

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS**



**“EVALUACIÓN DE TRES PRODUCTOS NATURALES PARA EL
CONTROL ALTERNATIVO DEL ÁCARO *VARROA* (*VARROA
DESTRUCTOR* ANDERSON & TRUMAN) EN COLMENAS DE ABEJAS
(*APIS MELLIFERA* L.) USANDO GEL COMO SUSTRATO PORTADOR”**

CARLOS ALBERTO FRANCO GARCÍA

GUATEMALA, JULIO DE 2009

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA**

TESIS

**“EVALUACIÓN DE TRES PRODUCTOS NATURALES PARA EL CONTROL
ALTERNATIVO DEL ÁCARO *VARROA* (*VARROA DESTRUCTOR* ANDERSON &
TRUMAN) EN COLMENAS DE ABEJAS (*APIS MELLIFERA* L.) USANDO GEL COMO
SUSTRATO PORTADOR”**

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR:

CARLOS ALBERTO FRANCO GARCÍA

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRÓNOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADÉMICO DE

LICENCIADO

GUATEMALA, JULIO 2009

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

RECTOR

LIC. CARLOS ESTUARDO GÁLVEZ BARRIOS

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

**DECANO
VOCAL I
VOCAL II
VOCAL III
VOCAL IV
VOCAL V
SECRETARIO**

MSc. Francisco Javier Vásquez Vásquez
Ing. Agr. Waldemar Nufio Reyes
Ing. Agr. Walter Arnoldo Reyes Sanabria
MSc. Danilo Ernesto Dardón Ávila
Br. Rigoberto Morales Ventura
Br. Miguel Armando Salazar Donis
MSc. Edwin Enrique Cano Morales

Guatemala, julio 2009

Guatemala, julio 2009

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala

Honorables miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, la **TESIS: “EVALUACIÓN DE TRES PRODUCTOS NATURALES PARA EL CONTROL ALTERNATIVO DEL ÁCARO VARROA (*VARROA DESTRUCTOR* ANDERSON & TRUMAN) EN COLMENAS DE ABEJAS (*APIS MELLIFERA* L.) USANDO GEL COMO SUSTRATO PORTADOR”**, como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el mismo llene los requisitos necesarios para su aprobación, me es grato suscribirme,

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

CARLOS ALBERTO FRANCO GARCÍA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Por ser la fuente de toda sabiduría y por darme la oportunidad de vivir este momento.

A MIS PADRES

Jorge Mario Franco y Blanca Margarita García Barahona, por todo el amor, sacrificios y el apoyo brindado a lo largo de una vida entera de lucha que me han permitido llegar hasta aquí.

A MIS HERMANOS

Alex, David y Delia por el cariño y los momentos inolvidables que hemos vivido y viviremos.

A MIS ABUELITOS

María Elena Yanes, Pascual García (Q.E.P.D) y Petrona Franco Leiva, por el cariño que les tengo.

A MIS AMIGOS

Por todos los buenos momentos vividos a lo largo de estos años.

TESIS QUE DEDICO

A GUATEMALA

Tierra que me vio nacer.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS

Casa de estudios que brinda el pan del conocimiento al pueblo de Guatemala.

A LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

Por darme las bases y los principios para ser un profesional universitario.

AGRADECIMIENTOS

A MI FAMILIA

Por todo el apoyo y consejos brindados en mi formación personal y académica.

A LA GENTE DE FINCA SABANA GRANDE

Especialmente a Roberto Suruy “Tío Canche”, por el apoyo brindado en el trabajo diario durante mi EPS y en la realización de esta investigación.

A MIS AMIGOS

Armando Guamuch y Hulda Caal, por una década de amistad y por considerarme parte de su familia. A mis camaradas de la “U”, a quienes aprecio y agradezco hayan compartido conmigo todos los desvelos, alegrías y sinsabores de la vida universitaria.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
<u>1. RESUMEN</u>	<u>1</u>
<u>2. INTRODUCCIÓN</u>	<u>3</u>
<u>3. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA</u>	<u>4</u>
.....	<u>4</u>
<u>4. MARCO TEÓRICO</u>	<u>6</u>
<u>4.1 MARCO CONCEPTUAL</u>	<u>6</u>
4.1.1 Varroasis.....	6
4.1.2 Taxonomía del ácaro V. destructor.....	7
4.1.3 Ciclo biológico.....	8
4.1.4 Foresia.....	10
4.1.5 Características morfológicas de Varroa.....	10
4.1.6 Epizootiología.....	14
4.1.7 Sintomatología.....	14
4.1.8 Daños producidos sobre las abejas melíferas.....	15
4.1.9 Consecuencias primarias de la parasitosis.....	16
4.1.10 Diagnóstico.....	17
.....	<u>17</u>
4.1.11 Cuantificación del porcentaje de infestación.....	18
4.1.12 Tratamiento.....	18
.....	<u>18</u>
4.1.13 Expansión de la enfermedad.....	20
4.1.14 Principales tratamientos usados para el control de Varroa en Guatemala.....	20
.....	20
4.1.15 El árbol de Nim.....	22
4.1.16 Eucalipto.....	24
.....	<u>24</u>
4.1.17 Clavo.....	25
4.1.18 Antecedentes del uso de geles y aceites esenciales para el control del ácaro V. destructor.....	27
<u>4.2 MARCO REFERENCIAL</u>	<u>28</u>
4.2.1 Descripción del área de estudio.....	28
4.2.2 Condiciones y manejo sanitario del apiario de la finca Sabana Grande.....	30
.....	30
<u>5. OBJETIVOS</u>	<u>31</u>
.....	<u>31</u>

5.1 General.....	31
5.2 Específicos.....	31
6. HIPÓTESIS.....	32
7. METODOLOGÍA.....	33
7.1 Fase de Laboratorio.....	33
7.1.1 Preparación de geles.....	34
.....	34
7.1.2 Prueba de toxicidad en abejas melíferas.....	34
.....	36
.....	36
7.2 Fase de Campo.....	37
7.2.1 Prueba de toxicidad en V. destructor.....	37
.....	39
7.2.2 Prueba de repelencia a los productos naturales evaluados.....	40
7.2.3 Control de Varroa en colmenas.....	44
.....	44
.....	44
.....	44
7.3 Análisis de datos experimentales	48
7.3.1 Análisis del comportamiento de la población de ácaros.....	48
.....	48
7.3.2 Análisis de la eficacia de los tratamientos a base de gel.....	48
8. RESULTADOS.....	49
8.1 Resultados de la fase de laboratorio	49
8.1.1 Prueba de toxicidad de los aceites esenciales de Eucalipto y Clavo, y de extracto de Nim en abejas melíferas.....	49
8.2 Resultados de la fase de campo.....	53
8.2.1 Prueba de toxicidad en Varroa.....	53
8.2.2 Control de Varroa en colmenas.....	60
8.2.3 Prueba de repelencia a los productos naturales evaluados.....	70
8.2.4 Análisis de la eficacia de los tratamientos con aceites esenciales, usando gel como sustrato portador.....	78
9. CONCLUSIONES.....	80
10. RECOMENDACIONES.....	82
11. BIBLIOGRAFÍA.....	84
12. ANEXOS.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Comparación del ciclo de vida de la abeja melífera y del ácaro Varroa.	10
2	Morfología externa del ácaro Varroa y su dimorfismo sexual.	12
3	Ácaro Varroa hembra.	13
4	Microfotografía de un ácaro Varroa hembra.	13
5	Deformaciones causadas por Varroa a las abejas melíferas.	15
6	Varroas fotografiadas en el interior de celdas de abejas obreras.	18
7	Estructura química de la azadiractina.	23
8	Estructura química del eucaliptol.	25
9	Estructura química del eugenol.	26
10	Localización de Finca Sábana Grande, Escuintla.	28
11	Prueba de toxicidad en Varroa.	38
12	Prueba de repelencia a las sustancias evaluadas.	41
13	División del área de la caja de petri para la prueba de repelencia.	43
14	Cajas petri con gel y orificio de ventilación.	44
15	Ubicación de las cajas petri en el piso de las cajas de las colmenas.	45
16	Varroas parasitando a la pupa de una abeja obrera.	45
17	Varroas muertas en un periodo de 72 horas, tratamiento de gel con aceite esencial de Eucalipto.	56
18	Varroas muertas en un periodo de 72 horas, tratamiento de gel con extracto de Nim.	57
19	Varroas muertas en un periodo de 72 horas, tratamiento testigo absoluto.	58
20	Comparación entre los tratamientos de la prueba de toxicidad en Varroa.	59
21	Infestación promedio de celdas de obreras, tratamiento de gel con aceite esencial de Eucalipto.	65
22	Infestación promedio de celdas de obreras, tratamiento de gel con extracto de Nim.	66
23	Infestación promedio de celdas de obreras, en el tratamiento testigo absoluto.	67
24	Infestación promedio de celdas de obreras, tratamiento con Acido Oxálico.	68
25	Infestación promedio de celdas de obreras, tratamiento con flumetrina (Bayvarol®).	69
26	Atracción de los ácaros hacia las pupas sin tratar con aceite esencial de Eucalipto.	73
27	Efecto repelente del aceite esencial de Eucalipto.	73

28	Atracción de los ácaros hacia las pupas sin tratar con extracto de Nim	75
29	Efecto repelente del extracto de Nim.	75
30	Atracción de los ácaros hacia las pupas sin tratar con aceite esencial de Clavo.	77
31	Efecto repelente del aceite esencial de Clavo.	77

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1A	Niveles de infestación de Varroa determinados mediante los muestreos realizados en las colmenas tratadas en el apiario de finca Sabana Grande.	89
2	Tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en abejas.	49
3	Resultados de la variable de respuesta “abejas muertas”, obtenidos al momento de cada toma de datos en la prueba de toxicidad en abejas.	49
4	Resultados de la variable de respuesta de los tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en abejas.	51
5	Análisis de varianza para los tratamientos de la prueba de toxicidad en abejas.	51
6	Resultados de la variable de respuesta “varroas muertas” de los tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en Varroa.	53
7	Análisis de varianza para la prueba de toxicidad en Varroa.	54
8	Análisis de Tukey, para la prueba de toxicidad en Varroa.	55
9	Tratamientos evaluados en la prueba de control del ácaro Varroa en colmenas.	60
10	Resultados de la variable de respuesta de los tratamientos evaluados en la prueba de control de Varroa en colmenas.	61
11	Análisis de varianza para la prueba de control de Varroa en colmenas, incluyendo todos los tratamientos.	62
12	Análisis de Tukey, para todos los tratamientos en la prueba de control de Varroa en colmenas.	63
13	Análisis de varianza para la prueba de control de Varroa en colmenas, incluyendo solo tratamientos con gel y el testigo.	63
14	Análisis de Tukey, para los tratamientos con gel en la prueba de control de Varroa en colmenas.	64
15	Valores correspondientes a la posición de las varroas vivas en cada uno de los tratamientos en la prueba de repelencia a las sustancias evaluadas.	71
16	Valores de posición que indican el efecto repelente del aceite esencial de Eucalipto, y atracción hacia pupas sin tratar.	72
17	Valores de posición que indican el efecto repelente del extracto de Nim, y atracción hacia pupas sin tratar.	74
18	Valores de posición que indican el efecto repelente del aceite esencial de Clavo, y atracción hacia pupas sin tratar.	76
19	Eficacia de los tratamientos que provocaron mortalidad del ácaro Varroa.	80

1. RESUMEN

“EVALUACIÓN DE TRES PRODUCTOS NATURALES PARA EL CONTROL ALTERNATIVO DEL ÁCARO *VARROA* (*VARROA DESTRUCTOR* ANDERSON & TRUMAN) EN COLMENAS DE ABEJAS (*APIS MELLIFERA* L.) USANDO GEL COMO SUSTRATO PORTADOR”

“EVALUATION OF THREE NATURAL PRODUCTS FOR ALTERNATIVE CONTROL OF THE VARROA MITE (*VARROA DESTRUCTOR* ANDERSON & TRUMAN) IN BEEHIVES OF BEES (*APIS MELLIFERA* L.) USING GEL AS CARRYING SUBSTRATUM”

En el presente trabajo se evaluó el control alternativo del ácaro *Varroa destructor* utilizando aceites esenciales de Eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) y Clavo (*Eugenia caryophyllata* Thunb), y extracto comercial de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) aplicados a través de un sustrato de gel directamente en las colmenas de abejas melíferas; estando entre los objetivos del estudio determinar el efecto tóxico o repelente que cada uno de los tratamientos utilizados presenta sobre *Varroa*, y también evaluar la eficacia de dichos tratamientos. Para ello se realizaron pruebas con diseños experimentales completamente al azar con un nivel de confiabilidad del 95%. El experimento se desarrolló en el apiario de la finca Sabana Grande, aldea El Rodeo, departamento de Escuintla, entre los meses de julio y octubre del año 2008, en colmenas tipo Langstroth.

Primeramente se realizó una prueba para conocer si estos tratamientos podían ser evaluados sin presentar riesgo alguno para las abejas, al comprobar que los productos evaluados no ponían en riesgo la vida de las abejas, se procedió a evaluar la efectividad de los tratamientos en el control del ácaro *Varroa* en las colmenas, para ello se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con 7 tratamientos y 4 repeticiones, habiéndose tomado como variable de respuesta el número de celdas infestadas. Los tratamientos evaluados fueron: gel con 5% de aceite esencial de Eucalipto, gel con 15% de extracto comercial de Nim, gel con 25% de aceite esencial de Clavo, gel sin principio activo (sin aceite esencial o extracto) testigo absoluto (sin gel), ácido oxálico y Bayvarol® (flumetrina). En esta prueba se determinó que no existió diferencia significativa en cuanto al control de la población del ácaro *Varroa* entre los tratamientos químicos tradicionales que son el Bayvarol® (flumetrina) y el ácido oxálico, y dos de los tratamientos

alternativos evaluados, los cuales fueron el aceite esencial de Eucalipto y el extracto de Nim aplicados en un sustrato de gel. Por otro lado, el aceite esencial de Clavo, no resultó ser efectivo en el control de *Varroa*, ya que no llega a disminuir su población, sin embargo si retardó el desarrollo de las poblaciones de dicho ácaro.

Se determinó que el aceite esencial de Eucalipto y el extracto de Nim ejercen un efecto tóxico directo sobre *Varroa* ya que el primero causó la mortalidad del 100% de las varroas usadas durante la prueba, y el segundo causó la muerte del 70%. El aceite esencial de Clavo, no resultó ser tóxico para *Varroa*. También se determinó que el aceite esencial de Eucalipto y el extracto de Nim tuvieron efectos repelentes; el aceite esencial de Eucalipto presentó el mayor efecto, seguido del extracto de Nim, y por último el aceite esencial de Clavo que presentó un leve grado de repelencia, lo que puede ser la causa del retardo en el desarrollo de las poblaciones de *Varroa*, lo cual fue detectado en la prueba de control de *Varroa* en colmenas.

Finalmente al haberse comprobado la viabilidad de utilizar aceite esencial de Eucalipto y extracto de Nim aplicados a través de un sustrato de gel, en el interior de colmenas de abejas para controlar las poblaciones de *Varroa*, se recomienda realizar estudios encaminados a determinar el tiempo óptimo necesario entre aplicaciones de tratamientos; a la vez que se recomienda evaluar el potencial de otros aceites esenciales para el control de *V. destructor*.

2. INTRODUCCIÓN

Etimológicamente la palabra apicultura proviene del latín “*apis*” que significa abeja, y “*cultura*” que significa cultivo, es decir, que apicultura es la actividad económica que se dedica a la cría de las abejas. De la apicultura se obtienen dos tipos de beneficios: los beneficios directos provenientes de la venta de los productos apícolas (miel, polen, propóleos y cera); y los beneficios indirectos derivados de la acción polinizadora que las abejas realizan en los cultivos (11).

La varroasis es una enfermedad causada por un ácaro parásito que afecta a las abejas en todos sus estados de desarrollo alimentándose de su hemolinfa; actualmente representa un grave problema en la apicultura mundial, en la que provoca masivas pérdidas, ya sea por mermas en los rendimientos individuales, o por mortalidad de colmenas (8).

El ácaro *V. destructor* Anderson & Truman, se considera como la plaga más importante de la abeja común (*Apis mellifera* L.) en el mundo (8). Hasta el año 2007, el control de *Varroa* se basaba principalmente en métodos químicos, siendo los más efectivos en el control del ácaro, los piretroides sintéticos: fluvalinato (nombre comercial Apistán®) y flumetrina (nombre comercial Bayvarol®); pero el uso de estos productos presentó un historial de aparición de resistencia en los ácaros y el creciente rechazo a la miel con residuos de estos plaguicidas en el mercado internacional, por ello los fabricantes de Bayvarol® (Bayer®) y Apistán® (Wellmark®) si bien no han cesado completamente su producción, han centrado su investigación en el desarrollo de productos a base de aceites esenciales como es el caso del producto comercial Apiguard®, que tiene como principio activo el aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris* L.) y es fabricado por Novartis® (17).

Los productos botánicos para el manejo de plagas tienen gran importancia en la actualidad; así, del árbol de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) (Meliaceae) se extraen diversos compuestos secundarios; la azadiractina es el de mayor importancia, pues actúa como repelente, antialimentario y retarda el crecimiento de los insectos (8).

Otros productos presentes en plantas y que se han utilizado para el control de la varroasis son el eucaliptol, extraído del árbol de Eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.) (22) y el timol, presente en las plantas de tomillo (25).

La presente investigación, tuvo como objetivo, evaluar el potencial de los aceites esenciales de Eucalipto y Clavo, y extracto comercial de Nim, utilizando gel como sustrato que permita la lenta liberación de los principios activos para el control del ácaro *Varroa*.

3. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Como ya se mencionó, el ácaro *V. destructor* es el principal problema en la apicultura a nivel mundial; según estudios realizados en otros países, el grado de daño causado por la varroasis, depende del grado de infestación de las colonias afectadas; el efecto negativo sobre la productividad, comienza cuando la población de ácaros alcanza 10% de la población de las abejas adultas en una colonia; en este sentido, cuando la infestación llega a ser del 30% a 40%, normalmente termina con la colonia (6).

La situación de la apicultura en relación a *Varroa*, es compleja pues abarca una serie de elementos que son interdependientes, dando como resultado final una merma considerable en la producción, resistencia de *Varroa* a los tratamientos utilizados para su control y la residualidad ocasionada por el mal manejo de dichos tratamientos, lo que da como resultado el rechazo de la miel para los mercados internacionales.

El principal problema a resolver consiste en desarrollar tratamientos que puedan ser utilizados para el control de la varroasis, sin dejar residuos en la miel y que tengan bajo costo; esto junto con un adecuado programa de rotación de tratamientos para combatir la aparición de resistencia, es la clave para la resolución del problema ocasionado por el ácaro *Varroa*.

En Guatemala, es escasa la información existente acerca del problema de la varroasis y casi la totalidad de esta, proviene de experiencias de investigadores en el extranjero; experiencias que como es de suponer, han sido desarrolladas en condiciones diferentes a las existentes en el país, tanto en el aspecto climático, cuya influencia es decisiva en el desarrollo de la parasitosis;

como en el aspecto socioeconómico, pues los procedimientos, materiales, e instrumental utilizado, están fuera del alcance de los apicultores de Guatemala, que en su mayoría, practican la apicultura como una actividad extra, que provee ingresos adicionales para el mantenimiento de la economía familiar (10).

Según el Censo Nacional Agropecuario del 2003 (10), el total nacional de fincas que reportaron tener colmenas fue de 4,608 con un total de 56,491 colmenas de *A. mellifera.*, y 3,548 colmenas de abejas meliponas, con una producción total de miel de 807,909 litros, 4,700 kilogramos de polen y 18,800 kilogramos de cera. Los departamentos que presentan las mayores cantidades de producción de miel con respecto al total nacional son San Marcos con el 18.5%; Retalhuleu con 14.5%; Suchitepéquez con 11.9% y Huehuetenango con 10.1%; Los otros departamentos presentan porcentajes que van desde 0.1% en Izabal hasta 7.9% en Santa Rosa (10). Dadas las anteriores cifras, la apicultura es una actividad económica de mucha importancia, ya que mediante la venta de la miel, y los demás derivados de la colmena, a saber, cera, polen, propóleos y jalea real, muchas familias campesinas y empresas agrícolas obtienen ingresos; mismos que se ven amenazados por la varroasis, enfermedad que puede causar la disminución de la producción de miel en un 65% (2). Los principales mercados para la exportación de miel son Inglaterra, Alemania, Honduras, Nicaragua, Bélgica, El Salvador, Holanda, Australia y Beirut, con un volumen total de exportaciones de 437,141 kilogramos de miel procesada, con un valor de 694,873 dólares de los Estados Unidos, en el mes de mayo del 2006 (7).

Dada la importancia de la apicultura en Guatemala y el peligro que representa *Varroa*, algunos apicultores ponen en práctica métodos para el control de la enfermedad; principalmente se utilizan los productos comerciales Bayvarol® y Apistán®, cuyos ingredientes activos presentan el peligro de contaminación de la miel, ya que cuando esta es destinada a la exportación, es rechazada si se encuentran trazas de estos productos en la misma, confinando la producción, a la venta en el mercado local. Otro problema de mucha importancia, derivado del uso de estos productos comerciales, es que debido al mal uso que se hace de ellos, ya se ha reportado en otros países, que *V. destructor*, ha desarrollado resistencia a los ingredientes activos fluvalinato y flumetrina; lo que pone en serio peligro el futuro de la apicultura mundial (32).

4. MARCO TEÓRICO

4.1 MARCO CONCEPTUAL

4.1.1 Varroasis

Se llama así a la enfermedad producida por la infestación de las colmenas de abejas melíferas por el ácaro *V. destructor*, esta plaga se inició en Filipinas y se ha expandido ampliamente por el mundo, constituyéndose en la mayor amenaza para la rentabilidad de las explotaciones apícolas (35).

Varroa es un ectoparásito forético obligado, de la especies de abejas *Apis mellifera* y *Apis cerana* reproduciéndose en sus estados larvales y pupales (cría abierta y operculada). También afecta a la abeja en estado adulto viviendo en estado forético. El ácaro absorbe la hemolinfa del insecto disminuyendo su masa corporal. En estado larval es más crítico debido a que los adultos nacen con menos del 30 % de peso de un adulto no parasitado. Estos ácaros tienen ocho patas en estado adulto que terminan en ventosas, mientras en estado larval poseen seis patas. Las hembras son las que parasitan a las abejas, y son de un color castaño rojizo claro, a rojizo oscuro. Los machos son de color blanquecino amarillento, tienen menor consistencia y son mucho más pequeños que las hembras (dimorfismo sexual) (35).

El cuerpo de la hembra *Varroa* adulta está adaptado al parasitismo y a la foresia, tiene una forma elipsoidal, es deprimido dorso ventralmente. La hembra mide alrededor de 1.1 milímetros de largo y 1.6 milímetros de ancho. El macho no está adaptado al parasitismo, ya que su cuerpo es casi esférico; y tiene un largo aproximado de 0.75 a 0.90 milímetros y un ancho de 0.70 a 0.90 milímetros en su parte posterior (35).

El género *Varroa* parasita dos especies de abejas: *Apis cerana* y *Apis mellifera*. Sobre *A. cerana* el ácaro *Varroa jacobsoni* Oudemans, no causa daños graves, fundamentalmente debido a que sólo se reproduce en celdas de cría de zángano y a un comportamiento de defensa que poseen las abejas obreras consistente en removerse los ácaros unas a otras. Por el contrario, la interacción entre *V. destructor* y *A. mellifera*, no se encuentra en equilibrio, en esta especie el ácaro tiene la capacidad de reproducirse tanto en celdas de zángano como de obreras (1). El

ácaro puede destruir las colmenas, lo que ocurre generalmente durante la estación lluviosa. En la actualidad no existen en el mundo, zonas libres de *V. destructor* (35).

El Acuerdo Ministerial 495-2006, del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación de la República de Guatemala, con fecha del 11 de septiembre del 2006, establece la varroosis como una enfermedad de declaración obligatoria, quedando todos los profesionales y personas particulares relacionadas, obligados a reportar la presencia de *Varroa* en los apiarios, a las dependencias del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación; quedando legalmente reconocido el riesgo que *Varroa* representa para el patrimonio económico y pecuario del país. (14). Según el informe semestral para la notificación de la ausencia o presencia de enfermedades de la lista de la OIE, del mismo ministerio, se calcula que del total de apiarios del país aproximadamente el 27% reportaban la presencia de *Varroa* inicios del año 2007 (15).

4.1.2 Taxonomía del ácaro *V. destructor*

- Phylum: Arthropoda,
- Subphylum: Chelicerata,
- Clase: Arachnida,
- Subclase: Acarida,
- Orden: Gamasida,
- Familia: Varroidae
- Género: *Varroa*
- Especie: *V. destructor* Anderson & Truman (35).

4.1.3 Ciclo biológico

La hembra pone sus huevos en las celdas de zánganos y obreras, ingresando a las mismas horas antes del operculado. La invasión de las celdas de cría por parte del *Varroa* tiene lugar de 15 a 20 horas antes de que las celdas de cría de obreras sean selladas y de 40 a 50 horas antes de que las celdas de cría de zánganos sean selladas (21). Este momento es crucial, porque apenas entra la hembra fundadora se sitúa en el fondo de la celda con el propósito de no ser eliminada por las abejas obreras limpiadoras. Al parecer el ácaro se guía por ésteres de ácidos grasos que las larvas de abejas emiten con el fin de provocar la operculación, que son atractivos para *Varroa* (35).

La hembra prefiere la celda de zángano, en virtud del mayor período de metamorfosis que tiene el macho (24 días). Pudiendo criar de 5 a 7 ácaros en una celda de zángano y de 3 a 6 en una de obrera. La fecundación de la *Varroa* hembra se produce en el interior de la celda, una vez operculada. El primer huevo depositado en la secuencia originará un macho, mientras que los subsiguientes darán origen a hembras, poniendo un huevo cada 30 horas aproximadamente. Las hembras se desarrollan más rápido, por lo que la primera hembra de la progenie, madura casi al mismo tiempo que el macho. Cuando la celda es infestada con una sola hembra de *Varroa* fundadora, el apareamiento sólo puede ocurrir entre el macho y sus hermanas, y es entonces consanguíneo. El macho se aparea con la primera hembra tan pronto como llega a la fase adulta; el apareamiento puede ser repetido hasta 9 veces. Cuando la segunda hija llega a ser madura, el macho abandona la primera hija, para aparearse con ella. Si una tercera hija llega a ser adulta, se repite el mismo comportamiento (35).

Al contrario de lo que se creía hasta hace poco, una hembra *Varroa* puede ser fecundada únicamente en la celda donde nace; luego, una parte de su aparato genital se destruye, lo que impide todo apareamiento. En las celdas donde el macho muere antes del apareamiento, las hembras quedarán estériles e infecundas para siempre; esto puede ocurrir en 10% a 46% de las celdas (35).

Cuando la obrera o zángano han completado su desarrollo, emergen de la celda de cría conjuntamente con las hembras de *Varroa* que pueden recomenzar el ciclo. Los machos y los estados inmaduros que no han completado su desarrollo permanecen en la celda y mueren (1).

La trofalaxia y el estrecho contacto entre las abejas permiten a los ácaros transferirse rápidamente a nuevos hospederos. Las hembras permanecen por un período de tiempo sobre las abejas adultas e invaden las celdas de cría para recomenzar la reproducción. Algunas hembras se localizan en foresia sobre abejas forrajeras y se dispersan a otras colmenas (1).

En la regulación del ritmo de crecimiento de una población de *Varroa* dentro de la colmena intervienen varios factores; en primer lugar se debe destacar el tipo de celda invadida por el ácaro. A diferencia de lo observado sobre *Apis cerana*, el parásito es capaz de reproducirse tanto en celdas de zánganos como de obreras. Presentan una preferencia en promedio 5 veces mayor por las celdas de machos respondiendo estos comportamientos a determinados controles hormonales. De todas maneras, la fracción de la población del ácaro que se aporta por esta vía es siempre inferior a la que representa el aporte de las celdas de obrera, dada la escasa presencia de cría de zánganos durante gran parte del año (1).

El éxito reproductivo del ácaro depende en gran medida de la proporción de hembras no reproductoras, el número de huevos depositados y la cantidad de esos huevos que alcanzan el estado adulto (1).

El período de desarrollo de *Varroa*, varía en función de la temperatura ambiental, en promedio el período para un huevo macho, es de 5 a 7 días y para un huevo hembra 7 a 9 días. Se alimenta de hemolinfa a expensas de la pupa, y se admite que una vez realizada su puesta, mueren (35). La figura 1, compara los ciclos de vida de la abeja melífera y del ácaro *Varroa*.

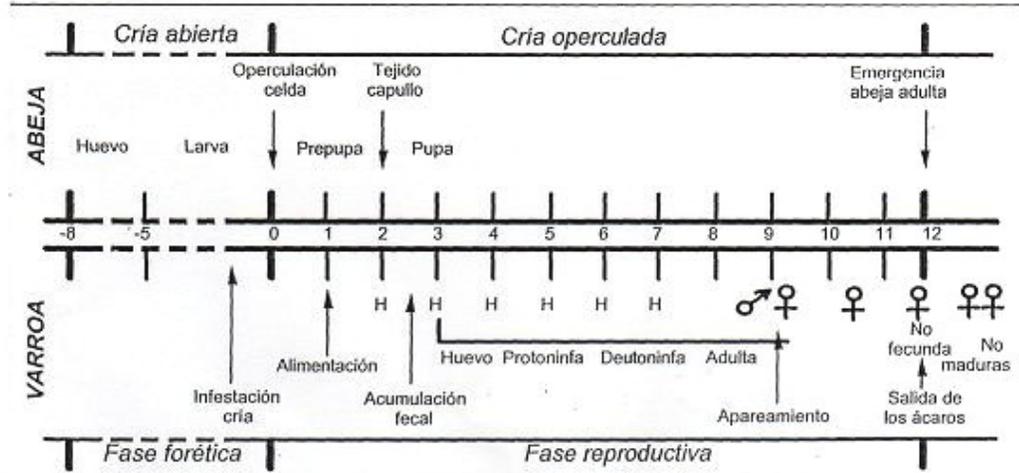


Figura 1: Comparación del ciclo de vida de la abeja melífera y del ácaro *Varroa*.

Fuente: Vandame (31).

4.1.4 Foresia

El vocablo “foresia”, deriva del griego “fores”, cuya traducción al castellano es “agarrar”. El ciclo de vida de *Varroa* presenta una fase forética y una fase reproductiva. La fase forética sólo es llevada a cabo por las hembras adultas, que se localizan sobre las obreras y zánganos para colonizar nuevas colmenas. Una particularidad en esta etapa es que durante su viaje forético la hembra de *Varroa* puede alimentarse de la hemolinfa de la abeja y vivir por varios meses. El tiempo en que el ácaro permanece en foresia sobre la abeja depende de numerosas variables, dentro de las cuales la presencia de cría y el clima presentan fundamental importancia. La fase reproductiva puede ocurrir solamente durante el período en que existe cría de abejas en las colmenas (1).

4.1.5 Características morfológicas de *Varroa*

El desarrollo ontogenético de *V. destructor* comprende un estado larval de tres pares de patas, dos estados ninfales de cuatro pares de patas (protoninfa y deutoninfa) y el estado adulto, presenta dimorfismo sexual (Figura 2) (1).

A) Macho adulto

Es translúcido, periforme con un largo aproximado entre 0.75 y 0.90 milímetros y un ancho de 0.70 a 0.90 milímetros en su parte posterior. Es muy poco esclerotizado con excepción de sus patas que resultan más oscuras. Se localiza solamente en el interior de las celdas de cría, no se alimenta y sólo vive unos pocos días. Sus chelíceros no tienen forma de cuchillo como en las hembras, sino que son en forma de tubo y están adaptados para transferir los espermatozoides dentro de las hembras (1).

B) Hembra adulta

Son más grandes que los machos. La forma del cuerpo es elipsoidal y de coloración marrón-rojizo (Figura 3). Los juveniles tienen una coloración menos acentuada. Su cuerpo es más ancho que largo, con 1.1 milímetros de largo y 1.6 milímetros de ancho aproximadamente. La superficie dorsal está muy bien esclerotizada y densamente cubierta de pelos de longitud uniforme (Figura 4). Los márgenes laterales presentan pelos de mayor tamaño y en forma de espinas. Los chelíceros tienen forma de cuchillo y conforman una estructura particularmente adaptada para lacerar la cutícula de las abejas. Las patas terminan en ambulacros bien desarrollados, membranosos, con fuertes escleritos basales y sin uñas, perfectamente adaptados para adherirse a las abejas (1).

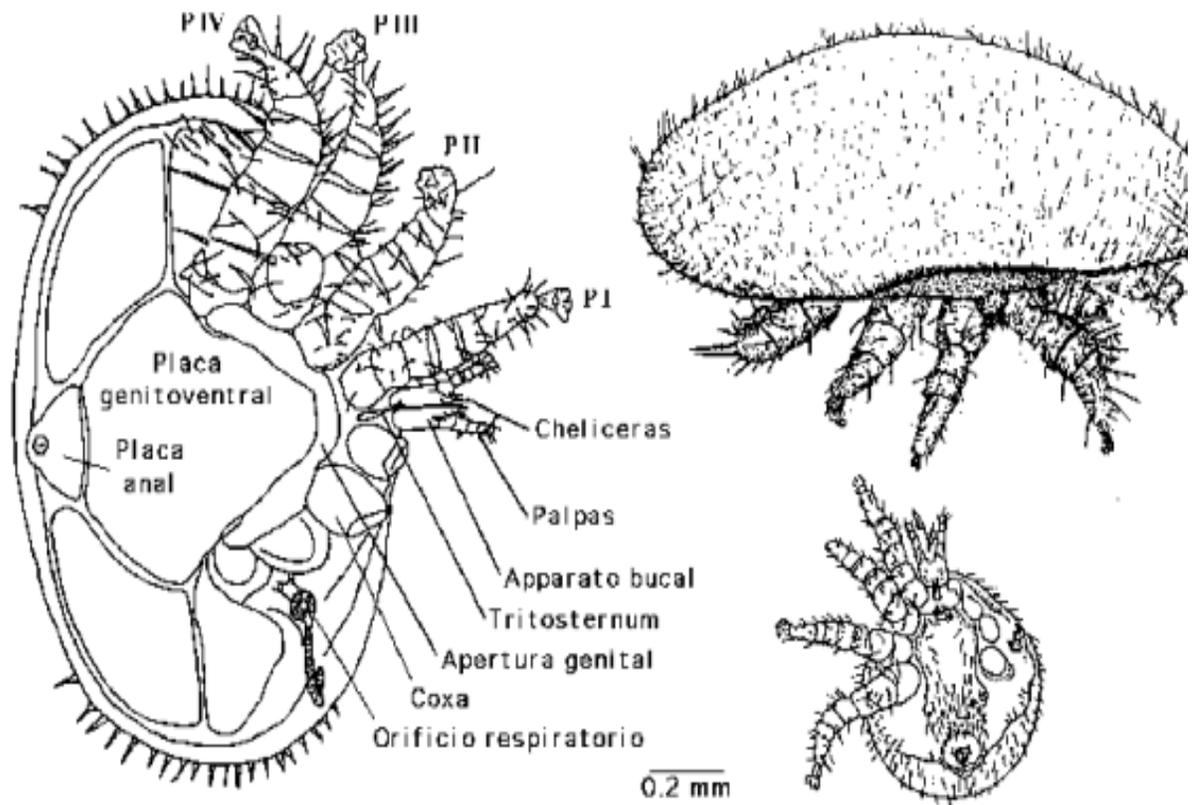


Figura 2: Morfología externa del ácaro *Varroa* y su dimorfismo sexual.
Fuente: Vandame (31).



Figura 3: Ácaro *Varroa* hembra.
Fuente: www.wikimedia.org (35).



Figura 4: Microfotografía de un ácaro *Varroa* hembra.
Fuente: www.wikimedia.org (35).

4.1.6 Epizootiología

La fuente de infestación está dada por la abeja adulta, especialmente. La abeja adulta pecoreadora, con un parásito que por deriva entra a otra colmena, o bien zánganos que en busca de reinas vírgenes inspeccionan todas las colmenas, produciéndose el contagio por contacto en este caso. El parásito en estado forético sobre su huésped vive dos a tres meses en verano, y de cuatro a seis meses en invierno (35).

4.1.7 Sintomatología

Durante la estación lluviosa las colmenas parasitadas en un 40% perecen, en virtud que las abejas deben permanecer en la colmena, y debido a la parasitosis las provisiones de miel y polen son escasas, esto se agrava, ya que al permanecer las abejas en estrecho contacto, la infestación de *Varroa* se hace aún mayor (35).

Las larvas parasitadas mueren e ingresan en un proceso de putrefacción desprendiendo olor. Las abejas limpiadoras retiran estas larvas muertas royendo los opérculos para limpiar las celdas. Esta remoción es rápida por ello el opérculo roído no tiene la forma uniforme que presenta cuando la abeja ha nacido. Se puede interpretar que arrancan parte de ellos quedando un borde aserrado (35).

El primer síntoma lo constituye la aparición de abejas con alas deformes, que no pueden volar, de tamaño reducido, tanto en el interior como en el exterior de la colmena. El abdomen y tamaño general de estas abejas se halla reducido hasta en un tercio (35).

La falta de vitalidad, muerte prematura y debilitamiento de la colmena son características típicas de la enfermedad. La colmena desaparece lentamente, hasta no quedar abejas en ella (35).

4.1.8 Daños producidos sobre las abejas melíferas

La acción patógena sobre la cría de la abeja se traduce en una pérdida de peso y una disminución de proteína total. Cuando la cría es parasitada por más de ocho ácaros, las pupas mueren y no terminan su transformación en abejas adultas, presentándose entonces signos muy parecidos a la enfermedad denominada “loque americana”. *V. destructor* ocasiona sobre sus hospederos diversos tipos de alteraciones que pueden agruparse en dos categorías: de acción directa o indirecta (1).

A) Acción directa

Cuando la prevalencia del ácaro en la colmena es alta, las abejas parasitadas al emerger de las celdas de cría presentan diversos tipos de malformaciones; las más comunes se presentan en las alas, patas (donde generalmente disminuyen el número de artejos) y abdomen (Figura 5). Otro de los efectos perjudiciales ocasionados por el parásito es una disminución en la vida media de los hospederos (1).

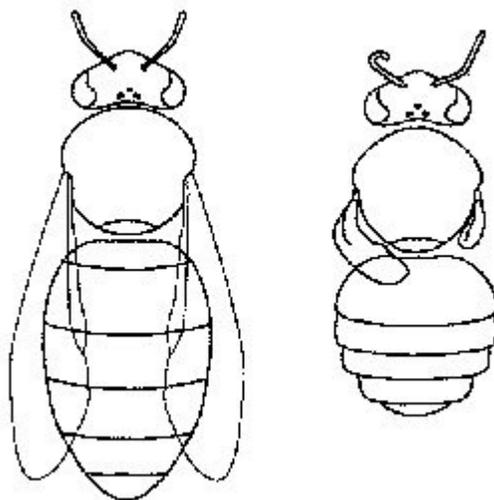


Figura 5: Deformaciones causadas por *Varroa* a las abejas melíferas; a la izquierda una abeja normal, a la derecha una abeja parasitada durante su desarrollo.

Fuente: Red latinoamericana de apicultura (1).

B) Acción indirecta

Las alteraciones que *V. destructor* puede ocasionar en forma indirecta están ligadas fundamentalmente a la acción inoculativa de diversos tipos de microorganismos. Se ha comprobado que el ácaro es capaz de inocular bacterias y diversos tipos de virus. Existen evidencias de que *Varroa* crea dentro de una colmena las condiciones ideales para el desarrollo del hongo patógeno causante de la enfermedad conocida como “cría yesificada”, producida por *Ascosphaera apis*. Más recientemente, se ha observado que el ácaro es capaz de transportar sobre su cutícula esporas de *Paenibacillus larvae*, agente causal de la “loque americana” (1).

Los signos clínicos pueden presentarse como una disminución en la producción de la colmena, muchas veces inadvertida por el productor, o bien en los casos de infecciones severas puede acarrear a la muerte de la colonia. La parasitosis disminuye la longevidad de obreras y reinas, afectando su postura; los zánganos reducen y hasta pierden su capacidad reproductiva. Las pupas muertas pueden alcanzar diferentes grados de putrefacción, desprendiendo un olor nauseabundo (1).

La presencia del parásito provoca en las abejas una actividad más intensa, ya que las mismas tratan de desprenderse de los ácaros (1).

4.1.9 Consecuencias primarias de la parasitosis

- Notable merma en la producción individual de colmenas
- Muerte de colonias
- Importantes pérdidas a nivel nacional e internacional
- Peligro de contaminación de miel con residuos de productos químicos
- Posible aparición de resistencia al fluvalinato, ya presente en otros países como Italia y México.
- Transmisión de otros agentes patógenos en los que *Varroa* representa un huésped intermediario (1).

4.1.10 Diagnóstico

Se basa en contar visualmente el número de ácaros según los siguientes métodos:

A) Conteo de ácaros muertos que caen al fondo de la colmena.

Se coloca una hoja impregnada con sustancia adherente (grasa animal) en la base de la colmena. La hoja se deja 24 horas. Si el número de ácaros es mayor de 10, el nivel de infestación se considera alto (35).

B) Conteo de ácaros que parasitan abejas adultas

El diagnóstico se hace recolectando abejas en un frasco de vidrio que contiene agua y detergente o alcohol etílico. Al agitar fuertemente la *Varroa* se desprende, y volcando el líquido sobre un paño blanco o sobre un colador doble se cuentan las abejas y los ácaros desprendidos. Se recomienda el tratamiento cuando la infección de abejas con *Varroa* supera el 3 %, calculado según este método (35).

C) Conteo de ácaros en celdas de cría operculadas

Se abren las celdas con un cuchillo (Figura 6), se sacude el cuadro con el panal sobre un papel blanco y se cuentan los ácaros y el número de pupas. En este método los valores de referencia varían mucho dependiendo de si las celdas son de obreras o de zánganos (35).

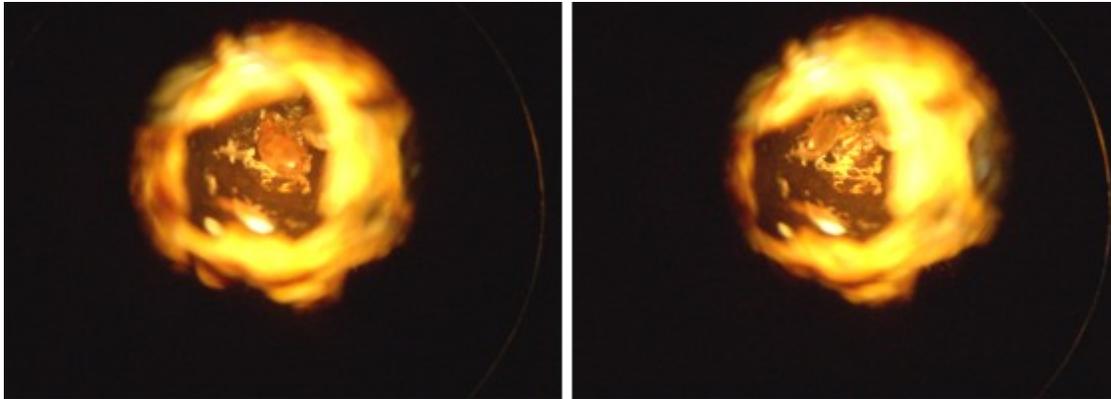


Figura 6: Varroas fotografiadas en el interior de celdas de abejas obreras, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

4.1.11 Cuantificación del porcentaje de infestación

Al usar cualquiera de los dos últimos métodos, el porcentaje de infestación se determina mediante la fórmula:

$$\% P = (TI / TE) * 100$$

Donde:

% P = Porcentaje de parasitismo

TI = Total de unidades infestadas, siendo una unidad una celda de cría o bien una abeja adulta

TE = Total de unidades examinadas (35).

4.1.12 Tratamiento

Cuando el diagnóstico revela la presencia del ácaro *Varroa* en el apiario en un porcentaje alto, es preciso tomar medidas terapéuticas de forma inmediata, no solamente para bajar la tasa

de infestación de las colmenas, sino también para limitar su expansión por el colmenar. Existen en la actualidad numerosos productos para el tratamiento de *Varroa* que se dividen en tres tipos:

A) Productos orgánicos, con diferentes grados de toxicidad

- Ácido oxálico
- Ácido fórmico
- Ácido láctico
- Rotenona (Extraída de *Tephrosia sp.*)
- Aceite esencial de tomillo
- Extracto de Nim

B) Productos orgánico-sintéticos, con diferentes grados de toxicidad

- Fluvalinato (Nombre comercial Apistán®)
- Flumetrina (Nombre comercial Bayvarol®)
- Triazapentadieno (Nombre comercial Amitraz)
- Tiofosfato (Nombre comercial Coumafos) (1)

C) Tratamientos físicos, inocuos para la salud humana

- Caloventor (5).

La utilización de productos de origen orgánico tales como aceites esenciales y ácidos orgánicos, tienen un bajo potencial de riesgo de contaminación comparados con los productos sintéticos. Con el objetivo de minimizar la posibilidad de introducir sustancias ajenas a la miel cualquier tratamiento debe aplicarse en un momento en que no se produzca ingreso de néctar y respetar los tiempos de carencia. Sin embargo algunos productos orgánicos pueden aplicarse durante la mielada sin producir contaminación, tal es el caso del ácido oxálico (26).

4.1.13 Expansión de la enfermedad

A) Causas naturales de la expansión de *Varroa*

- El pillaje, cuando se produce de una colmena a otra. Las colmenas pilladas son las más débiles y por lo general las más afectadas por los parásitos. Así, las abejas que ingresan a una colmena débil a realizar pillaje pueden al salir, llevar consigo parásitos a sus propias colmenas.
- La deriva, por medio de las abejas forrajeras que se encuentran realizando sus tareas fuera de la colmena y a su regreso pueden ingresar en otras colmenas.
- Por medio de los zánganos que pueden acceder libremente a las distintas colmenas.
- Por el manejo del apicultor con el traslado de núcleos de un apiario a otro o con el intercambio de cuadros de cría entre colmenas.
- Por causa de enjambres silvestres que se encuentran cerca del apiario e incluso por la captura de enjambres por el propio apicultor (1).

B) Causas artificiales de la expansión de *Varroa*

- La trashumancia de colmenas, es sin duda lo que expande la enfermedad a lo largo y ancho de cada país. Sin duda el movimiento de colmenas, núcleos y reinas de un continente a otro fue la causa de su actual distribución mundial antropogénica. Este ectoparásito se distribuye por todo el mundo, siendo actualmente cosmopolita (1).

4.1.14 Principales tratamientos usados para el control de *Varroa* en Guatemala

A) Fluvalinato

Su eficacia fue descubierta a raíz de estudios realizados en Francia e Israel. Es un piretroide que se comercializa bajo la forma de tiras plásticas de liberación lenta, impregnadas con

el ingrediente activo. Su acción es por contacto. El nombre comercial del producto es APISTAN. La eficacia que figura en el marbete de este producto es de 98 a 99.8%, pero recientemente se ha descrito que en ciertas regiones de los Estados Unidos Mexicanos, Italia, y Canadá entre otros países, la eficacia de este producto a disminuido notablemente posiblemente por resistencia del ácaro al principio activo.

Debido a su modo de acción va liberando lentamente partículas del principio activo de un modo constante cubriendo todo el ciclo del ácaro. Su forma de administración es muy sencilla, consiste en aplicar dos tiras por colmena entre los cuadros de la cámara de cría y se las deja actuar por un lapso de 6 a 8 semanas (29).

B) Flumetrina

Se trata de una piretrina, similar al fluvalinato. También se presenta en tiras plásticas de liberación lenta. Su nombre comercial es Bayvarol®. Se colocan dos tiras por colmena en la zona central de la cámara de cría, las cuales recomiendan retirar transcurridas ocho semanas (29).

C) Ácido oxálico

El ácido oxálico es un compuesto orgánico, que se encuentra normalmente en una diversidad de vegetales y frutos, principalmente en plantas de la familia oxalidaceae; e incluso en la miel se han registrado pequeñas cantidades. Es un producto que sufre una rápida degradación (23).

Este producto puede aplicarse de dos formas, mediante la atomización de solución para impregnar la mayor cantidad de abejas posible, o chorreando pequeñas cantidades entre los marcos con abejas; en ambos casos, la concentración de ácido oxálico será del 0.05%. El período de aplicación recomendado es en invierno, con una temperatura ambiente no menor de 12°C en la noche. Normalmente, la reina en este periodo baja la postura y las abejas están más concentradas. Cuando el método de aplicación es por aspersión y si la temperatura ambiente es menor de 12°C es posible que exista mortalidad de abejas. La abeja mojada algunas veces no resiste el enfriamiento en la noche. Si la aplicación es por goteo entre los marcos este riesgo se reduce considerablemente. El método más seguro de aplicación es mediante una jeringa que

permita medir chorritos de cinco centímetros cúbicos, se aplica esta cantidad entre marcos ocupados por abejas. Por ejemplo si en una colmena las abejas están en 7 marcos serán en total 35 centímetros cúbicos, si la colmena tiene abejas en 5 marcos serán entonces 25 centímetros cúbicos. Esta dosis se aplica cuatro veces cada cuatro-cinco días. Se ha estimado para este producto una efectividad de 80-90% (31).

4.1.15 El árbol de Nim

A) Clasificación científica

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Orden: Sapindales
- Familia: Meliaceae
- Género: *Azadirachta*
- Especie: *Azadirachta Indica* A. Juss

El Nim es un árbol originario de la India y Birmania, que sólo vive en regiones tropicales y subtropicales. Es un árbol de rápido crecimiento que puede alcanzar 15 a 20 metros de altura y raramente 35 a 40 metros. Tiene abundante follaje todas las temporadas del año, pero en condiciones severas se deshoja, incluso casi completamente. El ramaje es amplio, y puede alcanzar de 15 a 20 metros de diámetro ya desarrollado (33).

B) Componentes químicos del aceite de Nim

El Nim contienen varios miles de componentes químicos, de especial interés son los terpenoides, compuestos por C, H y O₂; la presencia del oxígeno hace esos compuestos más solubles en agua, metanol o etanol que en hexano, gasolina u otros solventes similares. Actualmente se conoce de la existencia de unos 100 terpenoides. El más activo es la azadiractina (33).

C) Azadiractina

Normalmente se encuentra en la semilla en proporciones del 0.1 al 0.9 %. Para muchos autores la mayoría de los efectos antihormonales y antialimentarios del Nim son debido a la azadiractina. De hecho se considera que del 72 al 90 % de la actividad biológica del Nim es debida al contenido en azadiractina (33).

Es estructuralmente parecido a las ecdisonas, (hormonas que se encuentran en los insectos y que controlan el proceso de metamorfosis del insecto desde el estado de larva hasta que llega a ser adulto) (Figura 7) (33).

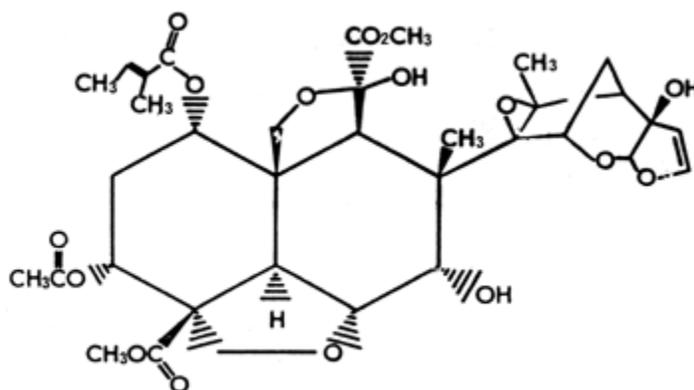


Figura 7: Estructura química de la azadiractina.

Fuete: Silva-Aguayo (27).

D) Aplicaciones

Tiene propiedades insecticidas. Muchos de los metabolitos secundarios del árbol tienen actividad biológica, pero la azadiractina es considerada como el metabolito de mayor importancia. Los estudios han demostrado que actúa interrumpiendo el ciclo vital del insecto actuando como antialimentario, inhibidor de crecimiento, prolonga las etapas inmaduras ocasionando la muerte, disminuye la fecundidad y la oviposición, disminuye los niveles de proteínas y aminoácidos en la hemolinfa e interfiere en la síntesis de quitina (33).

Las temperaturas parecen jugar un papel de forma indirecta: temperaturas más altas incrementan el efecto porque los insectos son más activos bajo estas condiciones, y el efecto antialimentario es conseguido más rápidamente que a bajas temperaturas (24).

4.1.16 Eucalipto

El Eucalipto es un árbol de la familia Myrtaceae originario de Australia, es uno de los árboles más conocidos de la flora australiana ya que por su rápido crecimiento se ha extendido por todo el mundo para su aprovechamiento industrial (34).

Es un árbol grande de 30-40 metros, aunque en su hábitat puede alcanzar los 100 metros de altura. El tronco posee una corteza que se exfolia en láminas. Las hojas son enteras, coriáceas y perennes, variando según la edad. En las ramas jóvenes son ovales pareadas y sésiles y en las viejas son arqueadas, alternas, mas pecioladas y colgantes. Tiene grandes conjuntos florales sin pétalos en forma de urna que se abren por arriba cuando tiene gran cantidad de estambres. El fruto es una cápsula con 3-4 celdas que contiene las semillas (34).

A) Clasificación científica

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Myrtales
- Familia: *Myrtaceae*
- Género: *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (34).

B) Principios activos del aceite esencial de Eucalipto

Aceite esencial: Cineol o eucaliptol, monoterpenos (alfa-pineno, p-cimeno, limoneno, felandreno) y aldehídos (butiraldehído, capronaldehído); azuleno, taninos, resina, flavona (eucaliptina) y triterpenos derivados del ácido ursólico (34).

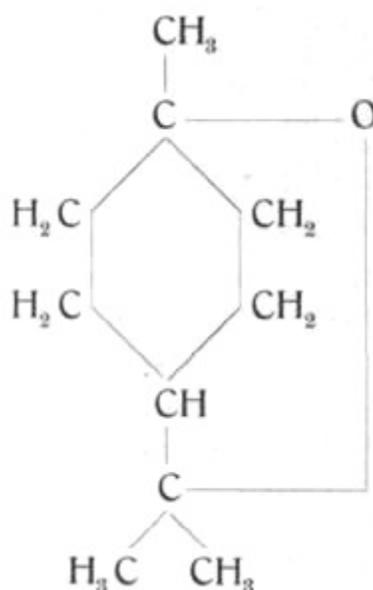


Figura 8: Estructura química del eucaliptol.
Fuente: www.chestofbooks.com (3).

4.1.17 Clavo

Es una planta originaria de las islas Molucas. Su nombre procede del latín “*clavus*” (clavo), ya que el capullo seco sin abrir recuerda esta forma. El Clavo es un árbol con una altura entre 12 y 15 metros (12).

A) Clasificación científica

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta

- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Myrtales
- Familia: Myrtaceae
- Género: *Eugenia*
- Especie: *Eugenia caryophyllata* Thunb (28).

B) Principio activo

El eugenol es un derivado fenólico conocido comúnmente como esencia de Clavo, que también puede extraerse de pimienta, hojas de laurel, canela, alcanfor y otros aceites. Es de consistencia líquida y aceitosa, de color amarillo claro, con aroma característico, poco soluble en agua y soluble en alcohol. Es utilizado en diferentes áreas odontológicas con varios propósitos, principalmente para la supresión del dolor (28).

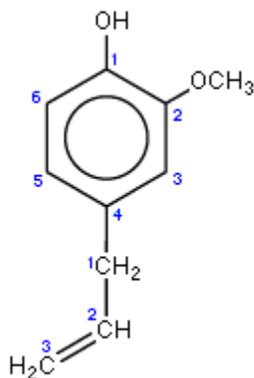


Figura 9: Estructura química del eugenol.

Fuente: www.wikimedia.org (36).

C) Toxicidad

En mamíferos, después de la exposición a altas concentraciones de eugenol, la conducción nerviosa es bloqueada irreversiblemente, indicando un efecto neurotóxico. A pesar de que su aplicación es común, puede llegar a provocar lesiones cáusticas o quemaduras superficiales cuando es colocado en forma directa y en altas concentraciones en los tejidos blandos. La severidad del daño es proporcional al tiempo de exposición, a la dosis y a la concentración. Se ha demostrado que el eugenol puro afecta la respiración celular, la actividad mitocondrial y produce severos cambios en la actividad enzimática de la membrana celular (9).

4.1.18 Antecedentes del uso de geles y aceites esenciales para el control del ácaro *V. destructor*

Una investigación, realizada por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán (México), evaluó la eficacia de un gel portador de timol al 25 por ciento en el control del ácaro *V. destructor* infestando colonias de abejas africanizadas bajo condiciones de clima tropical subhúmedo, con una temperatura promedio de entre 27 y 29 °C. La aplicación de una dosis de timol en gel con una repetición a los 15 días, resultó en una eficacia de hasta un 97 % en la eliminación de los ácaros presentes en las abejas adultas y la cría, dado que las condiciones climáticas de la zona favorecieron la evaporación del principio activo de manera uniforme. Una de las recomendaciones de la investigación, fue que con clima diferente, se debería realizar algunas pruebas antes de recomendar su uso (16).

Otro estudio efectuado por varias universidades mexicanas evaluó la toxicidad aguda del extracto crudo de semillas de Nim y de un producto comercial a base de Nim, sobre *V. destructor* y *A. mellifera*, así como la repelencia de dichos productos sólo sobre *Varroa*. Para determinar toxicidad aguda se aplicaron diluciones 0.33, 0.67 y 1.32% de los productos citados sobre hembras de *Varroa* y abejas obreras, por aspersion. Se les incubó a 32 ± 2 °C y $70 \pm 10\%$ de humedad relativa, provistas del alimento adecuado, y se registró su mortalidad a 24 y 48 horas. En pruebas de repelencia se trató a pupas de abejas y se determinó la capacidad de las varroas para localizar y alimentarse de pupas con o sin tratamiento. En la prueba de toxicidad aguda, ninguno de los productos causó mortalidad de *Varroa* ni de abejas. En las prueba de repelencia, los tres

productos mostraron repelencia significativa, en relación directa entre concentración y efecto. El extracto crudo de Nim a 1.32 % presentó la repelencia más alta y estable, que impidió que 98% de las varroas se posaran sobre pupas de abejas y causó 100% de mortalidad de *Varroa*, aparentemente por inanición, en 72 horas (8).

En una investigación realizada por investigadores de la Universidad Centroccidental del Estado de Lara, Venezuela; se aplicó aceite esencial de Eucalipto en colmenas de abejas melíferas para el control del ácaro *Varroa*, aplicándose en esponjas embebidas en el aceite y colocadas en recipientes que impiden el contacto de las abejas con las esponjas; se determinó la infestación de cada colmena antes y al final del experimento, realizándose conteos de ácaros muertos cada 24 horas; se concluyó que el aceite de Eucalipto presentó un control del 50% de los ácaros, esto comparado con el control alcanzado mediante la utilización de fluvalinato (22).

4.2 MARCO REFERENCIAL

4.2.1 Descripción del área de estudio

A) Descripción geográfica

a) Localización

La Finca Sabana Grande, se encuentra situada en la aldea El Rodeo, al Noroeste de la cabecera departamental de Escuintla (Figura 10), dista 12 kilómetros de la cabecera departamental. Forma parte de la microcuenca del Río Cantil. Tiene un área de 2.17 km². Se encuentra ubicada entre las coordenadas de 14° 21' 44" a 14° 23' 29" de Latitud Norte y 90° 49' 35" a 90° 50' 08" de Longitud Oeste de la hoja Alotenango 2059 III, escala 1:50.000, del IGN (Instituto Geográfico Nacional) (20).

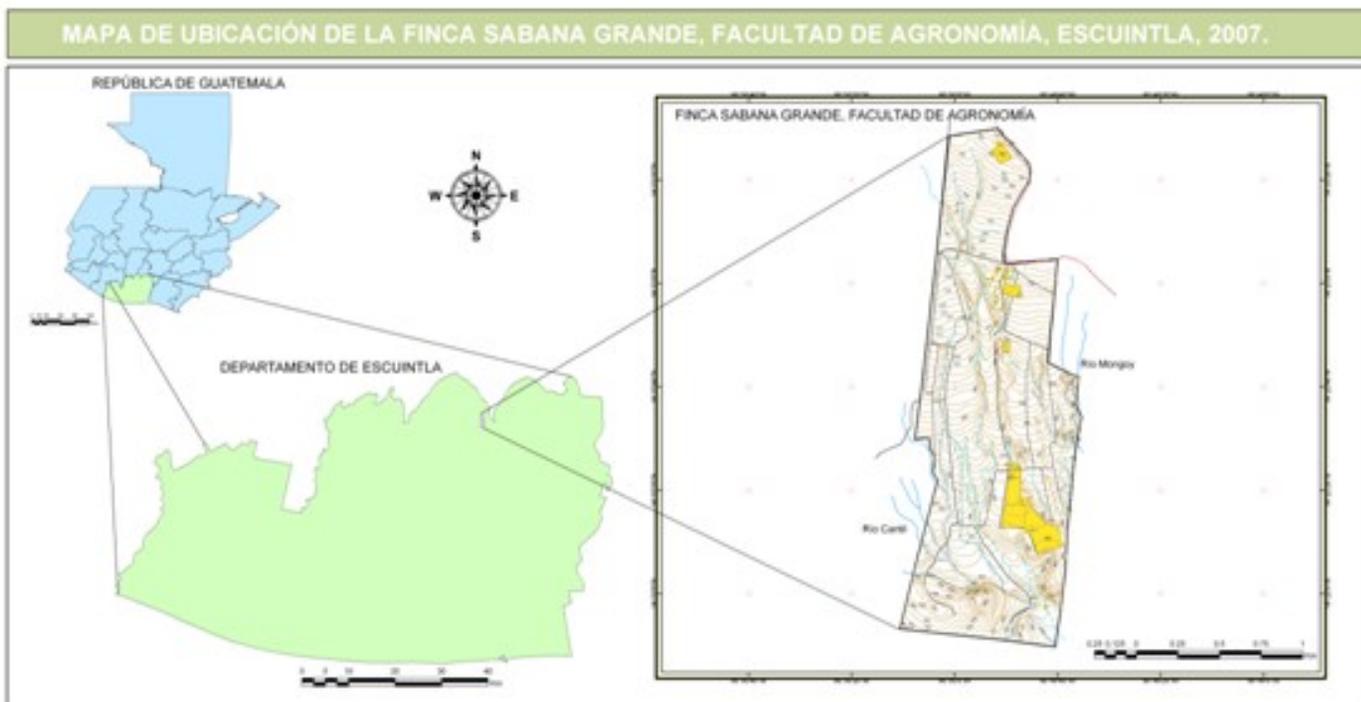


Figura 10: Localización de Finca Sábana Grande, Escuintla
Fuente: USIG-FAUSAC (30).

d) Clima y zona de vida

Según el mapa climatológico preliminar de la República de Guatemala, basado en el sistema de clasificación de Thornthwaite (18), la finca Sabana Grande presenta un clima cálido sin estación fría bien definida, muy húmedo con estación seca bien definida. Según el mapa de zonas de vida elaborado por De La Cruz (4), basado en el sistema de clasificación de Holdridge, la finca Sabana Grande se encuentra dentro de la zona de vida denominada Bosque muy Húmedo Sub-Tropical cálido.

La finca se caracteriza por tener una estación severamente seca de noviembre a abril y otra muy húmeda de mayo a octubre. Las lluvias son muy intensas por las tardes y es muy frecuente que de noviembre a abril, la finca esté sujeta a fuertes vientos que soplan en dirección Norte-Sur y Norte-Oeste, llegando a alcanzar velocidades entre los 50 y 60 kilómetros/hora, entre los meses de noviembre y febrero. La temperatura media anual es de 23.78 grados centígrados, precipitación anual de 3,092.50 milímetros, humedad relativa absoluta máxima de 96% y mínima absoluta de 40% y con una evaporación a la sombra de 3.66 milímetros (13).

4.2.2 Condiciones y manejo sanitario del apiario de la finca Sabana Grande

Actualmente el apiario de la finca cuenta con 60 colmenas tipo Langstroth, con un alza cada una, tradicionalmente se les ha hecho un manejo sanitario a base flumetrina, usando para ello el producto comercial Bayvarol[®], a razón de 1 tira por colmena, ubicada en la cámara de cría.

5. OBJETIVOS

5.1 General

1. Evaluar la respuesta de los productos naturales: extracto de Nim, aceite esencial de Eucalipto y aceite esencial de Clavo, en el control alternativo del ácaro *V. destructor*, usando gel como sustrato, para su aplicación en las colmenas de abejas melíferas.

5.2 Específicos

1. Determinar a través de la mortalidad de las abejas, si los productos naturales en estudio presentan o no, toxicidad para las mismas.
2. Determinar a través de la mortalidad y del desplazamiento de los ácaros, el efecto tóxico o repelente que los productos naturales en estudio presentan sobre *Varroa*.
3. Evaluar el uso del extracto de Nim, aceite esencial de Eucalipto y aceite esencial de Clavo, como sustancias activas del gel, en el control del ácaro *Varroa*, en colmenas.
4. Determinar si el efecto en la reducción de las poblaciones de *Varroa*, se debe a toxicidad o repelencia de los productos naturales.

6. HIPÓTESIS

La aplicación de gel con contenido de aceites esenciales de Eucalipto y Clavo, así como de extracto de Nim, en el interior de las colmenas de abejas melíferas reducirá la infestación del ácaro *V. destructor*, logrando niveles de control superiores al 70%.

7. METODOLOGÍA

La investigación se dividió en una fase de laboratorio y una de campo; en la primera fase se evaluó la toxicidad que los productos naturales presentan sobre *A. mellifera* y al haberse obtenido resultados negativos se procedió a evaluar los productos naturales directamente en las colmenas para conocer el control ejercido por ellos en las poblaciones de *Varroa*, y a la vez conocer si dicho efecto se debe a efectos tóxicos o de repelencia, estas pruebas constituyeron la fase de campo.

El estudio se desarrolló en el apiario de la finca Sabana Grande, aldea El Rodeo, municipio de Escuintla, departamento de Escuintla, entre los meses de julio y octubre del año 2008. Previo a iniciar el experimento, como se menciona anteriormente, se hicieron pruebas para determinar si las sustancias evaluadas presentaban efectos tóxicos en las abejas melíferas; estas pruebas se realizaron en el laboratorio de Entomología de la FAUSAC y al determinarse que no existió este tipo de efecto en las abejas se procedió a realizar el experimento, el que consistió de un censo inicial, que se hizo para determinar los niveles de infestación del ácaro *V. destructor*, en cada una de las colmenas, y así poder escoger las más infestadas para llevar a cabo el estudio; así también se hicieron 5 muestreos a intervalos de 12 días, para conocer la evolución de las poblaciones de ácaros en cada una de las colmenas tratadas. También se hicieron pruebas para determinar el efecto tóxico o repelente de las sustancias en estudio en los ácaros. Todas las pruebas realizadas, a excepción de la prueba de toxicidad en abejas, se realizaron en el apiario de la finca Sabana Grande. Para realizar el análisis estadístico del experimento, se utilizó el paquete para análisis de diseños experimentales de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, versión 2.5 (19).

7.1 Fase de Laboratorio

7.1.1 Preparación de geles

El gel utilizado como sustrato para la aplicación de los aceites esenciales se obtuvo en el comercio local, en distribuidoras de productos químicos comúnmente llamadas droguerías, en las que se comercializa con el nombre de: “Base de gelatina para el cabello sin color”, siendo esta una matriz de gel a base de agua, transparente, sin color y sin olor. Los aceites esenciales de Eucalipto y Clavo, también se obtuvieron en los mismos comercios, en los que se comercializan bajo el nombre de “aceite esencial de Eucalipto” y “aceite esencial de Clavo”, la fuente de extracto de Nim usada fue el producto comercial ACT BOTANICO, una suspensión concentrada conteniendo 0.003% de azadiractina. Las proporciones utilizadas entre el gel y los aceites esenciales, para cada una de las sustancias es de:

- Gel + aceite esencial de Eucalipto = 5% P/P
- Gel + aceite esencial de Clavo = 25% P/P
- Gel + extracto de Nim = 15% P/P

P/P = peso sobre peso

En el caso del aceite esencial de Eucalipto, el 5% utilizado corresponde al punto de saturación del gel, que únicamente es capaz de incorporar dicho porcentaje en su matriz. El 25% de aceite esencial de Clavo utilizado corresponde a un límite experimental que se definió con base en lo antieconómico que resulta incorporar más aceite esencial al gel, ya que mediante pruebas se determinó que la emulsión formada es capaz de absorber hasta un 60% de aceite de Clavo en relación a su propio peso. El 15% de extracto de Nim utilizado, se definió considerando que a una concentración mayor del producto comercial en el gel, esta deja de comportarse como tal y presenta una apariencia más acuosa, lo que desvirtuaría su utilización.

7.1.2 Prueba de toxicidad en abejas melíferas

A) Materiales

- 20 jaulas de madera de 13 cm X 13 cm X 13 cm (2,197 cc), con uno de los lados cubierto de tamiz plástico, para evitar que las abejas escaparan y a la vez permitir una adecuada ventilación y observación.
- 20 cajas petri plásticas de 14 cm de diámetro
- 20 recipientes metálicos de 3 cm de diámetro y 0.8 cm de profundidad.
- 200 abejas obreras adultas.
- 1 incubadora

B) Manejo del experimento

Se evaluaron 3 geles cuyas sustancias activas fueron: extracto de Nim, aceite esencial de Eucalipto y aceite esencial de Clavo, las concentraciones de ingrediente activo en las geles, fueron en el caso del Eucalipto: 5% P/P, equivalente a 2.5 gramos de aceite esencial en 50 gramos de gel; la concentración utilizada de aceite esencial de Clavo fue de 25% P/P, es decir 12.5 gramos de aceite esencial en 50 gramos de gel; la concentración utilizada de extracto de Nim fue del 15% P/P, utilizando 7.5 gramos de producto comercial en 50 gramos de gel, totalizando 0.0225 gramos de azadiractina en los 50 gramos de gel.

Además se contó con un testigo, constituido por gel sin ingrediente activo, y un testigo absoluto, en el cual no hubo tratamiento de gel, en cuyo lugar se usó agua destilada. Se capturó un grupo de abejas obreras adultas en el apiario del Centro Experimental Docente de la Facultad de Agronomía, y se procedió a introducir 10 abejas vivas en cada una de las jaulas de madera, en las que había un pequeño recipiente metálico con miel para que les sirviera de alimento, y una caja petri conteniendo 50 gramos de gel, la caja petri tenía un orificio recubierto con tamiz plástico para permitir el flujo de gases y evitar que las abejas entraran en contacto directo con la gel.

La introducción de las abejas en las jaulas se hizo de forma manual, introduciendo una abeja a la vez teniendo mucho cuidado de no lastimarlas. Las jaulas se introdujeron en la incubadora del laboratorio de fitopatología, de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos, introduciendo únicamente 1 tratamiento a la vez; la temperatura utilizada fue de 37 °C, para simular las condiciones reales existentes en una colmena. Se hicieron lecturas a las 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, y 72 horas.

C) Diseño experimental

La prueba se realizó mediante un diseño completamente al azar, por ser las condiciones de cada una de las unidades experimentales igual a las de las demás.

D) Variable de respuesta

La variable de respuesta en la prueba, fue el número total de abejas muertas en las jaulas al momento de la toma de datos.

E) Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad \left\{ \begin{array}{l} i = 1, 2, \dots, t \\ j = 1, 2, \dots, r \end{array} \right.$$

donde

Y_{ij} = variable de respuesta de la ij -ésima jaula con abejas (unidad experimental)

μ = media general de la variable de respuesta "abejas muertas"

τ_i = efecto del i -ésimo tratamiento en la variable dependiente.

ε_{ij} = error experimental asociado a la ij -ésima unidad experimental.

F) Tratamientos y repeticiones

El experimento estuvo formado por 5 tratamientos, con 4 repeticiones. Los tratamientos evaluados fueron:

- T1 = gel con el 5% de aceite esencial de Eucalipto
- T2 = gel con el 15% de extracto comercial de Nim.
- T3 = gel con 25% de aceite esencial de Clavo.

- T4 = gel sin principio activo
- T5 = Agua destilada.

La razón por la que se incluyó al T4 (gel sin principio activo) como un tratamiento diferente del testigo absoluto T5 (agua destilada), fue para eliminar la posibilidad de que alguna mortalidad que pudiera presentarse se deba al efecto de alguno de los ingredientes utilizados en la elaboración de las geles, y no al efecto de las sustancias que se evaluaron para el control de *Varroa*.

Se trabajó con la hipótesis nula que el aceite esencial de Eucalipto y el aceite esencial de Clavo, no serían tóxicos para las abejas; a la vez que se esperaba que por sus propiedades insecticidas y acaricidas plenamente conocidas el extracto de Nim presentara algún efecto tóxico.

G) Hipótesis estadística

$H_0 = \tau = \tau_i$ Todos los tratamientos no presentarán toxicidad para *A. mellifera*.

$H_a = \tau \neq \tau_i$ Al menos uno de los tratamientos presentará toxicidad para *A. mellifera*.

H) Nivel de confiabilidad

Para conocer la diferencia entre tratamientos se trabajó con una confiabilidad del 95% ($\alpha = 0.05$)

7.2 Fase de Campo

7.2.1 Prueba de toxicidad en *V. destructor*

A) Materiales

- 200 ácaros *Varroa* hembras
- 60 pupas de zángano

- 20 cajas petri plásticas de 14 cm de diámetro
- 20 círculos de papel blanco de 14 cm de diámetro
- 20 recipientes metálicos de 3 cm de diámetro y 0.8 cm de profundidad.
- Cinta adhesiva
- Manteca vegetal
- 20 colmenas

B) Manejo del experimento

Los mismos tratamientos utilizados en la prueba de toxicidad para *Apis mellifera*, fueron utilizados para esta prueba, en la que se determinó si los ingredientes activos de las geles, presentan toxicidad sobre *V. destructor*.

Las varroas se recolectaron en forma manual, directamente de celdas operculadas de zángano, se separaron machos y hembras, los machos fueron desechados, todas las varroas colectadas se colocaron en una caja petri, con fondo de papel blanco. Luego en cada una de las cajas petri, se colocó un recipiente metálico conteniendo gel, posteriormente grupos de 10 hembras adultas se colocaron en el fondo cubierto con un círculo de papel bond, para facilitar la observación; así también en cada caja se colocaron 3 pupas de zángano para proveer a las varroas de alimento. Cada caja se selló con una tira de cinta adhesiva en las paredes laterales, para brindar solidez a la unidad experimental, así también se colocó una delgada capa de manteca vegetal en las paredes laterales internas de las cajas petri, para evitar que las varroas trepan por ellas y pudieran escapar por el orificio de ventilación ubicado en la tapa (Figura 11). Las 20 cajas de petri se introdujeron en igual número de colmenas, y se hicieron lecturas de varroas muertas a las 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48 y 72 horas.



Figura 11: Prueba de toxicidad en *Varroa*, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

C) Diseño experimental

La prueba se realizó mediante un diseño completamente al azar, la variable de respuesta en la prueba, fue el número total de ácaros muertos en las cajas petri al momento de la toma de datos.

D) Tratamientos y repeticiones

Esta prueba constó de 5 tratamientos, con 4 repeticiones. Los tratamientos evaluados fueron:

- T1 = gel con el 5% de aceite esencial de Eucalipto
- T2 = gel con el 15% de extracto comercial de Nim.
- T3 = gel con 25% de aceite esencial de Clavo.
- T4 = gel sin principio activo
- T5 = Agua destilada.

Al igual que en la prueba de toxicidad para abejas, la razón por la que se incluyó al T4 (gel sin ingrediente activo) como un tratamiento diferente del testigo absoluto T5 (sin gel), fue para eliminar la posibilidad de que alguna mortalidad que pudiera presentarse se debiera al efecto de alguno de los ingredientes utilizados en la elaboración de las geles, y no al efecto de las sustancias que se estaban evaluando para el control de *Varroa*.

Se esperaba que las geles con aceite esencial de Eucalipto y aceite esencial de Clavo no fueran tóxicas para *Varroa* pues se suponía que su posible forma de acción sería que debido a los olores emitidos por los aceites esenciales, los ácaros no pudieran detectar la hormona juvenil emitida por las larvas; a la vez que se esperaba que por sus propiedades insecticidas y acaricidas plenamente conocidas el extracto de Nim presentara toxicidad.

E) Hipótesis estadística

$H_0 = \tau = \tau_i$ Todos los tratamientos no presentarán toxicidad para *V. destructor*

$H_a = \tau \neq \tau_i$ Al menos uno de los tratamientos presentará toxicidad para *V. destructor*

F) Nivel de confiabilidad

Para conocer la diferencia entre tratamientos se trabajó con una confiabilidad del 95% ($\alpha = 0.05$)

7.2.2 Prueba de repelencia a los productos naturales evaluados

A) Materiales

- 200 ácaros *Varroa* hembras
- 120 pupas de obrera
- 20 cajas petri plásticas de 14 cm de diámetro
- 20 círculos de papel bond de 14 cm de diámetro
- Cinta adhesiva

- Manteca vegetal
- 3 pinceles
- 20 colmenas

B) Manejo del experimento

Esta prueba tuvo una variación con respecto a las anteriores; puesto que se utilizaron las sustancias puras aplicadas con pinceles directamente sobre 3 de las 6 pupas que se utilizaron en cada unidad experimental; para asegurar que las pupas quedaran impregnadas del olor característico de cada una de las sustancias de interés.

La forma de recolección de varroas fue la misma que la descrita. Se utilizaron cajas petri de plástico de 14 cm de diámetro, con tapa con orificio de ventilación. Cada caja estuvo dividida en dos zonas principales (A y B), y cada zona formada por tres subdivisiones (a, b y c). La zona cero (0) correspondió al centro de la caja, en la cual se colocaron diez hembras de *Varroa*, mientras que en los extremos de la caja (zonas Ac y Bc) se colocaron tres pupas de obrera en cada una (Figura 12). Sólo las pupas colocadas en la zona Ac fueron tratadas previamente con cada ingrediente activo.

Las pupas de abejas obreras se obtuvieron de los panales de la cámara de cría, se eligieron aquéllas de los estados Pw y Pp; Pw significa literalmente Pupa white (ojos blancos), y Pp significa Pupa purple (ojos morados), etapas que se alcanzan entre 7 y 8 días después de que las obreras han operculado la celda. En todas las pruebas se utilizaron pupas recolectadas 1 hora antes de realizar los bioensayos, siguiendo la metodología de Gonzáles et al., (8).



Figura 12: Prueba de repelencia a las sustancias evaluadas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Se hicieron cuatro repeticiones por tratamiento, colocándose una caja petri por colmena, y se tomaron lecturas de la ubicación de los ácaros a 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48 y 72 horas; en ellas se cuantificó la tendencia de dichos ácaros a desplazarse de una zona a otra.

Para determinar numéricamente la atracción o repelencia presentada por los tratamientos, se usó la siguiente fórmula, la cual fue extraída del trabajo realizado por Gonzáles et al., (8).

$$VR = 100 + \frac{(Ba + 2Bb + 3Bc + 4Pb) - (Aa + 2Ab + 3Ac + 4Pa)}{10/S}$$

Donde:

VR = valor de repelencia

Aa = número de ácaros sobre la zona Aa

Ab = número de ácaros sobre la zona Ab

Ac = número de ácaros sobre la zona Ac

Pa = número de ácaros sobre las pupas del lado A (tratadas)

Ba = número de ácaros sobre la zona Ba

Bb = número de ácaros sobre la zona Bb

Bc = número de ácaros sobre la zona Bc

Pb = número de ácaros sobre las pupas del lado B (no tratadas);

S = número de ácaros sobrevivientes al momento de la observación.

La notación citada da un valor ponderado superior a la posición de un parásito sobre una pupa (×4) ó en inmediata proximidad (×3), en contraste con una posición más alejada de las pupas

o más central ($\times 2$ ó $\times 1$) (Figura 13). Si todas las varroas permanecen sobre la zona cero, ó hay un reparto equitativo sobre ambas zonas, los valores de A contrarrestarán a los de B; si todos los ácaros permanecen sobre las pupas de la zona B, los valores de A serán cero y los valores de B serán 40. El número 100 tiene por función desplazar el origen y facilitar el análisis estadístico; entonces, los valores fluctuarán de 60 al 140; es decir, desde una fuerte atracción hasta una total repelencia. El factor $10/S$ sirve para compensar la mortalidad de los ácaros al momento de la observación (8).

De esta fórmula se obtienen valores que van de 60 a 140, siendo que para la atracción hacia pupas sin tratar esta es más fuerte mientras más cercanos a 60 sean los valores de posición obtenidos; en contraparte los valores de posición que indican repelencia van de 0 a 80 ($140-60=80$), siendo que mientras más cercano a 80 es el valor de posición obtenido, más fuerte es la repulsión de los ácaros hacia las pupas tratadas.

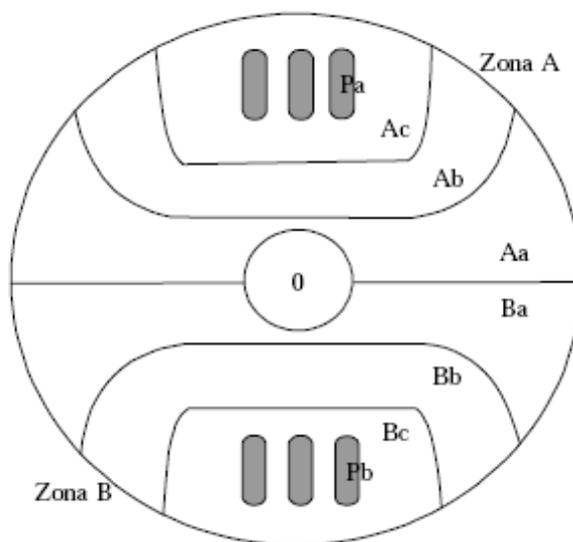


Figura 13: División del área de la caja de petri para la prueba de repelencia.
Fuente: Gonzáles et al., (8).

7.2.3 Control de *Varroa* en colmenas

El objetivo de esta prueba fue conocer la efectividad del extracto de Nim, y aceites esenciales de Clavo y Eucalipto, aplicado usando gel como sustrato, dentro de las colmenas, para el control del ácaro *Varroa*; y comparar esos resultados con los controles obtenidos mediante tratamientos químicos tradicionales como lo son el Bayvarol® y el ácido oxálico.

A) Materiales

- 20 cajas petri plásticas de 14 cm de diámetro con orificio de ventilación.
- Gel con principios activos de Nim, Eucalipto y Clavo.
- Gel simple
- 20 colmenas
- 4 tiras de Bayvarol®
- Ácido oxálico
- Pinzas
- Pinceles

B) Manejo del experimento

El tratamiento que se aplicó a cada colmena, consistió en una caja petri con 50 gramos de gel con y sin principio activo (Figura 14), estas fueron colocadas en el piso de las cajas (Figura 15). El experimento tuvo una duración de 11 semanas, durante las cuales, cada 4 días se

renovaron los tratamientos a base de gel y se hicieron aplicaciones de ácido oxálico; se hizo una única aplicación de tiras de Bayvarol® al inicio del experimento.



Figura 14: Cajas petri con gel y orificio de ventilación, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.



Figura 15: Ubicación de las cajas petri en el piso de las cajas de las colmenas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

C) Censo inicial

Se realizó un censo inicial (Cuadro 1 A) para conocer la situación sanitaria de cada una de las colmenas del apiario, habiéndose escogido para la prueba las 28 colmenas más infestadas con el ácaro *Varroa* (Figura 16), después de la primera aplicación de tratamientos, se realizaron muestreos cada 12 días, debido a que por ser época de lluvia las reinas disminuyen la postura de huevos.

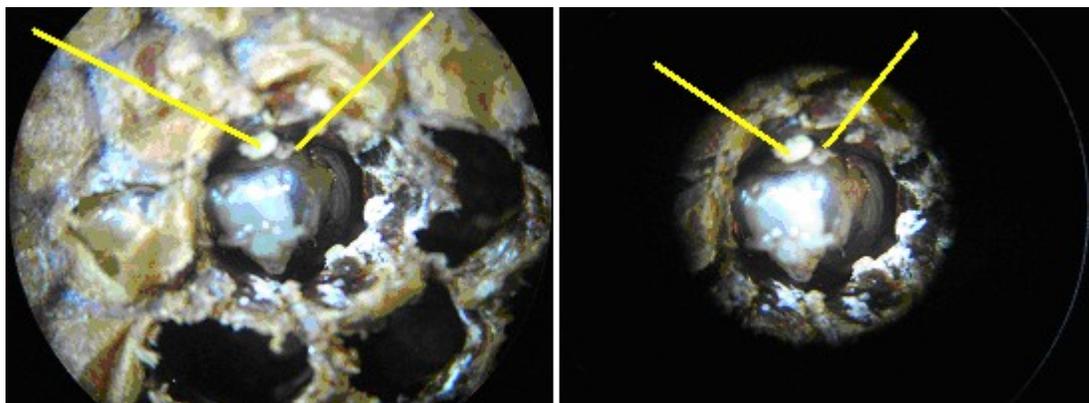


Figura 16: Varroas parasitando a la pupa de una abeja obrera, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

El censo y los muestreos se realizaron tomando de cada colmena, un trozo de panal con celdas de obrera, con un tamaño de 10 x 10 cm, y se desoperculó cuidadosamente cada una de ellas para buscar las varroas tanto en el fondo de la celda como encima de las pupas. Se determinó el porcentaje de infestación, para cada una de las unidades censales, para lo cual se utilizó la fórmula:

$$\% P = (TI / TE) * 100$$

Donde:

% P = Porcentaje de parasitismo

TI = Total de celdas infestadas.

TE = Total de celdas examinadas

D) Diseño experimental

Debido a que las abejas mantienen una temperatura constante dentro de las colmenas y a que existía la posibilidad de brindar jarabe de azúcar y sustituto de polen a manera de alimentación, de manera constante, se utilizó un diseño experimental totalmente al azar, puesto que la alimentación que podía haberse constituido como un factor de variación, se tuvo bajo control. En la prueba se tuvo como variable de respuesta el porcentaje de celdas infestadas con varroas, y se trabajó con un nivel de confiabilidad del 95%.

E) Tratamientos y repeticiones

Esta prueba constó de 7 tratamientos, con 4 repeticiones. Se esperaba que la aplicación de aceites esenciales de Eucalipto y Clavo, así como del extracto de Nim, usando un gel como sustrato, produjera un control de las poblaciones de ácaros superior al 70 %. Los tratamientos evaluados fueron:

- T1 = gel con el 5% de aceite esencial de Eucalipto
- T2 = gel con el 15% de extracto comercial de Nim.
- T3 = gel con 25% de aceite esencial de Clavo.
- T4 = gel sin principio activo
- T5 = testigo absoluto (sin gel)
- T6 = Acido oxálico
- T7= Bayvarol®

F) Hipótesis estadística

- $H_0 = \tau = \tau_i$ Todos los tratamientos no disminuyen el porcentaje de infestación de celdas.
- $H_a = \tau \neq \tau_i$ Al menos uno de los tratamientos produce efectos distintos.

7.3 Análisis de datos experimentales

7.3.1 Análisis del comportamiento de la población de ácaros

A las variables de respuesta; en todos los experimentos se les practicó análisis de varianza (ANDEVA), con el fin de realizar el correspondiente estudio del comportamiento de las poblaciones de ácaros por unidad experimental. Los factores de variación fueron sometidos a prueba múltiple de medias, utilizando el criterio de Tukey, ya que este permite conocer si existen diferencias entre tratamientos.

7.3.2 Análisis de la eficacia de los tratamientos a base de gel

La eficacia del gel en cada colonia, se determinó con base en la cantidad de varroas muertas por causa del principio activo de cada gel, y su relación con el número de varroas muertas por causa del Bayvarol[®], posterior al último muestreo. Para esta prueba se contabilizaron los ácaros muertos en el fondo de cada colmena, habiéndose colocado papel de color blanco en el fondo de las cajas y un tamiz de malla metálica para evitar que las abejas tuvieran acceso a los ácaros muertos y los sacaran de la caja. Se utilizó la fórmula:

$$E = (A/A+B) * 100$$

Donde:

E = Eficacia del tratamiento.

A = Número de varroas muertas, por causa del principio activo de la gel, localizadas en el piso de la caja al momento del último muestreo.

B = Número de varroas muertas por causa del Bayvarol[®], localizadas en el piso de la caja, luego de 1 intervalo de tiempo igual al utilizado entre cada muestreo.

8. RESULTADOS

8.1 Resultados de la fase de laboratorio

8.1.1 Prueba de toxicidad de los aceites esenciales de Eucalipto y Clavo, y de extracto de Nim en abejas melíferas

Esta fue la primera prueba realizada, y se hizo con la finalidad de conocer si las sustancias en estudio podían ser utilizadas sin representar peligro para las colmenas. La prueba constó de 5 tratamientos con 4 repeticiones, siendo la variable de respuesta “abejas muertas”, al momento de la toma de datos. Se trabajó con un nivel de significancia del 0.05%. El cuadro 2 muestra los tratamientos que se evaluaron, el cuadro 3 muestra los resultados obtenidos en cada toma de datos y el cuadro 4 muestra la media de la variable de respuesta “abejas muertas” obtenida en cada uno de los tratamientos.

Cuadro 2: Tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en abejas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento	
1	Gel + aceite esencial de Eucalipto
2	Gel + extracto de Nim
3	Gel + aceite esencial de Clavo
4	Gel
5	Agua destilada

Cuadro 3: Resultados de la variable de respuesta “abejas muertas”, obtenidos al momento de cada toma de datos en la prueba de toxicidad en abejas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Prueba de toxicidad en <i>Apis mellifera</i>					
Tratamiento: Eucalipto					
Tiempo en horas	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 4	Media
0.5	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
8	1	1	0	1	0.75
24	2	3	0	1	1.5
48	3	3	1	1	2
72	3	4	2	2	2.75
Tratamiento: Extracto de Nim					
Tiempo en horas	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 4	Media
0.5	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
2	0	1	0	0	0.25
4	0	1	0	0	0.25
8	0	1	0	0	0.25
24	0	2	0	0	0.5
48	1	3	1	1	1.5
72	2	4	3	3	3
Tratamiento: Aceite de Clavo					
Tiempo en horas	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 4	Media
0.5	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
2	0	1	0	0	0.25
4	0	2	0	0	0.5
8	0	2	1	1	1
24	1	2	2	2	1.75
48	3	3	2	3	2.75
72	4	3	2	3	3
Tratamiento: Sustrato de gel					
Tiempo en horas	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 4	Media
0.5	0	0	0	0	0

1	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	0.25
4	2	0	0	0	0.5
8	3	0	1	1	1.25
24	3	1	2	2	2
48	4	3	4	2	3.25
72	4	3	4	3	3.5
Tratamiento: Testigo absoluto					
Tiempo en horas	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 4	Media
0.5	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
4	1	0	1	0	0.5
8	2	0	2	0	1
24	2	0	2	0	1
48	2	1	2	1	1.5
72	2	2	3	2	2.25

Cuadro 4: Resultados de la variable de respuesta de los tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en abejas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento	Repeticiones	Media
Gel + aceite esencial de Eucalipto	4	2.750000
Gel + extracto de Nim	4	3.000000
Gel + aceite esencial de Clavo	4	3.000000
Gel	4	3.500000
Agua destilada	4	2.250000

A) Análisis de varianza de los tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en abejas

Del análisis estadístico realizado a esta prueba (Cuadro 5), y debido a la relación existente entre los estadísticos F que indican que no hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (se acepta la hipótesis nula debido a que el estadístico F calculada < F tabulada) y tomando en cuenta que se contó con un testigo absoluto, se concluye que los tratamientos evaluados no resultan ser tóxicos para las abejas.

Cuadro 5: Análisis de varianza para los tratamientos de la prueba de toxicidad en abejas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

FV	GL	SC	CM	F	F
				calculada	tabulada
Tratamientos	4	3.300003	0.825001	1.4559	3.06
Error	15	8.500000	0.566667		
Toral	19	11.800003			

c.v.= 26%

B) Análisis los resultados obtenidos en la prueba de toxicidad en abejas

Todo el estudio se realizó con base en los resultados obtenidos en esta prueba, mediante esta se pretendía conocer si los aceites esenciales de Eucalipto y Clavo, así como el extracto de Nim, presentaban algún peligro para las abejas melíferas al ser utilizados dentro de las colmenas para el control del ácaro *Varroa*; al realizar esta prueba y practicar el análisis estadístico correspondiente a la variable de respuesta “abejas muertas”, se determinó que ninguna de las sustancias antes mencionadas causaba mortalidad en las abejas por lo que se estableció la viabilidad de realizar las pruebas encaminadas a determinar si los tratamientos propuestos tienen potencial para ser utilizados en el control de la varroasis. Cabe mencionar que en esta prueba se obtuvo un coeficiente de variación del 26% que no precisamente indica un experimento mal manejado si no que pudiera ser el resultado de factores que no se consideraron al momento de plantear la metodología a seguir; tal es el caso del estrés al que seguramente se vieron sometidas las abejas al ser privadas de su ambiente natural y ser encerradas en una jaula en la que además de no estar libres, no podían desempeñar las tareas que de acuerdo a su edad debían desempeñar como parte de la colmena.

8.2 Resultados de la fase de campo

8.2.1 Prueba de toxicidad en *Varroa*

Al haberse determinado que las sustancias en estudio no representaron riesgo para las abejas, se procedió a determinar el efecto que estas presentan sobre *Varroa*; la prueba constó de 5 tratamientos con 4 repeticiones (Cuadro 2) utilizando en la prueba un nivel de significancia del 0.05%, para la variable de respuesta “varroas muertas” al momento de la toma de datos; habiéndose determinado mediante análisis de varianza que si existe diferencia entre los tratamientos, por lo que se realizó una prueba múltiple de medias. Las figuras 17 a 20 muestran la mortalidad de ácaros según el tratamiento utilizado.

A) Interpretación de la variable de respuesta “varroas muertas”

El objetivo de los tratamientos evaluados era causar la mayor mortalidad de varroas posible, de esta manera se obtuvo que el mejor tratamiento es el aceite esencial de Eucalipto, que transcurridas 72 horas había causado la muerte del 100% de los ácaros utilizados en la prueba, es decir en cada una de las cuatro unidades experimentales se registró un promedio de 10 ácaros muertos de los 10 utilizados. En segundo lugar se ubica el extracto de Nim con un 70% de mortalidad de ácaros; el aceite esencial de Clavo con un 25%; el sustrato de gel con un 7.5% y el testigo de agua destilada con un 5% de mortalidad de ácaros; la diferencia entre los dos últimos tratamientos no es significativa, por ello ambos tratamientos se ubican en la misma categoría Tukey, y se deduce que la mortalidad en ambos casos se debió a causas naturales (Cuadro 6).

Cuadro 6: Resultados de la variable de respuesta “varroas muertas” de los tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en *Varroa*, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento	Repeticiones	Media
Gel + aceite esencial de Eucalipto	4	10.000000
Gel + extracto de Nim	4	7.000000
Gel + aceite esencial de Clavo	4	2.500000
Gel	4	0.750000
Agua destilada	4	0.500000

B) Análisis de varianza de los tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en Varroa

Del análisis de varianza de los tratamientos (Cuadro 7), se deduce que existe una diferencia significativa entre los mismos por la relación que existe entre los estadísticos F; como F calculada es mayor que el valor crítico de F (F tabla) se rechaza la hipótesis nula (todos los tratamientos producen el mismo efecto) y se realiza una prueba múltiple de medias (Cuadro 8).

Cuadro 7: Análisis de varianza para la prueba de toxicidad en Varroa, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

FV	GL	SC	CM	F	F tabla
Tratamientos	4	279.79998	69.949997	calculada 36.4957	3.06
Error	15	8 28.750000	1.916667		
Toral	19	308.54998			
		8			

c.v = 33 %

C) Comparación de medias de los tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en *Varroa*

Por medio del análisis de Tukey para los tratamientos evaluados (Cuadro 8), se determinó que existieron tres categorías estadísticas para los tratamientos; la categoría A corresponde al aceite esencial de Eucalipto y presenta los mejores resultados con una mortalidad media del 100%; en segundo lugar se ubica el extracto de Nim con una mortalidad media de 70% y le corresponde la categoría B; por último se ubican los tratamientos de aceite esencial de Clavo, sustrato de gel y testigo absoluto, entre los que no hay diferencia significativa y se ubican en la categoría C.

Cuadro 8: Análisis de Tukey, para la prueba de toxicidad en *Varroa*, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento	Media	Clase
Gel + aceite esencial de Eucalipto	10.000000	A
Gel + extracto de Nim	7.000000	B
Gel + aceite esencial de Clavo	2.500000	C
Gel	0.750000	C
Agua destilada	0.500000	C

D) Análisis gráfico de los tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en *Varroa*

Este análisis se hizo únicamente al tratamiento testigo y a los tratamientos de aceite esencial de Eucalipto y extracto de Nim, por ser los que presentaron una alta mortalidad de varroas.

a) Gel con aceite esencial de Eucalipto

El efecto tóxico, reflejado en la mortalidad de ácaros empieza a manifestarse a partir de las 4 horas de iniciada la prueba y se mantiene constante hasta las 72 horas, alcanzando un 100% de mortalidad de varroas.

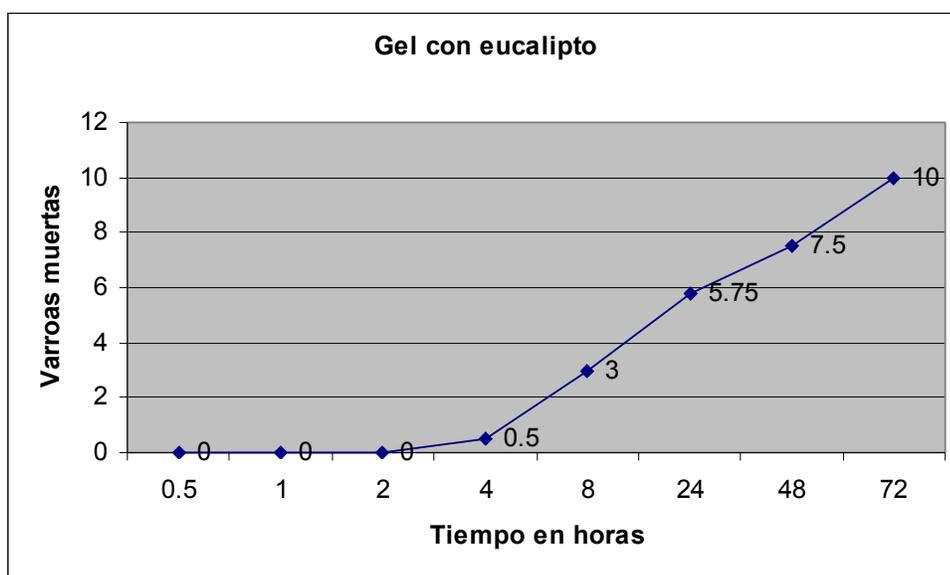


Figura 17: Varroas muertas en un periodo de 72 horas, tratamiento de gel con aceite esencial de Eucalipto, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

b) Gel con extracto de Nim

En este caso, el efecto tóxico se manifiesta de forma leve entre las 0 y las 4 horas de iniciada la prueba, experimentando un incremento de mortalidad entre las 8 y las 24 horas, punto en el que se duplica el efecto tóxico hasta las 48 horas, momento en el que alcanza una 50% y a partir de este punto el efecto disminuye un poco hasta alcanzar un 70% de mortalidad de ácaros a las 72 horas.

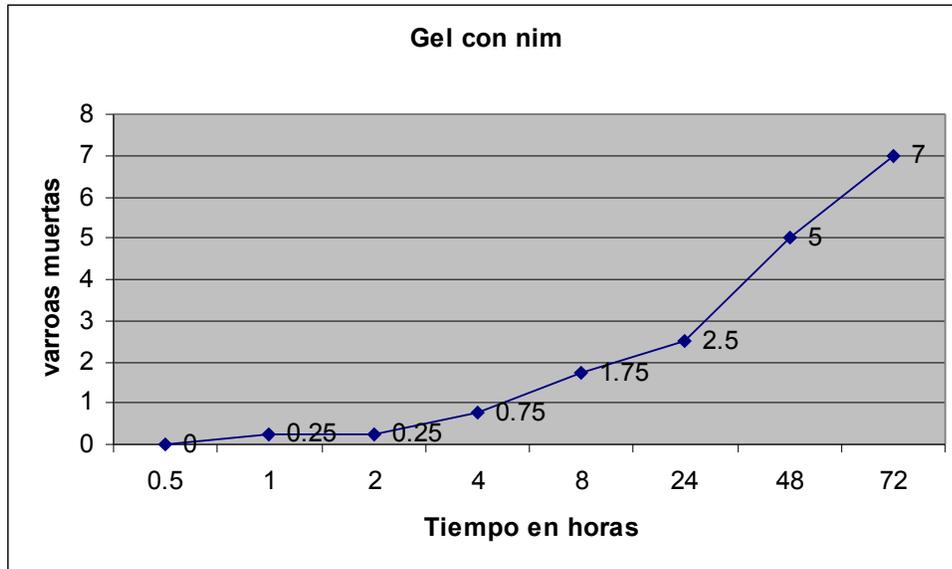


Figura 18: Varroas muertas en un periodo de 72 horas, tratamiento de gel con extracto de Nim, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

c) Testigo absoluto

La mortalidad provocada por este tratamiento es bastante baja, equivalente a únicamente 2 varroas muertas en 72 horas. El comportamiento de este tratamiento es muy parecido al del sustrato de gel, aunque las gráficas pueden confundir un poco, basta con tomar en cuenta que en el sustrato de gel la muerte de varroas se manifestó en un momento en que los intervalos de tiempo entre las lecturas de datos era diferente al intervalo a partir del que se manifestó la muerte de ácaros en el testigo absoluto, de ahí la diferencia de las graficas y la diferencia aparente entre tratamientos.

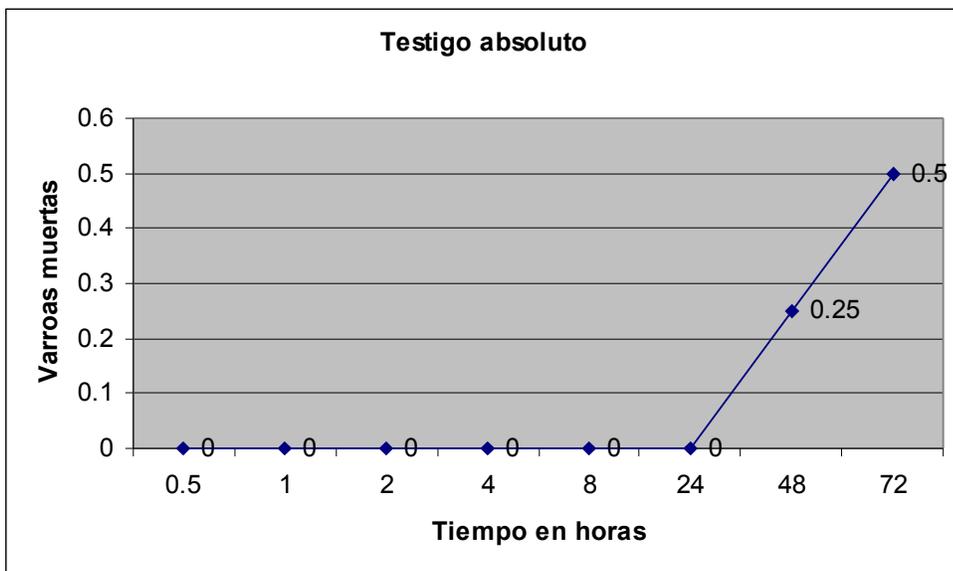


Figura 19: Varroas muertas en un periodo de 72 horas, tratamiento testigo absoluto, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

d) Comparación entre tratamientos

En la figura 20 se aprecia la diferencia existente entre todos los tratamientos evaluados; el tratamiento que presentó mayor toxicidad para *Varroa* fue el aceite esencial de Eucalipto, el segundo tratamiento más efectivo resultó ser el extracto de Nim; por último se encuentran los tratamientos que formaron la tercera categoría Tukey en el análisis de la prueba múltiple de medias, que son el aceite esencial de Clavo, el sustrato de gel y el testigo.

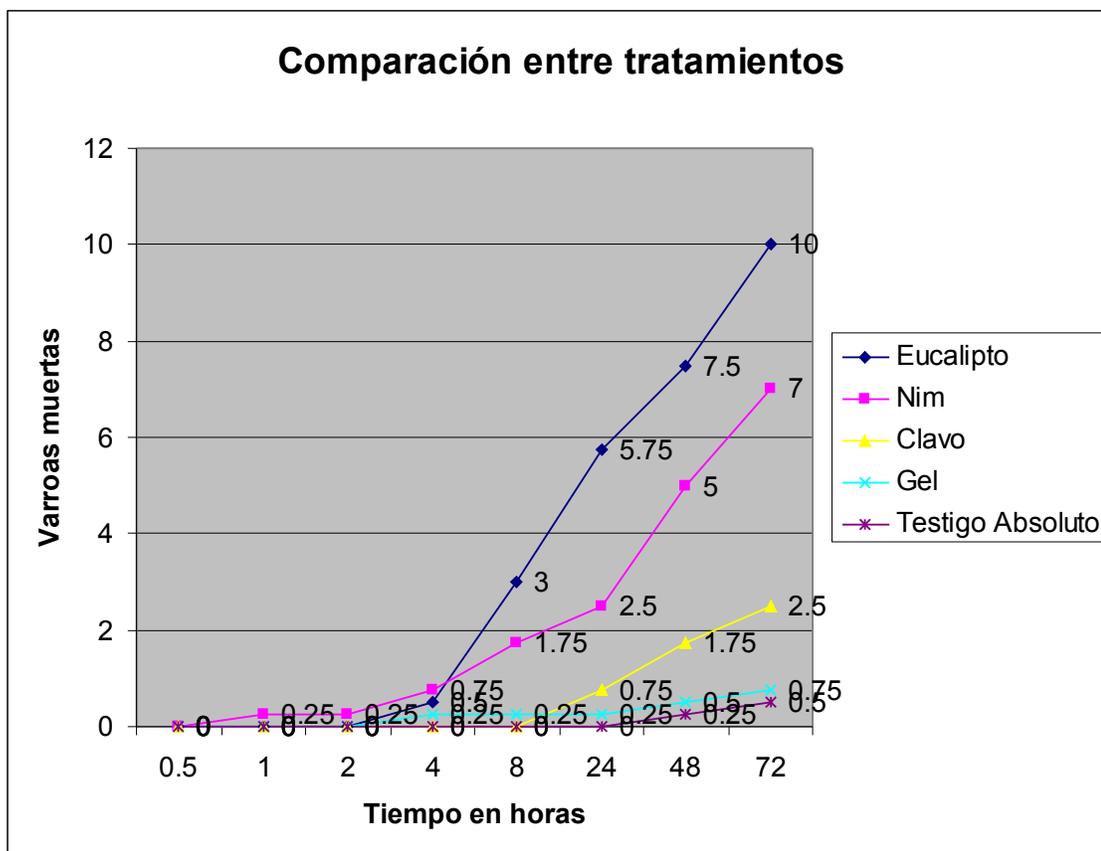


Figura 20: Comparación entre los tratamientos de la prueba de toxicidad en *Varroa*, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

E) Análisis de los resultados de los tratamientos evaluados en la prueba de toxicidad en *Varroa*

En la prueba de toxicidad en *Varroa*, se estableció que el tratamiento que causó la mayor mortalidad fue el aceite esencial de Eucalipto con un 100% de los ácaros muertos al final de la prueba, en orden de eficacia le sigue el extracto de Nim con un 70% de mortalidad, este resultado difiere de los resultados obtenidos por Gonzáles et al., (8) en el que empleando la misma metodología se determinó que el Nim no presentaba toxicidad aguda en varroas. En la última categoría Tukey se encuentra el aceite esencial de Clavo, el sustrato de gel y el tratamiento testigo, que no presentan diferencia estadística entre sí. En esta prueba se obtuvo un coeficiente de variación del 33% por lo que además de los factores mencionados con anterioridad, también deben probarse y establecerse metodologías que permitan un manejo más seguro para los

ácaros, ya que mediante la manipulación con pinzas para su extracción de las celdas o para colocarlos en las cajas de Petri es posible que los ácaros sufrieran algún tipo de lesión que haya pasado inadvertida, y que no causó la muerte de los ácaros en el instante, pero, que pudo haber influido en el comportamiento del experimento.

8.2.2 Control de *Varroa* en colmenas

Para conocer el estado de infestación de *Varroa* en el apiario de la finca Sabana Grande, se realizó un censo abarcando la totalidad de colmenas, de estas se seleccionaron las 28 colmenas que presentaron mayor infestación de *Varroa*, y en forma aleatoria a estas colmenas les fue asignado un tratamiento. El porcentaje de infestación de celdas al momento del censo estuvo comprendido entre 2.84% y 19.63% (Cuadro 1A). La prueba estuvo constituida por 7 tratamientos y 4 repeticiones (Cuadro 9), siendo que en esta prueba se incluyeron 2 tratamientos químicos tradicionales para poder hacer comparaciones con los resultados de las sustancias en estudio. La variable analizada fue: "Porcentaje de celdas infestadas"; se utilizó un nivel de significancia del 0.05%, habiéndose encontrado mediante el análisis de varianza que si existe una diferencia significativa entre tratamientos, por lo que se realizó una prueba múltiple de medias.

Cuadro 9: Tratamientos evaluados en la prueba de control del ácaro *Varroa* en colmenas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento	
1	Gel + aceite esencial de Eucalipto
2	Gel + extracto de Nim
3	Gel + aceite esencial de Clavo
4	Testigo absoluto
5	Gel
6	Ácido oxálico
7	Bayvarol®

También se realizó un análisis de varianza y una prueba de medias, excluyendo los tratamientos de Bayvarol® y ácido oxálico, para conocer con mayor exactitud el control que los

tratamientos con gel ejercen sobre el ácaro *Varroa*, se utilizó un nivel de significancia del 0.05%. Las figuras 21 a 25 muestran el comportamiento de cada uno de los tratamientos.

A) Interpretación de la variable de respuesta “celdas infestadas” de los tratamientos evaluados en la prueba de control de las poblaciones del ácaro *Varroa*

Ya que el objetivo de la prueba es determinar el control que las sustancias en estudio ejercen sobre las poblaciones del ácaro *Varroa*, se establece que un tratamiento es más efectivo mientras menor sea el valor de la media de la variable “porcentaje de celdas infestadas” correspondiente al tratamiento; de esta manera los mejores resultados en cuanto al control de la población de ácaros, reflejado en la disminución en el porcentaje de celdas infestadas corresponden al tratamiento 7 que consistió en la aplicación de Bayvarol®; por otro lado los valores más altos de infestación de celdas corresponden al testigo absoluto (Cuadro 10).

Cuadro 10: Resultados de la variable de respuesta de los tratamientos evaluados en la prueba de control de *Varroa* en colmenas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento	Repeticiones	Media
Gel + aceite esencial de Eucalipto	4	1.290000
Gel + extracto de Nim	4	1.675000
Gel + aceite esencial de Clavo	4	16.775000
Testigo absoluto	4	22.352501
Gel	4	19.150000
Ácido oxálico	4	0.297500
Bayvarol®	4	0.055000

B) Análisis de varianza para los tratamientos evaluados en la prueba de control de las poblaciones del ácaro *Varroa*

Debido a que en el análisis de varianza (Cuadro 11), se determinó que el valor del estadístico F crítico (F tabulada) es menor que el valor F calculada, se rechaza la hipótesis nula,

dando lugar a un análisis postandeva, habiendo utilizado para ello la comparación múltiple de medias según el criterio de Tukey.

Cuadro 11: Análisis de varianza para la prueba de control de *Varroa* en colmenas, incluyendo todos los tratamientos, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

FV	GL	SC	CM	F	F tabulada
Tratamientos	6	2441.306396	406.88439	calculada 125.7286	2.57
Error	21	67.960449	9 3.236212		
Toral	27	2509.266846			

c.v.= 20.%

C) Comparación múltiple de medias para los tratamientos de la prueba de control de las poblaciones de *Varroa*

Utilizando el criterio de Tukey, para esta prueba hay 3 categorías (Cuadro 12); y tomando en cuenta que el objetivo de los tratamientos es disminuir el porcentaje de celdas infestadas, los mejores tratamientos para el control de *Varroa* son aquellos cuya media es más baja, y en contraparte los tratamientos menos efectivos son aquellos que presentan porcentajes altos de infestación de celdas. Los mejores tratamientos para el control de *Varroa* son los que se encuentran en la categoría C, y en orden de efectividad son: tratamiento 7 (Bayvarol®), tratamiento 6 (ácido oxálico), tratamiento 1 (aceite esencial de Eucalipto en sustrato de gel) y el tratamiento 2 (extracto de Nim en sustrato de gel); todos estos tratamientos no presentan diferencias estadísticas entre sí, por ello se constituyen como la primera categoría. La categoría B está formada por el tratamiento 5 (gel) y por el tratamiento 3 (aceite esencial de Clavo en sustrato de gel), estos presentan valores de control de la población muy bajos, aunque estadísticamente diferentes a los valores finales de infestación de celdas presentados por el testigo absoluto, que se constituye como la categoría A.

Cuadro 12: Análisis de Tukey, para todos los tratamientos en la prueba de control de *Varroa* en colmenas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento	Media	Clase
Testigo absoluto	22.3525	A
Gel	19.1500	B
Gel + aceite esencial de Clavo	16.7750	B
Gel + extracto de Nim	1.6750	C
Gel + aceite esencial de Eucalipto	1.2900	C
Ácido oxálico	0.2975	C
Bayvarol®	0.0550	C

D) Análisis de varianza únicamente de tratamientos a base de gel

Para conocer el comportamiento de los tratamientos de interés que son aquellos en los que se utiliza gel como sustrato, se les realizó un análisis de varianza (Cuadro 13) que indica que hay diferencia significativa entre tratamientos, por lo que se hizo una prueba múltiple de medias .

Cuadro 13: Análisis de varianza para la prueba de control de *Varroa* en colmenas, incluyendo solo tratamientos con gel y el testigo, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

FV	GL	SC	CM	F	F tabulada
Tratamientos	4	1609.776123	402.44403	89.1460	3.06
Error	15	67.717285	4.514486		
Toral	19	1677.493408			

c.v = 17%

E) Comparación de medias de los tratamientos a base de gel

La comparación múltiple de medias (Cuadro 14), mostró la existencia de 3 categorías estadísticas para este tipo de tratamiento. En la categoría C se encuentran el aceite esencial de Eucalipto y el extracto de Nim, estos presentan los mayores niveles de control del ácaro *Varroa*. En la categoría B se ubica el aceite esencial de Clavo con un control de la población de ácaros bastante bajo, si se compara con los tratamientos que conforman la categoría C. Existe una

categoría intermedia A-B entre el aceite esencial de Clavo (categoría B) y el testigo absoluto (categoría A) y corresponde al tratamiento con únicamente gel.

Cuadro 14: Análisis de Tukey, para los tratamientos con gel en la prueba de control de *Varroa* en colmenas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento	Media	Clase
Testigo absoluto	22.3525	A
Gel	19.1750	AB
Gel + aceite esencial	16.7750	B
de Clavo		
Gel + extracto de Nim	1.6750	C
Gel + aceite esencial	1.2900	C
de Eucalipto		

F) Análisis gráfico de los resultados de los tratamientos evaluados en la prueba de control de las poblaciones del ácaro *Varroa*

Este análisis se efectuó únicamente a los tratamientos químicos tradicionales (flumetrina y ácido oxálico) y a los tratamientos de aceite esencial de Eucalipto y extracto de Nim, ya que son de mayor interés por mostrar un comportamiento similar a los tratamientos tradicionales; así también se hizo este análisis al tratamiento testigo, para conocer el comportamiento de las poblaciones de *Varroa* no sometidas a ningún tratamiento.

a) Aceite esencial de Eucalipto en sustrato de gel

De los tratamientos en los que se utilizó gel como sustrato, el aceite esencial de Eucalipto presentó los mejores resultados en cuanto al control de la infestación de ácaros en las celdas de abejas obreras, disminuyendo la media de celdas infestadas en las colmenas de un valor de 7.59% a 1.29 % en un periodo de 60 días (Figura 21).

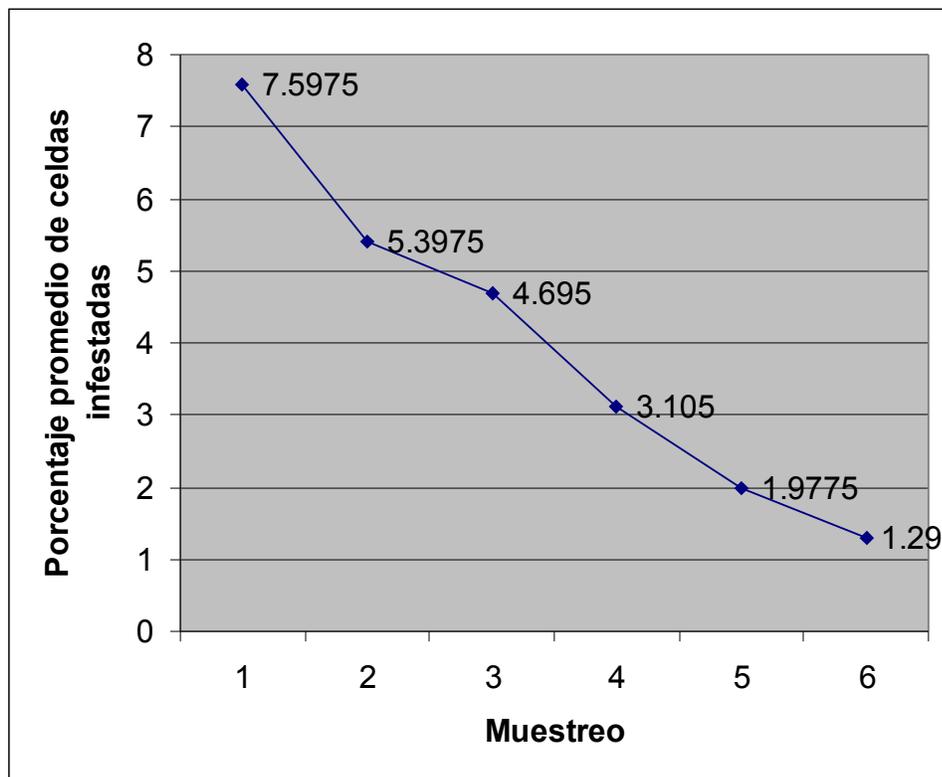


Figura 21: Infestación promedio de celdas de obreras, tratamiento de gel con aceite esencial de Eucalipto, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

b) Extracto de Nim en sustrato de gel

El extracto de Nim se encuentra después del aceite esencial de Eucalipto, como mejor tratamiento en el control de la población de *Varroa*, ya que disminuyó el porcentaje promedio de infestación de celdas de un valor de 5.46% a 1.67% en un periodo de 60 días (Figura 22).

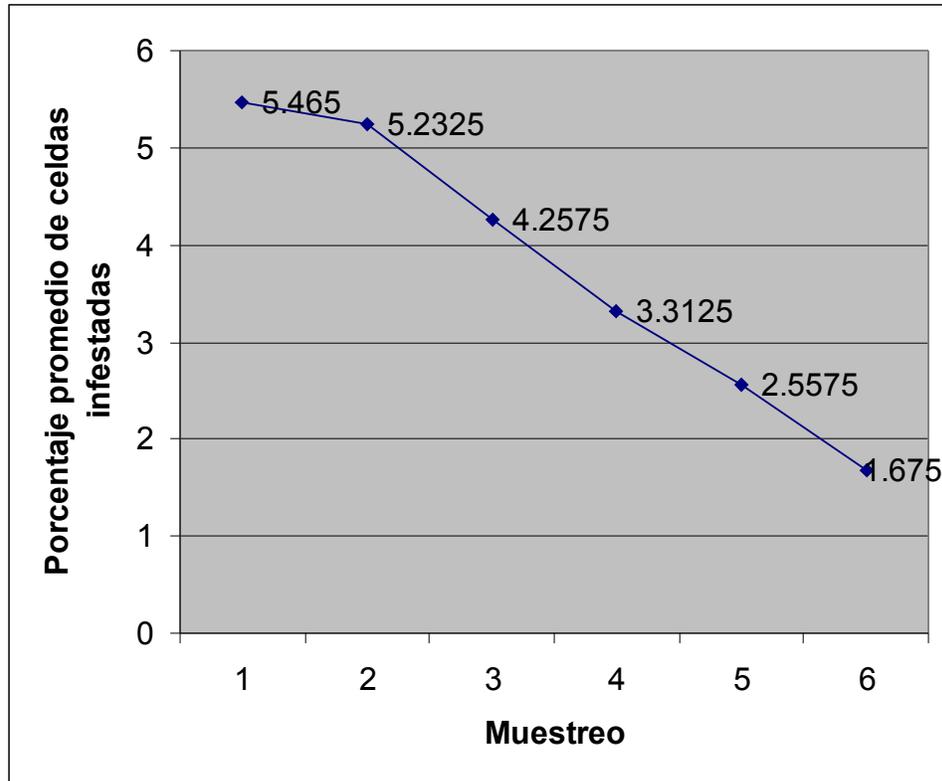


Figura 22: Infestación promedio de celdas de obreras, tratamiento de gel con extracto de Nim, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

c) Testigo absoluto

En este tratamiento, los niveles de infestación de celdas con *Varroa* aumentó constantemente, siendo este el tratamiento que pone de manifiesto el comportamiento real de la población al no estar sometida a ningún tipo de agente externo que provoque reducción, o bien que interfiera con la velocidad de desarrollo de la misma (Figura 23).

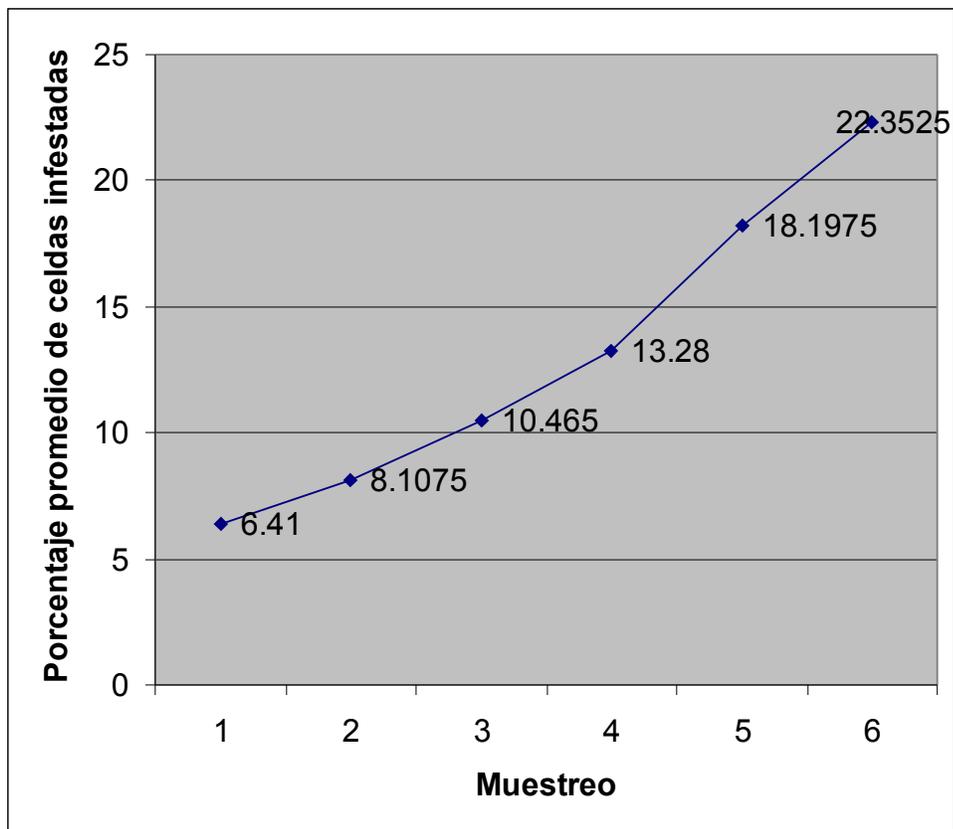


Figura 23: Infestación promedio de celdas de obreras, en el tratamiento testigo absoluto, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

d) Aplicación de ácido oxálico

A excepción del fluvalinato, la aplicación de ácido oxálico es el tratamiento que presenta mayor control de la infestación de *Varroa*; se observa una marcada tendencia de los niveles de infestación a disminuir, abarcando un rango que va de 13.28% de celdas infestadas al inicio del experimento, a 1.19% al final del mismo, después de transcurridos 60 días (Figura 24).

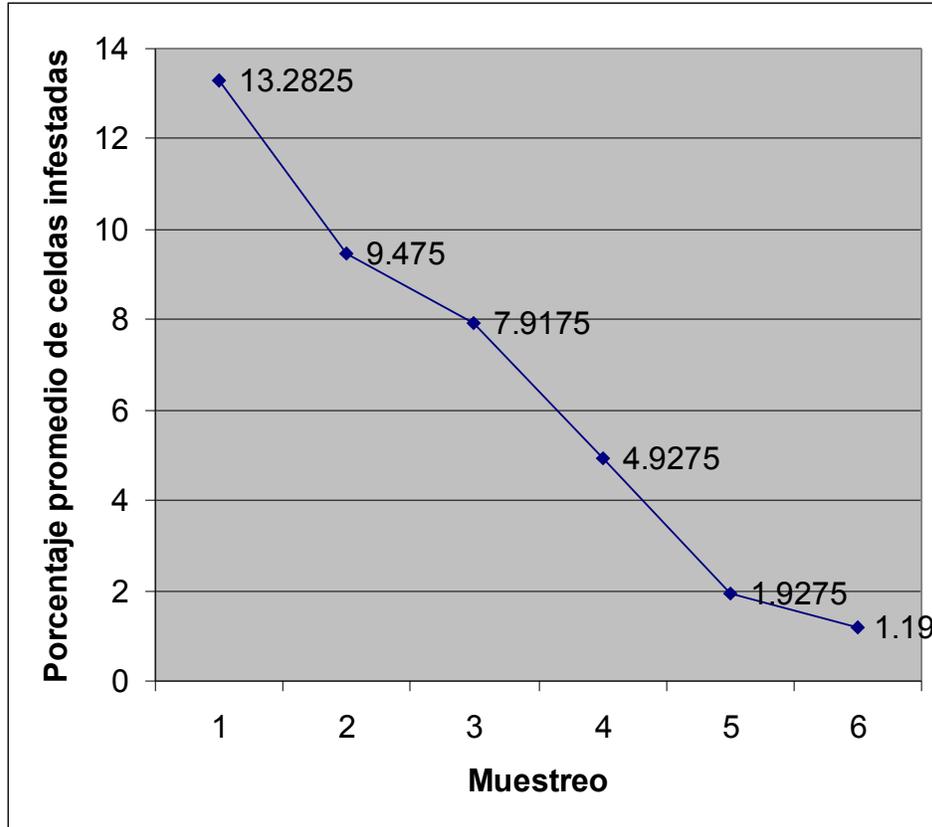


Figura 24: Infestación promedio de celdas de obreras, tratamiento con Acido Oxálico, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

e) Aplicación de tiras de Bayvarol®

La flumetrina, aplicada a través del producto comercial Bayvarol®, es el tratamiento que presenta los mejores resultados en la reducción del porcentaje de celdas infestadas; esto se evidencia en la figura 25 en la que se aprecia que la flumetrina disminuyó el porcentaje de infestación con ácaros, en las celdas de abejas obreras de un promedio de 14.74% a 0.055% en un intervalo de 60 días. El cuadro 1A muestra los datos correspondientes a cada muestreo realizado en las colmenas tratadas.

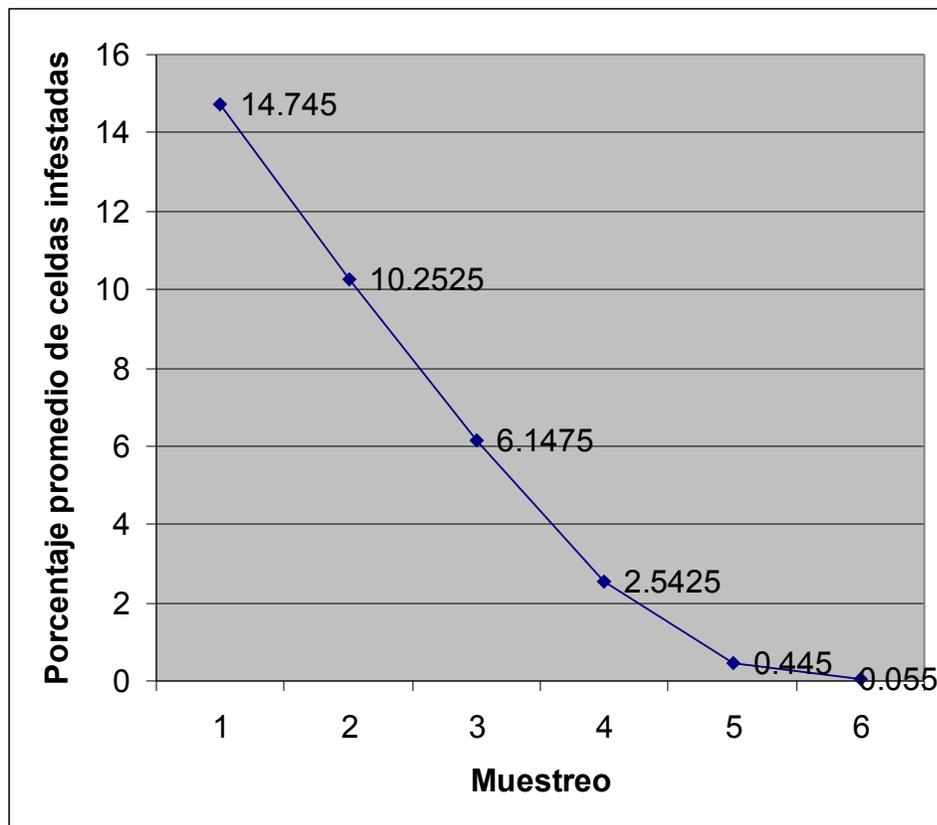


Figura 25: Infestación promedio de celdas de obreras, tratamiento con flumetrina (Bayvarol®), finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

G) Análisis de los resultados de los tratamientos evaluados en la prueba de control de las poblaciones del ácaro *Varroa*

En la prueba para determinar el control ejercido por los aceites esenciales de Eucalipto y Clavo, y por el extracto de Nim sobre las poblaciones del ácaro *Varroa* en las colmenas de abejas; por medio del análisis estadístico de la variable de respuesta “celdas infestadas” se determinó que había diferencia significativa entre los tratamientos, por lo que se desarrolló una prueba múltiple de medias, habiéndose obtenido que los mejores resultados aritméticamente corresponden a los tratamientos químicos tradicionales que son la flumetrina y el ácido oxálico; sin embargo estadísticamente no existió diferencia entre estos tratamientos y los tratamientos alternativos evaluados que son el aceite esencial de Eucalipto y el extracto de Nim aplicados mediante un sustrato de gel. Los otros tratamientos evaluados, el aceite de Clavo y el sustrato de gel no causan una disminución evidente en el porcentaje de celdas infestadas. En esta prueba se

tuvo un coeficiente de variación del 20%, mismo que podría estar influenciado por factores tales como la emulsión que se formó entre el aceite esencial de Clavo y la gel, o incluso por dos factores que no se tomaron en cuenta al momento de establecer la metodología: la degradación de los aceites esenciales al contacto con la luz y la pureza del aceite esencial. A este respecto el aceite esencial de Clavo fue suministrado por el laboratorio de entomología de la FAUSAC, mismo en el que el referido aceite había estado por largo tiempo expuesto a la luz; y en cuanto al aceite de Eucalipto la casa comercial en la que se adquirió no garantiza 100% de pureza, ya que este es para uso industrial; por este motivo en futuras investigaciones debe considerarse la utilización de aceites esenciales grado MERCK con una garantía del 100% de pureza y distribuidos en envases de vidrio de color oscuro que protegen el contenido de la acción de la luz solar, siempre que los recursos financieros disponibles lo permitan, debido a su elevado costo.

8.2.3 Prueba de repelencia a los productos naturales evaluados

Esta prueba se realizó con la finalidad de conocer si las sustancias evaluadas, presentan un efecto repelente sobre *Varroa*, se determinó que tanto el aceite esencial de Eucalipto, aceite esencial de Clavo y el extracto de Nim presentan influencia sobre la conducta de los ácaros; la que se manifiesta en la tendencia a alejarse de las pupas tratadas con las sustancias en estudio, y ubicarse sobre las pupas sin tratar o en áreas cercanas a las mismas. El cuadro 15 muestra los datos correspondientes a la posición de las varroas vivas en cada uno de los tratamientos, durante la duración de la prueba. Para la simplificación de los cálculos se utilizó el programa Microsoft Excel.

Cuadro 15: Valores correspondientes a la posición de las varroas vivas en cada uno de los tratamientos en la prueba de repelencia a las sustancias evaluadas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento: Aceite de Eucalipto											
Tiempo en horas	Ba	Bb	Bc	Pb	Aa	Ab	Ac	Pa	S	Valor de atracción	Valor de repelencia
0.5	2	2	2		1	1	2	0	0	97	43
1	1	2	1	1	2	1	1	0	9	96.2	43.8
2	3	1	1	2	1	0	1	0	9	89.6	50.4
4	0	0	0	9	0	0		0	9	67.6	72.4
8	0	0	1	7	1	0	0	0	9	73.1	66.9
24	0	1	0	7	0	0	0	0	8	76	64
48	1	0	0	7	0	0	0	0	8	76.8	63.2
72	0	1	0	6	1	0	0	0	8	80.2	59.8
Prueba				10					10	60	80
Tratamiento: Extracto de Nim											
Tiempo en horas	Ba	Bb	Bc	Pb	Aa	Ab	Ac	Pa	S	Valor de atracción	Valor de repelencia
0.5	2	1	2	0	3	1	1	0	0	98	42
1	3	1	2	1	2	0	1	0	0	90	50
2	2	0	2	3	0	2	0	0	9	86	54
4	0	1	3	5	0	0	0	0	9	72.1	67.9
8	0	0	0	7	0	0	0	0	7	80.4	59.6
24	0	0	0	7	0	0	0	0	7	80.4	59.6
48	0	2	0	4	0	1	0	0	7	88	52
72	2	1	1	2	0	0	1	0	7	92.5	47.5
Prueba				10					10	60	80
Tratamiento: Aceite de Clavo											
Tiempo en horas	Ba	Bb	Bc	Pb	Aa	Ab	Ac	Pa	S	Valor de atracción	Valor de repelencia
0.5	0	1	2	1	1	3	2	0	0	101	39
1	0	1	2	1	2	2	1	0	9	98.2	41.8
2	3	1	0	2	1	1	1	0	9	94.3	45.7
4	1	1	2	4	0	0	1	0	9	80.5	59.5
8	0	0	1	6	1	1	0	0	9	78.7	61.3
24	0	0	0	5	0	1	1	0	7	91	49

48	1	0	1	3	0	0	0	2	7	96.8	43.2
72	0	1	0	3	1	0		2	7	99.2	40.8
Prueba				10					10	60	80

A) Efecto repelente del aceite esencial de Eucalipto

De la fórmula extraída del trabajo de Gonzáles et al., (8) se obtienen valores que van de 0 a 140, siendo que para la atracción hacia pupas sin tratar esta es más fuerte mientras más cercanos a 60 sean los valores de posición obtenidos en un rango de 60 a 140; en contraparte los valores de posición que indican repelencia van de 0 a 80, siendo que mientras más cercano a 80 es el valor de posición obtenido, más fuerte es la repulsión de los ácaros hacia las pupas tratadas. En el caso del aceite esencial de Eucalipto la atracción hacia las pupas no tratadas es más fuerte entre 1 y 4 horas después de iniciada la prueba, alcanzando los niveles máximos de repelencia a las pupas tratadas (72.4), y atracción hacia las pupas sin tratar (67.6), en este punto (Figura 26). Luego el efecto repelente del Eucalipto se mantuvo por el periodo de 72 horas que duró la prueba, aunque con una ligera disminución progresiva (Figura 27). Los cálculos realizados se muestran en el cuadro 16.

Cuadro 16: Valores de posición que indican el efecto repelente del aceite esencial de Eucalipto, y atracción hacia pupas sin tratar, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Aceite esencial de Eucalipto		
Tiempo en horas	Atracción	Repelencia
0.5	97	43
1	96.2	43.8
2	89.6	50.4
4	67.6	72.4
8	73.1	66.9
24	76	64
48	76.8	63.2
72	80.2	59.8
Prueba	60	80

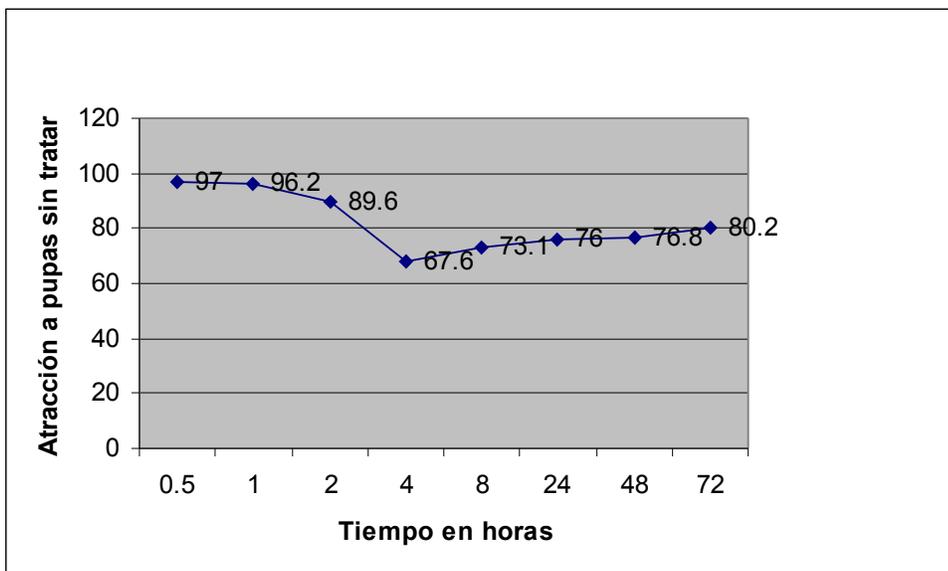


Figura 26: Atracción de los ácaros hacia las pupas sin tratar con aceite esencial de Eucalipto, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

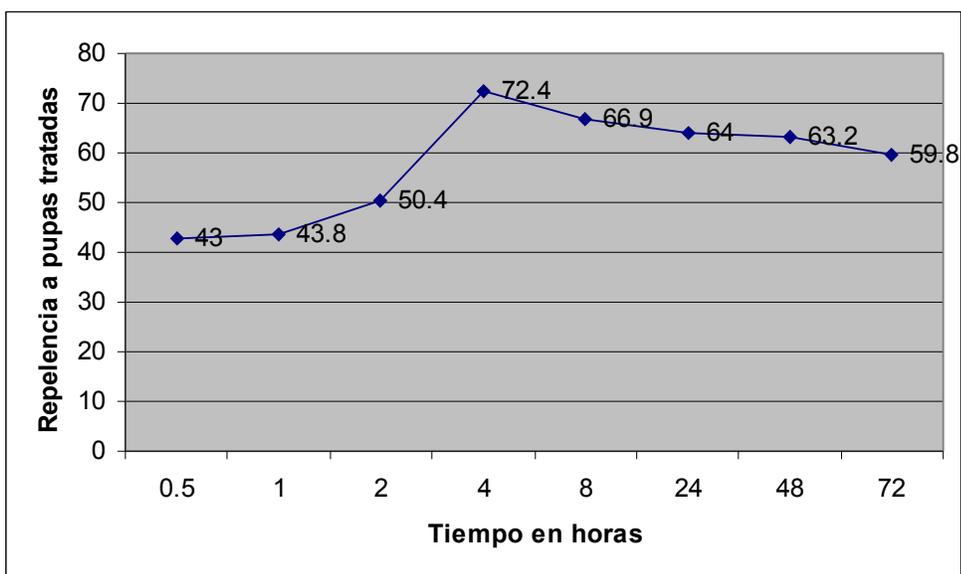


Figura 27: Efecto repelente del aceite esencial de Eucalipto, finca Sabana Grande, Escuintla 2008.

B) Efecto repelente del extracto de Nim

En este caso la atracción de los ácaros hacia las pupas sin tratar alcanza su punto máximo a las 4 horas después de iniciada la prueba (Figura 28), sin embargo el efecto repelente tiene una menor intensidad en comparación al efecto del aceite esencial de Eucalipto, puesto que a las 24 horas el Nim presenta un nivel de repelencia similar al que tiene el Eucalipto después de 72 horas, es decir que el efecto repelente dura menos tiempo y es de menor intensidad (Figura 29). Los cálculos realizados se muestran en el cuadro 17.

Cuadro 17: Valores de posición que indican el efecto repelente del extracto de Nim, y atracción hacia pupas sin tratar, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Extracto de Nim		
Tiempo en horas	Atracción	Repelencia
0.5	98	42
1	90	50
2	86	54
4	72.1	67.9
8	80.4	59.6
24	80.4	59.6
48	88	52
72	92.5	47.5
Prueba	60	80

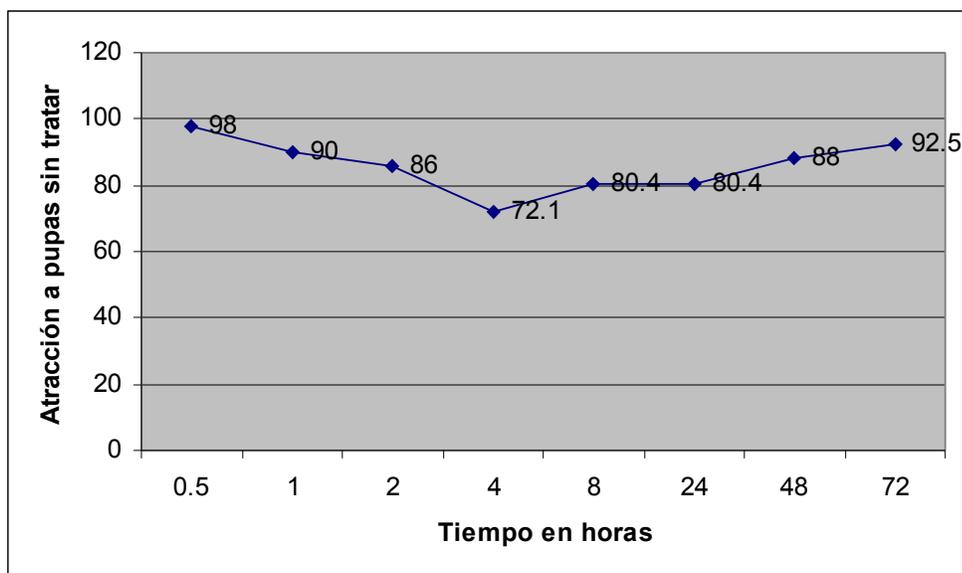


Figura 28: Atracción de los ácaros hacia las pupas sin tratar con extracto de Nim, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

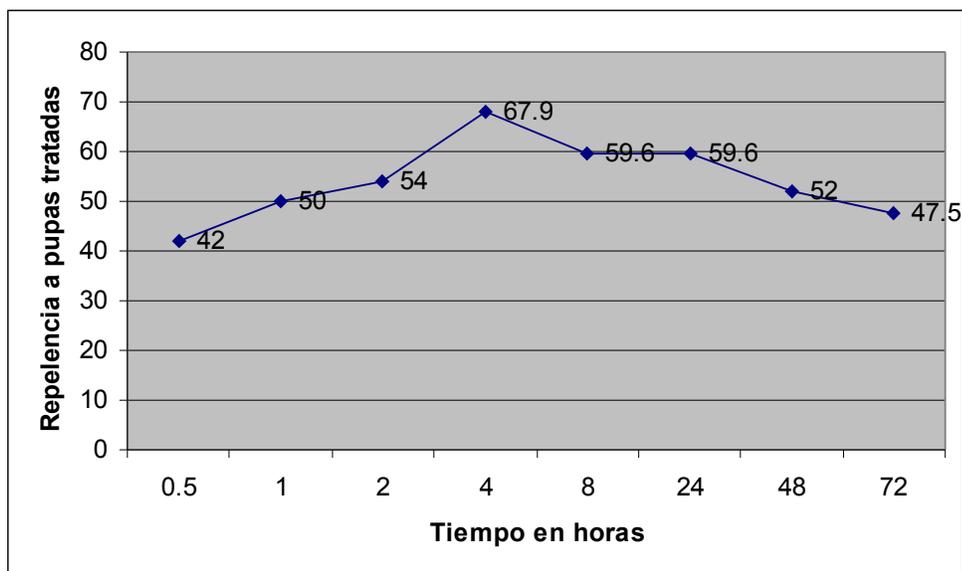


Figura 29: Efecto repelente del extracto de Nim, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

C) Efecto repelente del aceite esencial de Clavo

El efecto repelente del aceite esencial de Clavo fue bajo en comparación a los otros tratamientos, puesto que el máximo efecto lo alcanza después de 8 horas de iniciado el experimento (Figura 30), presentando valores de atracción a las pupas sin tratar y de repelencia a las pupas tratadas, similares a los que presentan el Eucalipto y el Nim después de 72 y 24 horas respectivamente, después de haber disminuido su intensidad (Figura 31). Los cálculos realizados se muestran en el cuadro 18.

Cuadro 18: Valores de posición que indican el efecto repelente del aceite esencial de Clavo, y atracción hacia pupas sin tratar, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Aceite esencial de Clavo

Tiempo en horas	Atracción	Repelencia
0.5	101	39
1	98.2	41.8
2	94.3	45.7
4	80.5	59.5
8	78.7	61.3
24	91	49
48	96.8	43.2
72	99.2	40.8
Prueba	60	80

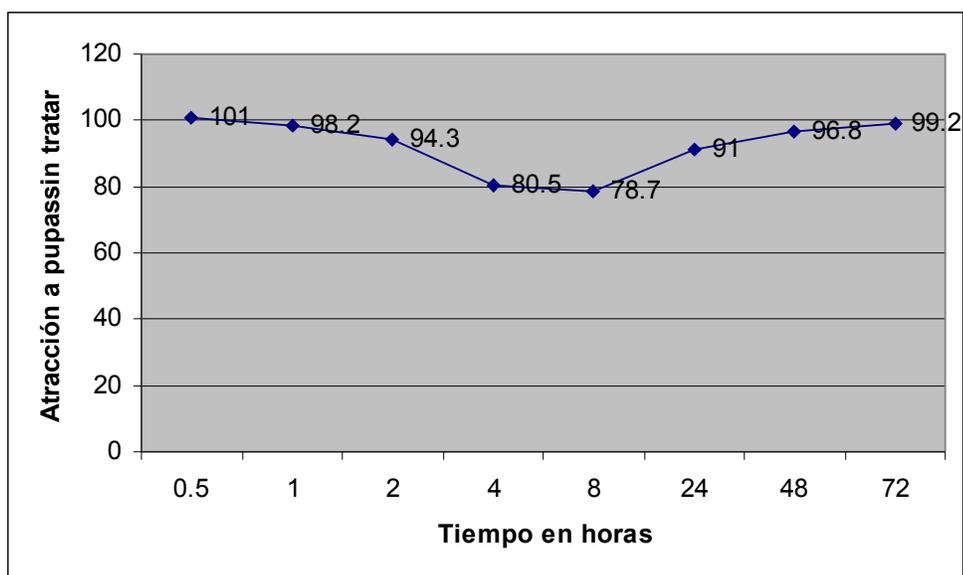


Figura 30: Atracción de los ácaros hacia las pupas sin tratar con aceite esencial de Clavo, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

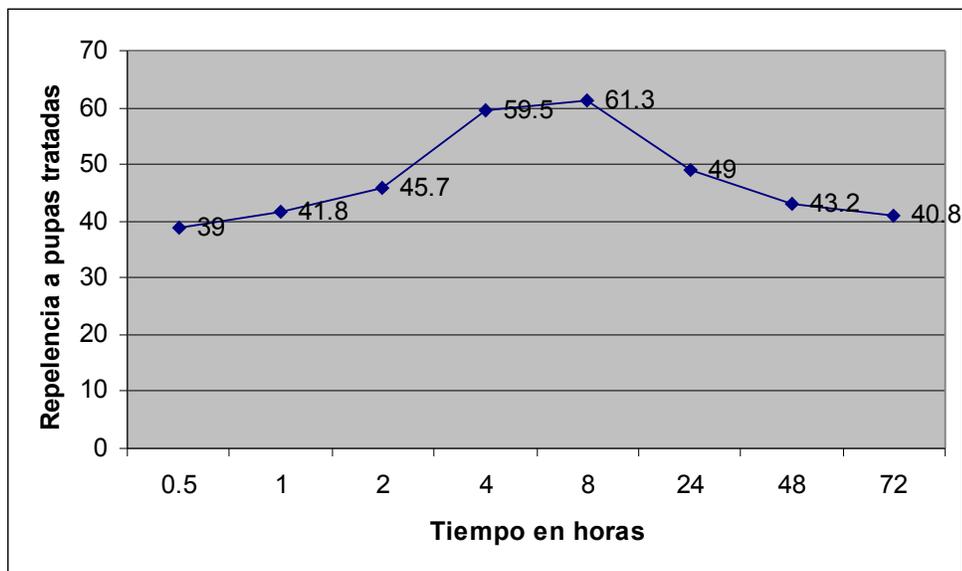


Figura 31: Efecto repelente del aceite esencial de Clavo, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

D) Análisis de los resultados de los tratamientos evaluados en la prueba de repelencia a los productos naturales evaluados

En esta prueba, se determinó que el aceite esencial de Eucalipto presentó la mayor repelencia, ya que provocó que los ácaros prefirieran posarse y alimentarse de las pupas que no fueron tratadas con el aceite esencial, en un tiempo de respuesta menor y con un efecto que se mantuvo por el periodo de 72 horas que duró la prueba, aunque con una ligera disminución progresiva; el efecto repelente del extracto de Nim, tiene una menor intensidad en comparación al efecto del aceite esencial de Eucalipto, ya que a las 24 horas el Nim presenta un nivel de repelencia similar al que tiene el Eucalipto después de 72 horas, es decir que el efecto repelente dura menos tiempo y es de menor intensidad. El efecto repelente del aceite esencial de Clavo es bastante bajo en comparación a los otros tratamientos, ya que el máximo efecto lo alcanza después de 8 horas de iniciado el experimento pero con valores que corresponden a los más bajos de los otros tratamientos evaluados.

Con base en los resultados de las pruebas realizadas, parece ser que el efecto que los aceites esenciales ejercen en la población de *Varroa* se deben tanto a toxicidad como a repelencia, ya que en la prueba de toxicidad dentro de cada unidad experimental había un grupo

de varroas que tenían alimento disponible y que fueron expuestas a la acción de los vapores de los aceites esenciales, resultando que en el caso del aceite esencial de Eucalipto y el extracto de Nim, la mortalidad fue del 100%, y del 70% respectivamente; mientras que en el caso del agua destilada la mortalidad ocasionada fue del 5%. De esta manera se deduce que la exposición a los vapores de los aceites esenciales parece ser la causa de la muerte de los ácaros, ya que la inanición quedaría descartada porque las pupas estaban en el mismo medio en el que se encontraban los ácaros, y si bien podría haberse presentado alguna interferencia del olor de los aceites esenciales en el hipotético mecanismo de detección de la hormona juvenil utilizado por *Varroa*, estos bien podrían haber encontrado a las pupas que les servirían de alimento al deambular por la caja petri; esta suposición se ve reforzada por el comportamiento de la mortalidad de los ácaros en los distintos tratamientos, lo que se puede apreciar claramente en el análisis gráfico en el que la mortalidad en los tratamientos de Eucalipto y Nim, se empieza a manifestar entre las 0.5 y 4 horas; contrastando con las 8 y 24 horas en que se manifiesta el efecto en los otros tratamientos, se puede excluir que un tiempo de 4 horas sea suficiente para que un ácaro que acaba de ser retirado de una celda en la que desarrollaba con normalidad su ciclo, muera por inanición.

El efecto repelente de los tratamientos también quedó demostrado con base en el comportamiento de los ácaros, los que prefirieron alimentarse de pupas de abeja que no habían sido tratadas; este efecto repelente puede incidir en la población de ácaros, ya que las varroas podrían optar por abandonar la colmena, aprovechando para esto su habilidad para la foresia.

8.2.4 Análisis de la eficacia de los tratamientos con aceites esenciales, usando gel como sustrato portador

Este análisis se hizo para conocer la eficacia de cada tratamiento con base a la relación existente entre el número máximo de ácaros que el tratamiento llegó a matar durante el tiempo de duración de la prueba y el número total de ácaros muertos por efecto de flumetrina, que se supone es el número total de ácaros que aún estaban presentes en las colmenas y que el tratamiento evaluado no llegó a eliminar durante el tiempo de duración de la prueba (Cuadro 19).

La mayor eficacia correspondió a la flumetrina (Bayvarol®) con un valor del 100% de eficacia, seguido por el ácido oxálico con una eficacia de 89.28%, seguido del aceite esencial de Eucalipto con una eficacia del 80 %, y en último lugar el extracto de Nim, con una eficacia del 53.62%. No se hizo este análisis a los tratamientos testigo con gel ni al tratamiento de gel con aceite esencial de Clavo, puesto que en estos tratamientos las poblaciones de ácaros en todo momento estuvieron en constante aumento durante la duración de la prueba, por ello se les asigna una eficacia del 0%.

Cuadro 19: Eficacia de los tratamientos que provocaron mortalidad del ácaro *Varroa*, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento	Promedio de varroas muertas por causa de los tratamientos	Promedio de varroas muertas por efecto del Bayvarol®	Porcentaje de eficacia del tratamiento
Gel + aceite esencial de Eucalipto	16	4	80
Gel + extracto de Nim	37	32	53.62
Ácido oxálico	25	3	89.28
Bayvarol®	2	0	100

9. CONCLUSIONES

1. Los tratamientos a base de extracto comercial de Nim, y de aceites esenciales de Clavo y Eucalipto no presentaron efecto tóxico en las abejas melíferas; por lo que se establece que las sustancias activas de estos tratamientos no presentan peligro para las abejas en las concentraciones evaluadas, por lo que es viable realizar pruebas encaminadas al control de *Varroa* utilizando estas sustancias.
2. El efecto tóxico de los tratamientos evaluados sobre las poblaciones de ácaros, se asocia directamente a la mortalidad provocada por los mismos en las unidades experimentales; de esta manera se obtuvo que el mayor efecto tóxico corresponde al aceite esencial de Eucalipto ubicado en la primera categoría Tukey provocando la muerte del 100% de varroas, en la segunda categoría se encuentra el extracto de Nim con una mortalidad asociada del 70%; y por último la tercera categoría corresponde al aceite esencial de Clavo con un 25% de mortalidad. El efecto repelente de los tratamientos se determinó con base en la tendencia de los ácaros a alejarse de las pupas tratadas y alimentarse de pupas sin tratar. Con base en dicha tendencia, el mayor efecto repelente corresponde al aceite esencial de Eucalipto, el cual mantuvo su elevado nivel de repelencia por un periodo mayor de tiempo; el extracto de Nim manifestó una repelencia menos intensa que el aceite esencial de Eucalipto y por un tiempo más corto; por último, la repelencia de los ácaros

hacia el aceite esencial de Clavo es la menos intensa de los tres tratamientos debido a que en el momento de mayor intensidad obtuvo valores similares a los alcanzados por los otros tratamientos después de 72 horas, que es cuando el aceite esencial de Eucalipto y el extracto de Nim manifestaron sus valores más bajos.

3. El aceite esencial de Eucalipto y el extracto comercial de Nim, no presentaron diferencia estadística al compararse sus resultados en el control de las poblaciones *Varroa*, con los resultados obtenidos mediante los tratamientos químicos tradicionales que son el ácido oxálico y la flumetrina. Los promedios de celdas infestadas obtenidos al final del experimento van de 0.05% correspondiente a la flumetrina hasta 1.67% correspondiente al extracto de Nim. Al realizar un análisis estadístico exclusivamente a los tratamientos a base de gel, se obtuvo que el máximo control corresponde al aceite esencial de Eucalipto y al extracto de Nim con una infestación promedio de celdas de 1.29% y 1.67% respectivamente; en una segunda categoría se ubicó el aceite esencial de Clavo con un control bajo sobre las poblaciones de ácaros (16.77% de celdas infestadas) pero si estadísticamente diferente a los tratamientos con únicamente gel y testigo absoluto, que presentaron un 19.17% y un 22.35% de celdas infestadas. El uso de aceite esencial de Clavo aplicado en colmenas mediante una gel portadora no es viable ya que su principio activo, el eugenol reacciona fuertemente con la gel formando una emulsión de color blanco, apariencia cremosa, y comportamiento corrosivo, la que si bien tiene un fuerte olor a Clavo no llega a realizar un control significativo en las poblaciones de ácaros, pese a que los resultados obtenidos si son estadísticamente diferentes a la evolución de la población de ácaros en el tratamiento testigo. De los tratamientos evaluados, la mayor eficiencia correspondió al aceite esencial de Eucalipto con un 80%, seguido por el extracto de Nim con una eficiencia de 53.62%; en relación a los tratamientos tradicionales Bayvarol® (100% de eficiencia) y ácido oxálico 89.28%.
4. Basado en el análisis estadístico de las pruebas de toxicidad en ácaros, y de repelencia a pupas tratadas, se estableció que el aceite esencial de Eucalipto y el extracto de Nim presentaron toxicidad y repelencia a los ácaros, efectos que difieren entre sí en intensidad. El aceite esencial de Clavo no presentó toxicidad para los ácaros, ya que en la prueba

respectiva no presentó diferencia estadística con los tratamientos testigo; concordando también con los bajos índices de repelencia obtenidos.

10. RECOMENDACIONES

1. El aceite esencial de Eucalipto aplicado mediante gel en las colmenas, presenta un efectivo control sobre las colonias del ácaro *Varroa*; por lo que se recomienda realizar estudios encaminados a determinar el tiempo óptimo necesario para la sustitución de la gel en las colmenas, tratando a la vez de prolongar el tiempo entre aplicaciones y disminuir así los costos derivados de los materiales utilizados en la preparación de las geles y de la mano de obra necesaria para las aplicaciones en el apiario.
2. El extracto de Nim presentó en este estudio propiedades para el control de *Varroa* evidentes, por ello se recomienda realizar investigaciones en las que se eleve la dosis de azadiractina a través de extractos comerciales con mayor contenido de la misma, o de la utilización del aceite de Nim puro; siempre realizando pruebas encaminadas a detectar las concentraciones de azadiractina que las abejas pudieran tolerar.
3. Para prolongar la vida útil de los tratamientos es necesario tomar en cuenta que puede trabajarse con factores como la cantidad de gel utilizada, y la superficie de la gel que queda expuesta al aire, ya que a mayor superficie expuesta mayor es la volatilización de los

aceites, y por el contrario con una menor superficie expuesta, la cantidad de aceite volatilizado es menor, pudiéndose prolongar de esta manera su efecto en la colmena.

4. Este estudio se desarrolló en un clima cálido, con una temperatura promedio anual de 24 grados centígrados, dentro de la zona de vida denominada Bosque muy Húmedo Sub-Tropical cálido; y los resultados deben tomarse con precaución al momento de querer implementar tratamientos con aceites esenciales para el control de *Varroa* en zonas con climas diferentes, especialmente en zonas con clima frío ya que la evaporación de los aceites esenciales es crucial en los tratamientos en los que se utiliza gel como sustrato portador.
5. Al momento de realizar pruebas que impliquen muestreo de celdas de abejas para establecer niveles de infestación, es crítico considerar el factor alimentación; si la alimentación artificial puede mantenerse constante durante los estudios o bien en la época hay abundante disponibilidad miel y polen debido a la floración, es factible utilizar la variable “celdas infestadas”; si la alimentación no es posible de ser controlada, es mejor utilizar las variables “varroas dentro de las celdas” o “varroas muertas en el piso de la caja”; esto debido a que cuando hay variaciones en la alimentación, las reinas modifican su postura por lo que hay una fuerte variación de las celdas con pupas disponibles para las varroas, pudiendo darse el fenómeno de pocas celdas con un elevado número de varroas en el interior, lo que desvirtuaría el uso de la variable “celdas infestadas”, pues habrían pocas celdas con muchas varroas cada una.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. APINETLA (Red Latinoamericana de Apicultura, AR). 2005. Varroasis (en línea). Argentina. Consultado 19 abr 2007. Disponible en <http://ww.apinetla.com.ar/ar/sanidad/Varroa.htm>
2. Arachavaleta-Velasco, ME; Guzmán Novoa, E. 2000. Producción de miel de colonias de abejas (*Apis mellifera* L.) tratadas y no tratadas con fluvalinato, contra *Varroa jacobsoni* en Valle Bravo, estado de México. Revista Mexicana de Veterinaria 31:381-384. Disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/rvm/vol31-04/RVM31413.pdf>
3. Chestofbooks.com. s.f. The volatile oils, cineol. Consultado 19 mar 2008. Disponible en: <http://chestofbooks.com/health/aromatherapy/The-Volatile-Oils-Vol1/Cineol.html>
4. Cruz, JR De la. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala, basada en el sistema de Holdridge. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p
5. Díaz, J. 2003. Temperatura versus *Varroa* (en línea). Buenos Aires, Argentina. Consultado 22 jul 2007. Disponible en: http://www.apicultura.entupc.com/nuestrarevista/nueva/notas/temp_vs_Varroa.htm
6. Epinosa, LG; Guzmán, E. 2007. Eficacia de dos acaricidas naturales, ácido fórmico y timol, para el control del acaro *V. destructor* de las abejas (*Apis mellifera* L.) en Villa Guerrero, Estado de México, México (en línea). Consultado 19 jun 2007. Disponible en: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/revvetmex/a2007/rvmv38n1/rvm38102.pdf>

7. Gómez, J; Molina, C. 2006. Exportaciones zoosanitarias, mayo 2006 (en línea). Guatemala, Revista Maga Actual (Julio 2006) 3(19):31. Consultado 12 mayo 2008. Disponible en: http://portal.maga.gob.gt/portal/page/portal/uc_csocial/documentos/Magactual_Julio06.pdf
8. Gonzáles, R; Otero, G; Villanueva, A; Pérez, J; Soto, R. 2003. Toxicidad y repelencia de *Azadirachta indica* contra *V. destructor* (en línea). México. Agrociencia 40:741-751. Consultado 29 jul 2007. Disponible en: www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2006/nov-dic/art-6.pdf
9. González Escobar, R. s.f. Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas: ventajas y desventajas de su uso. Cuba, Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos, Departamento de Investigaciones Biológicas. Consultado 13 jun 2008. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/est/vol39_2_02/Est05202.htm
10. INE (Instituto Nacional de Estadística, GT). 2003. IV censo nacional agropecuario: número de fincas censales, existencia animal, producción pecuaria y características complementarias de la finca censal y del productor(a) agropecuario. Guatemala. tomo 4. 1 CD.
11. Infoagro.com. 2007. Apicultura (en línea). España. Consultado 22 jul 2007. Disponible en: http://www.infoagro.com/agricultura_ecologica/apicultura.htm
12. Infojardin.com. 2007. Clavo de olor (en línea). Consultado 22 jul 2007. Disponible en: <http://fichas.infojardin.com/condimentos/syzygium-aromaticum-eugenia-caryophyllata-clavo-clavero.htm>
13. INSIVUMEH (Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología, GT). s.f. Tarjetas de registro meteorológicas de la estación Sabana Grande, Escuintla, Guatemala. Sin publicar.
14. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2006. Acuerdo Ministerial 495-2006 de fecha 11 de septiembre del 2006. Consultado el 12 de mayo del 2008. Disponible en: http://portal.maga.gob.gt/portal/page/portal/uc_unr/documentos/495_2006.pdf
15. _____. 2006. Informe semestral para la notificación de la ausencia o presencia de enfermedades de la lista de la OIE (en línea). Guatemala. Consultado 12 mayo 2008. Disponible en: http://portal.maga.gob.gt/portal/page/portal/uc_unr/documentos/informados2006.pdf
16. May-Itzá, WJ; Medina-Medina, L; Marrufo, J. 2006. Eficacia de un gel a base de timol en el control del ácaro *V. destructor* que infesta colonias de abejas *Apis mellifera*, bajo condiciones tropicales en Yucatán, México (en línea). Mérida, Yucatán, México, Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Consultado 17 mayo 2007. Disponible en: http://www.uady.mx/veterinaria/cuerpos/apicultura/ApiculturaWEB/WilliamMay/May_etal_2003_SAAA:PDF
17. Novartis.com.mx. 2008. Salud animal, apiguard (en línea). México. Consultado 24 abr 2008. Disponible en: <https://s.p8.hostingprod.com/@www.nsamex.com/ssl/public/apiguard.html>

18. Obiols del Cid, R. 1975. Mapa climatológico preliminar de la república de Guatemala: según el sistema Thornthwhite. Guatemala, Instituto Geográfico Nacional. Esc. 1:1,000,000. Color.
19. Olivares Sáenz, E. 1994. Paquete de diseños experimentales, FAUANL, versión 2.5. México, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía. 1 CD.
20. Padilla Cámara, TA. 2003. Evaluación del potencial hídrico en la microcuenca del río Cantil, para el aprovechamiento de las aguas subterráneas en la finca Sabana Grande, El Rodeo, Escuintla, Guatemala. Tesis MSc. Costa Rica, Universidad de Costa Rica, Manejo de Recursos Hídricos e Hidrogeología. 106 p.
21. Principal, J; D'Aubeterre, R. s.f. Variación en la tasa de infestación de *V. destructor* y su relación con el tamaño de la cría en colonias de *Apis mellifera* L (en línea). Estado de Lara, Colombia, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Estado Lara, Gaceta de Ciencias Veterinarias. Consultado jul 25 2007. Disponible en: http://pegasus.ucla.edu.ve/ccc/revista/Vol_9/infestaci%F3n%20de%20Varroa%20destructor%20.htm
22. Principal, J; D'Aubeterre, R; Virguez, G; Martínez, L; s.f. Esencia de eucalipto para controlar *V. destructor* en colonias de *Apis mellifera* L. (en línea). Estado de Lara, Colombia, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Estado Lara, Gaceta de Ciencias Veterinarias. Consultado ago 14 2007. Disponible en: http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/sanidad/109_esencia_eucaliptus.PDF
23. Programa de Apoyo a la Microempresa Rural de América Latina y el Caribe, US. 2004. Control de varroasis en apicultura. Chile. Consultado 16 mayo 2007. Disponible en: <http://www.promer.org/getdoc.php?docid=337>
24. Ramos, S. 2004. Aceite de nim un insecticida ecológico para la agricultura (en línea). Argentina. Consultado 22 mayo 2007. Disponible en: <http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/Nim/nim01.htm>
25. Ruiz, JA. s.f. Control de la *Varroa* con timol (en línea). Argentina, Centro Andaluz de Apicultura Ecológica. Consultado mar 19 2008. Disponible en: <http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/sanidad/control%20Varroa%20con%20timol.pdf>
26. Saeta, JM; Bulkacio, L; Giuliani, S. s.f. Incidencia del manejo sanitario de la colmena en la contaminación de la miel (en línea). Argentina, Universidad Nacional de Rosario, Facultad de Ciencias Agrarias, Revista Agromensajes. Consultado 16 jun 2007. Disponible en: <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/24/8AM24.htm>
27. Silva-Aguayo, G. s.f. Insecticidas vegetales (en línea). Chile, Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Consultado 6 mayo 2008. Disponible en: <http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/GsilvaSp.htm>
28. Sistema de Información de Biodiversidad, AR. s.f. Taxonomía para Eugenia (en línea). Argentina. Consultado 22 feb 2008. Disponible en: <http://www.sib.gov.ar/taxonomia/genero/eugenia>

29. Sociedad Argentina de Apicultores, AR. s.f. Apuntes sobre los principales productos utilizados, para el control del ácaro *Varroa* (en línea). Buenos Aires, Argentina. Consultado 16 jun 2007. Disponible en <http://www.sada.org.ar/Articulos/Tecnicos/remedios.htm>
30. USIG (USAC, Facultad de Agronomía, Unidad de Sistemas de Información Geográfica, GT). 2004. Mapas temáticos digitales de la finca Sabana Grande, a escala 1:5,000. Guatemala. Color. 1 CD
31. Vandame, R. 2001. Control alternativo de *Varroa* en apicultura. Chiapas, México, Colegio de la Frontera Sur, Proyecto Abejas de Chiapas. 30 p.
32. Vita Europe.com. s.f. Seguimiento de la resistencia a la varroasis (en línea). UE. Consultado abr 27 2008. Disponible en: http://www.vita-europe.com/Map_enscript/spanfrmbuilder.php?dateiname=%2Fes%2Fmonitoring.htm
33. Wikimedia.com 2007. Neem (en línea). Wisconsin, US. Consultado 22 abr 2007. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica
34. _____. 2007. Eucalipto (en línea). Wisconsin, US. Consultado 27 jul 2007. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus_globulus
35. _____. 2007. *Varroa* (en línea). Wisconsin, US. Consultado 22 abr 2007. Disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Varroa>
36. _____. 2008. Chemical structure of eugenol (en línea).). Wisconsin, US. Consultado 22 abr 2007. Disponible en http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eugenol_acsv.svg

12. ANEXOS

Cuadro 1A: Niveles de infestación de *Varroa* determinados mediante los muestreos realizados en las colmenas tratadas en el apiario de finca Sabana Grande, en el mes de julio del 2008 los valores corresponden a porcentaje de celdas infestadas, finca Sabana Grande, Escuintla, 2008.

Tratamiento: Aceite de eucalipto						
Colmena	C.I	P.M	S.M	T.M	C.M	Q.M
34	4.58	5.02	3.94	2.28	1.79	0.86
24	16.66	9.51	7.25	5.42	3.19	1.77
18	3.75	3.06	2.99	1.46	0.66	0.47
36	5.4	4	4.6	3.26	2.27	2.06
Promedio	7.60	5.40	4.70	3.11	1.98	1.29
Tratamiento: Extracto de nim						
Colmena	C.I	P.M	S.M	T.M	C.M	Q.M
9	3.84	3.28	2.61	2.04	1.65	1.05
6	4.65	5	4.01	3.29	2.63	1.58
5	5.55	5.16	3.76	2.91	1.67	1.06
33	7.82	7.49	6.65	5.01	4.28	3.01
Promedio	5.47	5.23	4.26	3.31	2.56	1.68
Tratamiento: Aceite de clavo						

Colmena	C.I	P.M	S.M	T.M	C.M	Q.M
23	2.84	3.39	5	7.63	9	12.16
11	3.15	5.47	7.95	11.14	11.82	17.17
2	4.15	6.18	11.23	14.93	15.49	18.23
10	3.22	4.26	7.47	9.29	13.84	19.54
Promedio	3.34	4.83	7.91	10.75	12.54	16.78
Tratamiento: Testigo absoluto						
Colmena	C.I	P.M	S.M	T.M	C.M	Q.M
4	4.58	5.77	7.89	11.57	18.52	22.04
20	3.26	4.12	5.75	9.08	14.25	19.1
26	5.88	8.21	11.33	13.26	16.42	22.57
25	11.92	14.33	16.89	19.21	23.6	25.7
Promedio	6.41	8.11	10.47	13.28	18.20	22.35
Tratamiento: Sustrato de gel						
Colmena	C.I	P.M	S.M	T.M	C.M	Q.M
32	4	5.77	8	11.23	14.62	18.64
7	5.12	7.22	9.08	12.95	15.39	21.56
15	5.61	6.24	7.95	9.59	12.5	17.1
21	7.94	11.17	14.04	16.65	18.07	19.4
Promedio	5.67	7.6	9.77	12.61	15.15	19.18
Tratamiento: Acido oxálico						
Colmena	C.I	P.M	S.M	T.M	C.M	Q.M
3	11.72	6.28	5.64	3.26	1.92	0.48
12	14.28	10.26	7.85	5.52	2.29	0.11
16	9.91	7.69	6.77	3.69	1.23	0.41
22	17.22	13.67	11.41	7.24	2.27	0.19
Promedio	13.28	9.48	7.92	4.93	1.93	1.19
Tratamiento: Bayvarol®						
Colmena	C.I	P.M	S.M	T.M	C.M	Q.M
13	15.22	10.56	6.62	2.99	0.66	0
19	9.56	8.35	4.27	1.64	0	0
24	19.63	12.96	7.49	3.36	1.12	0.22
35	14.57	9.14	6.21	2.18	0	0
Promedio	14.75	10.25	6.15	2.54	0.45	0.06

C.I = Censo Inicial
 P.M = Primer muestreo
 S.M = Segundo muestreo
 T.M = Tercer muestreo
 C.M = Cuarto muestreo

Q.M = Quinto muestreo