bombycidae) larvae to UV-irradiation. *International Socialist Journal.*, 2, 75-81.
- Feldheim, K and Conner, J. (1996)** The effects of increased UV-B radiation on growth, pollination success, and lifetime female fitness in two *Brassica* species. *Oecología.*, 106, 284-297.
- Formicki, G., Zamachowski, W., Stawarz, R. (2003)** Effects of UV-A and UV-B on oxygen consumption in common toad (*Bufo-bufo*) tadpoles. *Journal of Zoology.*, 259, 317-326.
- García, T., Stacy, J., Sih, A. (2004)** Larval salamander response to uv radiation and predation risk: Color change and microhabitat use. *Ecological Applications.*, 4, 1055-1064.
- Jean-Prost, P. (1998)** Apicultura: conocimiento de la abeja manejo de la colmena. 4^a Ed. España. 547 pp.

Kirchhoff, V., Zamorano, F., Casiccia, C. (1997) UV-B enhancements at Punta Arenas, Chile.

Journal Photochemistry Photobiology., 38, 147-177.

Krizek, D and Chalker-Scott, L. (2005) Symposium-in-Print: Ultraviolet Radiation and

Terrestrial Ecosystems. *Photochemistry and Photobiology.*, 81, 1021–1025.

Lesser, R. (1998) Manual de Apicultura Moderna. 3^a edición, London, 334 pp.

Lesser, M and Barry, T. (2003) Exposure to ultraviolet radiation causes apoptosis in developing

sea urchin embryos. *Journal of Experimental Biology.*, 22, 4097-4103.

Lovengreen, C., Fuenzalida, H., Villanueva, L. (2000) Ultraviolet Solar radiation al Valdivia,

Chile (39,8°S). *Atmospheric Environment.*, 34, 4051-4061.

Lovengreen, C., Álvarez, J., Fuenzalida, H., Aritio, M. (2002) Radiación ultravioleta

productora de eritema en Valdivia. Comparación entre inferencias satelitales, modelo de transferencia radiativa y mediciones desde Tierra. *Revista médica de Chile.*, 130, 17-25.

Madronich, S. (1992) Implications of recent total atmospheric ozone measurements for

biologically active ultraviolet radiation reaching the earth's surface. *Geophysical Research Letter.*, 19, 37-40.

- Madronich, S., Weatherhead, E., Flocke, S. (1996)** Trenches in UV radiation. *International Journal of Environmental Studies.*, 51, 183-198.
- Molina, M and Rowland, F. (1974)** Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: chlorine atom-catalysed destruction of ozone. *Nature*, 249, 810-812.
- Morse, R. and Flottum, K., (1997)** Honey Bee Pests predators & Diseases. 3^a Ed. Root company, United States of America. 492 pp.
- Negishi, T., Nagaoka, C., Hayatsu, H., Suzuki, K., Hara, T., Kubota, M., Watanabe, M., Hieda, K. (2001)** Somatic-cell mutation induced by UVA and monochromatic UV radiation in repair-proficient and -deficient *Drosophila melanogaster*. *Photochemistry and Photobiology.*, 5, 493-498.
- Neira, M. (1999)** Apicultura. In: Amtmann, A., Mujica, F. and Vera, B. (eds). Pequeña agricultura en la región de los Lagos, Chile. Universidad Austral de Chile. 295 pp.
- Neira, M. (2003)** Enfermedades de las abejas caracterización, daños y formas de control. Folleto informativo, Universidad Austral de Chile. 10 pp.
- Neira, M. (2005)** Guía de métodos de muestreo de abejas adultas y crías. Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile. Servicio Agrícola y Ganadero. 45 pp.

- Núñez, J. (2002)** Estudio de la dosis de exposición a la radiación ultravioleta en Valdivia. Tesis, Escuela de Pedagogía. Facultad de Filosofía y Humanidades. Universidad Austral de Chile, 32 pp.
- Oldroyd, B., Ratnieks, F., Wossler, T. (2002)** Egg-marking pheromones in honey-bees *Apis mellifera*. *Behavior of the Ecology Sociobiology.*, 51,590–591.
- Perondini, A. (1984)** Photoreactivación of UV-induced cytoplasmatic lesions in eggs of *Sciara ocellaris*. *International Journal Radiat. Biology.*, 45, 257-260.
- Pinto, M., and Lizana, C. (2004)** Respuestas y mecanismos de protección en las plantas a la radiación ultravioleta-B: con comentarios sobre evolución. *Fisiología Ecológica en Plantas. Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas.* Marino H (ed). EUV, Valparaíso, Chile, 43-58 pp.
- Posso, F. (1999)** El agujero en la capa de ozono: Origen, evolución y estado actual. *Geoenseñanza.*, 4, 157-189.
- Rios, L. (2001)** Caracterización de explotaciones apícolas de la IX y X Región. Tesis, Escuela de Agronomía. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. 100 pp.

- Robson, T., Pancotto, V., Ballaré, C., Scopel, A., Sala, O., Caldwell, M. (2003)** Solar UV-B affects plant growth and community dynamics in a Tierra del Fuego peatland plant community. *New Phytologist.*, 160, 379-389.
- Rousseaux, M., Ballaré, C., Giordano, C., Scopel, A., Zima, A., Szwarcberg-Bracchitta, M., Searles, P., Caldwell, M., Diaz, S. (1999)** Ozone depletion and UV-B radiation: Impact on plant DNA damage in southern South America. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, 96, 15310-15315.
- Rowland, F. (1990)** Stratospheric ozone depletion by chlorofluocarbons. *Ambio.*, 19, 281-292.
- Roy, C., Gies, H., Elliott, G. (1990)** Ozone depletion. *Nature.*, 347, 235-236.
- Scheffler, W. (1981)** Bioestadística. 2^a edición, Massachusetts, E.U.A., 266.
- Schein, O., Vicencio, C., Muñoz, B., Gelatt, K., Duncan, D., Nethercott, J., Koneyman, J., Koren, H., West, S. (1995)** Ocular and dermatologic health effects of ultraviolet radiation exposure from the ozone hole in southern Chile. *American Journal of Public Health*, 85, 546-550.
- Skerrati, J., Davidson, A., Nichols, P., McMeekins, T. (1998)** Effect of UV-B on lipid content of three antarctic marine phytoplankton. *Phytochemistry.*, 49, 999-1007.
- Snodgrass, R. (1956)** Anatomy of the Honey Bee. United States of America. 329 pp.

Tedetti, M and Sempere, R. (2006) Penetration of Ultraviolet Radiation in the Marine Environment. A Review. *Photochemistry and Photobiology.*, 82: 389–397.

Tocho, J., Nicora, M., Da Silva, L., Badorrey, T., Cusso, F., Jaque, F., Lifante, G. (1993) Instalación de medidores de ozono en Argentina y Chile. *Anales AFA (Argentina).*, 5, 502-505.

Wharton, D. (1971) Ultraviolet repellent and letal action on the American cockroach. *Journal of Economic Entomology.*, 64, 252-255.