

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE ZOOTECNIA



**“MÉTODOS DE APLICACIÓN DEL
ÁCIDO OXÁLICO EN COLONIAS DE ABEJAS
MELÍFERAS (*Apis mellifera*) PARA EL CONTROL DE EL
ÁCARO (*Varroa destructor*)”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA

GABRIELA ROCÍO FRANCIA DÁVILA

Lima – Perú

2023

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24 – Reglamento de Propiedad Intelectual)**

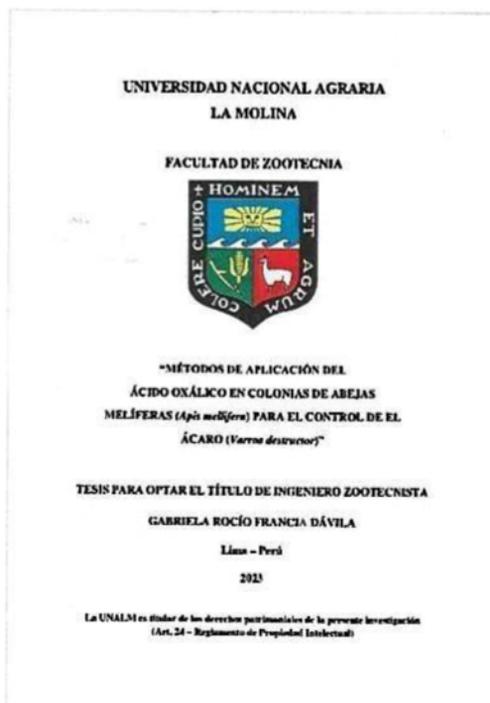


Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Gabriela Francia Davila
Título del ejercicio: TESIS_GABRIELA FRANCIA
Título de la entrega: TESIS DE PREGRADO_FRANCIA
Nombre del archivo: tesis_Gabriela_Francia_07-09-2023.docx
Tamaño del archivo: 18.48M
Total páginas: 88
Total de palabras: 21,036
Total de caracteres: 109,978
Fecha de entrega: 22-sept.-2023 11:32a. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega... 2173784977



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Facultad de Zootecnia

**“MÉTODOS DE APLICACIÓN DEL
ÁCIDO OXÁLICO EN COLONIAS DE ABEJAS
MELÍFERAS (*Apis mellifera*) PARA EL CONTROL DE EL
ÁCARO (*Varroa destructor*)”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERA ZOOTECNISTA

GABRIELA ROCÍO FRANCIA DÁVILA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

M.S. Daniel Zárate Rendón

PRESIDENTE

Ph.D. María Helena Souza deAbreu

MIEMBRO

Mg.Sc. José Luis Cántaro Segura

MIEMBRO

Mg.Sc. Jorge Vargas Morán

ASESOR

Mg.Sc. Alejandrina Sotelo Méndez

CO – ASESORA

Lima, Perú

2023

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis amados padres Gladys Dávila y Jorge Francia y a mis hermanos Jorge André y Tania Estefanía, por confiar en mí, por guiarme y acompañarme en cada etapa de la vida y por su apoyo incondicional, mi más profundo agradecimiento.

Gabriela Rocío

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor, Ing. Mg. Sc. Jorge Rafael Vargas Morán, patrocinador del presente trabajo de investigación, por su valiosa guía en el planteamiento de la investigación y durante todo el proceso; a la Ing. Alejandrina Sotelo Méndez, copatrocinadora, por sus importantes sugerencias brindadas.

A los hermanos y maestros apicultores Carlos y César Lapa de la empresa Apícola “Mi reina Sofía” quienes permitieron la ejecución de la parte experimental del trabajo de investigación y el compartir de experiencias y conocimiento del mundo apícola.

Al Ing. Emerson Valero por su paciencia en el asesoramiento del análisis estadístico de este trabajo.

A la Universidad Nacional Agraria la Molina, por la formación profesional, a los docentes de la Facultad de Zootecnia por su enseñanza y a todos mis compañeros de estudios por compartir momentos gratos.

Finalmente, a mis queridas amistades molineras Angélica Zegarra y Camila Barbarán por su soporte emocional y académico durante el proceso.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCION	13
II. REVISIÓN DE LITERATURA	14
2.1 La Abeja	14
2.1.1 Clasificación taxonómica de <i>Apis mellifera</i>	14
2.1.3 Ciclo biológico de la abeja melífera.....	17
2.2 <i>Varroa destructor</i>	18
2.2.3 Origen.....	19
2.2.2 Varroasis en Perú.....	19
2.2.3 Taxonomía del ácaro.....	19
2.2.4 Ciclo biológico de la Varroa.....	20
2.2.5 Diagnóstico de la Varroasis.....	22
2.2.6 Signos de la Varroasis.....	24
2.2.7 Métodos de control de la Varroasis	24
2.3 Acido oxálico	26
2.3.1 Aplicaciones y usos.....	26
2.3.2 Mecanismo de acción.....	27
2.3.3 Comercialización.....	27
2.3.4 Metodologías de aplicación	27
2.4 Ensayos realizados para el control de Varroa con ácido oxálico	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1. Lugar y características climatológicas.....	31
3.2.1 Material Biológico.....	32
3.2.2 Materiales complementarios.....	33

3.3 Métodos	36
3.3.1 Diseño Experimental	36
3.3.2 Periodo Experimental	36
3.3.3 Descripción de la metodología de aplicación de los tratamientos en las unidades experimentales	38
3.4 Análisis de datos estadísticos	46
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
4.1 Efectividad en base a la diferencia porcentual de infestación inicial y final en abejas adultas	47
4.2 Efectividad en base a la cantidad de ácaros caídos por los tratamientos y por shock químico	51
4.3 Efectos colaterales	57
4.3.1 Número de panales de cría	57
4.3.2 Número de panales de reserva alimenticia	59
4.4 Evaluación económica y de practicidad	61
V. CONCLUSIONES	63
VI. RECOMENDACIONES	64
VII. BIBLIOGRAFÍA	65
IV. ANEXOS	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Ciclo biológico previo al nacimiento de <i>Apis mellifera</i>	18
Tabla 2: Secuencia ordenada del proceso experimental	40
Tabla 3: Tasas de infestación inicial, final de varroa en abejas adultas y efectividad relativa en colmenas con tratamiento de ácido oxálico y sin tratamiento	47
Tabla 4: Promedio de varroas caída por tratamientos, promedio de varroas caídas por shockquímico, promedio total de varroas caídas y efectividad de los tratamientos.....	52
Tabla 5: Número promedio inicial y final de panales con crías y diferencia numérica y porcentual según los tratamientos	57
Tabla 6: Número promedio inicial y final de panales con reserva alimenticia y diferencia numérica y porcentual según los tratamientos.....	59
Tabla 7: Evaluación de costos de dos métodos de tratamiento con ácido oxálico para el control de Varroasis	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ubicación geográfica del apiario (Adaptado de Google earth, s.f.)	31
Figura 2: Colmenar “Mi Reina Sofía” en Pampa Tinajas-Cieneguilla	32
Figura 3: Untado de vaselina en las trampas de varroa de cada colmena	33
Figura 4: Frascos rotulados con muestras de abejas sumergidas en alcohol (a). Bandeja de fondo blanco para visualizar los ácaros caídos del colador (b)	34
Figura 5: Pulverizador con contenido de jarabe de sacarosa y ácido oxálico.....	34
Figura 6: Dilución del ácido oxálico cristalizado en glicerina líquida pura por medio de calor.	35
Figura 7: Tiras de cartón embebidas en la mezcla de ácido oxálico y glicerina.....	35
Figura 8: Croquis de distribución de las colmenas del ensayo en el colmenar “Pampa Tinajas”	37
Figura 9: Pulverización del jarabe con ácido oxálico sobre los panales	38
Figura 10: Colocación de las tiras de celulosa entre los marcos de la cámara de cría.....	39
Figura 11: Deslizamiento del frasco con alcohol al 70 por ciento para la captura de abejas.	41
Figura 12: Agitación moderada en forma circular de la muestra de abejas	41
Figura 13: Conteo de abejas (lado izquierdo) y conteo de varroas (lado derecho)	42
Figura 14: Conteo, por cuadrícula de ácaros caídos en la trampa	43
Figura 15: Tasa de infestación inicial y final de varroa en abejas adultas y porcentaje de efectividad relativa pos tratamientos.....	50
Figura 16: Ácaros remanentes en las colmenas a los 35 y a los 42 días de la aplicación del tratamiento shock químico acaricida.....	54
Figura 17: Cantidad de varroa caída a causa de los tratamientos con OA aplicados hasta el día 28 y a causa del shock químico hasta el día 42.	54
Figura 18: Efectividad porcentual de los métodos aplicados a través de la técnica de shock químico	57
Figura 19: Promedio inicial y final de panales con crías de abeja por tratamiento	58
Figura 20: Promedio inicial y final de panales con reserva alimenticia por tratamiento	60

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Datos meteorológicos durante el desarrollo de la investigación, según la estación meteorológica Alexander Von Humboldt, de la Universidad Nacional Agraria La Molina.	71
Anexo 2: Formulación de Torta Proteica utilizada.....	71
Anexo 3: Tasa de infestación (TIVA) inicial, final y efectividad relativa de las metodologías de aplicación del ácido oxálico como acaricida	73
Anexo 4: Caída progresiva de varroa por días según el efecto de los tratamientos con ácido oxálico y shock químico	74
Anexo 5: Número inicial y final de panales con cría, panales con reserva alimenticia y sus respectivas diferencias numéricas y porcentuales según tratamiento.....	75
Anexo 6: Datos transformados de diferencia porcentual de panales con cría y con reserva de alimento	76
Anexo 7: Datos transformados de tasa de infestación inicial, final, diferencia y efectividad relativa	77
Anexo 8: Datos transformados de caída de ácaros por efecto de los tratamientos, por efecto de tratamiento shock y efectividad relativa.....	78
Anexo 9: Análisis estadístico de la variable dependiente: Infestación inicial	79
Anexo 10: Análisis estadístico de la variable dependiente: Infestación final.....	80
Anexo 11: Análisis estadístico de la variable dependiente: Efectividad Relativa de los tratamientos por el método de Infestación	81
Anexo 12: Análisis estadístico de la variable dependiente: Caída de varroa por efecto de los tratamientos	82
Anexo 13: Análisis estadístico de la variable dependiente: Caída de varroa por efecto del tratamiento shock químico	83
Anexo 14: Análisis estadístico de la variable dependiente: Suma total de caída de varroa por efecto de los tratamientos y shock químico	84
Anexo 15: Análisis estadístico de la variable dependiente: Efectividad de los tratamientos por el método de shock químico.....	85
Anexo 16: Análisis estadístico de la variable dependiente: Diferencia porcentual de panales con cría.....	86
Anexo 17: Análisis estadístico de la variable dependiente: Diferencia porcentual de panales con reserva alimenticia.....	87

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la mejor alternativa de dos métodos de aplicación del ácido oxálico para el control de *Varroa destructor* en colonias de *Apis mellifera* en un colmenar de Cieneguilla mediante los parámetros: efectividad en base a la diferencia de infestación en abejas adultas; efectividad en base a la cantidad de ácaros caídos por efecto de la aplicación de un shock químico; diferencias entre la cantidad inicial y final de panales de cría y reserva alimenticia y evaluación económica y práctica de los tratamientos. Se evaluaron 27 colmenas naturalmente infestadas de varroa, durante el periodo de febrero a abril del 2022 y fueron agrupadas en 2 tratamientos con 10 repeticiones y un grupo testigo con 7 repeticiones. Al tratamiento 1 (T1) se le aplicó por pulverización una mezcla acuosa que contenía 80 g de ácido oxálico, 1 kg azúcar refinada y 1 l de agua destilada. Se les pulverizó 50 ml de la mezcla por colmena dos veces con intervalo de 14 días. El tratamiento 2 (T2) consistió en colocar 4 tiras de celulosa por colmena entre los panales de cría. Las tiras fueron previamente embebidas en una mezcla de 5 ml de glicerina pura y 1 g de ácido oxálico por tira. El grupo testigo no recibió aplicación de ácido oxálico. Los tratamientos se suspendieron a los 28 días, luego ambos tratamientos y el testigo se les aplicó un acaricida comercial (fluvalinato) para evaluar la efectividad por medio de shock químico. El tratamiento pulverizado y con tiras de celulosa lograron 73.15 y 54.97 por ciento de efectividad respectivamente, mientras que el grupo testigo obtuvo 49.87 por ciento de efectividad mediante el conteo de ácaros caídos producto del shock químico. La efectividad mediante la diferencia de infestación en abejas adultas fue más alta para el tratamiento pulverizado con 71.82 por ciento, en cambio el tratamiento con tiras de celulosa obtuvo 46.98 por ciento y el grupo testigo que no recibió ácido oxálico obtuvo 6.23 por ciento de efectividad. No hubo efectos adversos en cuanto a la diferencia en la cantidad de panales de cría y reserva alimenticia; finalmente el método por pulverizado resultó no ser el más práctico, pero si fue el más efectivo y económico, pues su costo fue menor en 0.21 soles por colmena.

Palabras clave: *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, ácido oxálico, fluvalinato.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the best alternative of two oxalic acid methods (spraying and strips of cellulose) for the control of *Varroa destructor* in colonies of *Apis mellifera* under summer/ottom climatic conditions in Cieneguilla by the parameters: effectiveness based on the difference in infestation in adult bees; effectiveness based on the number of fallen mites due to the application of a chemical shock treatment; differences between the initial and final amount of brood combs and food reserve and economic and practical evaluation of the treatments. Twenty-seven hives of honeybees naturally infested with varroa were evaluated during the period from February to March 2022, which were grouped into 2 treatments with 10 repetitions and a control group with 7 repetitions. Treatment 1 (T1) consisted in spraying 50 ml of solution per hive with a second application after 14 days. The solution was prepared using one kilogram sucrose per one liter of water and 80 g of oxalic acid crystals. Treatment 2 (T2) consisted in placing four strips made of cellulose, each one contains 1 g of OA mixed with 5 mL of glycerin and finally the control group, it didn't receive oxalic acid application. All the treatments were suspended after 28 days, immediately, a fluvalinate treatment was applied on both treatments and the control. After 2 weeks, efficacy of the treatment in varroa control was determined by comparing the number of falling mites recorded during the oxalic acid treatment period with the total number of falling mites recorded during the whole trial (including the fluvalinate treatment). Pulverized method and cellulose strips method achieved 73.15 and 54.97 percent respectively. The effectiveness through the infestation difference modality in adult bees was higher for the pulverized treatment (71.82 percent), while the treatment with cellulose strips obtained 46.98 percent. There were no adverse effects regarding the difference in the number of brood combs and food reserve; Finally, the spray method turned out not to be the most practical, but it was the most effective and economical, since its cost was less than 0.21 soles per hive.

Keywords: *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, oxalic acid, fluvalinate.

I. INTRODUCCIÓN

Entre las enfermedades más frecuentes que afectan a la *Apis mellifera*, se encuentra la Varroasis, causada por el ácaro *Varroa destructor*, cuya plaga es la más destructiva para las colonias de abejas en todo el mundo (Alattal *et al.* 2017), ya que no solo afectan deformando y debilitando a las pupas y abejas adultas, sino que están asociados a la transmisión de agentes virales que finalmente terminan con la vida de la colonia (Sumpter & Martin, 2004). Al debilitarse las colmenas, se vulnera la polinización de cultivos agrícolas y biodiversidad vegetal pues *Apis mellifera* es el agente polinizador más frecuente en hábitats naturales (Hung *et al.*, 2018); así mismo la baja producción de miel y quiebra de apicultores se traduce en grandes pérdidas económicas (Calderón, 2009; Gallai *et al.*, 2009).

Por las razones antes mencionadas que gran parte de los apicultores han optado por utilizar plaguicidas sintéticos para el control de Varroasis, sin embargo, al dejar sustancias residuales en la miel y cera y desarrollar resistencia del ácaro, disminuye su efectividad; por ello, se buscó opciones más sostenibles para su tratamiento y la limitación de riesgos tóxicos. Entre otros, se investigó sobre el uso de un ácido orgánico de baja toxicidad, ácido oxálico, el cual es un componente natural de la miel y de variedad de especies vegetales además de sus propiedades acaricidas contra varroa (Bacandritsos *et al.*, 2007).

Maggi y Tourn (2017), en un ensayo corroboraron que hasta la fecha *Varroa destructor* no ha generado resistencia al ácido oxálico; en consecuencia, es preciso evaluar si los resultados satisfactorios hallados en ciertas regiones del mundo también tendrán éxito en otras regiones (Jack *et al.*, 2020), acorde a las diferentes metodologías de aplicación del ácido sobre las colmenas.

Un ejemplo de los resultados de la investigación de Abd El-Wahab *et al.* (2021) en el cual se probó la eficacia de dos acaricidas Mavrik 2f (fluvalinato) y Vapcozin-20 (amitraz) contra

los ácaros varroa utilizando tres métodos diferentes de aplicación, mostraron una gran eficacia contra los ácaros varroa independientemente del método de aplicación utilizado. Sin embargo, uno de los métodos fue el más apropiado con respecto a la cantidad mínima de residuos presentes en la cera y miel de las colmenas.

En consecuencia, no todos los métodos de control resultan iguales de eficaces, por lo cual el objetivo general del presente estudio es evaluar la mejor alternativa de dos métodos de aplicación del ácido oxálico en el control del ácaro *Varroa destructor* en colonias de *Apis mellifera* en un colmenar de Cieneguilla.

Así mismo se tendrán los siguientes objetivos específicos: a) determinar el nivel inicial y final de infestación de ácaro *Varroa destructor* en las colmenas de abejas melíferas, b) evaluar el porcentaje de efectividad del ácido oxálico entre los tratamientos para el control del ácaro *Varroa destructor* de acuerdo con las condiciones climáticas durante su aplicación, c) cuantificar el estado general de las colonias previa y posteriormente a la evaluación mediante los siguientes parámetros: número de panales con cría y número de panales con reserva alimenticia y d) evaluar el costo y tiempo utilizado en cada tratamiento aplicado a las colmenas de abejas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 La Abeja

2.1.1 Clasificación taxonómica de *Apis mellifera*

Las abejas son insectos del orden Himenópteros, caracterizadas por poseer dos pares de alas membranosas, con un par de mayor tamaño que el otro. Esta especie se organiza para vivir en una sociedad llamada colonia, cada miembro subsiste gracias a la fuerza de ese conjunto puesto que una abeja por sí sola no sobrevive. El hombre le proporciona a la colonia un lugar para vivir y desarrollarse llamada colmena, y a su conjunto y lugar de ubicación se le denomina apiario (Dewey, 2010).

La clasificación taxonómica de *Apis mellifera* según el MINAGRI (2015) es la siguiente:

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Clasificación: Hymenoptera

Superfamilia: Apoidea

Familia: Apidae

Subfamilia: Apinae

Género: *Apis*

Especie: *mellifera*

2.1.2 Castas de la abeja

Existen tres miembros dentro de una colmena, ellos son: La abeja reina, los zánganos y las obreras.

a. La abeja reina

Su función es la puesta de huevos para el desarrollo del enjambre, puede poner hasta dos mil huevos diarios y propagar su descendencia, además de secretar feromonas las cuales cumplen el rol de controlar aspectos fisiológicos en el comportamiento de las obreras y el olor particular que las consolida como familia unida. Su tiempo de vida varía de acuerdo con el clima donde vive, entre 8 meses y 2 años según sea área tropical o templada. Dentro de una colmena solo puede existir una reina, salvo en casos de orfandad o reemplazo donde existen futuras reinas en época de cría que tomarán el cargo y la reina anterior morirá o en caso de la introducción de una reina joven que se mantendrá en jaula hasta la aceptación de la colmena (Dewey, 2010).

Morfológicamente la reina difiere de las demás abejas por el volumen de su abdomen, en cuerpo alargado, alas cortas en relación con su tamaño. Posee un aguijón curvo que utiliza únicamente para luchar contra otra reina; no tiene canasta (corbícula) en la tercera pata ni glándulas cereras por lo cual no puede transportar polen y tampoco construir panales (Vasquez *et al.*, 2012).

La reina puede elegir que huevos fecunda. Los huevos sin fecundar (haploides) darán origen a los zánganos y los huevos fecundados pueden ser reina u obrera, dependerá de las necesidades de la colmena y del alimento que reciba durante su desarrollo previo al nacimiento. A la semana de nacer, una reina virgen sale al vuelo nupcial en la que se aparea con varios zánganos, entre 10 a 12 individuos y luego de obtener un aproximado de 4 millones de espermatozoides estos son reservados con vitalidad en su espermateca durante todo el resto de su vida (Dewey, 2010).

b. El zángano

Es el macho de la colonia y su función principal es fecundar a la reina. Ravazzi (2016) manifiesta que el zángano alcanza la madurez sexual a los 12 – 20 días de edad y produce alrededor de 10 millones de espermatozoides. Solo la mitad de la población de zánganos de una colonia es apta para la reproducción y de ellos solo el 65 a 70 por ciento alcanza la madurez sexual completa. Con respecto a su morfología el mismo autor lo describe con el tórax más amplio, en comparación con la reina y con una longitud de 2 mm más que las obreras. Adicionalmente, Lesser (2004) menciona que el zángano no posee aguijón y además al no tener la lengua desarrollada no le permite recolectar néctar. Por otro lado, Caballero *et*

al. (2009) al observar sus ojos compuestos pudo notar que se encuentran muy juntos y son más grandes que los de la reina y las obreras, razón por la cual pueden detectar a la reina a largas distancias durante el vuelo nupcial.

Durante la época de apareamiento se reúnen en sitios determinados, mientras esperan la llegada de la reina para fecundarla, generando disputa entre ellos. Luego de la cópula los órganos sexuales del zángano no regresan a su posición anatómica inicial, pues el *mucus* que secretan al entrar en contacto con el aire se endurece taponeando una parte de los genitales del macho, provocando su muerte inmediata y la fecundación exitosa de la reina (Caballero *et al.*, 2009).

c. Las obreras

Conforman casi la totalidad de la población y logran alcanzar cantidades entre 30 000 a 80 000 dependiendo del tamaño de la colmena. Son hembras que nacen con el aparato reproductor atrofiado, razón que las hace infértiles (Ravazzi, 2016). El mismo autor agrega que su tiempo de vida varía entre 40 días hasta 6 meses, este último se da en caso nazca en otoño y pase una etapa de hibernación. Las obreras son de menor tamaño y su cuerpo está dotado de ciertas estructuras como corbícula, aguijón, probosis, y mandíbulas muy desarrolladas que la ayudan a cumplir diversas funciones en la colmena conforme a su etapa de vida. Durante sus cuatro primeros días de nacida se encarga de limpiar las celdas de la colmena, del día 5 al 11 pasa a ser nodriza y a alimentar a las larvas con jalea real y o miel. A partir del día 13, su labor es acopiar el polen y néctar en las celdas de reserva alimenticia además de ventilar la colmena agitando sus alas para mantener la temperatura y humedad constante. Entre los días 14 y 17 construyen o reparan los panales, esto se da gracias a sus glándulas cereras que lograron completar su desarrollo. Su etapa de vigilancia de la colmena ocurre a partir del día 18, evita el pillaje e ingreso de agentes extraños a la colmena como otros insectos, roedores, incluso a los zánganos. La etapa final de su ciclo de vida inicia el día 22 hasta su muerte; durante esta etapa se encarga del pecoreo, el cual significa la cosecha de polen, néctar y propóleo en el campo y su traslado a la colmena. Las obreras durante toda su etapa de vida se organizan muy bien entre sí para cumplir con sus funciones, direccionando correctamente la colmena, produciendo miel, jalea y almacenando polen como reservas futuras de alimento ante posible escasez o cualquier imprevisto (Caballero *et al.*, 2009).

2.1.3 Ciclo biológico de la abeja melífera

El periodo de desarrollo o ciclo evolutivo de las abejas se diferencia de acuerdo con la casta a la cual pertenecen. Todas pasan por tres fases: huevo, larva y ninfa o adulto, pero tienen diferentes tiempos de duración.

La reina luego de tres a cuatro días de haber sido fecundada por los zánganos comienza su postura colocando un huevo por celda y es ahí donde determina si será o no fertilizado. Previo a la ovulación la abeja reina mide el tamaño de la celda con sus patas delanteras. Si la celda es pequeña, de aproximadamente 5,1 mm de diámetro, introducirá su abdomen comprimiendo la espermateca para la liberación del esperma y por consiguiente la fertilización del óvulo; es así como el huevo fecundado dará una obrera y en caso la celda sea de mayor tamaño, 6,5 mm de diámetro insertará el abdomen sin comprimirlo depositando un huevo no fecundado que dará origen a un zángano (Ramos y Carvalho, 2007).

El ciclo biológico de la obrera comienza con la etapa de huevo que tarda 3 días y 5 horas en nacer, luego sigue la etapa de larva o “cría abierta” que dura 6 días (Valega, 2007). Durante los tres primeros días la larva es alimentada con jalea real y después las nodrizas cambian su alimento por una mezcla de miel, agua y polen. Dos horas después de la operculación de la celda la larva se inmoviliza y comienza su estadio de ninfa, iniciándose la metamorfosis que la transformara en un insecto. Esta etapa dura 12 días hasta la emergencia de la obrera transcurriendo un total de 21 días (Ravazzi, 2016).

La reina inicia su ciclo de vida en una celda especial llamada realera o celda real. Su etapa de huevo tarda al igual que las obreras 3 días y 5 horas en nacer; no obstante, durante la etapa larvaria es alimentada exclusivamente con jalea real y se alimentará de ello el resto de su vida. En seguida comienza su etapa larval, durante 5 días y medio; cabe recalcar que terminando esta etapa las obreras operculan la celda real reforzando las paredes con cera. Esto causa ninfosis o el inicio de la etapa de ninfa que dura no más de 7 días y medio. Previo a la víspera de su nacimiento las obreras roen la tapa para facilitar la salida de la reina. Finalmente, la reina empuja con su cabeza la báscula de la tapa de su celda, de arriba hacia abajo y después de varios intentos logra salir. (Jean-Prost y Le Conte, 2007). Valega (2007), menciona que al segundo día de nacida la reina empieza a reconocer el lugar mediante vuelos cortos y generalmente entre el séptimo y décimo día efectúa vuelos de apareamiento. Jean-

Prost *et al.* (2007) agregan que la reina buscará salir en tiempo cálido y tranquilo, aproximadamente entre las 10 y 17 horas.

El zángano tiene el ciclo biológico más prolongado de la colmena. A diferencia de la reina y obrera, este huevo no es fecundado, se desarrolla por el proceso de partenogénesis durante un periodo de tres días hasta su eclosión. Seguido, empieza su estadio larval que culmina al cabo de 7 días. Es entonces que mediante la segregación de una feromona suscita a las obreras a opercular la celda del zángano en desarrollo y lo recubren con cera formando una placa porosa. Pasadas las 24 horas inicia la etapa de ninfa, extendiéndose por catorce días y medio. (Jean-Prost *et al.*, 2007). Valega (2007), añade que el periodo total, desde el depósito del huevo hasta la emergencia del zángano dura 24 días.

Tabla 1: Ciclo biológico previo al nacimiento de *Apis mellifera*

Etapa	Actividad en esa etapa	Estado de la celda	Duración de la etapa para:		
			Reina	Obrera	Zángano
Huevo	Incubación del huevo	Abierta	3 días	3 días	3 días
Larva	Alimentación y crecimiento de la larva	Abierta	5 días	6 días	6,5 días
	Hilado de capullo	Cerrándose	1 día	1,5 días	1,5 días
Ninfa	Reposo y ninfosis. Proceso de metamorfosis	Cerrada	7 días	10,5 días	13 días
Total			16 días	21 días	24 días
En general el tiempo total de metamorfosis varía entre			15 a 16 días	21 a 22 días	24 a 25 días

Fuente:

Mendizabal.

(2004).

2.2 *Varroa destructor*

2.2.3 Origen

Varroa destructor es una especie de ácaro ectoparásito obligado, que se alimenta de la hemolinfa de su hospedero *Apis mellifera*. Genéticamente consta de seis haplotipos que la distinguen del género *Varroa*, entre ellos los haplotipos japonés y coreano, siendo este último el reportado en nuestro país (Anderson y Trueman, 2000).

Inicialmente se descubrió a *Varroa jacobsoni* en la isla de Java, Indonesia por el año 1904 donde su población se limitaba al sureste de Asia. Tenía como hospedero natural a la abeja *Apis cerana* con la cual convivió mucho tiempo. Esta especie de abeja se adaptó y coevolucionó con el ácaro a través de los años. Fue en su llegada a Asia occidental durante la primera década del siglo XX cuando cambia de huésped por la abeja *Apis mellifera*. Es entonces que se reconoce como un complejo de al menos tres especies diferentes por sus haplotipos distintos y nivel patógeno sobre esta especie. Los haplotipos que distinguen a *Varroa jacobsoni* de *Varroa destructor* se distinguen por su mayor tamaño corporal de la hembra y secuencias de genes de ADNmt (Anderson y Trueman, 2000).

Posterior a la segunda guerra mundial el aumento del comercio internacional, trashumancia e intercambio de núcleos favoreció a la dispersión de la varroa llegando a expandirse por todo el continente europeo, luego al norte de África y gran parte de Sudamérica. (Sammataro, *et al.*, 2000). Su arribo al continente sudamericano fue a través del traslado de abejas melíferas por apicultores japoneses a Paraguay en 1971, finalmente se confirmó su llegada a Brasil y demás países vecinos. Tanto su biología particular de la varroa como la apicultura moderna han hecho que se extienda a una tasa relevante en la mayor parte del mundo. (De Jong *et al.*, 1982).

2.2.2 Varroosis en Perú

Dávila y Ortiz (1987), mencionan que la detección de varroa en el Perú se dio en mayo de 1985, en la zona de Chaclacayo y Santa Eulalia (departamento de Lima), aunque, es probable que haya estado presente años antes dado que el daño causado por el ácaro es progresivo y se hace notorio cuando las colonias infestadas ya están colapsadas alcanzando la pérdida de 9 000 a 10 000 colmenas hasta esa fecha.

2.2.3 Taxonomía del ácaro

A lo largo de los años se han estudiado diversos métodos para determinar la variación de especies del género *Varroa*, lo cual contribuyó en la identificación de cuatro especies hasta el momento, dando resultados en un inicio a través de las diferencias morfológicas y más reciente por métodos moleculares. Los resultados contribuyeron al descubrimiento de la especie *Varroa destructor* que coloniza a la abeja melífera (Dietemann *et al.*, 2013).

La clasificación taxonómica de *Varroa destructor* según Anderson y Trueman (2000), es la siguiente:

Reino:	Animal
Filo:	Artrópodos
Clase:	Arachnida
Subclase:	Acari
Superorden:	Parasitiformes
Orden:	Mesostigmata
Familia:	Varroidae
Género:	Varroa
Especie:	<i>V. destructor</i>

2.2.4 Ciclo biológico de la varroa

Es esencial comprender la biología y patología de la varroa para evitar su reproducción e interrumpir su aumento poblacional en el momento óptimo, dado que la sincronización entre el ciclo de vida del huésped y hospedero es sumamente ceñida y constituye un punto crucial para su adecuado control. *Varroa destructor* carece de etapa de vida libre; su ciclo de vida está conformado por una fase reproductiva y una fase forética, por ende, se encuentra estrechamente relacionada a la abeja melífera (Rosenkranz *et al.*, 2010).

a. Fase Reproductiva

Las condiciones de temperatura y humedad adecuada para el éxito reproductivo del ácaro coinciden precisamente con la temperatura del nido de cría de la colmena y puede variar entre 30.5° a 35.5 °C (Grandez, 2015). Por otro lado, la humedad óptima oscila entre 55 a

70 por ciento, pero aumenta su tasa reproductiva cuando la humedad es mayor (Nazzi y Le Conte, 2016).

La fase reproductiva de *V. destructor* comienza con la invasión de una celda de cría larval de abeja de quinto estadio mediante una abeja nodriza que lo transporta. Este momento se da entre 15 a 20 horas previas al operculado de celda, si es obrera y 40 a 50 horas antes si es zángano. Existen varios mecanismos de atracción entre el ácaro y la larva. Algunos ésteres de ácidos grasos que componen la feromona de la larva inducen a la abeja nodriza a tapar la celda. Los ácaros utilizan estas feromonas como método kairomonal para sincronizar la invasión celular en el momento exacto y como atrayente a la cría ya que pasadas las 21 horas detiene su invasión a la celda. Otro posible compuesto atractivo para el ácaro es la identificación del alimento larval (Nazzi y Le Conte, 2016).

Así mismo, Rosenkranz *et al.* (2010) añaden que una estrategia adaptativa de la varroa para aumentar su éxito reproductivo es la detección de hidrocarburos cuticulares de la abeja como selección del huésped óptimo, es decir la nodriza, debido a las diferencias en el perfil de hidrocarburos cuticulares, conforme a la edad de las abejas.

Cuando el ácaro hembra encuentra su lugar óptimo reproductivo, se ubica en el fondo de la celda sumergida en alimento larval como estrategia para evitar ser reconocido por alguna abeja y en consecuencia su eliminación (Nazzi y Le Conte, 2016).

Pasadas cinco horas del recubrimiento de la celda de cría, ésta ha culminado su alimento larvario y es entonces cuando el ácaro comienza a alimentarse de la hemolinfa de la larva. La varroa perfora un agujero en el quinto segmento de la corteza de la pupa huésped y cerca al sitio de acumulación fecal; ese punto de alimentación será también utilizado por su descendencia. Aproximadamente 70 horas posterior al recubrimiento el ácaro hembra pone su primer huevo haploide y dará origen a un macho y los siguientes serán huevos fertilizados en intervalo de 30 horas que darán origen a hembras, poniendo entre 5 a 6 huevos en total dependiendo si su hospedero es obrera o zángano, respectivamente (Rosenkranz *et al.*, 2010).

Durante el desarrollo biológico de las crías de ácaro pasan por las etapas de deutoninfa, protoninfa hasta llegar a ser adulto y toma un tiempo de 130 horas para una hembra y alrededor de 150 horas para el macho. Dependiendo de la celda de la casta hospedera, la cantidad de hembras que llegaran a la madurez sexual será de 1.45 si es obrera o 2.2 si es

zángano. Si la celda fue infectada por una sola varroa hembra la descendencia será consanguínea (Vandame, 2000).

En la fase de apareamiento, Plettner *et al.* (2017) aseveran que las hembras jóvenes de varroa emiten una feromona sexual compuesta de 3 ácidos grasos (palmítico, esteárico y oleico) con sus respectivos ésteres etílicos que actúan en modo de atracción al macho para el apareamiento. Las hembras conforme van madurando dejan de producir la feromona por lo que el apareo tiene que ocurrir en un lapso breve de tiempo.

El apareamiento sucede cuando el macho copula con la primera hembra, tan pronto esta alcanza la adultez y continua su apareo con la siguiente hembra que llegue a la misma etapa, repitiendo la escena con las hembras sucesivas. Luego de ser fecundada una parte de su sistema genital se destruye; por esta razón su apareamiento sucede solo una vez. En el caso de la muerte prematura del macho, las hembras serán infértiles de por vida, esto sucede en 10 a 46 por ciento de las celdas (Vandame, 2000).

b. Fase Forética

En el instante de la emergencia de la abeja, una parte de su descendencia queda en la celda próximos a morir; mientras que, las hijas fecundas huyen en busca de una abeja para treparse y le sirva de transporte (Vandame, 2000). Sobre ella podrá pasar sus próximos días previos a su reproducción sin correr riesgo a ser detectada mientras tanto transcurre su periodo de capacitación de cinco días previo a la puesta de huevos. Es desconocido cuánto tiempo promedio permanecen sobre una abeja y si es necesario mantenerse por sí solas en la etapa forética, en vez de únicamente su tiempo de capacitación. Por otro lado, se sabe que el comportamiento de un ácaro forético es diferente a uno en etapa de reproducción. Se presume que las diferencias fisiológicas entre obreras adultas o jóvenes influyen en respuestaa su parasitismo (Evans, 2018).

2.2.5 Diagnóstico de la Varroasis

Saber el nivel de parasitación de varroa es primordial para aplicar tratamiento en el momento adecuado y evaluar su efectividad (Flores *et al.*, 2015). Es así que, Colombo *et al.* (2013) informan que, la detección al inicio de la infestación de las colmenas parasitadas sigue siendo una cuestión inespecífica, porque los ácaros no siempre se ubican en el dorso superior de las abejas, también se ocultan entre los segmentos del abdomen o están camufladas en las celdas operculadas con cría de abejas, además el color marrón

característico de la varroa es poco detectable a la vista; por este motivo, es importante para los apicultores tener métodos de diagnóstico simples y precisos a fin de detectar el nivel de infestación de sus colmenas. Existen varios métodos de diagnóstico, aunque varían en precisión y complejidad, entre ellos son:

a. Evaluación de muestras vivas (evaluación *in vivo*):

Mediante la colección de una cantidad determinada de abejas en un recipiente transparente de ancho estrecho que no les permita moverse, se puede hacer el conteo de ácaros y evaluar el porcentaje de infestación en adultas. Para la evaluación de la cría se observa con iluminación intensa los panales por el lado inferior o base de las celdas de cría, un número determinado de celdas y el conteo de los ácaros observados; de esta forma se puede estimar el porcentaje de infestación en la cría. Este método no afecta la matanza de abejas adultas y crías para la evaluación, pero es muy laborioso y poco preciso (Colombo *et al.*, 2013)

b. Evaluación por medio del sacrificio de abejas adultas o crías de abeja:

La prueba inicia recolectando un grupo máximo de 300 abejas adultas por colmena en un frasco, es recomendable tomar las muestras de diferentes marcos tanto de cría como de reservas de miel para obtener resultados más precisos. Se sumergen en una solución de alcohol o detergente, agitando fuerte para desprender a los ácaros de sus cuerpos. Luego se tamiza y se cuentan los ácaros caídos para estimar el grado de infección del colmenar con respecto al número total de abejas examinadas. Para la evaluación de crías si se dispone de crías de zánganos es preferible examinar dichas celdas por la alta preferencia de la varroa, de lo contrario se evalúan celdas de obrera. El procedimiento consiste en destapar las celdas operculadas, recoger las larvas para examinar si están parasitadas y realizar el recuento; también se puede enjuagar las celdas para contar la progenie del ácaro que se pudo quedar (OIE, 2018).

c. Evaluación de la mortalidad natural del ácaro.

El método de diagnóstico más popular, pero de proceso lento es la colocación de pantallas adhesivas debajo de las colmenas. Consiste en una base recubierta de una sustancia pegajosa para que los ácaros caídos, ya sea por actividad de aseo de la abeja o por muerte natural del ácaro queden atrapados. A un centímetro de altura de la base aproximadamente debe ir

colocada una malla que evite el paso de las abejas. Los investigadores han correlacionado la caída de varroa en periodos de 24, 48 y 72 horas (Ellis y Nalen, 2010).

2.2.6 Signos de la Varroasis

La varroa se alimenta de la hemolinfa de abejas adultas y crías causando constantemente pérdida de peso en las abejas con carga creciente de ácaros, llegando a disminuir hasta un 25 por ciento de peso cuando están infestadas con 6 o más ácaros (De Jong *et al.*, 1982). También Yang y Cox-Foster (2007), agregan que el parasitismo del ácaro suprime genes relacionados con el sistema inmunológico de la abeja, viéndose reflejado con la falta de actividad de la enzima fenol oxidasa, encargada de funciones inmuno celulares en abejas recién emergidas. En consecuencia, su poca respuesta de defensa aumenta los títulos virales de DWV (virus de las alas deformadas) lo cual reduce su esperanza de vida y aptitud de la colonia.

Al respecto, en una investigación de Francis *et al.* (2013) sobre la relación entre el tratamiento de varroa, carga viral y supervivencia de la colonia se pudo demostrar que aplicando tratamientos químicos a las colonias infestadas por varroa no disminuyó la carga viral; esto se atribuye al impacto de los acaricidas en la inmunosupresión de las abejas y a la tendencia positiva entre la alta carga de varroa y la acumulación de títulos virales altos. Las colonias podrían recuperarse de altas prevalencias virales si se trata lo suficientemente temprano la infestación de varroa, lo que permitiría pasar su etapa de hibernación con éxito.

2.2.7 Métodos de control de la Varroasis

a. Control químico

El uso de piretroides como fluvalinato y organofosforados en formulaciones para controlar eficientemente la infestación de varroa se hizo infructífero con el tiempo por la resistencia desarrollada de los ácaros, a pesar de la alternancia entre controles químicos con otros mitocidas, por ende, no hay tratamiento químico que sea totalmente eficiente. La resistencia favorece a la necesidad de aplicaciones más frecuentes y mayores dosis lo cual conlleva a dejar residuos químicos en la colmena y en las reservas de los panales resultando tóxico para las abejas (Le Conte *et al.*, 2010).

Un control químico alternativo es el uso de ácidos orgánicos derivados de componentes activos de aceites vegetales. Entre ellos se encuentra el timol, componente del tomillo (*Thymus vulgaris*), el ácido fórmico y el ácido oxálico, los cuales han sido estudiados por su alta efectividad contra varroa, sin embargo, como en la mayoría de los insecticidas, su efectividad varía según las condiciones ambientales (Gregorc y Sampson, 2019). Adicionalmente, algunos estudios han informado que existen aproximadamente 15 especies de plantas con propiedades acaricidas, que se caracterizan por ser económicas, volátiles y libres de efectos adversos, si se utilizan adecuadamente, no obstante, su estandarización es complicada durante la aplicación. Utilizar únicamente aceites esenciales suele ser insuficiente por lo que debe usarse con otros métodos de control integrado contra varroa (Adnan *et al.*, 2019).

b. Defensa conductual de la abeja

El auto aseo o *grooming* de la abeja implica la eliminación de polen o ciertas partículas extrañas de su cuerpo, esta característica genética es acentuada en la especie de abeja *A. cerana* formando parte del mecanismo de defensa contra varroa, sin embargo algunos estudios han revelado este comportamiento no tan pronunciado en abejas melíferas, puede traer algunas desventajas como la aceleración en la transmisión de virus durante el acicalamiento por sus compañeras de la colonia (Evans y Spivak, 2010).

El comportamiento higiénico consiste en el destapado y extracción de crías muertas, enfermas o parasitadas, ello no incluye la muerte de los ácaros, pero induce a la interrupción del ciclo reproductivo de la varroa y prolongada fase forética o incluso su muerte. (Rosenkranz, 2010). Las abejas higiénicas probablemente detectan a pupas infestadas en respuesta a estímulos olfativos asociados a los aromas desprendidos por la herida de la larva hecho como medio de alimentación del ácaro, además de los compuestos volátiles por acumulación fecal y descendencia del parásito (Evans y Spivak, 2010).

c. Control biológico de la varroa

Otra alternativa para el control sostenible del ácaro varroa es el uso de agentes bio controladores, como hongos entomopatógenos e insectos depredadores. Las pruebas de laboratorio y campo han demostrado resultados favorables para las abejas y afirma una

alternativa prometedora. Entre estos, los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* han mostrado buena eficacia contra el ácaro y no manifestaron impacto en la salud de la colonia en condiciones de laboratorio y campo, pese a ello se necesitan más investigaciones bajo diversas condiciones ambientales y métodos de aplicación en periodos adecuados. También, hay estudios sobre el uso de pseudo escorpiones evaluados en condiciones de campo, pero los resultados fueron insignificantes para el control de varroa (Abou-Shaara y Staron, 2019).

Factores como la temperatura del nido, activamente regulado por la colonia es un desafío para la función eficaz del agente de bio control, especialmente para los hongos entomopatógenos, además el comportamiento de las abejas contra agentes en las colmenas, en particular insectos depredadores, pueden perjudicar su desempeño contra la varroa y pasivamente en el rendimiento de la colonia como la puesta de huevos de la reina o la crianza de larvas; asimismo la contaminación con pesticidas puede afectar negativamente a los agentes usados, por lo tanto es importante evaluar las reacciones de las abejas para garantizar cualquier efecto negativo. En suma, los agentes de bio control deben ser implementados en programas planificados de manejo de plagas y no usarse únicamente para el control de varroa (Abou-Shaara y Staron, 2019).

2.3 Acido oxálico

El ácido oxálico, llamado también ácido etano dioico, es un ácido orgánico dicarboxílico (COOH)₂ con un peso molecular de 90.04, inodoro y componente frecuente de varias plantas de cultivo y pastos (Nistal, 2011).

2.3.1 Aplicaciones y usos

Es un componente natural de la miel y se sugirió mundialmente como miticida natural para el control de varroa, seguro para los apicultores y sin problemas de residuos (Maggi *et al.*, 2017). Se puede encontrar en forma de cristales higroscópicos o polvo blanco y sus principales propiedades fisicoquímicas son: densidad de 1.9, solubilidad en agua de 8.7 g/100ml a 20°C, su punto de sublimación es -157°C y punto de fusión es 189.5°C (Nistal, 2011).

2.3.2 Mecanismo de acción

En un experimento sobre la comparación de soluciones, ácido oxálico (OA) y oxalato de potasio con diferentes pH, resultó mayor mortalidad de ácaros en el grupo tratado con ácido oxálico. Al parecer la acidez es responsable de la actividad de OA contra varroa; aunque, la sensibilidad a la acidez aún permanece sin explicación (Nanetti *et al.*, 2003).

2.3.3 Comercialización

En el Perú la compra y venta de ácido oxálico se realiza en tiendas apícolas principalmente; el producto es importado y distribuido por diferentes empresas químico-industriales y su precio oscila entre los 20.00 a 30.00 soles el kilo.

2.3.4 Metodologías de aplicación

a. Método por Goteo

Consiste en la preparación de una mezcla en base a agua, azúcar y ácido oxálico. Para aplicar el tratamiento se abre la colonia y se rocía el jarabe utilizando una jeringa o aplicador similar, entre los bastidores de la cámara de cría. Para la cantidad suministrada se debe evaluar previamente la fortaleza de la colonia (Vandame, 2000). Aunque el goteo no se aplica directamente sobre la cría, las abejas adultas al ser rociadas pueden dejar residuos al tocar las larvas en las celdas de cría abiertas, lo cual provoca efectos adversos sobre la cría y disminución del área de superficie total de cría abierta por lo que no se recomienda la aplicación de ácido oxálico por goteo cuando está presente la cría abierta y en condiciones de verano (Hatjina y Haristos, 2005). Además, en una colonia con gran cantidad de celdas tapadas, alrededor del 60 a 70 por ciento de varroa hembra se encuentra dentro de ellas, causando escasa cantidad de ácaros eliminados, entre 30 a 40 por ciento y le tomará la mitad de una duplicación para volver al nivel inicial de infestación. Esto representa una décima parte de un año de control mientras que tratar en periodo sin o con poca cría proporciona un año de control aproximadamente y en general, menos costo para el apicultor. Aun cuando controlar las colmenas en invierno no es recomendado, si se hacen inspecciones con cuidado, no causa ningún daño (Ratnieks y Al Toufalia, 2016).

b. Método con Tiras de celulosa

Se basa en colocar tiras de celulosa en forma de U impregnadas con una solución que contenga ácido oxálico, puede estar diluída con agua o glicerina y se insertan entre los panales de cada colonia. El principio activo se libera de manera lenta dentro de la colmena y la matriz de la tira con ácido oxálico ayuda a mantener la concentración ácida adecuada dentro de la colonia por tiempo prolongado.

Según Segur y Oberstar (citados en Maggi, 2016), la glicerina facilita la diseminación del ácido entre las abejas por poseer la propiedad de ser altamente viscosa; esto causa que se quede más tiempo en el cuerpo de los hospederos, haciendo más eficiente el tratamiento a diferencia de otras formulaciones. Este método además requiere de una sola aplicación y no interfiere en el desarrollo de las crías ni abejas adultas (Maggi, 2016). Un aspecto para tener en cuenta en esta metodología de tratamiento es el porcentaje de roído de las tiras ya que su deterioro reduce el área de contacto del principio activo con los ácaros. Entre las posibles causas del roído está el comportamiento higiénico de las abejas, la población de la colmena, el área de cría, las condiciones climáticas, el flujo de néctar, fecha de aplicación etc. (Aldacour, 2019).

c. Método por Pulverizado

La pulverización o aspersión consiste en rociar directamente una solución acuosa de ácido oxálico con o sin azúcar, sobre los panales de la colmena. Este método lleva más tiempo que el goteo porque cada panal debe ser retirado y rociado sobre las abejas con la solución por ambos lados por lo que se recomienda su aplicación en apiarios pequeños. Es recomendable su aplicación en épocas sin o poca cría o en colonias de núcleos y a diferencia del método del goteo, el apicultor se expone más al contacto con el ácido (Rademacher y Harz, 2006).

d. Método por Evaporación

Marinelli *et al.*, (2004), describen el método por evaporización, en el desarrollo de su investigación. Éste se basa en colocar el ácido oxálico cristalizado en una pequeña bandeja de vaporización la cual se pone a calentar mediante una batería de 12 voltios haciendo que se derritan los cristales y se vaporice. Este dispositivo se coloca por la entrada de la colmena y una vez dentro, se cierra herméticamente con una espuma durante quince minutos aproximadamente. Compararon dos tratamientos con el dispositivo Varrox®, en uno se

vaporizó 1 g de ácido oxálico, dos veces entre lapso de quince días y en el otro tratamiento se vaporizó 2 g de ácido oxálico una sola vez. Los resultados de eficacia fueron 85,3 y 80,6 por ciento respectivamente, sin diferencias significativas entre ambos, pero tuvieron eficacia similar en comparación a investigaciones mediante el método de goteo. No hubo diferencias significativas en cuanto a mortalidad de abejas y aumento residual en la miel. Del lado contrario, la técnica es más compleja y demanda mayor trabajo que la técnica del goteo desde la perspectiva de los apicultores, en especial para aquellos que cuentan con una gran cantidad de colmenas, además se necesita utilizar un equipo de seguridad durante las fases de preparación y distribución por exposición a riesgos.

2.4 Ensayos realizados para el control de varroa con ácido oxálico

Para evaluar la efectividad del ácido oxálico como acaricida existen diferentes formas, entre ellas la efectividad basada en la diferencia de tasas porcentuales de infestación inicial y final de varroa forética, ha sido la más utilizada. Diversos autores como Abd El-Wahab *et al.* (2021), Al Toufailia *et al.* (2015) entre otros, han aplicado esta metodología de evaluación mostrando resultados con elevado nivel de certeza. También, en una investigación de Dobrynin *et al.* (2013), menciona que el método para hallar la efectividad mediante la tasa de infestación de varroa en abejas adultas resultó ser más preciso ya que distingue valores más altos de infestación y se puede implementar en cualquier temporada del año. Otra forma de hallar la efectividad es mediante la técnica del shock químico utilizada por diversos autores como Marcangelli y García (2004) y Calderón *et al.* (2009), quienes también obtuvieron resultados precisos.

En cuanto a las investigaciones sobre la efectividad del ácido oxálico contra varroa utilizando diferentes métodos de aplicación, existen muchos ensayos al respecto. Por ejemplo, Tommema (2010), experimentó el método de pulverización con diferentes concentraciones de ácido oxálico (0.5, 1.0 y 1.5 por ciento) en intervalos entre 3 a 6 días y dosis de 25 ml por panal para evaluar la toxicidad sobre las abejas en periodos sin cría o enjaulando a la reina durante 21 días y quitando celdas tapadas, de lo cual no resultó diferencias significativas entre las tres concentraciones con respecto a la efectividad contra el ácaro, sin embargo, se observó mayor mortalidad de abejas con 1.0 y 1.5 por ciento; en otro ensayo utilizando la menor dosis resultó que a mayor área de cría tapada, hubo menor

eficacia, pero no fue tóxico para las abejas por lo cual se concluyó que el método de pulverización a concentraciones bajas y sin crías son inofensivas para las abejas.

Por otro lado, Adjlane *et al.* (2016), en una investigación mediante la técnica de goteo determinaron efectos secundarios sobre las abejas y efectividad del ácido oxálico de tres dosis, 4.2, 3.2 y 2.1 por ciento con dos aplicaciones a intervalo semanal, lo cual arrojó resultados de eficiencia de 81, 72 y 65 por ciento, respectivamente, mientras que los resultados con respecto a debilidad de las abejas fueron 25, 15 y 10 por ciento. Se observó alta variación en la eficacia del tratamiento en las colonias y se atribuye a la presencia de cría y clima templado del lugar. Es usual observar una caída significativa en las poblaciones de abejas durante el otoño e invierno, por lo tanto, los tratamientos deben ser repetitivos, pero en dosis bajas.

Aldacour, en el año 2019, en una investigación para evaluar la dosificación de un acaricida apícola Aluen CAP®, a base de soportes de celulosa impregnadas con ácido oxálico, para el control de varroa en etapa primaveral, encontró resultados que demuestran la posibilidad de disminuir considerablemente la dosis recomendada del producto, sin alterar su eficacia. Los tratamientos consistieron en evaluar 1, 2, 3 y 4 tiras del producto por colmena y el quinto tratamiento con flumeretrina. Los resultados a los 42 y 56 días no mostraron diferencias significativas en la eficacia entre los tratamientos 2, 3 y 4, dando buenos resultados mientras que el tratamiento 1 registró muy poca efectividad, por el contrario, se encontraron diferencias significativas en la cantidad de ácaros remanentes lo que hace posible concluir que el tratamiento con una sola tira no es recomendable. Entre otras variables evaluadas como área de cría, población de abejas adultas y roído de las tiras de celulosa, no fueron afectadas por la dosificación. Por consiguiente, el autor aconseja utilizar dos tiras de Aluen CAP® por colonia en pleno desarrollo, de esa forma se minimizarían costos y tiempo de aplicación.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y características climatológicas

El estudio se realizó en el Apiario “Mi reina Sofía” ubicado en el distrito de Cieneguilla, provincia y departamento de Lima, localizado geográficamente a $12^{\circ} 07'57''$ Latitud Sur y $76^{\circ}48'44''$ Latitud Oeste, a 283 m.s.n.m. Durante el proceso se registró los datos de temperatura promedio mínima de 18.71° y máxima de 29.44° ; la humedad relativa mínima fue de 66 por ciento y humedad relativa máxima de 94 por ciento según los datos de la estación meteorológica Alexander Von Humbold (Anexo 1).

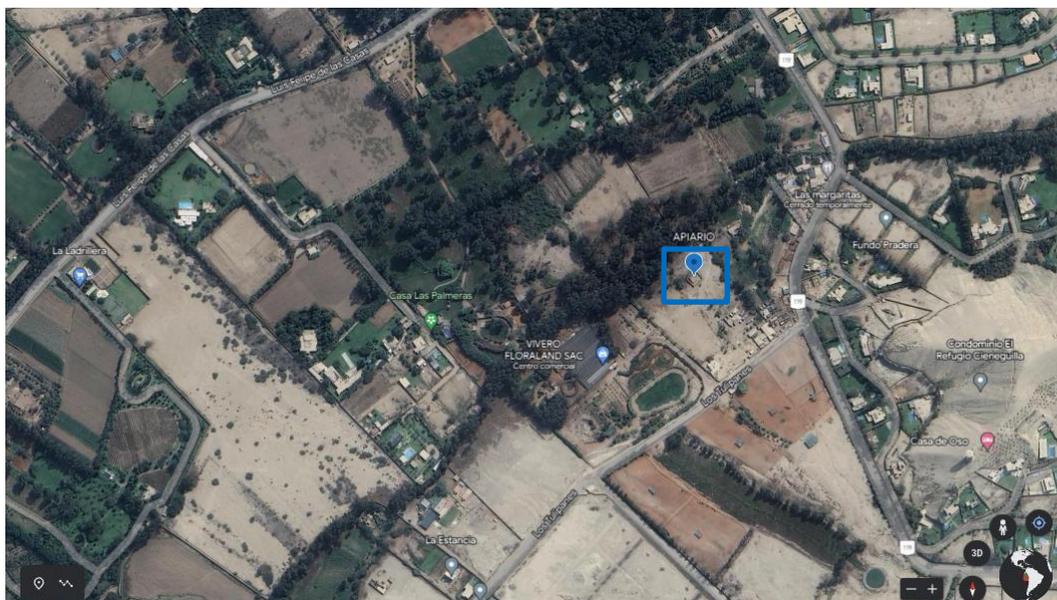


Figura 1: Ubicación geográfica del apiario (Adaptado de Google earth, s.f.)

3.2. Material del ensayo

Para realizar el ensayo se utilizaron los siguientes materiales:

3.2.1 Material Biológico

El material biológico utilizado estuvo constituido por 27 colonias de abejas melíferas seleccionadas al azar de un total de 62 colonias de procedencia genética conformada por el cruce de raza Italiana y Carniola. Todas las colonias estaban infestadas de ácaros V. destructor de forma natural y ubicadas en colmenas tipo Estándar Americana de una a dos alzas, las cuales no fueron manipuladas para ser estandarizadas en tamaño o área de cría más allá de que se mantuvieran con el mismo espacio de colmena, a fin de precisar la captura de variación entre las colonias observadas en colmenares reales y todas las reinas fueron renovadas.

Las colmenas provenían de polinizar palto Hass de setiembre a diciembre del 2021, en el distrito de Quilmaná, provincia de Cañete y contaban con reserva de miel de palto y eucalipto principalmente; no obstante, ante el déficit de proteínas se les proporcionó 200 gramos cada 15 días de torta proteica preparada a base de azúcar impalpable, polen, levadura de cerveza, Promotor L (pienso complementario líquido compuesto de vitaminas y aminoácidos levógiros), aceite vegetal y miel de abeja (Anexo 2). Cabe recalcar que el último tratamiento de las colmenas contra Varroasis antes del experimento fue en junio del 2021, utilizando ácido oxálico en tiras de liberación lenta (Aluen CAP®).



Figura 2: Colmenar “Mi Reina Sofía” en Pampa Tinajas-Cieneguilla

3.2.2 Materiales complementarios:

- Indumentaria para el manejo de las colmenas: Careta, guantes, ahumador, palanca y cepillo.
- Materiales de escritorio y campo: Computadora, lapiceros, libreta, plumón indeleble, esponja, balanza gramera digital, cinta de embalaje, tijera y hojas bond de colores.
- Materiales que integraban a las colmenas: Se elaboró 27 trampas para captura de varroas, las cuales consistieron en una lámina de cartulina plastificada blanca de medidas 56 cm de largo x 39 cm de ancho divididas en cuatro cuadrículas para facilitar el conteo de ácaros caídos, luego fueron untadas con vaselina líquida incolora e inodora utilizando una esponja y fueron colocadas en la base de cada colmena previa limpieza. Adicionalmente se colocó una malla trampa tipo rachel por colmena de medidas 60 cm de largo x 41 cm de ancho que fueron sostenidas en los cuatro extremos del piso de la colmena con chinchas. Esto se hizo con el fin de evitar que las abejas ingresen y retiren los ácaros caídos y que los ácaros vivos regresen al cuerpo de las abejas.



Figura 3: Untado de vaselina en las trampas de varroa de cada colmena

- Materiales para la detección de infestación de las colmenas: Agua potable, alcohol etílico de 96°, tres frascos transparentes de boca ancha y tapa amarilla, un colador, una bandeja de fondo blanco y una pinza. (Figura 4)



Figura 4: Frascos rotulados con muestras de abejas sumergidas en alcohol (a). Bandeja de fondo blanco para visualizar los ácaros caídos del colador (b)

- Materiales para la preparación del jarabe aplicado por el método de pulverización: ácido oxálico cristalizado, agua hervida tibia, azúcar rubia, una botella plástica y un frasco graduado con pulverizador.



Figura 5: Pulverizador con contenido de jarabe de sacarosa y ácido oxálico.

- Materiales utilizados para la elaboración de las tiras de cartón: Ácido oxálico cristalizado, glicerina líquida pura, hornillo artesanal pequeño, encendedor, tiras de cartón de 45 cm de largo x 3 cm de ancho x 1.5mm de grosor y hojarasca.



Figura 6: Dilución del ácido oxálico cristalizado en glicerina líquida pura por medio de calor



Figura 7: Tiras de cartón embebidas en la mezcla de ácido oxálico y glicerina

3.3 Métodos

El ensayo experimental se realizó bajo la siguiente metodología.

3.3.1 Diseño Experimental

El estudio planteado corresponde a un experimento de Diseño Completamente al Azar (DCA) con dos tratamientos y un testigo. El tratamiento 1 estuvo conformado por 10 repeticiones y consistió en la aplicación de ácido oxálico en solución acuosa mediante pulverización sobre los panales; el tratamiento 2 estuvo conformado por 10 repeticiones aplicando ácido oxálico en una mezcla con glicerina embebido en tiras de celulosa, y el grupo control o testigo, conformado por 7 repeticiones quienes no recibieron ningún tratamiento; todos constituyeron un total de 27 unidades experimentales.

Modelo aditivo lineal

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

- Y_{ij} = Efectividad observada con el i -ésimo modo aplicativo en la j -ésima colmena
- μ = Media poblacional de la infestación de las colmenas. Efecto de la media general de la efectividad.
- T_i = Efecto del i -ésimo modo aplicativo.
- E_{ij} = Efecto del error experimental del i -ésimo método aplicativo en la j -ésima colmena.

3.3.2 Periodo Experimental

El ensayo inició el día 17 de febrero y culminó el 01 de abril del 2022. El 17 y 18 de febrero se realizaron las determinaciones de infestación inicial en todas las colmenas del apiario y se seleccionaron las colmenas que tenían 3 por ciento a más de infestación para ser tratadas; el 19 de febrero iniciaron ambos tratamientos según su grupo asignado al azar y culminaron el 18 de marzo con el retiro de remanentes de los tratamientos empleados para dar inicio al shock químico hasta el 01 de abril.

En la Figura 8 se observa la distribución de las colmenas utilizadas las cuales fueron diferenciadas por colores, de acuerdo con el tratamiento aplicado:



Figura 8: Croquis de distribución de las colmenas del ensayo en el colmenar “Pampa Tinajas”

3.3.3 Descripción de la metodología de aplicación de los tratamientos en las unidades experimentales.

- **Pulverización acuosa de ácido oxálico sobre los panales (T1):** Se roció una mezcla al 3.85 por ciento, constituida en proporción (1:1) de azúcar y agua hervida más 80.00 g. de ácido oxálico cristalizado en dosis de 10 ml por panal (Figura 9), en cuatro panales de cría y uno de reserva, por ambos lados sumando un total de 50 ml por colmena, luego de 14 días se realizó la segunda aplicación culminando el tratamiento a los 28 días para dar inicio al tratamiento shock.



Figura 9: Pulverización del jarabe con ácido oxálico sobre los panales

- **Suspensión de tiras de celulosa con solución de ácido oxálico y glicerina (T2):** Se colocaron 4 tiras de celulosa (cartón) de medidas (45 cm x 3 cm x 1.5mm) por colmena suspendidas entre las cámaras de cría (Figura 10). Las tiras fueron previamente embebidas durante 1 hora, en una mezcla de 5 ml de glicerina pura y 1 gramo de ácido oxálico por

tira. Se retiraron los remanentes de las tiras a los 28 días del inicio del experimento para comenzar con el tratamiento shock químico.



Figura 10: Colocación de las tiras de celulosa entre los marcos de la cámara de cría

- **Testigo:** Grupo control de siete colmenas que no recibió ningún tratamiento hasta los 28 días y luego se le aplicó el tratamiento shock químico.

3.3.4 Descripción secuencial de los procesos realizados durante la etapa experimental:

Tabla 2: Secuencia ordenada del proceso experimental

SECUENCIA	T1	T2	TESTIGO
DIA 0	Evaluación de infestación inicial		
DIA 1	1era Aplicación de AO pulverizado	Única aplicación de tiras de cartón con AO	N/A
DIA 14	2da Aplicación de AO pulverizado	N/A	N/A
DIA 28	Evaluación de infestación final		
	Efectividad por diferencia de infestaciones aplicación de shock químico		
DIA 42	Efectividad por shock químico		

a. Determinación del porcentaje de infestación inicial en abejas adultas (TIVA) y evaluación general de las 27 colmenas previo a la aplicación de los tratamientos.

Mediante el método de David De Jong *et al.* (1982) se determinó la infestación inicial de *V destructor* en todas las colmenas experimentales extrayendo una muestra promedio de 200 abejas, cuidando que la reina se mantenga protegida, de uno a dos panales centrales de la cámara de cría utilizando un frasco rotulado con el código asignado a cada colmena (Figura 11). El frasco contenía aproximadamente 140 ml de alcohol y 60 ml de agua y a continuación de la captura de la muestra se procedió a agitar el frasco durante 1 minuto (Figura 12), con la finalidad de extraer los ácaros del cuerpo de las abejas sumergidas.



Figura 11: Deslizamiento del frasco con alcohol al 70 por ciento para la captura de abejas



Figura 12: Agitación moderada en forma circular de la muestra de abejas

Luego de agitar el frasco, se utilizó un colador para separar a las abejas de los ácaros y filtrarlos en una fuente de fondo blanco. Finalmente se contabilizó las abejas y varroas, para agruparlas con mayor facilidad (Figura 13).



Figura 13: Conteo de abejas (lado izquierdo) y conteo de varroas (lado derecho)

Para determinar el porcentaje de infestación de las colmenas se utilizó la siguiente fórmula:

$$TIVA = \frac{\text{número de varroas}}{\text{número de abejas}} \times 100$$

Donde:

TIVA: Tasa de infestación por varroas en abejas adultas

También se realizó una previa evaluación general de las colmenas seleccionadas para el ensayo, las cuales contenían en promedio entre 20 000 y 25 000 abejas por colmena, cinco a seis marcos de cría abierta y operculada y tres a cuatro marcos con reserva de alimento.

b. Primera aplicación del ácido oxálico mediante ambas metodologías.

Un día después de evaluar la infestación inicial de las colmenas se comenzó con los tratamientos de ácido oxálico simultáneamente, 10 colmenas recibieron la aplicación

pulverizada y 10 colmenas recibieron las tiras de cartón, mientras que el grupo testigo no recibió ninguna aplicación de ácido oxálico.

c. Conteo del número de varroas caídas en las trampas de las colmenas.

A partir del inicio de los tratamientos, se realizó el monitoreo de ácaros caídos, tanto vivos y muertos cada 7 días durante 7 semanas con la finalidad de evaluar la efectividad de los tratamientos con ácido oxálico. Para determinar la cantidad de ácaros se procedió a retirar la trampa de varroa del piso de la colmena, contabilizar cuadro por cuadro y anotar la cantidad contada en la libreta de campo (Figura 14). Luego se procedió a limpiar la cartulina con una esponja y embadurnar nuevamente con vaselina, si se encontrase en buen estado. En caso la cartulina esté deteriorada se procedió a cambiarla por una nueva.



Figura 14: Conteo, por cuadrícula de ácaros caídos en la trampa

d. Segunda aplicación del tratamiento por pulverización después de 13 días.

El día 14 se realizó la segunda pulverización del jarabe con ácido oxálico ya que la fase de cría operculada de la abeja obrera y zángano dura entre 12 a 14 días y al emerger, el tratamiento actúa sobre la fase forética de la varroa.

e. Retiro de los remanentes del tratamiento con tiras de cartón, después de 28 días de su colocación.

Pasados los 28 días se procedió a retirar las tiras de cartón de las colmenas. Cabe mencionar que durante el conteo de ácaros semanal se observó remanentes de cartón en el piso de las trampas de las colmenas pertenecientes al tratamiento.

f. Determinación del porcentaje de infestación final en abejas adultas (TIVA) 28 días después del inicio de los tratamientos.

Luego del retiro de los remanentes se procedió a determinar la tasa de infestación final de *V. destructor* en todas las colmenas, incluidas las del grupo control siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente para la infestación inicial. Con ambos resultados de infestación se determinó la efectividad de los tratamientos aplicados mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Efectividad} = \frac{\text{Infestación inicial} - \text{Infestación final}}{\text{Infestación inicial}} \times 100$$

g. Uso de un tratamiento control o “shock químico” en todas las colmenas del ensayo.

Inmediatamente después de determinar la tasa de infestación final en abejas adultas, se procedió a aplicar un tratamiento “shock químico” con el objetivo de evaluar la efectividad de los tratamientos antes aplicados y eliminar los ácaros remanentes de la colmena que no fueron afectados por el ácido oxálico. Para ello se utilizó el producto comercial WANG SHI ® compuesto de fluvalinato impregnado en tiras plásticas y de liberación lenta. Se colocaron según las dosis indicadas, de 1 a 4 tiras por colmena suspendidas entre los cuadros de cría, dependiendo de la fortaleza de ésta y número de panales de cría.

h. Conteo del número de varroas caídas en las trampas de las colmenas a causa del tratamiento “shock químico”.

Se realizó el conteo de ácaros caídos en todas las colmenas cada 7 días durante 2 semanas siguiendo el mismo procedimiento realizado durante el conteo por la aplicación de ácido oxálico y se procedió a evaluar la efectividad de los tratamientos según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Efectividad} = \frac{\text{N}^\circ \text{ VT}}{\text{N}^\circ \text{ VSH} + \text{N}^\circ \text{ VT}} \times 100$$

Donde:

VT= número de varroas caídas por tratamiento con AO.

VSH= número total de varroas caídas por el tratamiento shock químico.

i. Retiro de remanentes del tratamiento “shock químico”

El ensayo experimental culminó a los 42 día desde el inicio de los tratamientos; sin embargo, el producto químico suministrado continuó su tiempo de aplicación indicado, el cual oscila entre 6 a 8 semanas, lo que significa que se mantuvo en las colmenas durante 4 semanas más después de culminado el ensayo con el fin de dejar las colmenas libres de ácaros y no perjudique al apicultor.

3.4 Análisis de datos estadísticos

El análisis estadístico se realizó con el *software* R Studio. Luego de la recopilación de la data se verificó que las variables cumplieran con la prueba de normalidad y homocedasticidad para decidir por un análisis paramétrico y no paramétrico.

Las variables que no cumplieron los supuestos de normalidad fueron transformadas en base a dos funciones para mayor precisión y sensibilidad de los resultados: la función arcoseno ($\arcsen\sqrt{y}$) para las variables infestación inicial, infestación final, efectividad relativa por diferencia de infestación, diferencia de panales con cría y diferencia de panales con reserva alimenticia; la función logaritmo ($\log y$) para las variables: caída de ácaros por efecto de los tratamientos, caída de ácaros por efecto del tratamiento por shock químico, caída total de ácaros por efecto de ambos tratamientos y la efectividad relativa mediante la cantidad de ácaros caídos. (INIA Perú, 2022, 1h, 55m, 30s).

A continuación, se procedió a realizar la prueba de ANVA (Análisis de variancia) para las variables que se ajustaron a un análisis paramétrico; posteriormente, en los casos donde se detectaron diferencias significativas, se realizó la prueba de rangos múltiples de Duncan (pruebas para comparaciones planeadas) según la significancia del ANVA donde se evidenció el tratamiento significativo. Por otro lado, las variables que no cumplieron con los supuestos de normalidad pese a la transformación realizada se les realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para continuar con la comparación múltiple no paramétrica, en el cual se realizó la prueba Post-hoc con el fin de evaluar qué par de tratamientos fueron significativos. (INIA Perú, 2022, 1h, 55m, 30s).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo, se presentan los resultados de la efectividad del ácido oxálico bajo dos métodos de aplicación, por pulverización y por tiras de celulosa, expresados en porcentaje de efectividad relativa por diferencia en la tasa de infestación y efectividad relativa por medio de shock químico; también los efectos colaterales sobre los panales de cría y reserva de alimento; además, se registra el tiempo y costo por tratamiento como evaluación económica y de practicidad.

4.1 Efectividad en base a la diferencia porcentual de infestación inicial y final en abejas adultas.

La Tabla 2 muestra el porcentaje de infestación inicial y final y la efectividad del ácido oxálico como acaricida basado en la diferencia entre las tasas de infestación en abejas adultas en los 3 grupos evaluados.

Tabla 3: Tasas de infestación inicial, final de varroa en abejas adultas y efectividad relativa en colmenas con tratamiento de ácido oxálico y sin tratamiento

Tratamiento	% Infestación Inicial	% Infestación final	% Efectividad Relativa
Ácido oxálico pulverizado	10.06 ^a	2.84 ^a	71.82 ^a
Ácido oxálico en tiras de celulosa	8.41 ^{ab}	4.79 ^a	46.98 ^{ab}
Testigo	5.83 ^b	5.40 ^a	6.23 ^b

*Valores dentro de la misma columna con la misma letra no son significativamente diferentes (Duncan, $p < 0.05$)

* a, b, c Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

El ensayo inició con un promedio de infestación entre 5.83 y 10.06 por ciento, determinada por el número de ácaros en las muestras de abejas obreras tomadas dos días antes del tratamiento con ácido oxálico. Las colmenas agrupadas al azar para cada tratamiento obtuvieron diferencias significativas en su porcentaje inicial de infestación, siendo el grupo asignado para la pulverización el que presentó mayor infestación (10.06 por ciento), seguido por el grupo asignado para las tiras de celulosa con 8.41 por ciento y el grupo testigo, que obtuvo el menor valor de infestación (5.83 por ciento).

En general, el promedio de infestación inicial indica que las colmenas presentaban infestación moderada, según el criterio descrito por Vandame (2000); además se encontraban poco homogéneas entre sí respecto a su infestación, lo cual pudo ser causado por su reciente arribo de labor de polinización en cultivos de palto en una región al Sur de Lima.

Algunos autores, de forma similar, al iniciar sus investigaciones de efectividad de acaricidas contra varroa encontraron tasas diferentes de infestación entre sus tratamientos, como Ruiz- Flores *et al.* (2012), cuyas colmenas mostraron un nivel de infestación promedio mensual entre 3.27 ± 2.60 por ciento dentro de un amplio rango de variación entre 0 a 10.06 por ciento, lo cual lo lleva a concluir que no existe estacionalidad marcada en el año para el nivel de infestación de varroa; de igual forma, Al Toufalia *et al.* (2015), compararon métodos de aplicación y dosis de ácido oxálico en colmenas con 9.8 por ciento de infestación inicial dentro del rango entre 2 a 29 por ciento. Por el contrario, estudios previos iniciaron sus experimentos con datos más homogéneos entre los grupos evaluados, un ejemplo es el ensayo de Moyón (2013), donde el rango estrecho de infestación inicial oscilaba entre 10.50 y 11.28 por ciento y un caso de infestación severa que encontraron De Mattos *et al.* (2016), lograron hallar niveles de infestación inicial entre 14 a 16.5 por ciento en el 2012. Este caso es muy particular pues las colmenas se mantuvieron estables durante años. Aun cuando las tasas de infestación continuaban elevadas, no había mortalidad de colonias de abejas, fundamentando la tolerancia al ácaro.

La tasa de infestación final se evaluó luego de 28 días de haber aplicado los tratamientos, con OA, ésta disminuyó considerablemente para ambos grupos tratados a comparación del tratamiento testigo; sin embargo, el tratamiento por el método pulverizado obtuvo mayor diferencia, es decir finalizó el tratamiento con menor infestación (2.84 por ciento) mientras que el tratamiento por el método con tiras de celulosa finalizó con 4.79 por ciento de

infestación. Por último, el grupo testigo finalizó con el valor más alto de infestación (5.40 por ciento), sin gran diferencia de su infestación inicial, sin embargo, estadísticamente, no hubo diferencias significativas ($p>0.05$) entre los tratamientos y el testigo.

Estos resultados estarían reflejando el efecto positivo del ácido oxálico con las metodologías de aplicación utilizadas de forma proporcional al nivel de infestación con el que fueron encontradas las colmenas; una posible explicación de la infestación final del grupo tratado con tiras de celulosa respecto a su estrecha diferencia de su infestación inicial, pudo ser causado por la dosis utilizada, la cual fue baja con el fin de no causar toxicidad en las abejas, además la alta actividad de roído de las tiras de cartón observada durante los días que estuvieron suspendidas entre los panales. En el caso del grupo testigo evidenciaría prácticamente que la infestación se mantuvo constante, lo cual daría indicios que las colmenas poseían alta fortaleza o un buen comportamiento higiénico.

Al Toufailia, (2015) halló resultados similares respecto a la diferencia en la reducción porcentual de infestación del grupo testigo, el cual difirió solo en 0.9 por ciento, sin diferencias significativas. En cambio, el tratamiento pulverizado difirió en 86.30 y 95.10 por ciento con dosis de 1.125 y 2.25 gramos de ácido oxálico respectivamente.

Por otro lado, los resultados del presente ensayo discrepan de los encontrados por Díaz *et al*, (2019) donde la infestación final del tratamiento con ácido oxálico utilizando la metodología por goteo fue de 1.78 por ciento y el grupo testigo obtuvo 10.98 por ciento; de igual forma, en la investigación de Cualchi (2021), la infestación final del tratamiento con ácido oxálico en tiras de cartón fue de 1.26 por ciento mientras que el grupo testigo finalizó con 6.6 por ciento. También Akyol y Yeninar (2007), obtuvieron 2.87 por ciento de infestación final en el tratamiento por goteo mientras que el grupo control alcanzó hasta 41.74 por ciento de infestación, siendo severamente perjudicial para la colonia el no aplicar tratamiento alguno. En estos casos hubo diferencias significativas ($p<0.05$) entre los grupos control y tratamiento.

La efectividad del ácido oxálico obtuvo diferencias significativas entre los tratamientos, pese a que la infestación final entre ellos y el testigo no fueron estadísticamente diferentes. Ambos métodos de aplicación fueron efectivos a comparación del grupo testigo. El resultado de efectividad mediante el método con ácido oxálico pulverizado fue el más alto, con 71.82 por ciento, posiblemente debido a que la mayoría de las abejas estuvieron en contacto directo con la solución. En cuanto al método con tiras de celulosa, obtuvo 46.98

por ciento de efectividad y pudo ser atribuido a la dosis utilizada, al poco tiempo de absorción que la tira se mantuvo fuera de la colmena lo cual hizo más fácil que sea roída y el OA se volatilice, o al estrés causado por el espacio que ocupaban las tiras entre los panales. Finalmente, el grupo testigo obtuvo 6.23 por ciento de efectividad, mostrando diferencia estadística significativa con los tratamientos.

La Figura 15 muestra el gráfico de barras con los valores porcentuales de infestación inicial, final y efectividad de los tratamientos basado en la diferencia de infestaciones por tratamiento.

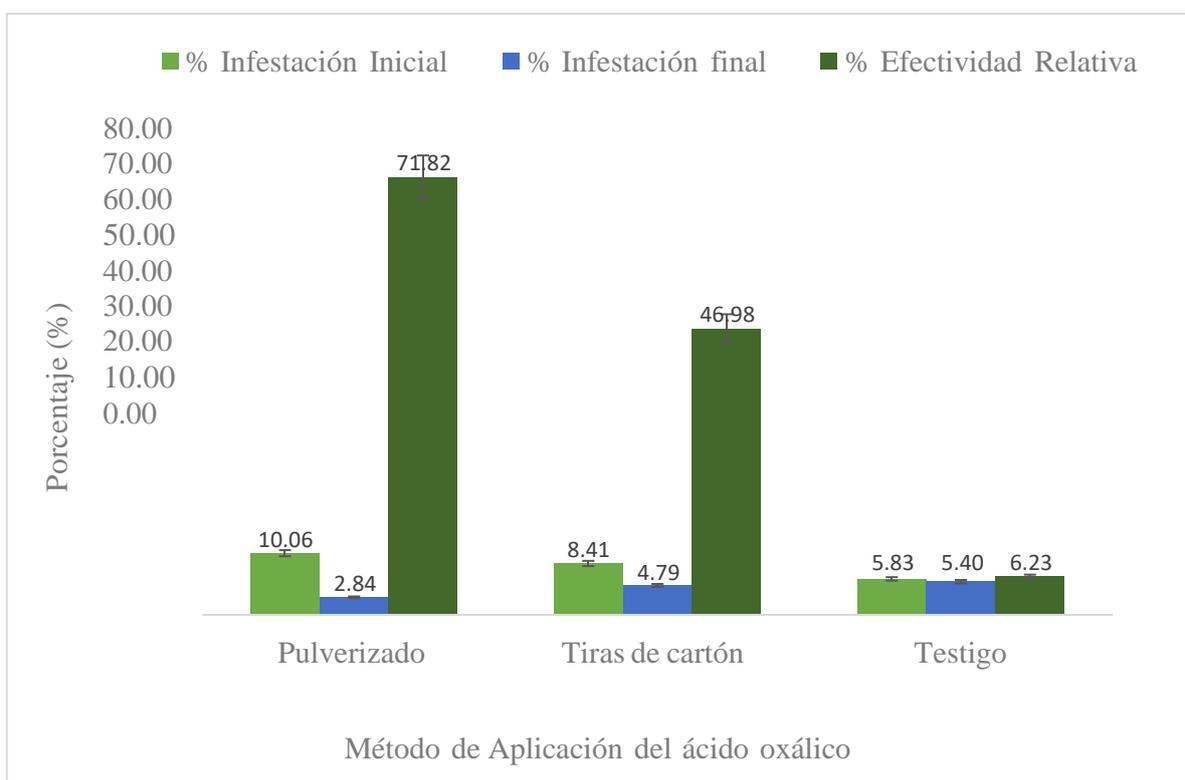


Figura 15: Tasa de infestación inicial y final de varroa en abejas adultas y porcentaje de efectividad relativa pos tratamientos

Comparando con otras investigaciones, el valor hallado de efectividad por el método de Pulverizado fue similar, aunque numéricamente menor a los resultados hallados por Castagino y Orsi (2012), y Tommema (2010) quienes alcanzaron 87.4 y 76.44 ± 4.02 por ciento de efectividad en el orden respectivo. Es probable que se deba a que en ambas

investigaciones se utilizó mayor concentración del ácido oxálico, además menor frecuencia de aplicación y las colonias tenían muy poca área de crías o en algunos casos cero crías.

Respecto al tratamiento con tiras de cartón, resultados similares encontró Cualchi (2021) quien utilizó las tiras con 55.5 por ciento más de concentración de ácido oxálico y halló 80.4 por ciento de efectividad, siendo mayor a la encontrada por la presente investigación; de forma similar, Moyano (2021), logró alcanzar 86.26 por ciento de efectividad, pero utilizando mayor concentración de ácido oxálico en la solución. Caso contrario ocurrió con los resultados de Minaya y Pérez (2022) en cuyo tratamiento obtuvieron resultados negativos, es decir, desfavorables como tratamiento acaricida habiendo utilizado la misma concentración que Moyano, (2021).

Según los resultados obtenidos en el presente ensayo, indicarían que la aplicación de ácido oxálico por ambas técnicas son buenas alternativas para el control del ácaro varroa y que el porcentaje de mortalidad del parásito es altamente influenciado por el método de aplicación utilizado, por la dosis, frecuencia en el que se aplica y el tiempo (estación anual) en el que se realiza el tratamiento; no obstante, la efectividad no fue tan alta comparada con investigaciones anteriores corroborando lo mencionado por Gregorc & Planinc (2001), quienes afirman que el efecto se limita cuando hay grandes áreas de cría operculada y existe alta actividad en la colmena como en este caso, donde la experimentación se realizó con alta cantidad de área de cría.

4.2 Efectividad en base a la cantidad de ácaros caídos por los tratamientos y por shock químico.

En la tabla 3 se muestra la cantidad promedio de varroas caídas hasta los 28 días de tratamiento, cantidad promedio de varroas caídas por efecto del shock químico durante 14 días, cantidad promedio del total de ácaros caídos tanto por los tratamientos como por el shock químico y el porcentaje de efectividad de los tratamientos.

Tabla 4: Promedio de varroas caída por tratamientos, promedio de varroas caídas por shock químico, promedio total de varroas caídas y efectividad de los tratamientos

Tratamiento	Promedio de varroa caída por efecto de tratamientos	Promedio de varroa caída por efecto shock químico	Promedio total de varroa caída	Efectividad relativa (%)
Ácido oxálico Pulverizado	892.38 ^a	425.13 ^a	1317.50 ^a	73.15 ^a
Ácido oxálico en tiras de celulosa	491.38 ^a	439.88 ^a	931.25 ^a	54.97 ^b
Testigo	855.20 ^a	929.20 ^b	1784.40 ^a	49.87 ^b

*Valores dentro de la misma columna con la misma letra no son significativamente diferentes (Duncan, $p < 0.05$)

* ^{a, b, c} Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

La cantidad promedio de ácaros caídos entre machos y hembras, vivos o muertos durante los 28 días de evaluación resultó tener gran diferencia numérica entre los tratamientos. El método que provocó la mayor cantidad de ácaros caídos fue el pulverizado, el cual obtuvo un promedio acumulado de 892.38 varroas. Luego continúa el grupo testigo, el cual logró deshacerse de un total de 855.20 ácaros caídos naturalmente; por último, el método con tiras de celulosa causó menor cantidad de ácaros caídos, dando en total 491.38 varroas caídas. Pese a la diferencia numérica, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos experimentales y el testigo.

Al comparar los valores, se infiere que el tratamiento con tiras de celulosa no fue muy efectivo, ya que, a comparación del testigo, este superó la cantidad de ácaros caídos. Incluso, de cierta manera fue perjudicial para la colmena ya que pudo haber provocado un cambio en el comportamiento habitual de las abejas, causándoles estrés y enfocando su atención en el roído de las tiras, dejando de lado sus actividades como el *grooming* y otras funciones en la colmena.

El tratamiento con ácido oxálico pulverizado, por su parte, causó un buen efecto en la caída de varroa, pues su infestación inicial era superior a los otros grupos y la cantidad de ácaros caídos fue la mayor, lo cual muestra proporcionalidad. En el caso del testigo obtuvo

gran

cantidad de ácaros caídos, se puede inferir que poseen alto rasgo genético de comportamiento de aseo o *grooming* y fortaleza de las colmenas.

La diferencia en la cantidad de ácaros caídos de cada tratamiento también pudo ser causada por otros factores, tales como: el patrón de cría entre colonias, variación en la fertilidad de los ácaros, motivación al comportamiento higiénico, y posible transferencia desigual de ácaros entre colonias, como lo señala Fries *et al.* (citados en Tommema, 2010).

La cantidad promedio de varroa caída 14 días después de la aplicación del shock químico (fluvalinato) entre los panales de las colmenas fue menor en ambos tratamientos. El grupo tratado por pulverización de OA obtuvo 425.13 ácaros remanentes y valor similar obtuvo el grupo tratado con tiras de celulosa con OA, el cual acumuló 439.88 ácaros remanentes. Ambos tratamientos no se diferenciaron estadísticamente, a diferencia del grupo testigo, quien desprendió gran cantidad de ácaros lo cual resultó en promedio 929.2 varroas y gran diferencia estadística significativa. Estos resultados reflejarían la efectividad de los tratamientos con OA, pues las colmenas pulverizadas obtuvieron menor cantidad de ácaros, mientras que las que recibieron las tiras de celulosa mantuvieron cantidades similares de varroa con ambos acaricidas. En el caso del grupo testigo, era de esperarse la efectividad del tratamiento químico y se demostró en la cantidad de ácaros caídos que obtuvo.

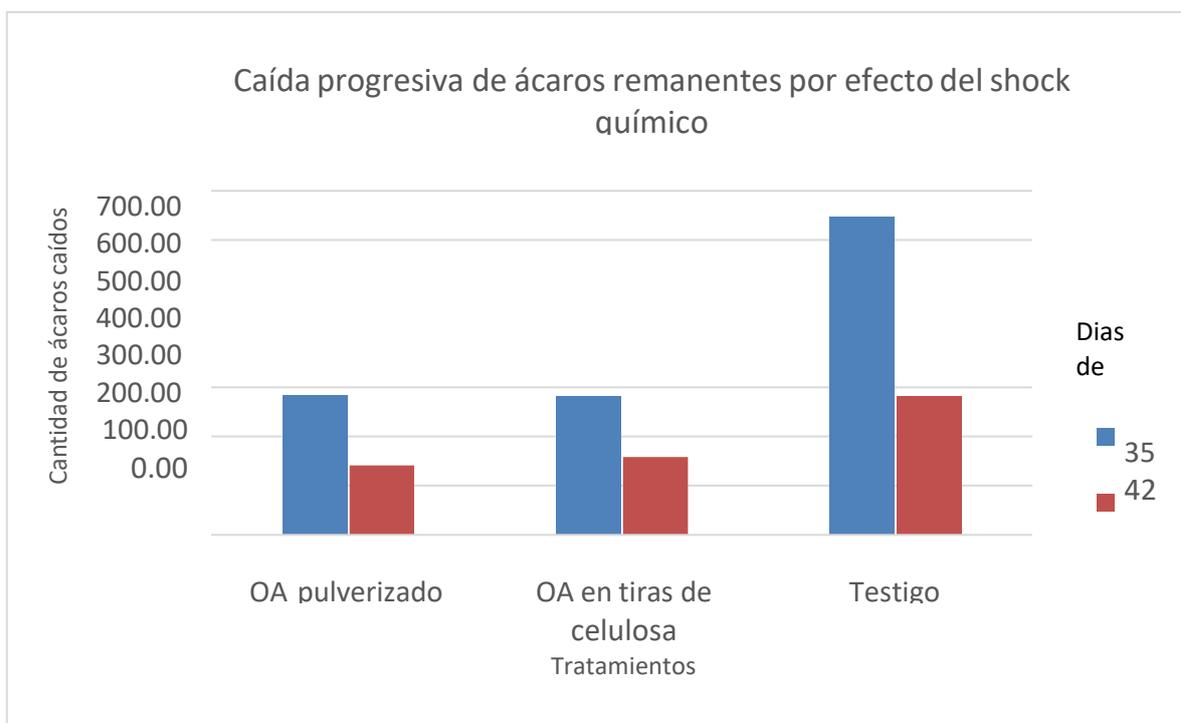


Figura 16: Ácaros remanentes en las colmenas a los 35 y a los 42 días de la aplicación del tratamiento shock químico acaricida

Como se menciona en páginas anteriores, una forma de hallar la efectividad de los tratamientos con ácido oxálico es aplicando un tratamiento químico para estimar la cantidad de varroa sobreviviente, es decir, que no fue afectada por los tratamientos, lo cual significa que, a menor cantidad de ácaros remanentes, mayor fue la efectividad del tratamiento acaricida. En este caso el tratamiento pulverizado obtuvo una efectividad de 73.15 por ciento mostrando diferencia altamente significativa del tratamiento con tiras de celulosa y grupo testigo. Por otro lado, el tratamiento con tiras de celulosa tuvo efectividad media contra la varroa, pero no se diferenció estadísticamente ($p > 0.05$) del tratamiento testigo. Ambos tratamientos dieron 54.97 y 49.87 por ciento de efectividad, respectivamente.

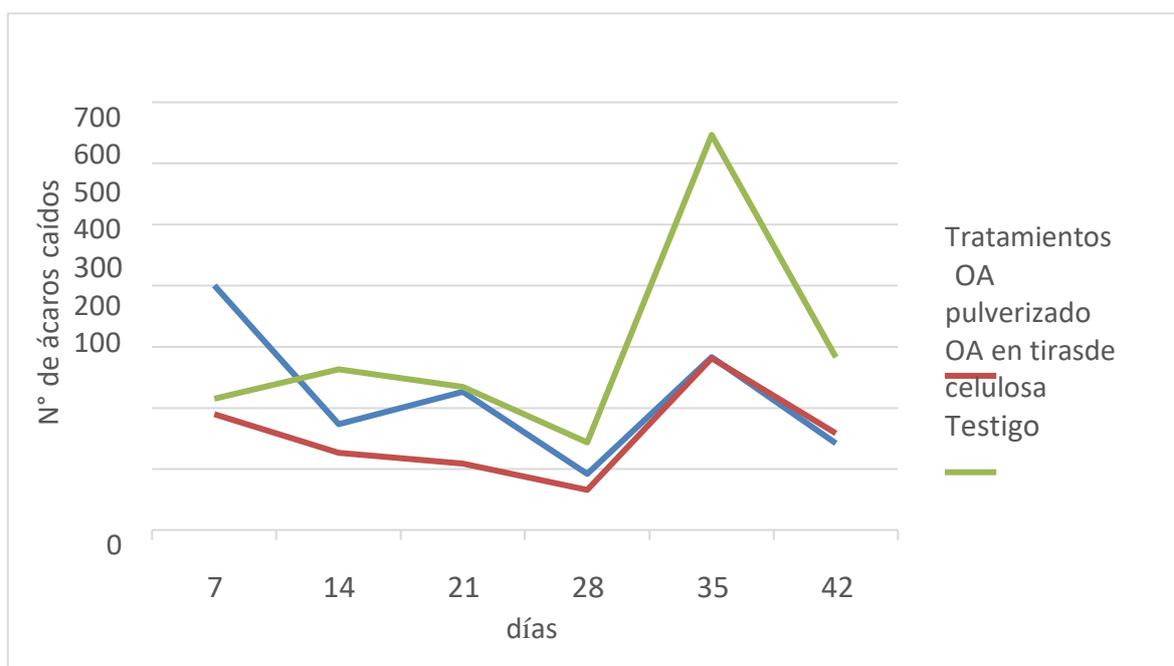


Figura 17: Cantidad de varroa caída a causa de los tratamientos con OA aplicados hasta el día 28 y causado por el shock químico hasta el día 42.

Existe poca data que permita comparar los resultados de efectividad del ácido oxálico bajo las metodologías de aplicación utilizadas en la presente investigación a través de la técnica de shock químico. Entre algunos autores que obtuvieron resultados similares de efectividad

con la técnica de pulverizado están Marcangelli y García. (2004) quienes evaluaron la efectividad del ácido oxálico pulverizado al 6 por ciento comparándolo con un grupo testigo que recibió solo agua destilada bajo el mismo método de aplicación en época primaveral, ambos recibieron tres dosis a intervalos de siete días y finalmente tratados con Apistan® (fluvalinato) como shock químico, sus resultados hallados fueron 85.5 ± 2.8 por ciento de efectividad promedio mientras que el grupo control obtuvo $10 \pm 0,5$ por ciento lo cual indica diferencias altamente significativas.

Estos resultados son proporcionales a los del presente estudio, pero numéricamente mayores, al igual que los resultados de Tommema (2010), quien en uno de sus experimentos de pulverización probó tres concentraciones de ácido oxálico en solución acuosa al 0.5, 1.0 y 1.5 por ciento utilizando fluvalinato como tratamiento shock post tratamiento, con resultados de efectividad de 94.92, 98.39 y 98.28 por ciento en el orden respectivo. Sin embargo, las dos dosis más altas fueron tóxicas para las abejas a la tercera y cuarta aplicación por lo cual el autor concluye que pulverizar al 0.5 por ciento una o dos veces mostró alta eficacia del control de varroa y poca toxicidad para las abejas.

En cuanto al método por tiras de celulosa, algunas investigaciones han demostrado que se ha obtenido buena efectividad utilizando esta metodología de tratamiento. Un ejemplo es el caso expuesto por Maggi *et al.* (2016), realizado en condiciones climáticas de primavera-verano de Argentina. La eficacia registrada durante los primeros 22 días de tratamiento fue de 74.4 por ciento utilizando Flumevar® como shock químico, lo cual fue un resultado ligeramente superior a lo señalado en la investigación presente.

Situación similar detectó Moyano, (2021) quien evaluó la efectividad de una sola aplicación de tiras de celulosa durante 45 días utilizando amitraz como shock químico, lo cual muestra evidencia que el tratamiento con tiras de celulosa más ácido oxálico y glicerina presentó mejor efectividad en el control de *Varroa destructor* con un promedio de 86.26 por ciento con amplia diferencia significativa del tratamiento testigo, que obtuvo 40.04 por ciento de efectividad.

Por el contrario, existen resultados que revelan baja efectividad del tratamiento con tiras de celulosa, por ejemplo, Marinelli, (2006) comparó la efectividad del ácido oxálico por goteo, vaporización y tiras de celulosa en época primaveral del centro de Italia, utilizando Coumaphos como shock químico. Estadísticamente la caída de ácaros por efecto de las tiras

de celulosa no fue significativa a la caída natural del ácaro encontrando eficacias de 22.7 y 15.9 por ciento por lo cual concluyó que las tiras de celulosa no proporcionaron un control aceptable de varroa en primavera. En una investigación reciente en Ecuador hecha por Minaya y Pérez (2022) compararon la efectividad de diferentes métodos de aplicación del ácido oxálico utilizando amitraz como shock químico. Entre sus resultados, las tiras de celulosa, las cuales fueron aplicadas dos veces cada 15 días no tuvieron diferencias significativas sobre los demás tratamientos e incluso sobre el tratamiento testigo dando resultados de efectividad de 44.24 y 29.84 por ciento respectivamente siendo cantidades inferiores a las halladas en la presente investigación.

La eficacia insatisfactoria de las tiras de celulosa *versus* los resultados de la pulverización podría explicarse por el grado de roído de las tiras, ya que durante el conteo de los ácaros en las trampas se observó que el cartón fue severamente roído a los 7 días de colocación y conforme pasaban los días este se iba deteriorando. Es posible que el roído esté relacionado al comportamiento higiénico, la cantidad de abejas en la colmena, el área de cría, las condiciones climáticas, el flujo de néctar, la fecha de aplicación, entre otros (Aldacour, 2019). Otra posible hipótesis es que la mezcla de glicerina y ácido oxálico en las tiras de cartón no se mantuvieron muchas horas inmersas fuera de las colmenas a diferencia de otros autores (Cualchi, 2021 y Maggi, *et al.*, 2016), que las dejaron reposar hasta 12 horas para su absorción y liberación lenta, lo cual pudo ocasionar que el principio activo se volatilice rápidamente.

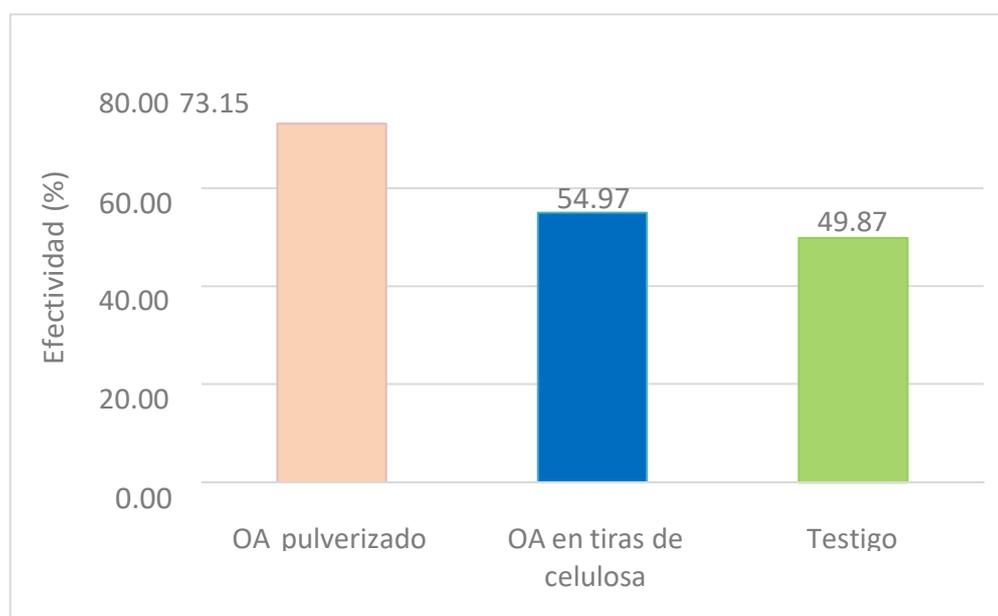


Figura 18: Efectividad porcentual de los métodos aplicados a través de la técnica de shock químico

4.3 Efectos colaterales

4.3.1 Número de panales de cría

A continuación, se muestra la tabla 4 con los datos del número inicial y final de marcos con cría abiertas o selladas por tratamiento, la diferencia y diferencia porcentual al finalizar el ensayo, cuantificada por número promedio de panales con crías y reina sobreviviente en cada grupo de tratamiento; y la figura 18 muestra promedio inicial y final de panales con crías.

Tabla 5: Número promedio inicial y final de panales con crías y diferencia numérica y porcentual según los tratamientos

Tratamiento	Cantidad inicial	Cantidad final	Diferencia	Diferencia %
Acido oxálico Pulverizado	3.69	5.13	1.44	45.42 ^a
Acido oxálico en tiras de celulosa	4.25	5.13	0.88	20.09 ^b
Testigo	5.10	6.20	1.10	22.95 ^b

*Valores dentro de la misma columna con la misma letra no son significativamente diferentes (Duncan, $p < 0.05$)

* a, b, c Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

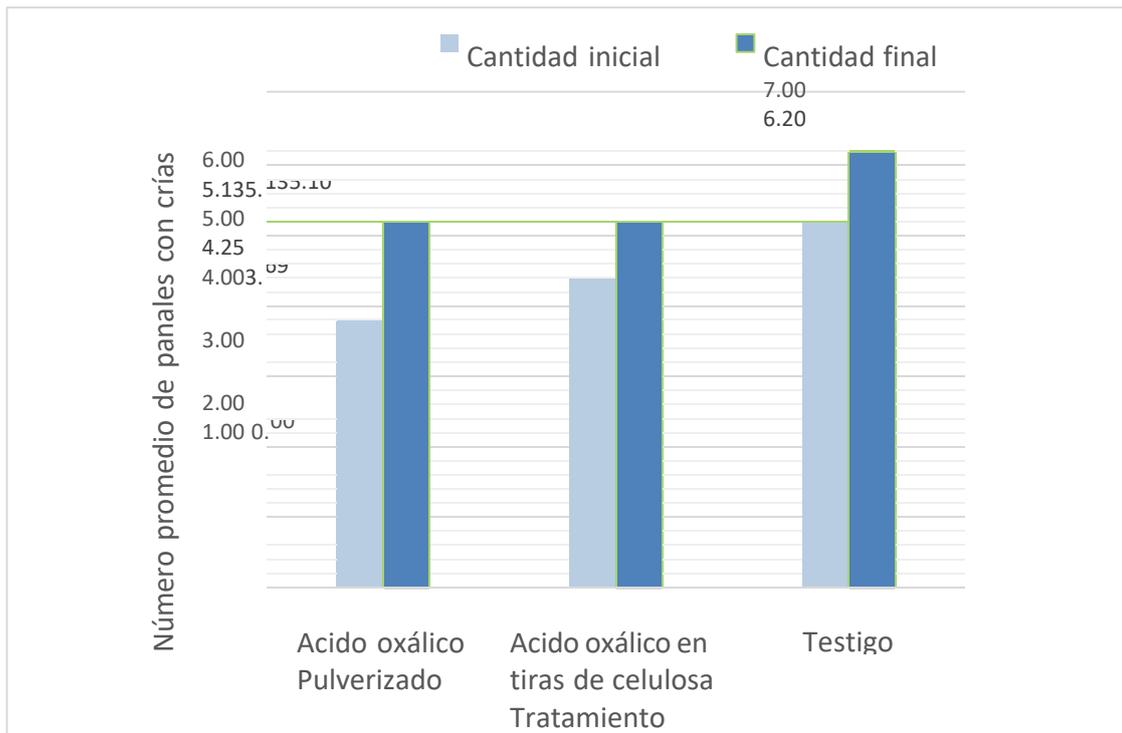


Figura 19: Promedio inicial y final de panales con crías de abeja por tratamiento

Se deduce que tanto en grupos con tratamiento y grupo control hubo aumento de panales de cría entre 0.88 a 1.44 panales en promedio a las dos semanas de iniciado los tratamientos, pues la postura se mantuvo detenida al principio por el impacto del acaricida. Numéricamente el método pulverizado de ácido oxálico obtuvo mayor aumento de crías, mientras que el método por tiras de celulosa incrementó muy poco, aunque la diferencia entre ambos grupos no es muy amplia.

Estadísticamente el tratamiento pulverizado tuvo diferencia significativa de los tratamientos por tiras de celulosa y control. De acuerdo con los resultados, es probable que las reinas hayan mantenido su postura por la alta floración durante el ensayo y porque no tuvo mucha influencia la dosis de ácido oxálico en la mortalidad de las crías, logrando no ser tóxico para las abejas y efectivo para la mortalidad de la varroa.

Resultados similares fueron hallados por Al Toufailia et al (2015), donde encontraron diferencias significativas comparando entre el método de sublimación y pulverización ($F = 16.37, p < .001$). Las colmenas tratadas con el método de sublimación obtuvieron mayor cantidad de panales con crías, pero entre el grupo control y los tratamientos de pulverizado no existieron diferencias significantes. Aunque el número de marcos de cría no fue diferente entre sus tratamientos, la cantidad de cría tendió a disminuir conforme aumentaba la dosis de ácido oxálico para los métodos de goteo y pulverizado o aspersión.

En la experimentación de Reyes (2016), utilizando otra metodología de aplicación del ácido oxálico tampoco obtuvo diferencias significativas entre número de panales de cría al inicio y final de su tratamiento.

4.3.2 Número de panales de reserva alimenticia.

La tabla 5 indica el número inicial y final de marcos con reserva alimenticia (miel, polen y pan de abeja) por tratamiento, la diferencia y diferencia porcentual al finalizar el ensayo. La figura 19 muestra el número promedio de panales con reserva alimenticia al inicio y final del experimento durante 42 días, sin diferencias significativas entre tratamientos.

Tabla 6: Número promedio inicial y final de panales con reserva alimenticia y diferencia numérica y porcentual según los tratamientos

Tratamiento	Cantidad inicial	Cantidad final	Diferencia	Diferencia %
Acido oxálico Pulverizado	2.81	3.75	0.94	36.25 ^a
Acido oxálico en tiras de celulosa	3.13	4.13	1.00	33.33 ^a
Testigo	2.70	3.00	0.30	10.86 ^b

*Valores dentro de la misma columna con la misma letra no son significativamente diferentes (Duncan, $p < 0.05$)

* a, b, c Letras distintas en la misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

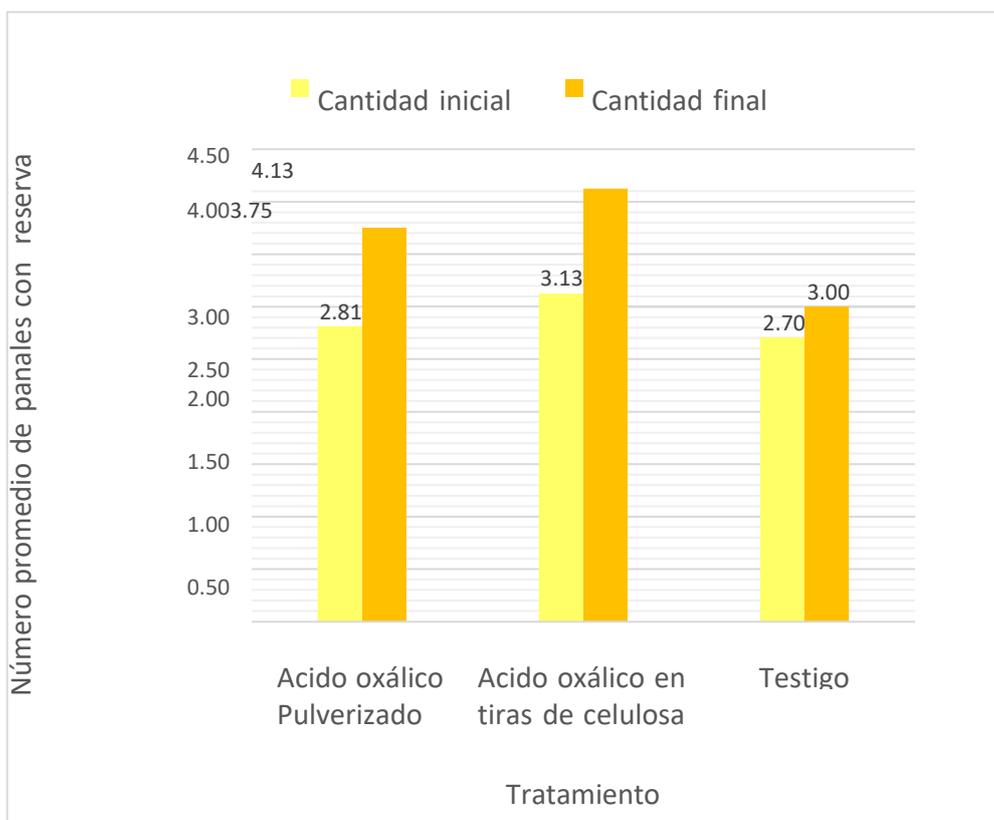


Figura 20: Promedio inicial y final de panales con reserva alimenticia por tratamiento

Los resultados hallados indican que tanto las colonias tratadas y la no tratada contra varroa aumentaron su reserva de alimentos entre 0.3 a 1.0 panal en promedio durante los 42 días de ensayo, sin diferencias estadísticas entre los tratamientos. Por otro lado, el método con tiras de celulosa obtuvo el mayor número promedio de panales con reserva (4.13), seguido del método pulverizado (3.75) y finalmente el grupo testigo con 3 panales.

Las colmenas tenían reservas de miel y polen almacenada como pan de abeja, recolectado hasta el término del ensayo principalmente ya que la floración en la zona del apiario culmina finalizando el mes de enero y los tratamientos iniciaron en el mes de febrero. Adicionalmente, se observó que las abejas almacenaban más miel que polen, por lo cual se les suministró un suplemento proteico para mantener su fortaleza y acorde a la evaluación de sus requerimientos, se les proporcionaba suplemento energético con la finalidad de estar preparadas para un posible traslado a la sierra de Lima para labores de polinización.

Comparando los resultados con la literatura precedente, la tendencia de aumento de reserva alimenticia tanto en control como tratamiento fue hallado por López (2021) quien comparó

el efecto del azúcar impalpable con ácido oxálico y un grupo control sobre la cantidad de reserva alimenticia, manteniendo resultados positivos, pero sin diferencias estadísticas.

Resultados diferentes halló Reyes (2016), cuyo tratamiento testigo mantuvo la cantidad de reserva alimenticia durante todo el periodo experimental, a diferencia del grupo tratado con ácido oxálico que aumentó 1.25 panales de reserva en promedio.

4.4 Evaluación económica y de practicidad.

Para la evaluación económica se consideraron los costos de las aplicaciones por tratamiento y materiales. Se muestra costo por colmena, los tratamientos con ácido oxálico al 3.8% por ambas metodologías de aplicación resultaron menos costosos que el tratamiento con el producto químico como se observa en la tabla 6.

Tabla 7: Evaluación de costos de dos métodos de tratamiento con ácido oxálico y fluvalinato para el control de Varroasis

Concepto	Tratamientos		
	Pulverizado	Tiras	Testigo
Materiales para los tratamientos con AO	4.40	4.61	0.00
Materiales para las trampas de varroa	2.48	2.48	2.48
Costo total en soles (Tratamiento con AO)	6.88	7.10	2.48
Producto comercial (fluvalinato)	11.85	11.85	11.85
Diferencia	4.97	4.75	9.37

El costo por colmena según el método aplicado para su tratamiento con AO se diferencia en 22 céntimos, siendo el método pulverizado el de menor costo. Por otro lado, tanto la pulverización como las tiras de celulosa fueron menos costosos que el producto químico comercial en 4.97 y 4.75 soles respectivamente.

Lo encontrado en la presente investigación coincide con lo reportado por Minaya y Pérez (2022), donde el costo marginal por colmena de los tratamientos con tiras de celulosa y pulverizado fueron de 0.95 y 0.48 dólares americanos respectivamente (1 Peso dominicano DOP es 0.018 dólar americano) cuya tasa de cambio a soles en esa fecha fue 3.80.

Referente a la practicidad de los tratamientos, el método pulverizado tomó un tiempo promedio de 5.1 minutos por colmena, mientras que para el método con tiras de celulosa demoró 2.6 minutos, dependiendo de la cantidad de marcos de cría y alzas que tenían las

colmenas. Por ende, la pulverización fue el método que consumió más tiempo, ya que los marcos necesitan ser removidos de la colmena. Respecto al tiempo necesario para que dos personas trabajen juntas en aplicar el tratamiento a una colmena, es respaldado por los resultados descritos por Al Toufalia et al, (2015), en cuyo ensayo, el promedio detectado para tratar una colmena por el método pulverizado estuvo entre 5.2 y 5.3 minutos.

V. CONCLUSIONES

Tomando en cuenta las condiciones de desarrollo y los resultados del presente trabajo de investigación, se concluye que:

- La mejor alternativa de los dos métodos de aplicación evaluados fue el tratamiento con ácido oxálico pulverizado, el cual obtuvo mayor efectividad contra la Varroasis.
- La diferencia entre la cantidad inicial y final de los panales con cría y con reserva de alimento no se diferenciaron entre los tratamientos, lo cual indicaría que la dosis de ácido oxálico utilizada no provocó efectos tóxicos sobre las abejas.
- El producto químico comercial fue más costoso que los tratamientos con ácido oxálico y comparando los dos métodos de aplicación evaluados, el método por pulverización costó menos que el método con tiras de celulosa.
- Respecto a la practicidad, las tiras de celulosa fueron más sencillas de colocar y tomó menos tiempo que la aplicación por pulverizado.

VI. RECOMENDACIONES

- Utilizar la metodología de ácido oxálico pulverizado para el control del ácaro varroa bajo un sistema de manejo integrado, por su buena efectividad acaricida, bajo costo, seguro para los apicultores y toxicidad mínima para las abejas y sus derivados.
- Evaluar el método con tiras de celulosa, con el recambio de tiras a los 14 días ya que es un medio alternativo de fácil aplicación.
- Evitar el uso de acaricidas sintéticos o reducir su uso gradualmente y complementarlo con acaricidas blandos como un método de control integrado.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ❖ Abd El-Wahab, T. E., Shalaby, S. E., Al-Kahtani, S. N., Al Nagggar, Y., Jamal, Z. A., & Masry, S. H. (2021). Mode of application of acaricides against the ectoparasitic mite (*Varroa destructor*) infesting honeybee colonies, determines their efficiencies and residues in honey and bee wax. *Journal of King Saud University-Science*, 33(1),101236.
- ❖ Abou-Shaara, HF, Staron, M. (2019).Perspectivas presentes y futuras del uso de agentes de control biológico contra las plagas de las abejas melíferas. *Egipto J Biol Control de plagas* 29, 24 (2019).
- ❖ Adjlane, N., Tarek, E. O., & Haddad, N. (2016). Evaluation of Oxalic Acid Treatments against the Mite *Varroa destructor* and Secondary Effects on Honeybees *Apis mellifera*. *Journal of arthropod-borne diseases*, 10(4), 501–509.
- ❖ Adnan, A. Y. A. N., Tutun, H., & Aldemir, O. S. (2019). Control Methods against Varroa Mites.
- ❖ Alattal, Y., AlGhamdi, A., Single, A., Ansari, M. J., & Alkathiri, H. (2017). Fertility and reproductive rate of Varroa mite, *Varroa destructor*, in native and exotic honeybee, *Apis mellifera* L., colonies under Saudi Arabia conditions. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 992-995. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.018>
- ❖ Aldacour, E. J. (2019). Evaluación de la dosificación del acaricida de uso apícola Aluen CAP en el control de *Varroa destructor*.
- ❖ Al Toufalia, H., Scandian, L y Ratnieks, F. (2015). Hacia el control integrado de la varroa: 2) comparando métodos de aplicación y dosis de ácido oxálico en la mortalidad de ácaros destructores de varroa forética y sus huéspedes de abejas melíferas, *Journal of Apicultural Research*, 54: 2, 108-120, DOI: 10.1080 / 00218839.2015.1106777
- ❖ Anderson, D. L., & Trueman, J. W. H. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental & applied acarology*, 24(3), 165-189.

- ❖ Akyol, ET & Yeninar, H (2009) "Use of oxalic acid to control *Varroa destructor* in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies," Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences: Vol. 33: No. 4, Article 4. <https://doi.org/10.3906/vet-0712-16> Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol33/iss4/4>
- ❖ Bacandritsos, N., Papanastasiou, I., Saitanis, C., Nanetti, A., & Roinioti, E. (2007). Efficacy of repeated trickle applications of oxalic acid in syrup for varroosis control in *Apis mellifera*: Influence of meteorological conditions and presence of brood. *Veterinary parasitology*, 148(2), 174-178. doi:10.1016/j.vetpar.2007.06.001
- ❖ Caballero, D., Lanza, M., & Rosa, L. (2009). *Manual de apicultura básica para Honduras*. IICA, Tegucigalpa (Honduras). Secretaria de Agriculturas y Ganadería, Tegucigalpa (Honduras). Programa de Fomento a la Microempresa Rural en Honduras y Nicaragua, Tegucigalpa (Honduras).
- ❖ Calderón, R.A., Fallas, N., Chaves, G., & Ureña, S. (2009) Diagnóstico de Enfermedades de la cría en Abejas africanizadas. *Apicultura y su impacto en la seguridad alimentaria*.
- ❖ Castagnino, G.L. B., & Orsi, R. de O. (2012). Produtos naturais para o controle do ácaro *Varroa destructor* em abelhas africanizadas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(6), 738–744. doi: 10.1590/S0100-204X2012000600002
- ❖ Colombo, M., Eördegh, F. R., & Dobrynin, N.D. (2013). A Comparative study of Diagnostic methods for detection of *Varroa destructor* Infestation level in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Acarina*, 21(1), 3-16.
- ❖ Cualchi, A. (2021). Comparación entre Ácido oxálico y Amitraz para el tratamiento contra varroosis en abejas *Apis mellifera*. (Tesis de pregrado, Universidad Agraria del Ecuador).
- ❖ Dávila, M. y Ortiz, M. (1987). Presencia del ácaro *Varroa jacobsoni*, ectoparásito de la abeja de la miel, en el Perú. *Rev. per. Ent.* 30: 79-80
- ❖ De Jong, D., De Jong, P. H., & Goncalves, L. S. (1982). Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. *Journal of apicultural research*, 21(3), 165-167.
- ❖ De Jong, D., Morse, R. A., & Eickwort, G. C. (1982). Mite pests of honeybees. *Annual Review of Entomology*, 27(1), 229-252
- ❖ De Mattos, I.M., De Jong, D., & Soares, A.E.E. (2016). Island population of European honey bees in Northeastern Brazil that have survived *Varroa* infestations for over 30 years. *Apidologie* 47, 818–827. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0439-5>

- ❖ Dewey, C. (2010). Manual Práctico de Apicultura. Obtenido de: <http://food4farmers.org/wp-content/uploads/2012/08/MANUALDEWEY1.pdf>
- ❖ Díaz-Monroy, B., Moyón-Moyón, J., & Baquero-Tapia, M. F. (2019). Evaluación de tres alternativas para el control de varroasis (*Varroa destructor*) en apiarios ecuatorianos. *Ciencia y Agricultura*, 16(1), 63-78.
- ❖ Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S., Anderson, D., Locke, B., Delaplane, K., Wauquiez, Q., ... D Ellis, J. (2013). Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research*, 52:1, 1-54. DOI: 10.3896 / IBRA.1.52.1.09
- ❖ Dobrynin, N.D., Colombo, M., & Eördegh, F.R. (2013). A comparative study of diagnostic methods for detection of *Varroa destructor* infestation level in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Acarina*, 21(1), 3-16.
- ❖ Ellis, J.D., & Nalen, C.Z. (2010). *Varroa mite, varroa destructor anderson and truman* (arachnida: Acari: Varroidae). EENY-473. Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. EEUU.
- ❖ Evans, J. D., & Cook, S. C. (2018). Genetics and physiology of *Varroa* mites. *Current opinion in insect science*, 26, 130-135.
- ❖ Evans, J.D., y Spivak, M. (2010). Medicina socializada: Barreras de enfermedades individuales y comunitarias en las abejas melíferas. *Revista de patología de invertebrados*, 103, S62–S72. doi:10.1016/j.jip.2009.06.019
- ❖ Flores, J.M., Gil, S., & Padilla, F. (2015). Reliability of the main field diagnostic methods of *Varroa* in honeybee colon. *Archivos de zootecnia*, 64(246), 161-165.
- ❖ Francis, R.M., Nielsen, S. L., & Kryger, P. (2013). *Varroa-virus* interaction in collapsing honey bee colonies. *PloS one*, 8(3), e57540.
- ❖ Gallai, N., Salles, J.M., Settele, J., & Vaissiere, B. E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological economics*, 68(3), 810-821
- ❖ Google. (s.f.). [Apiario Pampa Tinajas]. Recuperado el 23 de junio de 2023 de <https://earth.google.com/web/search/cieneguilla+pampa+tinajas/@-12.13271319,-76.81197586,285.31377945a,195.69113682d,35y,0h,0t,0r/data=CigiJgokCZC-7x3wPyjAEcp65QbBeSjAGfQXefrULIPAic3DdNWdQFPA>
- ❖ Grandez, J. (2015). Incidencia de Varroas (*Varroa destructor oudemans*) en los Apiarios de la carretera Federico Basadre km. 6 al 50 Ucayali-Perú.

- ❖ Gregorc, A., & Planinc, I. (2001). Acaricidal effect of oxalic acid in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie*, 32(4), 333-340.
- ❖ Gregorc, A., & Sampson, B. (2019). Diagnosis of Varroa Mite (*Varroa destructor*) and Sustainable Control in Honey Bee (*Apis mellifera*) Colonies—A Review. *Diversity*, 11(12), 243.
- ❖ Hatjina, F., & Haristos, L. (2005). Indirect effects of oxalic acid administered by trickling method on honey bee brood. *Journal of apicultural research*, 44(4), 172-174.
- ❖ Hung, K. L. J., Kingston, J. M., Albrecht, M., Holway, D. A., & Kohn, J. R. (2018). The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1870), 20172140.
- ❖ INIA Peru. (7 de marzo de 2022). “*Software R orientado al área de diseños experimentales agrícolas*”. (Archivo de video). Youtube.<https://www.youtube.com/watch?v=vnrvvBynl80>
- ❖ Jack, C. J., Van Santen, E., & Ellis, J. D. (2020). Evaluating the Efficacy of Oxalic Acid Vaporization and Brood Interruption in Controlling the Honey Bee Pest *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Journal of Economic Entomology*.
- ❖ Jean-Prost, P., & Le Conte, Y. (2007). *Apicultura: conocimiento de la abeja. Manejo de la colmena*. Mundi-Prensa Libros.
- ❖ Le Conte, Y., Ellis, M., & Ritter, W. (2010). Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie*, 41(3), 353-363.
- ❖ Lesser, R. (2004). *Manual de apicultura moderna*. Santiago de Chile: Universitaria.
- ❖ López, J. (2021). Efecto del azúcar impalpable sobre el ácaro (*Varroa destructor* Anderson & Trueman) en el colmenar de la Universidad Nacional Agraria La Molina. (Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria La Molina). DSpace. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/5265>
- ❖ Maggi, M., & Tourn, P. N. (2017). The susceptibility of *Varroa destructor* against oxalic acid: A study case. *Repositorio Institucional CONICET*, 39-44.
- ❖ Maggi, M., Tourn, E., Negri, P., Szawarski, N., Marconi, A., Gallez, L., ... & Quintana, S. (2016). A new formulation of oxalic acid for *Varroa destructor* control applied in *Apis mellifera* colonies in the presence of brood. *Apidologie*, 47(4), 596-605.
- ❖ Marcangeli, J., & García, M. (2004). Effect of *Apis mellifera* (Apidae) honeybee brood amount on Oxavar® acaricide efficacy against the mite *Varroa destructor* (Varroidae). *Revista de la Sociedad de Entomología Argentina*, 63, 35-38.

- ❖ Marinelli, E., Pulcini, P., Margio, C., De Pace, F., Allegrini, F., Persona, O. L., & Oddo, L. (2004). Oxalic acid by VarroX® to Varroa control in Central Italy. *Apiacta*, 39, 39-43.
- ❖ Marinelli, E., Formato, G., Vari, G., & De Pace, F. M. (2006). Varroa control using cellulose strips soaked in oxalic acid water solution. *Apiacta*, 41, 54-59.
- ❖ Mendizabal, F. (2004). Abejas. En M. Esenciales, *Cría de abejas I* (pág. 33). Buenos Aires: Albatros
- ❖ MINAGRI. (2015). Plan Nacional de Desarrollo apícola. [midagri.gob.pe](https://www.midagri.gob.pe). Consultado el 04 de abril del 2023. https://www.midagri.gob.pe/portal/download/pdf/marcolegal/normaslegales/resolucionesministeriales/2015/abril/plan_rm125-2015-minagri.pdf
- ❖ Minaya, I. D., & Pérez, I. (2022). Eficacia de tres formulaciones artesanales a base de ácido oxálico para el control de Varroa destructor en *Apis Mellifera*, en ambiente de bosque húmedo (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña).
- ❖ Moyano, J. P. (2021). Eficacia del ácido oxálico mediante tres vías de administración para el control de Varroosis en abejas (*apis mellifera*) (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- ❖ Moyon, J. (2013). Evaluación de tres Alternativas para el Control de Varroosis Varroa destructor en tres Apiarios de la Provincia de Chimborazo (Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). DSpace ESPOCH. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2683>
- ❖ Nanetti, A., Büchler, R., Charriere, J. P., Fries, I., Helland, S., Imdorf, A., & Kristiansen, P. (2003). Oxalic acid treatments for varroa control.
- ❖ Nazzi, F., & Le Conte, Y. (2016). Ecology of Varroa destructor, the major ectoparasite of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Annual Review of Entomology*, 61, 417-432.
- ❖ Nistal, R. Á. (2011). Efectos adversos de la administración oral de ácido oxálico en ganado ovino. Universidad de León, Área de Publicaciones.
- ❖ OIE (2018) Chapter 3.2.7. Varroosis of honey bees. In OIE. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees)*, vol. 1, OIE, (Sixth Edition). Paris, France. pp 4-5.
- ❖ Plettner, E., Eliash, N., Singh, N. K., Pinnelli, G. R., & Soroker, V. (2017). The chemical ecology of host-parasite interaction as a target of Varroa destructor control agents. *Apidologie*, 48(1), 78-92.
- ❖ Rademacher, E., & Harz, M. (2006). Oxalic acid for the control of varroosis in honey bees colonies—a review. *Apidologie*, 37(1), 98-120.

- ❖ Ramos, J. M., & Carvalho, N. D. (2007). Estudio morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. *Revista científica eletrônica de Engenharia Florestal*, 6(10), 1-21.
- ❖ Ratnieks, F. L., & Al Toufailia, H. (2016). Comparing the effectiveness of different control methods against varroa. *Bee Farmer*, 1, 13-15.
- ❖ Ravazzi, G. (2016). Las tres castas. En *Las abejas*. (Pp 13-19) Parkstone International, Italia. Editorial De Vecchi, S.A.
- ❖ Reyes, F. R. (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). DSpace. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/2755>
- ❖ Rosenkranz, P., Aumeier, P., & Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of invertebrate pathology*, 103, S96-S119.
- ❖ Ruíz-Flores, A., Ramírez-Hernández, E., Maldonado-Simán, E., Palafox-Guillén, J., Ochoa-Torres, E., & López-Ordaz, R. (2012). Incidencia y nivel de infestación por varroasis en abejas (*Apis mellifera*) en el laboratorio de identificación y diagnóstico apícola de 2002 a 2006. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 18(2), 175-182.
- ❖ Sammataro, D., Gerson, U., & Needham, G. (2000). Parasitic Mites of Honey Bees: Life History, Implications, and Impact. *Annual Review of Entomology*, 45(1), 529, 530.
- ❖ Sumpter, D. J., & Martin, S. J. (2004). The dynamics of virus epidemics in *Varroa*-infested honey bee colonies. *Journal of Animal Ecology*, 73(1), 51-63.
- ❖ Toomemaa, K., Martin, A.J., & Williams, I.H., (2010). The effect of different concentrations of oxalic acid in aqueous and sucrose solution on *Varroa* mites and honey bees. *Apidologie*, 41(6), 643-653.
- ❖ Valega, O. (2007). Cría de reinas. Argentina: apícola Don Guillermo. Obtenido de https://www.apiservices.biz/documents/articulos-es/cria_de_reinas.pdf
- ❖ Vandame, R. (2000). Control alternativo de varroa en apicultura. El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). Chiapas, MX.
- ❖ Vasquez, R.E., Martinez, R.A., Ortega, N.C., & Maldonado, W.D. (2012). Manual técnico de apicultura abeja (*apis mellifera*) polen. <http://hdl.handle.net/11438/8795>
- ❖ Yang, X., & Cox-Foster, D. (2007). Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology*, 134(3), 405.

IV. ANEXOS

Anexo 1: Datos meteorológicos durante el desarrollo de la investigación, según la estación meteorológica Alexander Von Humboldt, de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Fecha	Temperatura °C		Humedad relativa (%)	
	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo
18 de febrero de 2022	28.8°	19.4°	96%	63%
19 de febrero de 2022	30°	20.5°	97%	73%
24 de febrero de 2022	29°	18.1°	96%	72%
4 de marzo de 2022	31.4°	20.3°	90%	59%
11 de marzo de 2022	30°	18.5°	95%	65%
18 de marzo de 2022	28.6°	17°	95%	70%
25 de marzo de 2022	29°	16.9°	94%	54%
1 de abril de 2022	28.7°	19°	91%	73%
Promedio	29.44	18.71	94%	66%

Anexo 2: Formulación de Torta Proteica utilizada.

Componentes	Por cada 1000 g.
agua	66.13
azúcar impalpable	661.31
polen	66.13
levadura de cerveza	66.13
miel o jarabe de sacarosa	120.3
aceite vegetal	10.00
promotor L	10.00
Total	1000.00

Para el análisis estadístico, se omitieron los datos de las unidades experimentales que obtuvieron valores extremos o negativos, para mayor precisión en los resultados. Estas fueron las colmenas: T1R4, T1R5, T2R2, T2R7 y Testigo 6 y 7.

Anexo 3: Tasa de infestación (TIVA) inicial, final y efectividad relativa de las metodologías de aplicación del ácido oxálico como acaricida.

Tratamiento	Colmena	Nº Abejas	Nº Ácaros	% Infestación inicial	Nº Abejas	Nº Ácaros	% Infestación final	% Diferencia	% Efectividad relativa
Ácido oxálico pulverizado	T1R1	109	16	14.68	141	9	6.38	8.30	56.52
Ácido oxálico pulverizado	T1R2	206	14	6.80	283	11	3.89	2.91	42.81
Ácido oxálico pulverizado	T1R3	220	21	9.55	239	9	3.77	5.78	60.55
Ácido oxálico pulverizado	T1R6	227	17	7.49	170	4	2.35	5.14	68.58
Ácido oxálico pulverizado	T1R7	243	21	8.64	246	0	0.00	8.64	100.00
Ácido oxálico pulverizado	T1R8	169	13	7.69	222	0	0.00	7.69	100.00
Ácido oxálico pulverizado	T1R9	214	31	14.49	208	3	1.44	13.04	90.04
Ácido oxálico pulverizado	T1R10	161	18	11.18	163	8	4.91	6.27	56.10
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R1	154	7	4.55	277	2	0.72	3.82	84.12
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R3	269	27	10.04	220	20	9.09	0.95	9.43
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R4	164	25	15.24	292	33	11.30	3.94	25.86
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R5	174	10	5.75	212	11	5.19	0.56	9.72
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R6	228	31	13.60	202	9	4.46	9.14	67.23
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R8	154	10	6.49	124	3	2.42	4.07	62.74
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R9	170	14	8.24	178	7	3.93	4.30	52.25
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R10	178	6	3.37	167	2	1.20	2.17	64.47
Testigo	Control 1	175	11	6.29	226	14	6.19	0.09	1.45
Testigo	Control 2	178	12	6.74	249	15	6.02	0.72	10.64
Testigo	Control 3	189	6	3.17	158	5	3.16	0.01	0.32
Testigo	Control 4	180	9	5.00	274	13	4.74	0.26	5.11
Testigo	Control 5	239	19	7.95	233	16	6.87	1.08	13.62

Anexo 4: Caída progresiva de varroa por días según el efecto de los tratamientos con ácido oxálico y shock químico.

Caída de ácaros por efecto de los tratamientos						Caída de ácaros por efecto de shock químico			Suma total	Efectividad (%)
Tratamientos	26-Feb	5-Mar	12-Mar	19-Mar	Total	25-Mar	1-Abr	Total		
Ácido Oxálico pulverizado	552	210	127	36	925	335	41	376	1301	71.10
Ácido Oxálico pulverizado	315	199	400	165	1079	501	289	790	1869	57.73
Ácido Oxálico pulverizado	503	308	300	76	1187	342	246	588	1775	66.87
Ácido Oxálico pulverizado	446	171	518	113	1248	355	184	539	1787	69.84
Ácido Oxálico pulverizado	257	23	15	15	310	26	10	36	346	89.60
Ácido Oxálico pulverizado	270	21	45	19	355	24	20	44	399	88.97
Ácido Oxálico pulverizado	169	42	88	18	317	62	37	99	416	76.20
Ácido Oxálico pulverizado	691	413	319	295	1718	623	306	929	2647	64.90
Ácido Oxálico tiras de celulosa	103	79	125	59	366	371	91	462	828	44.20
Ácido Oxálico tiras de celulosa	369	286	246	174	1075	534	481	1015	2090	51.44
Ácido Oxálico tiras de celulosa	295	104	46	39	484	472	142	614	1098	44.08
Ácido Oxálico tiras de celulosa	197	80	44	24	345	115	57	172	517	66.73
Ácido Oxálico tiras de celulosa	170	120	112	75	477	389	249	638	1115	42.78
Ácido Oxálico tiras de celulosa	185	179	140	20	524	71	54	125	649	80.74
Ácido Oxálico tiras de celulosa	161	134	127	106	528	201	163	364	892	59.19
Ácido Oxálico tiras de celulosa	37	32	32	31	132	98	31	129	261	50.57
Testigo	166	265	173	172	776	772	284	1056	1832	42.36
Testigo	250	352	286	162	1050	400	230	630	1680	62.50
Testigo	94	100	89	66	349	126	97	223	572	61.01
Testigo	107	138	185	160	590	697	319	1016	1606	36.74
Testigo	458	459	437	157	1511	1238	483	1721	3232	46.75

Anexo 5: Número inicial y final de panales con cría, panales con reserva alimenticia y sus respectivas diferencias numéricas y porcentuales según tratamiento.

Identificación	Característica		Panales con cría				Panales con reserva alimenticia			
	Presencia de reina	Alza	Número inicial	Número final	Diferencia	Diferencia (%)	Número inicial	Número final	Diferencia	Diferencia (%)
Ácido Oxálico pulverizado	si	no	1	2	1	100	5	6	1	20
Ácido Oxálico pulverizado	si	estándar	3	4	1	33	3	4	1	33
Ácido Oxálico pulverizado	si	3/4	4.5	6	1.5	33	2	3	1	50
Ácido Oxálico pulverizado	si	no	5	7	2	40	2.5	3	0.5	20
Ácido Oxálico pulverizado	si	no	4.5	6	1.5	33	3	4	1	33
Ácido Oxálico pulverizado	si	no	4.5	6	1.5	33	2	3	1	50
Ácido Oxálico pulverizado	si	no	2	3	1	50	3	4	1	33
Ácido Oxálico pulverizado	si	3/4	5	7	2	40	2	3	1	50
Ácido Oxálico tiras de celulosa	si	3/4	7	8	1	14	1.5	2	0.5	33
Ácido Oxálico tiras de celulosa	si	3/4	6	7	1	17	2	3	1	50
Ácido Oxálico tiras de celulosa	si	estándar	5	6	1	20	3	4	1	33
Ácido Oxálico tiras de celulosa	si	3/4	3	4	1	33	4	5	1	25
Ácido Oxálico tiras de celulosa	sí	3/4	6.5	8	1.5	23	3	4	1	33
Ácido Oxálico tiras de celulosa	no	no	1	1	0	0	4	5	1	25
Ácido Oxálico tiras de celulosa	si	no	3	4	1	33	3	4	1	33
Ácido Oxálico tiras de celulosa	SI	no	2.5	3	0.5	20	4.5	6	1.5	33
Testigo	si	estándar	6	7	1	17	2.5	3	0.5	20
Testigo	si	no	4	5	1	25	3.5	4	0.5	14
Testigo	si	no	3	4	1	33	3	3	0	0
Testigo	si	3/4	6	7	1	17	2.5	3	0.5	20
Testigo	si	estándar	6.5	8	1.5	23	2	2	0	0

Anexo 6: Datos transformados de diferencia porcentual de panales con cría y con reserva de alimento.

Tratamiento	diferencia (%) de panales con crías	diferencia (%) de panales con reserva
Ácido Oxálico pulverizado	90.00	11.54
Ácido Oxálico pulverizado	19.47	19.47
Ácido Oxálico pulverizado	19.47	30.00
Ácido Oxálico pulverizado	23.58	11.54
Ácido Oxálico pulverizado	19.47	19.47
Ácido Oxálico pulverizado	19.47	30.00
Ácido Oxálico pulverizado	30.00	19.47
Ácido Oxálico pulverizado	23.58	30.00
Ácido Oxálico tiras de celulosa	8.21	19.47
Ácido Oxálico tiras de celulosa	9.59	30.00
Ácido Oxálico tiras de celulosa	11.54	19.47
Ácido Oxálico tiras de celulosa	19.47	14.48
Ácido Oxálico tiras de celulosa	13.34	19.47
Ácido Oxálico tiras de celulosa	0.00	14.48
Ácido Oxálico tiras de celulosa	19.47	19.47
Ácido Oxálico tiras de celulosa	11.54	19.47
Testigo	9.59	11.54
Testigo	14.48	8.21
Testigo	19.47	0.00
Testigo	9.59	11.54
Testigo	13.34	0.00

Anexo 7: Datos transformados de tasa de infestación inicial, final, diferencia y efectividad relativa.

Tratamiento	Colmena	% Infestación inicial	% Infestación final	% Diferencia	% Efectividad relativa
Ácido oxálico pulverizado	T1R1	8.44	3.66	4.76	34.41
Ácido oxálico pulverizado	T1R2	3.90	2.23	1.67	25.34
Ácido oxálico pulverizado	T1R3	5.48	2.16	3.31	37.26
Ácido oxálico pulverizado	T1R6	4.29	1.35	2.94	43.30
Ácido oxálico pulverizado	T1R7	4.96	0.00	4.96	90.00
Ácido oxálico pulverizado	T1R8	4.41	0.00	4.41	90.00
Ácido oxálico pulverizado	T1R9	8.33	0.83	7.49	64.22
Ácido oxálico pulverizado	T1R10	6.42	2.81	3.60	34.13
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R1	2.61	0.41	2.19	57.26
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R3	5.76	5.22	0.54	5.41
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R4	8.77	6.49	2.26	14.99
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R5	3.29	2.97	0.32	5.58
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R6	7.81	2.55	5.24	42.25
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R8	3.72	1.39	2.33	38.86
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R9	4.72	2.25	2.47	31.50
Ácido oxálico en tiras de cartón	T2R10	1.93	0.69	1.25	40.14
Testigo	Control 1	3.60	3.55	0.05	0.83
Testigo	Control 2	3.87	3.45	0.41	6.11
Testigo	Control 3	1.82	1.81	0.01	0.18
Testigo	Control 4	2.87	2.72	0.15	2.93
Testigo	Control 5	4.56	3.94	0.62	7.83

Anexo 8: Datos transformados de caída de ácaros por efecto de los tratamientos, por efecto de tratamiento shock y efectividad relativa.

Tratamiento	Caída de ácaros por efecto del tratamiento	Caída de ácaros por efecto de shock químico	Total	Efectividad relativa
Ácido Oxálico pulverizado	2.966	2.575	3.114	1.852
Ácido Oxálico pulverizado	3.033	2.898	3.272	1.761
Ácido Oxálico pulverizado	3.074	2.769	3.249	1.825
Ácido Oxálico pulverizado	3.096	2.732	3.252	1.844
Ácido Oxálico pulverizado	2.491	1.556	2.539	1.952
Ácido Oxálico pulverizado	2.550	1.643	2.601	1.949
Ácido Oxálico pulverizado	2.501	1.996	2.619	1.882
Ácido Oxálico pulverizado	3.235	2.968	3.423	1.812
Ácido Oxálico tiras de celulosa	2.563	2.665	2.918	1.645
Ácido Oxálico tiras de celulosa	3.031	3.006	3.320	1.711
Ácido Oxálico tiras de celulosa	2.685	2.788	3.041	1.644
Ácido Oxálico tiras de celulosa	2.538	2.236	2.713	1.824
Ácido Oxálico tiras de celulosa	2.679	2.805	3.047	1.631
Ácido Oxálico tiras de celulosa	2.719	2.097	2.812	1.907
Ácido Oxálico tiras de celulosa	2.723	2.561	2.950	1.772
Ácido Oxálico tiras de celulosa	2.121	2.111	2.417	1.704
Testigo	2.890	3.024	3.263	1.627
Testigo	3.021	2.799	3.225	1.796
Testigo	2.543	2.348	2.757	1.785
Testigo	2.771	3.007	3.206	1.565
Testigo	3.179	3.236	3.509	1.670

Anexo 9: Análisis estadístico de la variable dependiente: Infestación inicial.

Prueba de normalidad

H_0 : Los datos se ajustan a una distribución normal

H_1 : Los datos no se ajustan a una distribución normal

Shapiro-Wilk normality test	DST	DT
W	0.92527	0.92712
P value	0.1107	0.1205

Prueba de homocedasticidad (Homogeneidad de varianzas)

H_0 : Los errores tienen varianza constante

H_1 : Los errores no tienen varianza constante

Barlett test of homogeneity of variances	DST	DT
K-squared	2.9301	2.8804
df	2	2
p-value	0.2311	0.2369

Prueba paramétrica

ANOVA

$H_0: \mu_T = \mu_{T1} = \mu_{T2} = \mu_0$

$H_1: \mu_{T_i} \neq \mu_0$ para todo i : Testigo, T1, T2

ANOVA	DF	Sum Sq	Mean square	F value	Pr > F
DST	2	0.005539	0.002769	2.401	0.119
DT	2	18.25	9.127	2.381	0.121

Prueba del rango múltiple de Duncan para Infestación inicial

Tratamiento	DST		DT	
	Duncan groups	media	Duncan groups	media
AO. Pulverizado	a	0.100625	a	5.778484
AO. Tiras de celulosa	ab	0.083875	ab	4.827732
Testigo	b	0.058200	b	3.342861

Grups	DST			DT		
	difference	P value	Signif.	difference	P value	Signif.
AO. Pulverizado - AO. Tiras de celulosa	0.016750	0.3797		0.9507522	0.3869	
AO. Pulverizado - Testigo	0.042425	0.0432	*	2.4356239	0.0440	*
AO. Tiras de celulosa - Testigo	0.025675	0.1844		1.4848717	0.1830	

Anexo 10: Análisis estadístico de la variable dependiente: Infestación final.

Prueba de normalidad

H_0 : Los datos se ajustan a una distribución normal

H_1 : Los datos no se ajustan a una distribución normal

Shapiro-Wilk normality test	DST	DT
W	0.95948	0.95951
P value	0.5057	0.5064

Prueba de homocedasticidad (Homogeneidad de varianzas)

H_0 : Los errores tienen varianza constante

H_1 : Los errores no tienen varianza constante

Barlett test of homogeneity of variances	DST	DT
K-squared	3.831	3.8336
df	2	2
p-value	0.1473	0.1471

Prueba paramétrica

ANOVA

$H_0: \mu_T = \mu_{T1} = \mu_{T2} = \mu_0$

$H_1: \mu_{T_i} \neq \mu_0$ para todo i : Testigo, T1, T2

ANOVA	Df	Sum Sq	Mean square	F value	Pr > F
DST	2	0.002454	0.0012270	1.542	0.241
DT	2	8.13	4.065	1.557	0.238

Prueba del rango múltiple de Duncan para Infestación Final

Tratamiento	DST		DT	
	Duncan groups	media	Duncan groups	media
AO. Pulverizado	a	0.028500	a	1.629153
AO. Tiras de celulosa	a	0.047875	a	2.746604
Testigo	a	0.054000	a	3.095136

	DST			DT		
	difference	P value	Signif.	difference	P value	Signif.
AO. Pulverizado - AO. Tiras de celulosa	1.1174507	0.2228		1.1174507	0.2228	
AO. Pulverizado - Testigo	-1.4659829	0.1333		-1.4659829	0.1333	
AO. Tiras de celulosa - Testigo	-0.3485322	0.6984		-0.3485322	0.6984	

Anexo 11: Análisis estadístico de la variable dependiente: Efectividad Relativa de los tratamientos por el método de Infestación.

Prueba de normalidad

H_0 : Los datos se ajustan a una distribución normal

H_1 : Los datos no se ajustan a una distribución normal

Shapiro-Wilk normality test	DST	DT
W	0.91351	0.89912
P value	0.06444	0.03365

Prueba de homocedasticidad (Homogeneidad de varianzas)

H_0 : Los errores tienen varianza constante

H_1 : Los errores no tienen varianza constante

Barlett test of homogeneity of variances	DST	DT
K-squared	7.4316	10.76
df	2	2
p-value	0.02434	0.004608

Prueba no Paramétrica

H_0 : No existe diferencias entre los tratamientos realizados

H_1 : Existe diferencias entre los tratamientos realizados

Kruskal-Wallis rank sum test	DST	DT
Chi-squared	10.506	10.506
Df	2	2
p-value	0.005233	0.005233

Comparaciones Post- Hoc

Comparación Post-Hoc-DT	P value
AO. Tiras de celulosa -AO Pulverizado	0.084
Testigo - AO. Pulverizado	0.013
AO. Tiras de celulosa -Testigo	0.037

Tratamiento	media	group
AO. Pulverizado	52.33	a
AO. Tiras de celulosa	29.50	ab
Testigo	3.58	b

Anexo 12: Análisis estadístico de la variable dependiente: Caída de varroa por efecto de los tratamientos.

Prueba de normalidad

H_0 : Los datos se ajustan a una distribución normal

H_1 : Los datos no se ajustan a una distribución normal

Shapiro-Wilk normality test	DST	DT
W	0.90721	0.94937
P value	0.04839	0.3314

Prueba de homocedasticidad (Homogeneidad de varianzas)

H_0 : Los errores tienen varianza constante

H_1 : Los errores no tienen varianza constante

Barlett test of homogeneity of variances	DST	DT
K-squared	2.6402	0.30969
df	2	2
p-value	0.2671	0.8565

Prueba paramétrica

Anova con data transformada

$H_0: \mu_T = \mu_{T1} = \mu_{T2} = \mu_0$

$H_1: \mu_{T_i} \neq \mu_0$ para todo i : Testigo, T1, T2

	Df	Sum Sq	Mean square	F value	Pr > F
DT	2	0.2874	0.14371	1.94	0.173

Prueba del rango múltiple de Duncan para Caída de varroa por efecto de los tratamientos

Tratamiento	DST		DT	
	Duncan groups	media	Duncan groups	media
AO. Pulverizado	a	892.375	a	2.88080
AO. Tiras de celulosa	a	855.200	a	2.86825
Testigo	a	491.375	a	2.63237

Grups	DST			DT		
	difference	P value	Signif.	difference	P value	Signif.
AO. Pulverizado - AO. Tiras de celulosa	401.000	0.1164		0.235875	0.1310	
AO. Pulverizado - Testigo	37.175	0.8739		-0.012550	0.9338	
AO. Tiras de celulosa - Testigo	-363.825	0.1326		-0.248425	0.1310	

Anexo 13: Análisis estadístico de la variable dependiente: Caída de varroa por efecto del tratamiento shock químico.

Prueba de normalidad

H_0 : Los datos se ajustan a una distribución normal

H_1 : Los datos no se ajustan a una distribución normal

Shapiro-Wilk normality test	DST	DT
W	0.91562	0.91931
P value	0.07095	0.08412

Prueba de homocedasticidad (Homogeneidad de varianzas)

H_0 : Los errores tienen varianza constante

H_1 : Los errores no tienen varianza constante

Barlett test of homogeneity of variances	DST	DT
K-squared	1.9704	2.1671
df	2	2
p-value	0.3734	0.3384

Prueba paramétrica

Anova

$H_0: \mu_T = \mu_{T1} = \mu_{T2} = \mu_0$

$H_1: \mu_{T_i} \neq \mu_0$ para todo i : Testigo, T1, T2

	Df	Sum Sq	Mean square	F value	Pr > F
DST	2	940721	470361	3.084	0.0705
DT	2	0.752	0.3759	1.887	0.18

Prueba del rango múltiple de Duncan para Caída de varroa por efecto del tratamiento shock.

Tratamiento	DST		DT	
	Duncan groups	media	Duncan groups	Media
AO. Pulverizado	a	929.200	a	2.392125
AO. Tiras de celulosa	a	439.875	a	2.533625
Testigo	b	425.125	a	2.882800

	DST			DT		
	difference	P value	Signif.	difference	P value	Signif.
AO. Pulverizado - AO. Tiras de celulosa	-14.750	0.9458		-0.141500	0.5699	
AO. Pulverizado - Testigo	-504.075	0.0373	*	-0.490675	0.0722	
AO. Tiras de celulosa - Testigo	-489.325	0.0345	*	-0.349175	0.1703	

Anexo 14: Análisis estadístico de la variable dependiente: Suma total de caída de varroa por efecto de los tratamientos y shock químico.

Prueba de normalidad

H₀: Los datos se ajustan a una distribución normal

H₁: Los datos no se ajustan a una distribución normal

Shapiro-Wilk normality test	DST	DT
W	0.92971	0.94985
P value	0.1358	0.3385

Prueba de homocedasticidad (Homogeneidad de varianzas)

H₀: Los errores tienen varianza constante

H₁: Los errores no tienen varianza constante

Barlett test of homogeneity of variances	DST	DT
K-squared	1.7123	0.7061
df	2	2
p-value	0.4248	0.7025

Prueba paramétrica

Anova

H₀: $\mu_T = \mu_{T1} = \mu_{T2} = \mu_0$

H₁: $\mu_{T_i} \neq \mu_0$ para todo i : Testigo, T1, T2

	Df	Sum Sq	Mean square	F value	Pr > F
DST	2	2256311	1128155	1.875	0.182
DT	2	0.2585	0.12923	1.368	0.28

Prueba del rango múltiple de Duncan para suma total de caída de varroa por efecto de los tratamientos y shock químico.

Tratamiento	DST		DT	
	Duncan groups	media	Duncan groups	Media
AO. Pulverizado	a	1317.5	a	3.008625
AO. Tiras de celulosa	a	931.25	a	2.902250
Testigo	a	1784.4	a	3.192000

	DST			DT		
	difference	P value	Signif.	difference	P value	Signif.
AO. Pulverizado - AO. Tiras de celulosa	386.25	0.3753		0.106375	0.5354	
AO. Pulverizado - Testigo	-466.90	0.2862		-0.183375	0.2904	
AO. Tiras de celulosa - Testigo	-853.15	0.0720		-0.289759	0.1195	

Anexo 15: Análisis estadístico de la variable dependiente: Efectividad de los tratamientos por el método de shock químico.

Prueba de normalidad

H_0 : Los datos se ajustan a una distribución normal

H_1 : Los datos no se ajustan a una distribución normal

Shapiro-Wilk normality test	DST	DT
W	0.95656	0.96389
P value	0.4498	0.5977

Prueba de homocedasticidad (Homogeneidad de varianzas)

H_0 : Los errores tienen varianza constante

H_1 : Los errores no tienen varianza constante

Barlett test of homogeneity of variances	DST	DT
K-squared	0.20458	1.1945
df	2	2
p-value	0.9028	0.5503

Prueba paramétrica

Anova

$H_0: \mu_T = \mu_{T1} = \mu_{T2} = \mu_0$

$H_1: \mu_{T_i} \neq \mu_0$ para todo i : Testigo, T1, T2

	Df	Sum Sq	Mean square	F value	Pr > F
DST	2	2090	1044.7	7.102	0.00532
DT	2	0.1103	0.05517	7.189	0.00507

Prueba del rango múltiple de Duncan para Efectividad de los tratamientos por el método de shock químico

Tratamiento	DST		DT	
	Duncan groups	media	Duncan groups	Media
AO. Pulverizado	a	73.15125	a	1.859625
AO. Tiras de celulosa	b	54.96625	b	1.729750
Testigo	b	49.87200	b	1.688600

groups	DST			DT		
	diferencia	P value	Signif.	difference	P value	Signif.
AO. Pulverizado - AO. Tiras de celulosa	18.18500	0.0135	*	0.13257586	0.0186	*
AO. Pulverizado - Testigo	23.27925	0.0034	**	- 0.16045415	0.0076	**
AO. Tiras de celulosa - Testigo	5.09425	0.4531		- 0.02787828	0.5930	

Anexo 16: Análisis estadístico de la variable dependiente: Diferencia porcentual de panales con cría.

Prueba de normalidad

H₀: Los datos se ajustan a una distribución normal

H₁: Los datos no se ajustan a una distribución normal

Shapiro-Wilk normality test	DST	DT
W	0.77298	0.58742
P value	0.0002607	1.454e-06

Prueba de homocedasticidad (Homogeneidad de varianzas)

H₀: Los errores tienen varianza constante

H₁: Los errores no tienen varianza constante

Barlett test of homogeneity of variances	DST	DT
K-squared	7.2862	16.282
df	2	2
p-value	0.02617	0.0002914

Prueba no Paramétrica

H₀: No existe diferencias entre los tratamientos realizados

H₁: Existe diferencias entre los tratamientos realizados

Prueba kruskal wallis

Kruskal-Wallis rank sum test	DST	DT
Chi-squared		
Df		
p-value		

Comparaciones Post- Hoc. DST

Comparación Post-Hoc-DT	P value
AO. Tiras de celulosa -AO Pulverizado	0.0089
Testigo - AO. Pulverizado	0.0164
AO. Tiras de celulosa -Testigo	0.6561

Tratamiento	N	media	group
AO. Pulverizado	8	42.64	a
AO. Tiras de celulosa	8	20.09	b
Testigo	5	19.62	ab

Anexo 17: Análisis estadístico de la variable dependiente: Diferencia porcentual de panales con reserva alimenticia.

Prueba de normalidad

H₀: Los datos se ajustan a una distribución normal

H₁: Los datos no se ajustan a una distribución normal

Shapiro-Wilk normality test	DST	DT
W	0.9055	0.9069
P value	0.04479	0.04771

Prueba de homocedasticidad (Homogeneidad de varianzas)

H₀: Los errores tienen varianza constante

H₁: Los errores no tienen varianza constante

Barlett test of homogeneity of variances	DST	DT
K-squared	1.546	1.5479
df	2	2
p-value	0.4615	0.4612

Prueba no Paramétrica

H₀: No existe diferencias entre los tratamientos realizados

H₁: Existe diferencias entre los tratamientos realizados

Prueba kruskal wallis

Kruskal-Wallis rank sum test	DST	DT
Chi-squared	10.636	
Df	2	
p-value	0.004903	

Comparaciones Post- Hoc. DST

Comparación Post-Hoc-DT	P value
AO. Tiras de celulosa -AO Pulverizado	0.6916
Testigo - AO. Pulverizado	0.0170
AO. Tiras de celulosa -Testigo	0.0096

Tratamiento	N	media	group
AO. Pulverizado	8	42.64	a
AO. Tiras de celulosa	8	20.09	a
Testigo	5	19.62	b