

Universidad Nacional
Sistema de Estudios de Posgrado (SEPUNA)
Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT)
Maestría en Apicultura Tropical (MAT)

*“Prevalencia y manejo integrado del ácaro Varroa destructor en
colmenas de abejas africanizadas”*

Ing. Agr. Xochitl Andrea Villegas Martínez

Trabajo presentado para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Cumple con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica.

Campus Presbítero Benjamín Núñez
Heredia, Costa Rica
Agosto, 2021

Tutores:

Natalia Fallas Matamoros, M.Sc.

Eduardo Umaña Rojas, M.Sc.

Asesores:

Rafael Ángel Calderón Fallas, PhD.

José Fernando Ramírez Arias, M.Sc.

Este trabajo se realizó bajo el auspicio del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), de la Universidad Nacional.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por ayudarme a cumplir esta meta.

Al personal del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales de la Universidad Nacional por el apoyo recibido durante mi estancia.

Al M.Sc. Luis Sánchez, por brindarme palabras de aliento cuando lo necesité y apoyarme en mis trámites migratorios.

Al comité de tesis: M.Sc, Fernando Ramírez Arias, Ph.D., Rafael Calderón Fallas, M.Sc. Natalia Fallas Matamoros y M.Sc. Eduardo Umaña por la disponibilidad, la entrega en el proyecto de graduación, y por sus valiosas recomendaciones que me encaminaron a ser una mejor profesional.

A Guillermo Ramírez Arias, por el acompañamiento durante la práctica profesional.

A mis compañeros de la VIII promoción, por su amistad.

A las abejas, que me enseñaron a volar y perseguir mis sueños.

RESUMEN

En este estudio se determinó la prevalencia y se evaluó la efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas durante el periodo de marzo a julio 2021. La prevalencia del ácaro varroa se determinó en apiarios del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) ubicados en Atenas, Alajuela y en colmenas de apicultores de otras zonas apícolas de Costa Rica, como Orotina, Miramar y Jicaral. Mientras que la efectividad del ácido oxálico en el manejo integrado de *V. destructor* se llevó a cabo en un apiario constituido por 16 colmenas, localizado en Atenas, Alajuela. El apiario se dividió en 4 grupos seleccionados al azar (A, B, C, D) de 4 colmenas cada uno. El grupo A fue tratado mediante goteo con 35 g de ácido oxálico, el grupo B recibió 100 g de ácido oxálico en goteo, mientras que en el grupo C se utilizaron toallas con glicerina impregnadas con 12 g de ácido oxálico. El grupo D correspondió al testigo, al cual no se le aplicó ácido oxálico. Para coleccionar los ácaros, se colocó una trampa en el fondo de cada colmena. Al final de los tratamientos, se aplicaron 2 tiras de formamidina para eliminar los ácaros remanentes y determinar la efectividad de los productos. Asimismo, se realizaron observaciones, tanto de la cría como de las abejas adultas, para identificar posibles efectos adversos del ácido oxálico sobre las colmenas. La mayor efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro varroa, se determinó mediante goteo con 35 g, la cual correspondió a un 89%. La aplicación de 100 g de ácido oxálico en goteo mostró una efectividad del 67%, en tanto, la aplicación de ácido oxálico mediante toalla con glicerina obtuvo un 61% de efectividad. Se debe resaltar, que el grupo testigo, mostró una alta mortalidad natural de ácaros. No se observaron, efectos adversos del ácido oxálico sobre las colmenas. En conclusión, el ácido oxálico mostró una efectividad de moderada a alta en el control del ácaro *V. destructor* en colmenas de abejas africanizadas bajo condiciones tropicales. El método de goteo, resultó más efectivo que el de toalla, sin embargo, requiere más visitas al apiario. Mientras que el método de toalla, necesita de una sola aplicación en las colmenas. Por lo anterior, el ácido oxálico puede ser considerado como una alternativa viable, en el manejo integrado del ácaro varroa en nuestras condiciones.

ÍNDICE

LISTA DE CUADROS	7
LISTA DE FIGURAS	8
I. INTRODUCCIÓN	9
1.1 Importancia de las abejas melíferas	9
1.2 Varroosis: agente causal, daños y manejo integrado	9
II. JUSTIFICACIÓN	11
III. OBJETIVOS	13
IV. MARCO TEÓRICO	14
4.1 Origen y distribución	14
4.2 Taxonomía del ácaro	14
4.3 Diagnóstico	15
4.3.1 Prevalencia	15
4.4 Control	16
4.4.1 Productos alternativos	16
4.4.2 Métodos de aplicación	17
4.4.3 Preparación del ácido oxálico	17
4.4.4 Época de aplicación y eficiencia del tratamiento	18
4.4.5 Efectos de ácido oxálico sobre el ácaro varroa	18
4.4.6 Efectos adversos del ácido oxálico sobre las abejas	18
4.4.7 Precauciones para los operarios	18
V. METODOLOGÍA	19
5.1 Ubicación geográfica	19
5.2 Método de muestreo	19
5.3 Prevalencia del ácaro varroa	19
5.4 Nivel de infestación	20
5.5 Manejo integrado del ácaro varroa con ácido oxálico	20

5.5.1 Preparación del ácido oxálico	21
5.6 Aplicación de ácido oxálico en las colmenas	22
5.7 Aplicación de acaricida de alta efectividad (producto de choque)	23
5.8 Colecta de ácaros	23
5.9 Efectividad de los tratamientos	23
5.10 Efectos secundarios del ácido oxálico	24
VI. RESULTADOS	25
6.1 Prevalencia	25
6.2 Control integrado del ácaro varroa con ácido oxálico	27
6.2.1 Efectividad de los tratamientos	28
a) Método de goteo 35 g/L de ácido oxálico	28
b) Método de goteo 100 g/L de ácido oxálico	29
c) Método toalla con glicerina	30
6.3 Colmenas testigo	31
6.4 Efectividad del tratamiento estimada mediante la evaluación de la infestación inicial y final del ácaro varroa en las colmenas	32
6.5 Comparación de la efectividad de los tratamientos	33
6.6 Comparación de la efectividad de los tratamientos estimada mediante la infestación inicial y final del ácaro varroa en las colmenas	33
6.7 Efectos secundarios del ácido oxálico	34
VII. DISCUSIÓN	35
7.1 Prevalencia	35
7.2 Manejo integrado del ácaro varroa	37
VIII. CONCLUSIONES	40
IX. RECOMENDACIONES	41
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Total de ácaros caídos por semana en cada tratamiento (n=15 colmenas)	29
Cuadro 2. Mortalidad de ácaros colectados durante la aplicación del ácido oxálico (35 g/L) en colmenas de abejas africanizadas (n= 4) en un periodo de 22 días (Promedio \pm ES).	30
Cuadro 3. Mortalidad de ácaros colectados durante la aplicación del ácido oxálico (100 g/L) en colmenas de abejas africanizadas (n= 4) en un periodo de 22 días (Promedio \pm ES).	31
Cuadro 4. Mortalidad de ácaros colectados durante la aplicación del ácido oxálico en toalla (12 g) en colmenas de abejas africanizadas (n= 3) en un periodo de 22 días (Promedio \pm ES).	32
Cuadro 5. Mortalidad natural de varroa en colmenas de abejas africanizadas (n= 4) en un periodo de 22 días (Promedio \pm ES).	33
Cuadro 6. Infestación inicial y final de las colmenas (n=15).	33
Cuadro 7. Porcentaje de efectividad de ácido oxálico en colmenas de abejas africanizadas (n=15).	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de la zona de estudio	20
Figura 2. Prevalencia del ácaro varroa en colmenas de abejas africanizadas (n= 47) ubicadas en Atenas, Orotina, Miramar y Jicaral.	26
Figura 3. Nivel de infestación de las colmenas con Varroosis (n=41)	27
Figura 4. Porcentaje de infestación del ácaro varroa en los apiarios muestreados (n= 7 apiarios). 95% IC para la media.	27
Figura 5. Porcentaje de infestación en apiarios del CINAT (n= 4 apiarios) 95% IC para la media.	28
Figura 6. Ácaros caídos en cuatro semanas con el método de goteo 35g de ácido oxálico (n=4)	29
Figura 7. Ácaros caídos en cuatro semanas con el método de goteo 100 g/L de ácido oxálico (n=4)	30
Figura 8. Ácaros caídos en cuatro semanas con el método de toalla (n=3)	31
Figura 9. Ácaros caídos en cuatro semanas en colmenas testigo (n=4)	32
Figura 10. Efectividad de los tratamientos con ácido oxálico en colmenas de abejas africanizadas (n=15).	34
Figura 11. Efectividad de los tratamientos en colmenas de abejas africanizadas (n= 15), evaluando la infestación inicial y final de las colmenas	35

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Importancia de las abejas melíferas

Las abejas melíferas realizan un servicio ecosistémico clave, esencial para una agricultura productiva sostenible y para el mantenimiento del planeta. Los servicios de polinización son obligatorios para la producción de cultivos como las cucurbitáceas (melón), mientras que los rendimientos de otros cultivos agrícolas, como el café se mejoran significativamente mediante la visita de las abejas a las flores. Un gran número de especies de plantas son polinizadas por abejas, incluyendo arándanos de alto arbusto, manzana y peras, almendras, cantalupo, entre otros. En un estudio de Sushil et al. (2013), se reportó que las abejas desempeñan un papel clave en el aumento de la producción de semillas de tres cultivos: brócoli, colirrábano y col china. La abeja melífera es de gran importancia económica en términos de aumento del rendimiento y la calidad de los cultivos comerciales, aunque también ayuda a los cultivos autopolinizados en el mundo. Se ha valorado que sin polinizadores podría disminuir en más del 90 % los rendimientos de algunas frutas, semillas y frutos secos, por lo que desde hace algunos años ha aumentado la preocupación sobre la salud de las abejas y, en consecuencia, sobre su impacto en la economía mundial.

1.2 Varroosis: agente causal, daños y manejo integrado.

Las poblaciones de abejas han estado en declive en América del Norte y Europa en los últimos años, con apicultores que rutinariamente pierden el 30 % de sus colonias administradas cada invierno durante. Se ha reportado que varios factores afectan la longevidad de las colonias de abejas melíferas, entre ellos las enfermedades. Se menciona que agentes patógenos de origen bacteriano, viral, fúngico, microsporidios y parásitos, afectan a las abejas, principalmente el ácaro *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) (Anderson & Trueman, 2000), el cual es un parásito forético obligatorio de las abejas *Apis mellifera*, que ocasiona una parasitosis externa denominada Varroosis.

La Varroosis afecta tanto a la cría (obrero o zángano) como a las abejas adultas (Ritter, 1984), ya que se alimenta (hemolinfa o cuerpo graso) de la abeja (larvas, pupas y adultos), debilitándola y ocasionándole serios problemas, como bajo peso corporal, deformación de las alas y el abdomen, pérdida de proteínas de la hemolinfa, disminución en el periodo de pecoreo, entre otros (Bott et al., 1995). Sin embargo, el daño más serio ocasionado por el ácaro varroa es la transmisión de agentes virales (actúa como vector), entre ellos, el virus que deforma las alas, el virus de la parálisis aguda y el virus Kashmir, los cuales causan una reducción en la longevidad de las obreras y disminución en la población de la colonia. Por lo anterior, la Varroosis se considera el principal problema sanitario de la apicultura a nivel mundial, debido a que, en la mayoría de los casos, las pérdidas económicas suelen ser considerables. Los daños provocados por el ácaro varroa van desde reducción en la producción de miel (Arechavaleta, 2000) hasta la pérdida total de la colonia (cuando la infestación llega a ser del 30 al 40 por ciento) (Franco, 2009). Por lo anterior, para contrarrestar los efectos negativos causados por la Varroosis, es necesario conocer la prevalencia (presencia y niveles de infestación), y estudiar el control en nuestras condiciones tropicales. Se debe indicar que tradicionalmente el control del ácaro varroa se ha basado en el uso de acaricidas químicos, como fluvalinato, flumetrina, bromopropilato, coumafos, tiazolina, amitraz, y clorfenvinfos, entre otros. Sin embargo, el abuso de estas moléculas y su aplicación inadecuada ha provocado el surgimiento de poblaciones de ácaros resistentes a estos compuestos, así como la presencia de residuos en productos de la colmena, como la miel y la cera. Actualmente, para evitar tales inconvenientes, se ha promovido el manejo integrado, el cual incluye el uso de sustancias naturales para el tratamiento de la Varroosis, tal es el caso de algunos aceites esenciales como el timol, mentol y eucaliptol. Además, del uso de ácidos orgánicos, como el ácido fórmico, el ácido láctico y más recientemente el ácido oxálico. Estos productos tienen un bajo o nulo efecto sobre la colonia de abejas, a la fecha no se ha reportado que el ácaro varroa desarrolle resistencia y, además, no se observan residuos en los productos que se obtienen de las abejas, por lo que pueden ser utilizados en la apicultura orgánica o ecológica (Silva,2006)

II. JUSTIFICACIÓN

La apicultura constituye una actividad de gran importancia, tanto para la economía de muchos productores apícolas en el mundo, como para el sostenimiento de los ecosistemas. Debido a la gran trascendencia que tienen las abejas, es necesario mantener siempre las colonias en condiciones óptimas, incluyendo, por supuesto, un buen estado sanitario. Existen diferentes agentes patógenos que amenazan la salud y la sobrevivencia de las colmenas, entre ellos el ácaro *V. destructor*, que fue detectado en Costa Rica el 26 de setiembre de 1997 (Calderón et al., 1998). Como se ha mencionado, este ácaro, puede llegar a causar un deterioro significativo en la salud de las abejas, como reducción del tiempo de vida de la abeja adulta, transmisión de virus que ocasionan malformaciones en las alas, patas, abdomen y de manera indirecta provoca cambios en el comportamiento y un incremento en la susceptibilidad a otras enfermedades (Calatayud y Verdú, 1997). El acaro varroa es una de las principales causas, por las que productores de diferentes regiones de Costa Rica, han indicado la pérdida de colmenas y una reducción en la producción de miel, lo cual indica que es un problema serio para la apicultura del país (Calderón, 2011). Sin embargo, una de las mayores limitantes para la producción apícola a nivel nacional y regional, es la ausencia de prácticas de manejo que incluyan programas de diagnóstico, control y prevención de las enfermedades de la cría y de las abejas adultas (Calderón y Ortiz, 2000). Así mismo, son pocos los reportes sobre la prevalencia y distribución de enfermedades de las abejas africanizadas en el país, por lo que es importante contribuir en este ámbito. Por ello es necesario estudiar la presencia y niveles de infestación del ácaro varroa en las colmenas, para realizar un manejo efectivo, con el fin de mantener un equilibrio homeostático de las colonias. Además, se debe enfatizar en el control integrado de la Varroosis, ya que, al no existir prácticas sanitarias de manejo integral, algunos apicultores no tienen precaución en los productos a utilizar, realizando en ciertos casos uso continuo de un sólo compuesto por periodos prolongados, lo que ocasiona que las poblaciones de ácaros desarrollen resistencia (Thompson et al., 2002). Por ello, en varias partes

del mundo los tratamientos orgánicos para el control de *V. destructor* son una alternativa viable para ser incorporados en los programas de rotación de productos, ya que estos han demostrado buena eficacia, bajo riesgo de contaminación y costos accesibles (SAGARPA, 2010).

Con base en lo anterior y con el fin de adquirir habilidades para enfrentar situaciones de esta índole y ofrecer al apicultor un apoyo técnico valioso, que contribuya al buen desarrollo de su actividad productiva, se realiza esta investigación sobre la prevalencia y el control integrado del ácaro varroa con ácido oxálico.

III. OBJETIVOS

- General

Determinar la prevalencia y la efectividad del ácido oxálico en el manejo integrado del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas en Atenas, Alajuela.

- Específicos
 1. Detectar la presencia del ácaro varroa y estimar el nivel de infestación en colmenas de abejas africanizadas para implementar su control.
 2. Medir la efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro *V. destructor* para su uso en colmenas de abejas africanizadas.
 3. Comparar la efectividad del ácido oxálico mediante goteo y toalla en el manejo integrado del ácaro varroa para establecer el método más conveniente.

IV. MARCO TEÓRICO

Como se mencionó, la Varroosis es una de las enfermedades más severas que afecta a la apicultura mundial, y es ocasionada por el ácaro *Varroa destructor*.

4.1 Origen y distribución

Este ácaro fue descubierto en el año 1904 por Jacobsoni en abejas asiáticas en la isla de Java. Más tarde, en el mismo año, fue descrito por Oudemans denominándolo *Varroa jacobsoni* (Bailey, 1984; Castillo, 1992; Ferrer et al. (1995) Posteriormente, fue reclasificado como *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) (Anderson y Trueman, 2000)

Actualmente, se conoce que existen dos especies de ácaros de varroa: *V. jacobsoni* Oud., que infesta a abejas *A. cerana* en la región de Malasia e Indonesia, y *V. destructor*, que infesta al hospedero natural *A. cerana* en Asia y también a *A. mellifera* en el resto del mundo (Zhang, 2000; Silva 2006). Lo anterior, con base en el estudio del mtDNA realizado por Anderson y Trueman (2000) con ácaros de varroa de distintas partes del mundo.

4.2 Taxonomía del ácaro

Phylum: Arthropoda

Subphylum: Chelicerata

Clase: Arachnida

Subclase: Acari

Orden: Mesostigmata

Familia: Varroidae

Género: Varroa

Especie: *Varroa destructor*

4.3 Diagnóstico

4.3.1 Prevalencia

Para determinar el nivel de infestación del ácaro *V. destructor* en colmenas se requiere tomar muestras de panal y abejas adultas.

Características de las muestras

Muestra de panal:

De cada colmena se selecciona un panal con cría sellada y se corta un pedazo de 10 x 10 cm. La muestra se envuelve en papel periódico y luego se coloca en un sobre de papel y se traslada al laboratorio. Se revisan un mínimo de 50 celdas y se establece un porcentaje de infestación: número de celdas infestadas/ número de celdas analizadas x 100.

Muestra de abejas adultas:

Se colectan 100 abejas adultas de la cámara de cría (interior de la colmena), en un frasco plástico de boca ancha. Para la conservación de las abejas, a cada frasco se le adiciona alcohol al 70%, de manera que las abejas queden cubiertas. A cada frasco se le indica la siguiente información: 1- Nombre del propietario 2- Lugar de la colecta 3- Nombre del apiario 4- Número de la colmena 5- Fecha de la colecta 6- Número de colmenas en el apiario 7- Observaciones generales. En observaciones generales, se describe algún síntoma observado en la colmena (ejemplo: muerte de abejas adultas, abejas con alas deformes) (Calderón et al., 2002)

Procedimiento de colecta y análisis:

1.- La muestra se toma mediante el contacto de la boca del frasco con las abejas del panal y se hace un movimiento vertical de arriba hacia abajo para capturarlas y cerrar el frasco. Durante este proceso se deberá tener el cuidado de no incluir a la reina.

- 2.- El frasco se llena con agua y se deposita 1.0 g de detergente.
- 3.- La muestra se agita vigorosamente durante 1 minuto. Posteriormente, se tamiza el contenido en un doble tamiz, para separar las abejas y que los ácaros sean retenidos (tamiz fino= pieza de tela blanca).
- 4.- Se cuenta el número de ácaros retenidos en la tela y el número de abejas muestreadas.
- 5.- El grado de infestación se calcula con base en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de infestación} = \frac{\# \text{ ácaros}}{\# \text{ de abejas adultas}} \times 100$$

4.3.2 Control

Existen tanto métodos químicos como orgánicos para el control de la Varroosis, que van desde piretroides, organofosforados, amidinas, hasta aceites esenciales y ácidos orgánicos. Apicultores de diversas partes del mundo prefieren el control químico por la rapidez de acción, fácil aplicación y fiabilidad de disminución y eliminación del ácaro varroa. Sin embargo, este método genera riesgos, como la contaminación de la miel y la acumulación de residuos tóxicos para las abejas, es por este motivo, que su aplicación se ve limitada a utilizarla después de la cosecha de miel, para evitar tales inconvenientes (Ritter, 1984). Además, se ha reportado que el ácaro varroa ha desarrollado resistencia a algunos piretroides como Apistan® (fluvalinato) y Bayvarol® (flumetrina).

4.4.1 Productos alternativos

Existen otras sustancias utilizadas para el control del ácaro varroa, conocidas como productos alternativos, entre los que se encuentran los ácidos orgánicos, como el ácido fórmico y el ácido oxálico, además de los aceites esenciales como el timol. Estos productos son de menor costo en comparación con los tratamientos químicos, son compatibles con la apicultura orgánica y el riesgo de contaminar la

miel es menor, ya que estas sustancias se encuentran en pequeñas cantidades en la miel en forma natural (May, 2004).

a. **Ácido oxálico**

El ácido oxálico es un ácido bicarboxílico de fórmula $H_2C_2O_4$. Su nombre deriva del género de plantas *Oxalis*, por su presencia natural en ellas, e incluso en la miel. Fue descubierto por Wiegleb en 1776 (Varela, 2016; Reyes, 2016). Su uso está restringido a los periodos sin flujo de néctar, para evitar la generación de niveles superiores a los contenidos naturales (Vandame et al., 2012).

Según Barbero et al. (1997), citado por Portales (2003), el tratamiento con este producto ha demostrado:

- Buena eficacia.
- Uso sencillo.
- Ser económico: tanto por su bajo precio, como por la rapidez y facilidad de aplicación.
- Bajo riesgo de toxicidad para el operario al aplicarlo por goteo, frente a la nebulización.

4.4.2 Métodos de aplicación

Existen tres formas de aplicación: por gasificación, mediante goteo, realizando tres aplicaciones de una mezcla con agua y azúcar, la cual ha demostrado una eficacia de hasta un 95 % (Mutinelli et al., 1996). Además de la aplicación en toallas de liberación lenta vehiculizado en glicerina grado alimenticio. Cabe mencionar que, por ser degradable, no contamina la miel (Vandame, 2000).

4.4.3 Preparación del ácido oxálico

La elaboración del ácido oxálico para el control del ácaro varroa es sencillo, ya que de acuerdo con Vandame (2000), se tiene que elaborar un jarabe como el que se utiliza para alimentar las colonias en época de escasez, es decir se debe mezclar el agua, el azúcar y el ácido oxálico. Para el método de goteo la dosis debe estar de acuerdo con las proporciones adecuadas (solución de ácido oxálico, azúcar y agua desmineralizada en una proporción de peso 1:10:10).

4.4.4 Época de aplicación y eficiencia del tratamiento.

Si el tratamiento se realiza en época de invierno, los resultados serán muy buenos ya que es el momento justo en el que la reina no se encuentra poniendo huevos, debido a las bajas temperaturas (Vandame, 2000). Así mismo, Massaccesi (2002) indica que el ácido oxálico se debe aplicar en ausencia de cría. Obteniendo en estas condiciones eficacias de hasta el 94.1% sin cría de abejas (Silva, 2006)

En condiciones de clima tropical, sería recomendable aplicarlo durante la época lluviosa, en la cual se reduce la cantidad de cría presente en las colmenas.

4.4.5 Efectos de ácido oxálico sobre el ácaro varroa

El ácido oxálico parece actuar por contacto y la presencia de azúcar en la solución reviste un papel importante como soporte, favoreciendo la acción del principio activo (Arculeo, 2000).

4.4.6 Efectos adversos del ácido oxálico sobre las abejas.

Bajo ciertas condiciones de invierno no definidas, el método por goteo puede incrementar la pérdida de abejas y debilitar la colmena en primavera (Charriere e Imdorf, 2002).

De igual manera, se ha observado un efecto de la concentración de azúcar en el jarabe sobre la tolerancia, ya que de acuerdo con Charriere e Imdorf (2002), una baja cantidad de azúcar en la solución incrementa la tolerancia por parte de las abejas al ácido, sin embargo, disminuye la eficacia del tratamiento.

4.4.7 Precauciones para los operarios.

El ácido oxálico es tóxico por ingestión, y cáustico por contacto e inhalación del vapor producido durante la preparación de la solución (Arculeo, 2000). También es posible una decoloración y fragilidad de las uñas, y posibles problemas de intoxicaciones crónicas (Barbero et al., 1997; Portales, 2003).

V. METODOLOGÍA

5.1 Ubicación geográfica

Para determinar la prevalencia del ácaro varroa (fase 1), se muestrearon colmenas de abejas africanizadas ubicadas en cuatro apiarios (Fig.1) pertenecientes al Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) en Atenas, Alajuela. Además, se analizaron colmenas de apicultores en otras zonas del país, como Orotina, Miramar y Jicaral. Mientras que la investigación sobre el manejo integrado con ácido oxálico (fase 2), se realizó en 16 colmenas del apiario de Cebadilla, Atenas.

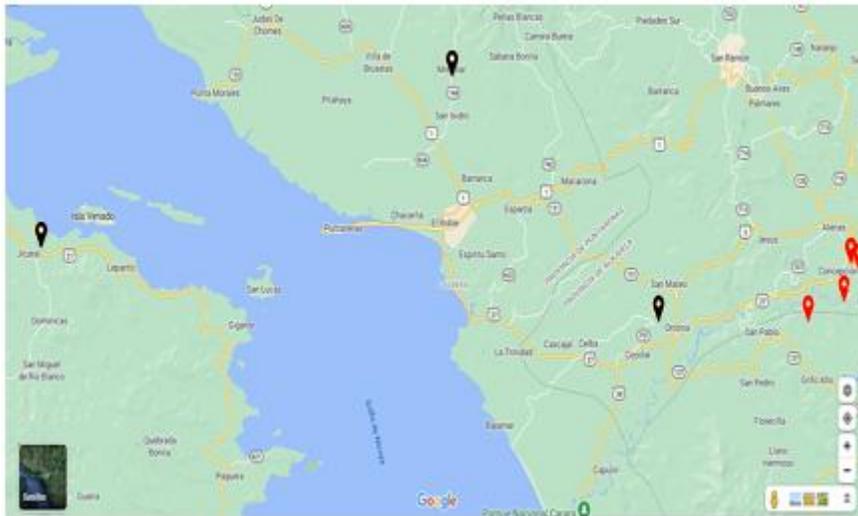


Figura 1. Ubicación de los apiarios involucrados en el estudio (en negro: apiarios comerciales; en rojo: apiarios del CINAT)

5.2 Método de muestreo

El estudio se realizó en dos fases. La fase 1 correspondió a determinar la prevalencia (presencia y nivel de infestación) del ácaro varroa (enero a abril). En la segunda fase, se evaluó el control integrado de ácaro varroa mediante la aplicación del ácido oxálico (mayo a agosto).

5.3 Prevalencia del ácaro varroa

Para determinar la prevalencia del ácaro varroa se muestrearon abejas adultas de 47 colmenas.

Para realizar el muestreo, se eligió de manera aleatoria aproximadamente la mitad (el 50%) de las colmenas del apiario, orientando el muestreo a las colmenas ubicadas en el centro, y aquellas de los extremos (Calderón y Sánchez 2011).

De cada colmena, se colectó una muestra de aproximadamente 75 a 100 abejas adultas de la cámara de cría (interior de la colmena); tomando un panal cubierto con abejas y deslizando sobre el panal un frasco de boca ancha. Para la conservación de las muestras, a cada frasco se le adicionó alcohol al 70%, de manera que las abejas quedaron cubiertas. Cada frasco se rotuló debidamente, incluyendo los siguientes datos: nombre del propietario del apiario, lugar de la colecta de las muestras, nombre del apiario, número de colmena de la que se toma la muestra, fecha de la colecta, número de colmenas en el apiario y observaciones generales (descripción de algún síntoma observado en la colmena) (Calderón y Sánchez, 2011). Las muestras de abejas se trasladaron al Laboratorio de Patología Apícola del CINAT para su análisis y la determinación del nivel de infestación de las colmenas.

5.4 Nivel de infestación

Para evaluar el nivel de infestación del ácaro varroa en abejas adultas, se utilizó el método de tamizaje. A la muestra de 75-100 abejas se le agregó una solución jabonosa (300 ml de agua más 0.5 g de detergente en polvo), la cual se agitó por un minuto para separar los ácaros del cuerpo de las abejas. El líquido se filtró a través de un cedazo de ocho agujeros por pulgada para separar las abejas. Luego, el líquido filtrado se tamizó por segunda vez a través de un cedazo fino, donde quedaron retenidos los ácaros. Se cuantificaron tanto los ácaros como las abejas, reportando el nivel de infestación de la muestra como un porcentaje, obtenido mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de infestación} = \frac{\# \text{ ácaros}}{\# \text{ de abejas adultas}} \times 100$$

5.5 Manejo integrado del ácaro varroa con ácido oxálico

Para el control del ácaro varroa con ácido oxálico se utilizó un apiario ubicado en Cebadilla, Atenas (Fig.1), conformado por 16 colmenas de abejas africanizadas. Las cuales se dividieron de manera aleatoria en cuatro grupos de 4 colmenas como se detalla a continuación:

- Grupo uno: aplicación de ácido oxálico mediante goteo (35.0 g).
- Grupo dos: aplicación de ácido oxálico mediante goteo (100.0 g).
- Grupo tres: aplicación de ácido oxálico a través de toallas con glicerina (12.0 g).
- Grupo cuatro: colmenas testigo (sin aplicación de ácido oxálico).

5.5.1 Preparación del ácido oxálico

Se llevó a cabo en el laboratorio de Patología Apícola, de acuerdo con la metodología a utilizar para cada tratamiento.

Preparación del ácido oxálico en goteo (35.0 g): Se formuló la mezcla de ácido oxálico, agua destilada y azúcar con las siguientes proporciones: 35g AO + 1L H₂O destilada + 1kg de azúcar. Se disolvió el azúcar en un litro de agua y luego se agregó el ácido oxálico, agitando por unos segundos.

Preparación del ácido oxálico en goteo (100.0 g): Se formuló una mezcla de ácido oxálico, agua destilada y azúcar con las siguientes proporciones: 100 g AO + 2 L H₂O destilada + 1kg de azúcar. Se disolvió el azúcar en un litro de agua y luego se agregó el ácido oxálico, agitando por unos segundos. El volumen de la solución se ajustó a 2 L con agua destilada.

Preparación del ácido oxálico en toallas (12.0 g): Se realizó una mezcla de ácido oxálico, agua destilada y glicerina grado alimenticio, humedeciendo las 4 toallas (pañños limpiadores multiusos).

De acuerdo con la metodología de Oliver (2017), se indica que, por cada toalla multiusos, se requiere 12 gramos de ácido oxálico, 13 mililitros de glicerina de grado alimenticio y 10 mililitros de agua destilada. Preparándolas de la siguiente manera (para 4 toallas):

- Se midieron 52 mililitros de glicerina grado alimenticio, y se calentó de 60 a 70 °C, midiendo con un termómetro para no sobrepasarla (temperaturas más altas pueden provocar degradación del ácido oxálico).
- Se añadieron 48 gramos de ácido oxálico y 40 mililitros de agua destilada se movieron en la glicerina caliente hasta que se disolvió el ácido oxálico completamente (si la mezcla se llega a enfriar se puede recalentar, pero sin llegar a la ebullición).
- Se dividió el volumen total en cuatro dosis y se humedeció cada toalla con la solución caliente por separado. Las toallas no se escurrieron.
- El peso final de cada toalla fue de aproximadamente 50 gramos.

Las toallas tuvieron un tamaño de 19 cm x 19 cm, con el fin de mantener la movilidad de las abejas dentro de la colmena.

Colmenas testigo: Al grupo de cuatro colmenas testigo, no se les aplicó ácido oxálico. Únicamente se colectaron los ácaros que cayeron en las trampas de manera natural durante el periodo de tratamiento.

5.6 Aplicación de ácido oxálico en las colmenas.

-Grupo uno: aplicación de ácido oxálico mediante goteo (35.0 g):

Se aplicaron 5 ml de ácido oxálico sobre el cabezal de cada marco ocupado por abejas (Vandame, 2000), usando como dispensador una jeringa. Se realizaron tres aplicaciones de ácido oxálico por goteo a cada colmena con un intervalo de una semana entre aplicaciones.

-Grupo dos: aplicación de ácido oxálico mediante goteo (100.0 g).

Se aplicaron 5 ml de ácido oxálico por cada marco ocupado por abejas, en el espacio entre marcos, usando como dispensador una jeringa. Se efectuaron tres aplicaciones de ácido oxálico por goteo a cada colmena con un intervalo de una semana.

-Grupo tres: la aplicación de ácido oxálico se hizo a través de toallas con glicerina (12.0 g).

Se colocó una toalla sobre los marcos de cada colmena, durante un periodo de 15 a 22 días. Se realizó una sola aplicación.

5.7 Aplicación de acaricida de alta efectividad (producto de choque)

En la quinta semana (posterior a la aplicación del ácido oxálico), se realizó la aplicación de un tratamiento de choque a los tres grupos. Se utilizó 2 tiras de Amitraz (grupo químico: formamidina; efectividad reportada de un 99%) como producto acaricida de alta eficiencia comprobada. El acaricida se aplicó durante un periodo de 4 semanas, con la finalidad de eliminar los ácaros remanentes y establecer el porcentaje de efectividad de los tratamientos.

5.8 Colecta de ácaros

Para coleccionar los ácaros durante los tratamientos, se colocó una trampa en el piso de cada colmena. Esta trampa consistió en un fondo de madera (50 x 42 cm), cubierto con un cedazo metálico en la parte superior, con un tamaño del tamiz de 6 agujeros por cm², el cual permitió el paso de los ácaros, y a su vez impidió que las abejas los remuevan. En el interior de cada trampa, se colocó una lámina de cartulina blanca impregnada con vaselina y previamente cuadrículada para facilitar el conteo de los ácaros. Para no perturbar las abejas, la cartulina se introdujo por la parte posterior de la colmena. La cartulina de cada colmena se reemplazó una vez por semana y se trasladaron al Laboratorio de Patología Apícola del CINAT, donde se realizó el conteo y registro de los ácaros (Calderón, 2019)

5.9 Efectividad de los tratamientos

El conteo de los ácaros se utilizó para determinar la efectividad de los tratamientos con ácido oxálico. Para calcular la efectividad de cada uno de los tratamientos se utilizó la siguiente fórmula.

$$\textit{Porcentaje de efectividad} = \frac{\textit{(Total de ácaros caídos con toalla o goteo)}}{\textit{Total de ácaros caídos en la colmena}} \times 100$$

Total de ácaros caídos en la colmena: corresponde a los ácaros caídos con el ácido oxálico y con el producto de choque (Amitraz).

Además, se utilizó la siguiente fórmula con el fin de medir la efectividad, tomando como parámetros la infestación inicial y final de las colmenas.

$$\textit{Porcentaje de efectividad} = \frac{(\% \text{ de infestación inicial} - \% \text{ de infestación final})}{\% \text{ infestación inicial}} \times 100$$

El porcentaje de infestación inicial y final se evaluaron en abejas adultas de las colmenas al inicio del estudio y al finalizar la aplicación del ácido oxálico. Se debe aclarar, que este es un método alternativo para medir efectividad, en aquellos casos que no se cuente con un producto de choque.

5.10 Efectos secundarios del ácido oxálico sobre las colmenas

Según Charriere e Imdorf (2002), la aplicación del ácido oxálico puede tener un efecto nocivo sobre la colonia de abejas. Por lo que, durante su aplicación, se evaluaron de manera general algunos posibles efectos secundarios, como la mortalidad de abejas adultas y la evasión de colmenas.

VI. RESULTADOS

Para determinar la presencia del ácaro varroa se analizaron un total de 47 muestras de abejas adultas. La mayoría de las muestras de abejas correspondió a los apiarios pertenecientes al CINAT, ubicados en las provincias de Alajuela y San José. Las muestras restantes fueron de apicultores de las provincias de Alajuela y Puntarenas.

Para cuantificar la prevalencia del ácaro *V. destructor* se presentan los siguientes gráficos, basados en una proporción mediante el método estadístico de Chi-cuadrado y pruebas ANOVA.

6.1 Prevalencia

De las muestras de abejas adultas analizadas (n=47), un 87.3% resultaron positivas a Varroosis (Fig.2).

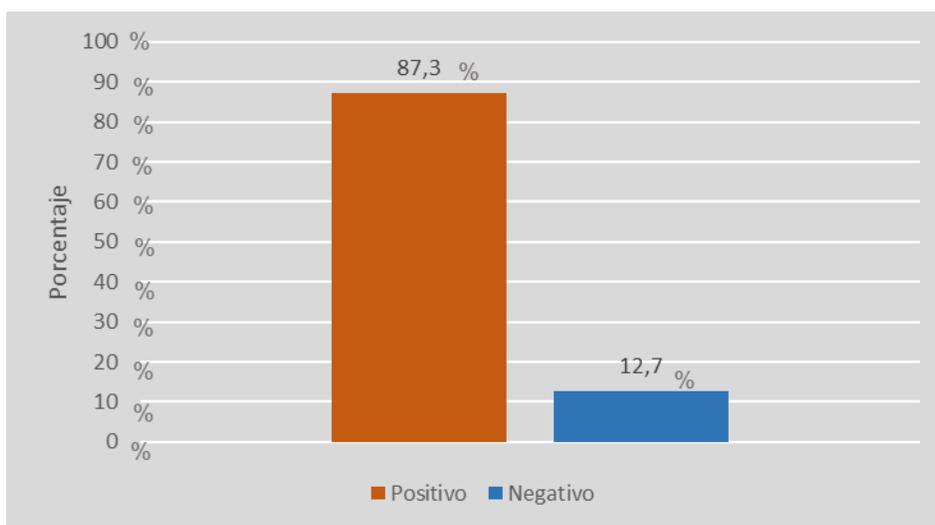


Figura 2. Prevalencia del ácaro varroa en colmenas de abejas africanizadas (n= 47) ubicadas en Atenas, Orotina, Miramar y Jicaral.

Las colmenas con presencia de Varroosis, presentaron diferentes niveles de infestación (Fig.3). Un 75.6% de las muestras correspondió al nivel leve (31 colmenas), mientras que en el nivel moderado se determinaron 5 colmenas (12.2%), al igual que en el nivel fuerte (12.2%).

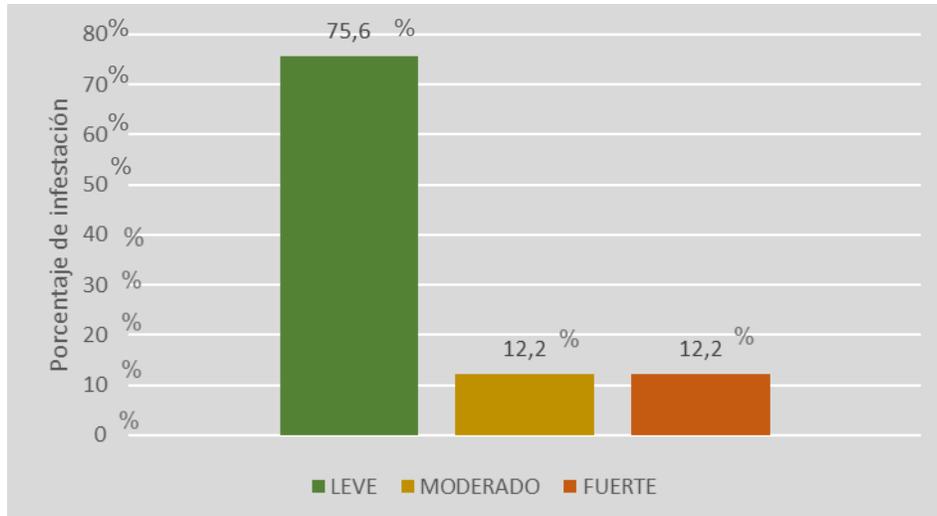


Figura 3. Nivel de infestación de las colmenas con Varroosis (n=41)

Los apiarios de Orotina, Jicaral y Miramar presentaron un nivel de infestación leve, mientras que los apiarios del CINAT presentaron un mayor porcentaje de infestación. Específicamente, los apiarios de Balsilla, Cebadilla y Tajo, mostraron un nivel de infestación moderado (Fig. 4).

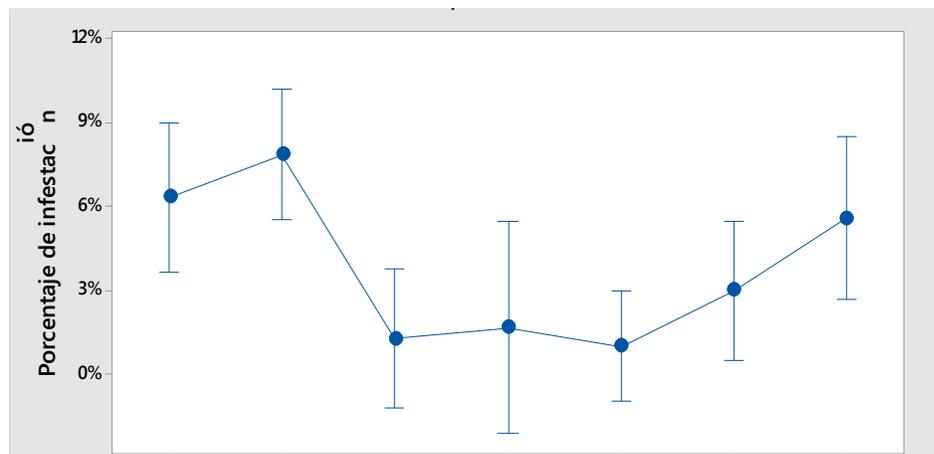


Figura 4. Porcentaje de infestación del ácaro varroa en los apiarios muestreados (n= 7 apiarios). 95% IC para la media.

Se debe indicar que la mayoría de colmenas muestreadas en los apiarios del CINAT, resultaron positivas a Varroosis (n= 26). En el análisis comparativo de medias (Fig. 5), los apiarios que resultaron con un nivel moderado de infestación son Balsilla (6%), Cebadilla (8%) y Tajo, Atenas (6%), mientras que Rio Grande presentó un nivel leve de infestación (3%).

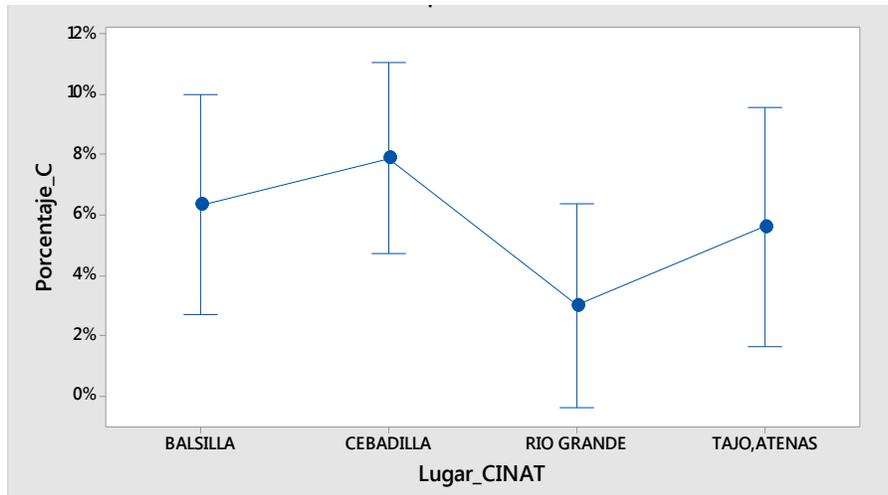


Figura 5. Porcentaje de infestación en apiarios del CINAT (n= 4 apiarios) 95% IC para la media.

En los apiarios del CINAT, se esperaban niveles leves de infestación del ácaro varroa, ya que las colmenas se observaron fuertes (población alta de abejas adultas), sin embargo, son las colmenas que presentaron el mayor porcentaje de infestación.

6.2 Control integrado del ácaro varroa con ácido oxálico

El estudio se realizó en colmenas de abejas africanizadas ubicadas en el apiario de Cebadilla, Atenas. Inicialmente se utilizaron 16 colmenas, divididas en cuatro grupos de 4 colmenas cada uno. Al finalizar la investigación se consideraron los datos de 15 colmenas, ya que una de ellas eliminó los ácaros caídos en las trampas, debido al comportamiento de limpieza de las abejas, afectando el conteo de ácaros y con ello la obtención de los datos.

Durante tres semanas se aplicó ácido oxálico mediante tres métodos (goteo 35g/L, goteo 100 g/L/L y en toalla con glicerina); en la cuarta semana se muestrearon ácaros bajo el efecto residual del ácido oxálico (Cuadro 1).

Cuadro 1. Total de ácaros caídos por semana en cada tratamiento (n=15 colmenas)

ÁCAROS CAÍDOS POR SEMANA (n=15)					
TRATAMIENTO	COLMENA	ACAROS CAÍDOS POR SEMANA			
SEMANA		1	2	3	4
GOTEO 35 g/L	1	139	26	4	11
	5	1	15	0	0
	12	15	7	7	3
	15	281	9	7	0
GOTEO 100 g/L	2	535	197	791	25
	7	5	5	7	3
	10	2	3	1	0
	16	24	1	0	0
TOALLA	4	29	0	0	0
	8	36	138	57	41
	13	424	287	84	23
TESTIGO	3	106	277	24	3
	9	6	0	1	1
	11	270	114	16	1
	14	2	3	0	0

6.2.1 Efectividad de los tratamientos

Las colmenas tratadas con ácido oxálico mostraron fluctuaciones en la caída de ácaros durante el periodo de muestreo.

a) Método de goteo 35 g/L de ácido oxálico

En la figura 6, se puede observar la cantidad de ácaros caídos en las cuatro colmenas del tratamiento 1, donde se utilizó el método de goteo con 35 gramos de ácido oxálico. La mayor cantidad de ácaros caídos (281), se registró al día 1 en la colmena 15.

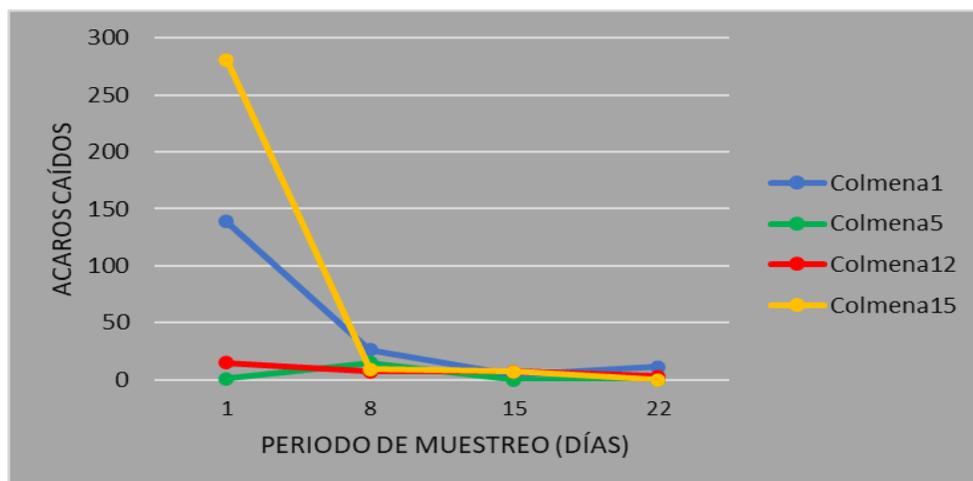


Figura 6. Ácaros caídos en cuatro semanas con el método de goteo 35g de ácido oxálico (n=4).

El promedio de ácaros caídos en las colmenas tratadas con 35 gramos de ácido oxálico correspondió a 132 ± 102 ($n= 4$). Un 83% fueron eliminados durante la primera semana de tratamiento (cuadro 2), con un promedio de 109 ± 65 ácaros por colmena. A los 8 días de muestreo, se observó una reducción en la colecta de ácaros de varroa, con 14 ± 4 mientras que en el día 15 se obtuvo una mortalidad de 5 ± 2 ácaros hasta conseguir una disminución al día 22 con 4 ± 3 .

Cuadro 2: Mortalidad de ácaros colectados durante la aplicación del ácido oxálico (35 g/L) en colmenas de abejas africanizadas ($n= 4$) en un periodo de 22 días (Promedio \pm ES).

Periodo de muestreo (Días)	1	8	15	22	TOTAL	AMT	EFFECTIVIDAD
Ácaros caídos	109 ± 65	14 ± 4	5 ± 2	4 ± 3	132 ± 102	17 ± 8	89%

Posteriormente, al aplicar la formamidina (Amitraz[®]) se eliminaron 17 ± 8 ácaros. Considerando la caída total de ácaros, se puede indicar que la efectividad de 35 gramos de ácido oxálico en el tratamiento del ácaro *V. destructor* en colmenas de abejas africanizadas correspondió a un 89,0% (Cuadro 2).

b) Método de goteo 100 g/L de ácido oxálico

Durante las cuatro semanas de muestreo, las colmenas del tratamiento 2 (goteo 100 gramos), presentaron variación en la caída de ácaros. En la figura 7, puede observarse que la colmena 2 presentó el mayor registro de ácaros caídos durante el día 15 de aplicación, con 791 individuos.

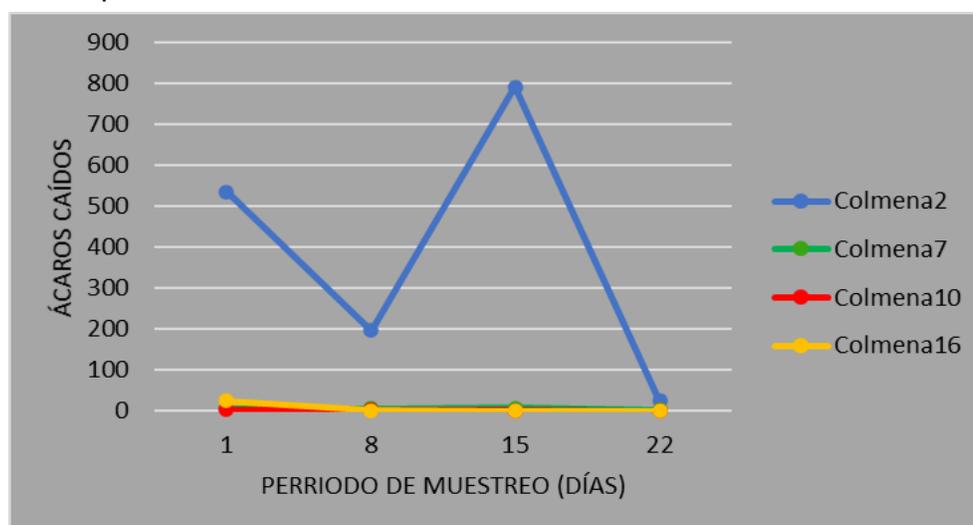


Figura 7. Ácaros caídos en cuatro semanas con el método de goteo 100 g/L de ácido oxálico ($n=4$).

Estas colmenas tuvieron un promedio de caída de ácaros de 401 ± 174 ($n= 4$). El 50% de éstos se eliminaron en la tercera semana del tratamiento (día 15), con un promedio de 200 ± 197 (cuadro 3). No obstante, durante el primer día se observó una caída significativa de ácaros, con un promedio de 142 ± 131 ; mientras que al día 8 (segunda semana) mostró una mortalidad de 52 ± 49 y en el día 22 se obtuvo una disminución de ácaros con 7 ± 6 .

Cuadro 3: Mortalidad de ácaros colectados durante la aplicación del ácido oxálico (100 g/L) en colmenas de abejas africanizadas ($n= 4$) en un periodo de 22 días (Promedio \pm ES).

Periodo de muestreo (Días)	1	8	15	22	TOTAL	AMT	EFFECTIVIDAD
Ácaros caídos	142 ± 131	52 ± 49	200 ± 197	7 ± 6	401 ± 174	196 ± 96	67%

Al aplicar la formamidina (Amitraz[®]) se eliminaron 196 ± 96 ácaros. Tomando en cuenta la caída total de ácaros, se puede indicar que la efectividad de 100 gramos de ácido oxálico en el manejo integrado del ácaro varroa en colmenas de abejas africanizadas, fue de un 67,0% (Cuadro 3).

c) Método toalla con glicerina

Las colmenas del tratamiento 3 (fig.8), en el que se utilizaron toallas con glicerina como método de aplicación del ácido oxálico, tuvieron una considerable caída del ácaro varroa. En la colmena 13 se observó la mayor mortalidad de ácaros (424) durante el día 1.

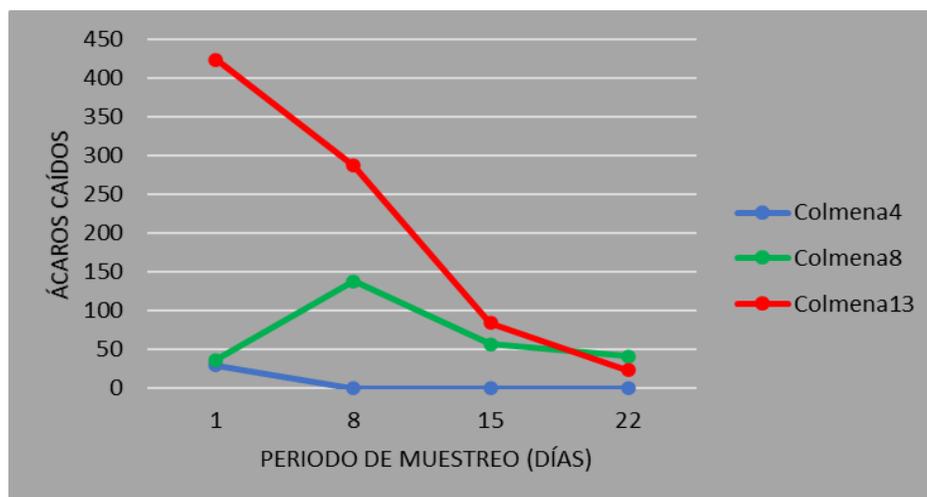


Figura 8. Ácaros caídos con el método de toalla de ácido oxálico ($n=3$).

En este tratamiento (n=3) se obtuvo un promedio de 373 ± 104 (cuadro 4). Durante el primer día de tratamiento se eliminaron 44% de los ácaros, teniendo un promedio de 163 ± 131 ; observándose una disminución de ácaros al día 8, con 142 ± 83 . Mientras que en la tercera semana (día 15), se obtuvo un promedio de 47 ± 25 , finalmente en el día 22 (cuarta semana) la reducción de ácaros fue de 21 ± 12 .

Cuadro 4: Mortalidad de ácaros colectados durante la aplicación del ácido oxálico en toalla (12 g) en colmenas de abejas africanizadas (n= 3) en un periodo de 22 días (Promedio \pm ES).

Periodo de muestreo (Días)	1	8	15	22	TOTAL	AMT	EFFECTIVIDAD
Ácaros caídos	163 ± 131	142 ± 83	47 ± 25	21 ± 12	373 ± 104	235 ± 195	61%

Al aplicar el producto de choque (Amitraz[®]) se eliminaron 235 ± 195 ácaros. Con base en lo anterior, se puede indicar que la efectividad del método de aplicación de ácido oxálico en toalla en el control integrado del ácaro varroa en colmenas de abejas africanizadas, fue de un 61,0 % (Cuadro 4).

6.3 Colmenas testigo

Los ácaros caídos en las colmenas testigo se detallan en la figura 9. La colmena 3 obtuvo el mayor número de ácaros de varroa, con 277 en el día 8.

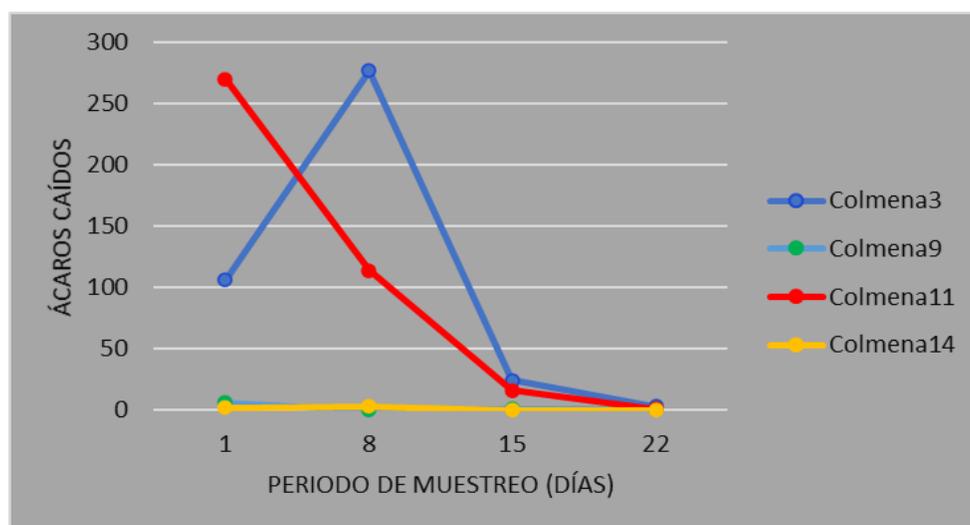


Figura 9. Ácaros caídos en cuatro semanas en colmenas testigo (n=4)

La mortalidad fue de 206 ± 106 ácaros durante un periodo de 22 días (cuadro 5). La mayor cantidad de ácaros se registró en el día 8, colectándose 99 ± 65 ($n=4$), mientras que la menor cantidad se obtuvo en el día 22 de muestreo con 1 ± 0.6 ácaros.

Cuadro 5: Mortalidad natural del ácaro varroa en colmenas de abejas africanizadas ($n= 4$) en un periodo de 22 días (Promedio \pm ES).

Periodo de muestreo (Días)	1	8	15	22	TOTAL	AMT	MORTALIDAD
Ácaros caídos	96 ± 63	99 ± 65	10 ± 6	1 ± 0.6	206 ± 106	47 ± 30	81 %

Al aplicar el producto de choque (Amitraz®), se eliminaron 47 ± 30 ácaros remanentes en las colmenas testigo.

Con base en lo anterior, se debe mencionar que el porcentaje de ácaros caídos en forma natural correspondió a un 81% de los ácaros presentes en las colmenas.

6.4 Efectividad del tratamiento estimada mediante la evaluación de la infestación inicial y final del ácaro varroa en las colmenas.

Para estimar la efectividad de los tratamientos mediante este método, se obtuvo el porcentaje de infestación inicial y final en muestras de abejas adultas de 15 colmenas (Cuadro 6). Lo anterior para comparar con los resultados obtenidos mediante el método de conteo de ácaros caídos

Cuadro 6. Infestación inicial y final de las colmenas ($n=15$).

TRATAMIENTOS	INFESTACIÓN INICIAL	INFESTACIÓN FINAL
Goteo 35 g	11.0	5.0
Goteo 100 g	10.0	5.0
Toalla	7.0	9.0
Testigo	5.25	5.0

Como se observa en el cuadro 6, hubo una disminución en el porcentaje de infestación de las colmenas al finalizar la aplicación del ácido oxálico, por

consiguiente, se calculó el porcentaje de efectividad con los distintos métodos de aplicación (Cuadro 7).

Cuadro 7: Porcentaje de efectividad de ácido oxálico en colmenas de abejas africanizadas (n=15)

Tratamiento	Goteo 35g/L	Goteo 100 g/L	Toalla
Porcentaje de efectividad	50%	44%	30%

Adicionalmente, se obtuvo que la infestación final de varroa fue de 5%, lo que contrasta con la mortalidad natural resultante (81%) con la metodología aplicada utilizando el producto de choque (cuadro 5).

6.5 Comparación de la efectividad de los tratamientos.

Los tratamientos aplicados en las colmenas de abejas africanizadas (n=15) utilizadas en el presente estudio obtuvieron distintos porcentajes de efectividad. El método más efectivo de acuerdo con los datos registrados fue el método de goteo con 35 g/L de ácido oxálico (Fig.10), obteniendo un 89% de efectividad, seguido del método de goteo 100 g/L y toalla, con 67% y 61% de efectividad respectivamente.

6.6 Comparación de la efectividad de los tratamientos estimada mediante la infestación inicial y final del ácaro varroa en las colmenas.

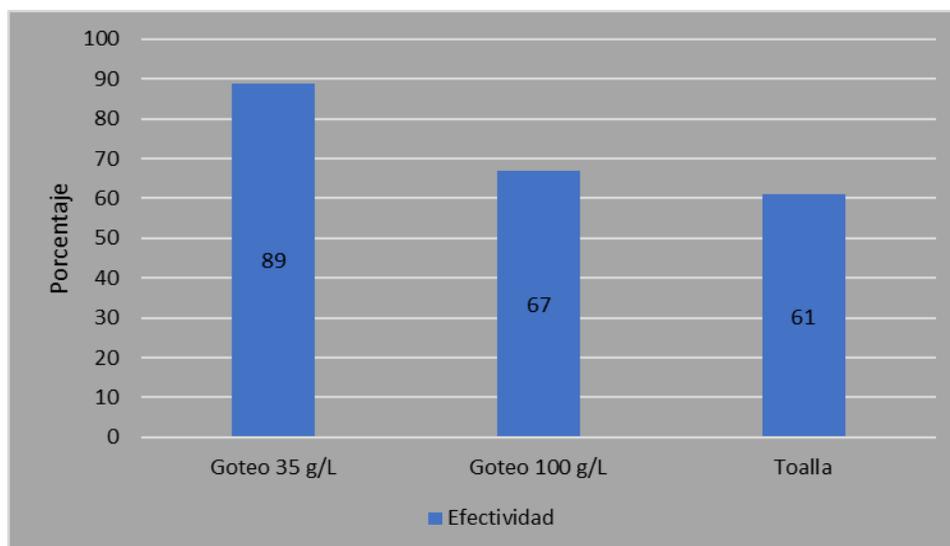


Figura 10. Efectividad de los tratamientos con ácido oxálico mediante goteo y toalla en colmenas de abejas africanizadas (n=15).

Utilizando la infestación inicial y final del ácaro varroa en colmenas de abejas africanizadas (n=15), se determinó de igual manera que el método de goteo de 35 g/L fue el más efectivo para el control de la Varroosis, con un 50% de efectividad (Fig.11). Mientras que el método de goteo 100 g/L obtuvo un 44% y la toalla con glicerina un 30% de efectividad en el control del ácaro varroa.

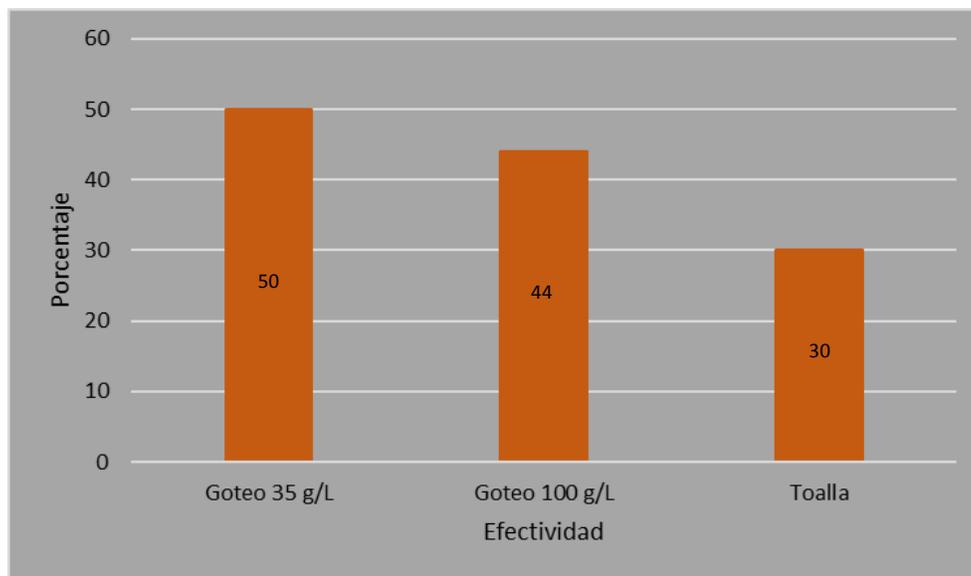


Figura 11. Efectividad de los tratamientos en colmenas de abejas africanizadas (n= 15), evaluando la infestación inicial y final de las colmenas.

6.7 Efectos secundarios del ácido oxálico.

En el presente estudio no se determinaron efectos secundarios del ácido oxálico sobre las colmenas. En general, las colmenas se observaron con un desarrollo normal de la población de abejas adultas y de la cría. Además, no se observó mortalidad de abejas, ni la evasión de colmenas.

VII. DISCUSIÓN

7.1 Prevalencia

Considerando el impacto económico que tienen las enfermedades en la apicultura mundial, es importante conocer la situación sanitaria de las colmenas del país. La Varroosis se considera como uno de los problemas sanitarios de mayor importancia económica a nivel mundial (Hoppe, 1989). En Costa Rica, apicultores de diferentes zonas apícolas han reportado la pérdida de colmenas y una reducción en la producción de miel, debido a la presencia del ácaro *V. destructor* en los apiarios (Calderón et al., 1998)

En el presente estudio realizado con muestras colectadas durante los meses de enero a abril 2021, se determinó una alta prevalencia del ácaro *V. destructor*, sin embargo, la mayoría de las muestras analizadas, mostraron un nivel de infección leve, el cual contrasta con el 60,7 % que reportan Calderón et al. (2007). Respecto al nivel de infestación moderado, se determinó en un 12,2 % de las muestras, el cual es menor al 32,7 % reportado en el 2007. Solamente un 12,2 % de las muestras mostró un nivel de infestación fuerte, valor cercano al 18,2% indicado por Calderón et al. (2007). Por otra parte, no se observó la presencia del ácaro varroa en un 12.7 % de las muestras.

Del total de muestras positivas a Varroosis (n=41), las pertenecientes a los apiarios del CINAT (n= 26), resultaron positivas en un 96%. Presentando el nivel leve el apiario de Rio Grande, mientras que Balsilla y Tajo, tuvieron un nivel moderado. Igualmente, Cebadilla que mostró un 8% de infestación, se ubicó en el nivel moderado. Se debe señalar que estos apiarios no han sido tratados contra el ácaro varroa en al menos 5 años. A pesar de no recibir tratamiento contra este ácaro, las colmenas se observaron fuertes y con una alta población de abejas adultas. Esta posible tolerancia al ácaro varroa observada en estos apiarios, podría deberse al comportamiento higiénico. Este comportamiento puede manifestarse en mayor o menor grado por distintos factores como son: ambientales, condición de fortaleza de la colonia, requerimientos de espacio de la

colonia, estructura y composición de la edad de las obreras, entre otros (Spivak y Gilliam,1993). En próximos estudios se debe dar seguimiento al nivel de infestación del ácaro varroa en estas colmenas y tratar de establecer por qué no ha aumentado de manera desproporcionada.

Los apiarios restantes, ubicados en Orotina, Jicaral y Miramar (apiarios pertenecientes a apicultores comerciales), se muestrearon con la finalidad de conocer la situación sanitaria de las colmenas, resultando los tres apiarios con un nivel de infestación leve. Los apicultores, mencionaron que previo a la cosecha de miel del presente año (durante el año 2020), aplicaron diferentes tratamientos contra el ácaro varroa. Uno de los apicultores aplicó ácido oxálico en toallas con glicerina. Es probable que el uso de los productos utilizados en el control de la Varroosis y la efectividad de los mismos, haya incidido en que los niveles de infestación del ácaro en las colmenas resultaron leves.

Cabe mencionar que *V. destructor* tiene un mayor porcentaje de incidencia en los sitios que presentan un clima cálido. Galeana (2015) reporta la presencia del ácaro en un 14,9 % en el estado de México y señala que su aumento en verano se podría explicar debido a que la abeja en esta estación es fisiológicamente diferente a los meses restantes. Se señala que posee un cuerpo más delgado, bajos niveles de hormona juvenil y una vida media más corta.

Además, Velásquez y Vargas (2016), detectaron en un análisis de 85 muestras de abejas adultas pertenecientes a 18 apiarios ubicados en el municipio de Marsella, Colombia, que los niveles de infestación guardaban relación directa con el tipo de manejo de las colmenas. De esta forma, se puede afirmar que la prevalencia y los niveles de afectación del parásito en las colmenas también pueden depender del manejo que se les dé a los apiarios por parte de los apicultores. Asimismo, se debe evitar el uso indiscriminado de productos químicos, ya que esto conduce a la generación de poblaciones de ácaros resistentes.

Por tanto, es importante tomar en cuenta también estos factores entre los posibles causales de la enfermedad, cuando se realizan evaluaciones de la presencia de la

Varroosis y su intensidad de infestación (incluyendo los de la presente investigación).

7.2 Manejo integrado del ácaro varroa

Existen diferentes estudios donde se ha evaluado la eficacia del ácido oxálico para el control del ácaro varroa, utilizando métodos como el goteo con jarabe de azúcar o la vaporización, en los que diversos autores como como Marinelli (2002), Arculeo (2004) y Eguaras (2011), han obtenido porcentajes de eficacia de entre un 80 y 90 %.

En el presente estudio, mediante los métodos utilizados (por goteo y toalla) aplicados durante tres semanas en el periodo de escasez, se obtuvieron resultados variables. Con la aplicación de 5 ml ácido oxálico por goteo en proporción de 35 g/L, aplicado sobre cabezales de los marcos de las colmenas se obtuvo un 89.0% de efectividad. Lo anterior, es mayor al 82% reportado por Aguirre et al (2007) y al 53.8% presentado por Espinoza y González (2018) utilizando la misma proporción del producto. Por otra parte, el ácido oxálico en dosis de 100 g/L, aplicando 5 ml entre los marcos, mostró una efectividad moderada, contrastando con el 81% obtenido por Mariani et al. (2002), quienes aplicaron soluciones azucaradas con un 7% de ácido oxálico, tres veces a intervalos de 7 días con el método de goteo. Se debe indicar, que está proporción ha sido utilizada por apicultores de la zona de Los Santos (Valle Central del país), con resultados favorables (Mora W, 2021, comunicación personal). Mientras que el método de la toalla con glicerina, tuvo un porcentaje de efectividad media. Lo anterior, comparado con el 88% conseguida por Gallardo-Ordóñez (2018) utilizando 12 gramos de oxálico por toalla (misma dosis utilizada en el presente estudio).

La alta efectividad del ácido oxálico por goteo en proporción de 35 g/L, obtenida en la presente investigación puede deberse a que ácido oxálico tiene mayor efecto acaricida durante los periodos con menor cantidad de cría en la colonia (Oliver, 2017). Lo anterior debido a que, al disminuir la cantidad de cría en la colmena, disminuye las áreas de protección para el acaro dentro de la cría sellada,

facilitando la acción del producto sobre el ácaro en fase forética (Aguirre 2007). Además, la concentración utilizada fue crucial para obtener tales resultados, ya que como lo menciona Aguirre (2007), es la concentración y no la cantidad del producto crítica para la eficacia.

Pese a que Barbero (1997), citado por Portales (2003): menciona que la preparación del ácido oxálico es laboriosa, el método de goteo con jarabe de sacarosa, no presenta ninguna dificultad para los operarios, además es de bajo riesgo (Aguirre, 2007). En relación con el método de toalla con ácido oxálico, aun cuando no tuvo una alta efectividad en el control del ácaro varroa, presenta varias ventajas en su aplicación, ya que la misma solo se realiza una vez y no cada siete días como en el caso del método por goteo. Además, el ácido oxálico en combinación con la glicerina es una opción viable para el tratamiento de la Varroosis, dada la afinidad del ácido a la glicerina, lo que genera que sea un solvente efectivo. Asimismo, por su consistencia aceitosa, también confiere una mayor afinidad a la cutícula de la abeja y de los ácaros. El método de toalla permite una liberación lenta y prolongada del ácido oxálico en comparación con los métodos de goteo y sublimación (Ivars, 2017)

Se debe mencionar que la elaboración del ácido oxálico con sacarosa, en forma de jarabe con más del 50% de azúcar, evita que las abejas sufran de diarrea (Vandame,2012). Además, Charriere e Imdorf (2002), encontraron que la adición del ácido oxálico en solución azucarada, tiene una mejor efectividad sobre el control del ácaro varroa, ya que el producto es mejor tolerado por las abejas.

Con los datos obtenidos en el presente estudio, se puede reafirmar lo expresado por Silva (2006), quien indica que es conveniente realizar de dos a tres aplicaciones del ácido. Además, es suficiente para mantener una población de ácaros tolerable para las colmenas y disminuye probables efectos nocivos. Es relevante indicar que la aplicación de los tratamientos (goteo o toalla), se deben realizar lo más antes posible una vez preparado el ácido oxálico. Lo anterior, ya que se evita la formación de hidroximetil furfural (HMF), sustancia que se ha

comprobado resulta perjudicial para las abejas (Prandin,2001) y puede ser responsable de efectos indeseados.

Autores como Charriere e Imdorf (2002) mencionan que se pueden presentar efectos adversos en las colonias con dosis mayores a 60 g/L, sin embargo, a pesar de que en el presente estudio se utilizó el método de aplicación por goteo de 100 g/L (ajustado a 2 L), no se observó afectación en el tamaño de la población y condición de las colonias. De igual manera, con el método de goteo de 35g/L y toalla con glicerina, no se registraron afectaciones a las colmenas.

Finalmente, se debe señalar que el ácido oxálico, además de ser biodegradable, está comprobado que en la miel no se han alcanzado niveles inaceptables (Aguirre, 2007). Asimismo, este ácido no representa un peligro de consideración para quienes lo aplican. En la presente investigación, no se produjo ningún incidente peligroso o desagradable durante la preparación y aplicación del ácido oxálico, con los métodos utilizados.

VIII. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, se debe indicar una alta prevalencia del ácaro varroa en las colmenas. No obstante, predominó el nivel de infestación leve. Los niveles de infestación moderado y fuerte (en conjunto) corresponden a una cuarta parte de las muestras analizadas.

El ácido oxálico mostró una efectividad de moderada a alta en el manejo integrado del ácaro *V. destructor* en colmenas de abejas africanizadas bajo condiciones tropicales. Además, es de fácil elaboración y aplicación en las colmenas. Por lo anterior, puede ser considerado como una alternativa viable, en el control del ácaro varroa.

El método de goteo, resultó más efectivo en el control del ácaro varroa que el de toalla, sin embargo, requiere más elaboración y visitas al apiario. Mientras que el método de toalla, necesita de una sola aplicación en las colmenas.

IX. RECOMENDACIONES

Debido a la alta prevalencia de la Varroosis en los apiarios pertenecientes al CINAT y a los niveles de infestación moderados, es recomendable su monitoreo constante.

Se recomienda dar seguimiento al nivel de infestación del ácaro varroa en las colmenas del CINAT, para establecer por qué no han aumentado de manera desproporcionada.

El ácido oxálico, es un producto de fácil preparación y aplicación en las colmenas. Además, tiene una baja probabilidad de ocasionar daño a las abejas y/o a los operarios. Por lo que se recomienda continuar su investigación.

De igual manera, se recomienda continuar el estudio de diferentes dosis y métodos para la aplicación del ácido oxálico, ya que se pueden proponer distintas posibilidades de esquemas de aplicación en las colmenas. Lo anterior para mejorar la efectividad del tratamiento

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre, J., Demedio, J., Roque, E. (2007) Eficacia varroicida del ácido oxálico en jarabe de sacarosa por goteo. *Salud Animal*, 29(2), 118-122.
- Anderson, D., Trueman J., (2000). Varroa Jacobsoni (Acari: Varroidae) Is More Than One Species. *Experimental And Applied Acarology*, 165.
- Arculeo, P. (2000). Ácido Oxálico, Experiencia Realizada En El Sur De Italia. *Vida Apícola*, 102, 44-48.
- Arculeo, P. (2004). Effectiveness of oxalic acid trickling for the control of Varroa in South-Italy. Instituto Zooprofilattico Sperimentale dell Sicilia, Palermo, Italy. Online: www.culturaapicola.com.ar/apuntes/sanidad
- Arechavaleta, V., Guzmán-Novoa E., (2000). Producción de miel en colonias de abejas (*Apis Mellifera* L.) tratadas y no tratadas con un acaricida contra Varroa Jacobsoni Oudemans en el Valle De Bravo, Estado De México. *Vet Méx*, 31, 381-384.
- Boot, W., Van Baalen, M., Sabelis., M. (1995). Why Do Varroa Mites Invade Worker Brood Of The Honey Bee Despite Lower Reproductive Success? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 36(4), 283-289. Doi: 10.1007/ Bf00165837
- Calatayud, F., And Verdú, M. (1993). Hive Debris Counts In Honeybee Colonies A Method To Estimate The Size Of Small Populations And Rate Of Growth Of The Mite Varroa Jacobsoni Oud. (Mesostigmata: Varroidae). *Exp. Appl. Acarol*, 17, 889-894.
- Calderón, R. (2019). Comportamiento reproductivo del ácaro Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae) en celdas con cría de obrera y zángano en abejas africanizadas (*Apis mellifera*) en condiciones tropicales. *Ciencias Veterinarias*, 37(2), 44-61. DOI: <https://doi.org/10.15359/rcv.37-2.5>.
- Calderón, R., Ortiz, A., (2000). Principales enfermedades que afectan a las abejas melíferas. *Notas Apícolas Costarricenses*, 6.
- Calderón, R., Arce, H., Van Veen, J. (1998). Detección, Distribución Y Control De Varroa Jacobsoni Oudemans En Costa Rica. *Ciencias Veterinarias*, 21, 29-38.

- Calderón, R., Sánchez, L. (2011). Diagnóstico de Enfermedades en colmenas de abejas africanizadas en Costa Rica: Prevalencia y distribución de Setiembre a Noviembre del 2007. *Agronomía Costarricense*, 35(2),49-60.
- Calderón, R., Arce, H., Ortiz, R., Van Veen, J., Ramírez, M. (2002). Varroa mites in Costa Rica: Treatment and perspectives in tropical climates. Proceedings of the 2nd International Conference On Africanized Honey Bees And Bee Mites, Tucson, Arizona, U.S.
- Calderón, R., Fallas, N., & Sánchez, L. (2007). Detección de enfermedades en abejas africanizadas en Costa Rica. *Cienc. Vet*, 25(2). www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/article/view/3676
- Charriere, J., Y Imdorf, A. (2002). Oxalic Acid Treatment By Trickling Against Varroa Destructor: Recommendations For Use In Central Europe And Under Temperate Climate Conditions. *Bee World* 83(2),51-60.
- Eguaras, M., Cora, D., Ruffinengo, S., Faverin, C., Palacio, A. (2011). Efectividad Del Timol En El Control De Varroa Destructor En Condiciones De Laboratorio Y En Colonias De Apis Mellifera. *Natura Neotropicalis*, 34,27-32.
- Espinoza, C., González, A. (2018). Efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro Varroa destructor en colmenas de abejas melíferas. Heredia, Costa Rica. Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales.
- Ferrer, M., Moreno, C., Martinez, A., Sanchez, C., Gracia, M. (1995). Field trials of treatments against Varroa jacobsoni using fluvalinate and flumethrin strips in honey bee colonies containing sealed brood. *Journal of Apicultural Research*, 34(3).
- Franco, C. (2009). Evaluación de tres productos naturales para el control alternativo del ácaro varroa (Varroa destructor) en colmenas de abejas (*Apis mellifera*) usando gel como sustrato portador” [Tesis de Licenciatura, Universidad San Carlos, Guatemala] http://biblioteca.usac.edu.gt/EPS/01/01_2500.pdf
- Galeana, A. (2015). Parasitosis de las abejas melíferas Acarapis, Nosema y Varroa

- en función de las condiciones climáticas. Caso del Estado de Morelos. [Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. https://www.researchgate.net/publication/293811548_Parasitosis_de_las_a_bejas_meliferas_Acarapis_Nosema_y_Varroa_en_funcion_de_las_condiciones_climaticas_Caso_del_Estado_de_Moreno
- Gallardo, H., Ordóñez, A. (2018). Evaluación de dos métodos de tratamiento con ácido oxálico para el control de *Varroa destructor* en colonias de abejas *Apis mellifera* L. Mexico. <https://hermeshoney.com/2019/wp-content/uploads/2019/08/Evaluacion-de-dos-metodos-de-tratamiento-con-acido-oxalico-para-el-control-de-Varroa-destructor-en-colonias-de-abejas-Apis-mellifera-L.pdf>
- Hoppe, H., y Ritter, W. (1989). Use of heat and Wintergreen oil for treatment of varroatosis. Review of Agricultural Entomology. *Apidologie* 20(5).
- Ivars J. (2017) Tratar la Varroa con ácido oxálico y glicerina. La tienda del apicultor. <https://www.latiendadelapicultor.com/blog/tratar-varroa-con-acido-oxalico-y-glicerina/>
- Mariani, F., Rodriguez, G., Martinez, E., Del Hoyo, M., Bedascarrasbure, E., Schmit, E. (2002). Ácido oxálico en el control de *Varroa destructor* en Argentina. *Vida Apícola*, 113,25-31.
- Marinelli, E., De Pace, F., Ricci, L., Persano, Oddo. (2002). Lotta contro la Varroa: Strategie di intervento con prodotti a basso impatto nel Lazio. Atti del Convegno finale "Il ruolo della ricerca in apicoltura". Progetto finalizzato AMA. Bologna 14-16 marzo.
- Massaccesi, C. (2002). Apicultura En La Patagonia Andina. Buenos Aires, Arg. <http://Inta.Gob.Ar/>
- May, W. (2004). Control del ácaro *varroa destructor* con un gel a base de timol en colonias de abejas africanizadas (*Apis mellifera* L.) bajo condiciones de clima tropical en Yucatán, México. Memorias del XVII Seminario Americano De Apicultura Y 7a Expo-Apícola. Secretaría De Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, 158-160.
- Mutinelli, F., Cremasco, S., Nanetti, A., Massi, S., Arculeo, P., Artese, F. (1996).

- Control De La Varroasis En Italia, Ensayos Con Diferentes Métodos De Aplicación Del Ácido Fórmico. *Vida Apícola*, 77,38-44.
- Oliver (2017) Tratar la Varroa con ácido oxálico y glicerina, La Tienda del apicultor. <https://www.latiendadelapicultor.com/blog/tratar-varroa-con-acido-oxalico-y-glicerina/>
- Portales, D. (2003). Aplicación primaveral de mentol para el control de Varroa destructor Anderson & Trueman, en *Apis mellifera* L. [Tesis de Licenciatura Universidad Austral de Chile] <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fap842a/doc/fap842a.pdf>
- Prandin, L., Dainese, N., Girardi, B., Damolin, O., Piro, R., Mutinelli, F. (2001). Varroosis control: Stability of homemade oxalic acid water sugar solution. Proc. 37th Int. Apic. Congr, Durban, South Africa
- Reyes, F. (2016). Efectividad de cuatro acaricidas en el control del ácaro (Varroa destructor) en abejas (*Apis mellifera* L.) [Tesis de Maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina] <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2755>
- Ritter, W., De Jong, D. (1984). Reproduction of *Varroa jacobsoni* O. in Europe, the middle East and tropical South America. *Zeitschrift fur Angewandte Entomologie* 98(1).
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA]. (2010). Manual De Patología Apícola. Coordinación General de Ganadería. <http://Www.Sagarpa.Gob.Mx/Ganaderia/Publicaciones/Lists/Manuales%20a-pcolas/Attachments/5/Manpato.Pdf>.
- Silva, A. (2006). Evaluación Del Ácido Oxálico Sobre Varroa Destructor Anderson Y Trueman (Acari: Mesostigmata), Aplicado En Otoño Sobre Colonias De *Apis mellifera* L. (Hym: Apidae). [Tesis de Licenciatura Universidad Austral de Chile] <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2006/fas586e/doc/fas586e.pdf>
- Spivak, M., y M, Gilliam. (1993). Facultative expression of hygienic behaviour of Honey bees in relation to disease resistance. *J. Apic. Res.* 32(3,4), 147-157.
- Sushil, Sn., Stanley, J., Hedau, N., Bhatt, J. (2013). Enhancing Seed Production Of

- Three Brassica Vegetables By Honey Bee Pollination In North-Western Himalayas Of India. *Universal Journal Of Agricultural Research*, 1, 49-53.
- Thompson, H., Brown, M., Ball, R., Bew, M. (2002). First report of *Varroa destructo* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie*, 33, 357-366.
- Vandame, R. (2000). Control Alternativo De *Varroa* En La Apicultura. <https://docplayer.es/26461883-Control-alternativo-de-varroa-en-apicultura-remy-vandame-noviembre-del-2000-edicion-2-2.html>
- Vandame, R., Ganz, P., Garibay, S., Reyes, T., (2012). Manual De Apicultura Orgánica. [Http://Www.Fibl.Org/Fileadmin/Documents/En/Pu/Vandame-Et-Al-2012-Manual Napicultura.Fdf](Http://Www.Fibl.Org/Fileadmin/Documents/En/Pu/Vandame-Et-Al-2012-Manual-Napicultura.Fdf)
- Varela, J. (2016). El Ácido oxálico. <https://ahombrosdegigantescienciytecnologia.wordpress.com/2016/07/08/el-acido-oxalico-bergman/>
- Velásquez, B., Vargas B. (2016). Diagnóstico de enfermedades parasitarias en abejas africanizadas *Apis mellifera* en el municipio de Marsella, Risaralda, Colombia. *Investigación Agraria y Ambiental*, 7(1). <https://doi.org/10.22490/21456453.1618><https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/1618/1945>.