

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA  
DEL ÁCIDO FÓRMICO EN CELDAS CON  
CRÍA SELLADA E INFESTADAS CON EL  
ÁCARO *Varroa jacobsoni* (Oudemans) EN  
ABEJAS *Apis mellifera***

Investigación realizada en  
Universidad Nacional de Heredia (UNA), Costa Rica.  
Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT)  
Programa Regional de Apicultura y Meliponicultura (PRAM)  
En convenio con la Universidad de Utrecht, Holanda

Javier Enrique Quan García

**ZAMORANO**

Departamento de Horticultura  
Octubre, 1998

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA  
DEL ÁCIDO FÓRMICO EN CELDAS CON  
CRÍA SELLADA E INFESTADAS CON EL  
ÁCARO *Varroa jacobsoni* (Oudemans) EN  
ABEJAS *Apis mellifera***

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado  
Académico de Licenciatura

presentado por

Javier Enrique Quan García

Zamorano, Honduras

Octubre, 1998

El autor concede a Zamorano y CINAT permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

---

Javier Enrique Quan García

Zamorano, Honduras  
Octubre, 1998  
**EVALUACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA DEL ÁCIDO FÓRMICO EN**

**CELIDAS CON CRÍA SELLADA E INFESTADAS CON EL ÁCARO *Varroa jacobsoni* (Oudemans) EN ABEJAS *Apis mellifera***

presentado por

Javier Enrique Quan García

Aprobada:

---

Roberto Salas Posas, Agr.  
Asesor en Zamorano

---

Odilo Duarte, Ph. D.  
Coordinador PIA

---

Rafael Angel Calderón, DMV.  
Asesor en el CINAT

---

Alfredo Montes Lecaros, Ph. D.  
Jefe de Departamento

---

Judith Slaa, D.Rs  
Asesor en el CINAT

---

José Antonio Flores, Ph. D.  
Decano Académico

---

Daniel Kaegi, M. Sc.  
Asesor en Zamorano

---

Keith L Andrews, Ph. D.  
Director

## DEDICATORIA

A Dios, que es el creador de todo.

A mis padres José Quan y Bibiana García.

A mis hermanos José Carlos, Iris, Vivian y Nancy, por su constante apoyo.

A mis maestros especialmente a Alonso Suazo y Roberto Salas.

A mis amigos especialmente Fredy Cardona.

Lo que necesita este mundo no es sólo  
gente buena; necesita gente que esté  
mejorando continuamente su educación.

Edwards Deming

## AGRADECIMIENTO

Deseo agradecer a la Universidad de Utrecht de Holanda, especialmente al Dr. Marinus Sommeijer, que hizo posible que esta investigación se llevara a cabo.

Al MSc. Henry Arce, por su colaboración en el planeamiento de la investigación, revisión y sugerencias realizadas al trabajo final.

Al Dr. Rafael Angel Calderón F. por el planeamiento de la investigación, dirección y coordinación de todos los aspectos del estudio.

A Drs. Judith Slaa por su apoyo en las pruebas estadísticas y la revisión y recomendaciones del trabajo.

Drs. Johan Van Veen por las sugerencias en el planeamiento del estudio.

Deseo hacer un especial reconocimiento a los siguientes profesores-Investigadores del CINAT: Lic. Luis A. Sánchez, Msc. Ingrid Aguilar, Ing. Alberto Ortiz, los cuales me proporcionaron un ambiente de trabajo agradable y profesional. A su vez, a la Lic. Peggy Camacho por su cooperación en los trámites administrativos. En general agradecer al Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) de la Universidad Nacional de Costa Rica, por haberme permitido realizar esta investigación. A todas las personas que de una u otra manera hicieron posible que esta investigación se realizará.

Al Dr. Alfredo Montes, Profesor Roberto Salas, MSc. Daniel Kaegi y Dr. Odilo Duarte por permitirme realizar esta investigación en Costa Rica y por su asesoramiento y revisión del trabajo final.

Al apicultor Macdonal Méndez, por facilitarme las colmenas en las cuales se realizó la investigación.

## AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

Agradezco a la Universidad de Utrecht de Holanda, por el financiamiento que hizo posible esta investigación.

Agradezco al Centro de Investigación Apícola Tropical (CINAT) por el asesoramiento, orientación, equipo, material e instalaciones que hicieron posible esta investigación.

Agradezco a Zamorano por el financiamiento brindado para concluir el Programa de Ingeniería Agronómica.

Agradezco a la Agencia Internacional de Desarrollo de los Estados Unidos de América (USAID) por el financiamiento parcial de mis estudios en el Programa Agrónomo.

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la acción acaricida del ácido fórmico en celdas selladas con cría de obrera e infestadas con el ácaro *Varroa jacobsoni* Oudemans, se instaló un apiario de nueve colmenas con abejas africanizadas *Apis mellifera scutellata*. Las colmenas se dividieron en grupos A, B y C. Al grupo A se le aplicó 15 ml de ácido fórmico al 85 % impregnado en tiras de cartón y al B 10 ml. Las colmenas del grupo C se utilizaron como testigo aplicándoles tratamiento con tiras impregnadas de agua destilada. En los grupos A y B, se realizaron cuatro aplicaciones de ácido fórmico con un intervalo de siete días entre ellas. Al día siguiente de cada aplicación se evaluaron 50 celdas de cría sellada de obreras, cuantificando el número de ácaros en estado inmaduro y maduro, determinando la mortalidad en los ácaros maduros por efecto del tratamiento. La mortalidad de los ácaros en estado inmaduro, no se determinó. Se encontró que el ácido fórmico posee un efecto acaricida sobre los ácaros adultos presentes en la cría sellada, existiendo diferencias entre las dosis utilizadas. En el grupo A se presentó el mayor porcentaje de ácaros muertos en la cría sellada: 48.16 %. En el grupo B la mortalidad fue de 10.27 %, mientras que en el grupo control, ésta fue de 1.03 %. Se midió la efectividad del tratamiento con ácido fórmico al 85 % utilizando 10 y 15 ml, comparando la infestación inicial y final de las colmenas (en abejas adultas y cría sellada), obteniéndose variación en los resultados, debido probablemente a la poca cantidad de cría al final del experimento. No obstante, se puede indicar que la aplicación del ácido fórmico aumentó la cantidad diaria de ácaros colectados en las trampas para “*Varroa*” respecto a los colectados sin tratamiento. El tratamiento con 15 ml de ácido fórmico fue el más eficiente con una tendencia de efectividad entre un 60-65 %. Para determinar si la aplicación de ácido fórmico al 85 % influye en el comportamiento de limpieza de las abejas (tiempo utilizado en su limpieza), se instaló una colmena de observación de dos panales tamaño estándar tipo Langstroth. Se encontró que la aplicación de ácido fórmico aumentó significativamente el tiempo utilizado por las abejas para limpiarse lo cual podría favorecer la caída de ácaros, sin embargo, no se puede concluir que este aumento en el tiempo de limpieza esté directamente relacionado con el incremento en la caída de ácaros.

Palabras claves: abejas, *Varroa jacobsoni*, ácido fórmico, trampas para *Varroa*, efectividad, acción acaricida, enfermedades.

**EL ÁCIDO FÓRMICO, UNA SUSTANCIA BARATA, FACIL DE APLICAR Y EFECTIVA EN EL CONTROL DE GARRAPATAS DE LAS ABEJAS.**

La Varroasis es la enfermedad más temida entre los apicultores y es causada por una especie de garrapata (ácaro), llamada *Varroa jacobsoni*. Afecta tanto a las abejas adultas como a sus crías y sino se realiza algún tratamiento la colmena puede morir.

En el período comprendido entre abril y septiembre de 1998 se realizó una investigación para evaluar el efecto acaricida del ácido fórmico. Esta investigación fue realizada en el Centro de Investigación Apícola Tropical (CINAT) ubicado en la Provincia de Heredia, Costa Rica con el auspicio de la Universidad de Utrecht (Holanda) y el Zamorano (Honduras).

Se instaló un apiario con nueve colmenas, el cual se dividió en tres grupos A, B y C al grupo A se le aplicó 15 ml de ácido fórmico al 85 % impregnado en tiras de cartón y al grupo B 10 ml las colmenas del grupo C se utilizaron como testigo aplicándoles tratamiento con tiras impregnadas de agua destilada.

Se encontró que el ácido fórmico tiene un mejor efecto acaricida en la dosis de 15 ml realizando un total de 4 aplicaciones a intervalos de una semana.

Las colmenas que son tratadas con ácido fórmico deben ser estimuladas mediante alimentación y otras prácticas de manejo que eviten su debilitamiento (reforzar colmenas débiles, reducir espacios entre los panales, prevenir la presentación de otras enfermedades), principalmente si la aplicación del tratamiento coincide con la época de escasez o periodos de “stress” para las abejas.

## INDICE DE CONTENIDOS

Portada .....	i
Portadilla .....	ii
Autoría .....	iii
Páginas de firmas .....	iv
Dedicatoria .....	v
Agradecimiento .....	vi
Agradecimiento a patrocinadores .....	vii
Resumen .....	viii
Nota de prensa .....	ix
Indice de contenidos .....	x
Indice de cuadros .....	xiii
Indice de figuras .....	xiv
Indice apéndice .....	xv
Indice de cuadros del apéndice .....	xvi
<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
Objetivo General .....	2
Objetivos Específicos .....	3
Hipótesis .....	3
<b>2 REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
2.1 ETIOLOGÍA .....	4
2.2 EPIZOOTIOLOGÍA .....	4
2.2.1 Origen y distribución geográfica de la Varroasis en el mundo .....	5
2.3 BIOLOGÍA Y REPRODUCCIÓN .....	6
2.4 PATOGENÍA Y DAÑO A LAS ABEJAS .....	7
2.5 CUADRO CLÍNICO .....	8
2.6 DIAGNÓSTICO .....	8
2.6.1 Diagnóstico clínico o de campo .....	8
2.6.2 Diagnóstico de laboratorio .....	8
2.6.2.1 Examen de las abejas adultas .....	8
2.6.2.2 Examen de la cría .....	9
2.6.2.3 Inspección de los desechos de la colmena .....	8
2.7 TRATAMIENTO Y CONTROL .....	10
2.7.1 Acido fórmico .....	12
2.7.2 Uso del ácido fórmico en el control de la <i>Varroa</i> .....	12
2.7.3 Dosis y método de aplicación .....	12
2.7.4 Algunos cuidados al preparar y utilizar el ácido fórmico .....	13
2.7.5 Ventajas .....	13
2.7.6 Desventajas .....	14
<b>3 MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>15</b>
3.1 LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DE LA ZONA EN LA	

3.2	QUE SE REALIZÓ EL ESTUDIO.....	15
3.2	APIARIO DE INVESTIGACIÓN.....	15
3.3	CONDICIÓN DE LAS COLMENAS AL INICIO Y FIANAL DEL ESTUDIO.....	15
3.4	EVALUACIÓN INICIAL DE LA POBLACIÓN DE <i>VARROA</i> EN LAS COLMENAS.....	15
3.4.1	Población inicial de ácaros en la cría sellada.....	16
3.4.2	Población inicial de ácaros en las abejas adultas.....	16
3.4.3	Acaros que cayeron naturalmente.....	16
3.5	EVALUACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA DEL ÁCIDO FÓRMICO.....	17
3.5.1	Aplicación del ácido fórmico.....	17
3.5.2	Evaluación del efecto acaricida del ácido fórmico en celdas con cría sellada.....	17
3.5.3	Evaluación del efecto acaricida del ácido fórmico en las abejas adultas.....	17
3.6	EVALUACIÓN FINAL DE LA POBLACIÓN DE ÁCAROS EN LA COLMENA.....	18
3.6.1	Población final de ácaros en la cría sellada.....	18
3.6.2	Población final de ácaros en las abejas adultas.....	18
3.7	EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO CON EL ÁCIDO FÓRMICO.....	18
3.8	EFECTO DEL ÁCIDO FÓRMICO SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE LIMPIEZA DE LAS ABEJAS.....	18
3.9	MORTALIDAD DE ABEJAS ADULTAS REGISTRADA DURANTE EL ESTUDIO.....	19
4	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	20
4.1	EVALUACIÓN DE LAS COLMENAS.....	20
4.2	INFESTACIÓN INICIAL DE LAS COLMENAS CON EL ÁCARO DE LA <i>VARROA</i> .....	22
4.2.1	Infestación inicial de la cría sellada.....	23
4.2.2	Infestación inicial de las abejas adultas.....	23
4.2.3	Caída de ácaros sin tratamiento (natural).....	23
4.3	EVALUACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA DEL ÁCIDO FÓRMICO.....	24
4.3.1	Evaluación del efecto acaricida del ácido fórmico en celdas con cría sellada.....	24
4.3.2	Evaluación del efecto acaricida del ácido fórmico en las abejas adultas.....	27
4.4	EVALUACIÓN DE LA INFESTACIÓN FINAL DE LAS COLMENAS.....	29
4.4.1	Evaluación de la infestación final de la cría.....	29
4.4.2	Evaluación de la infestación final de las abejas adultas con ácaros de <i>Varroa</i> .....	30
4.4.3	Evaluación final de la caída de ácaros de <i>Varroa</i> en las trampas.....	31
4.5	EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓRMICO.....	33
4.5.1	Efectividad en la cría sellada.....	33
4.5.2	Efectividad en las abejas adultas.....	33
4.6	EFECTO DE LA APLICACIÓN DEL ÁCIDO FÓRMICO SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE LIMPIEZA DE LAS ABEJAS.....	35

4.7	<b>ASPECTOS NEGATIVOS DURANTE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS</b> .....	36
4.7.1	Mortalidad de abejas adultas.....	36
4.7.2	Mortalidad de reinas .....	37
4.7.3	Condición de las colmenas al finalizar el estudio.....	37
5	<b>CONCLUSIONES</b> .....	39
6	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	40
7	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	41
8	<b>APENDICE</b> .....	47

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Medicamentos y productos químicos utilizados en el tratamiento y control de <i>Varroa jacobsoni</i> . .....	11
Cuadro 2. Evaluación de la cantidad de cría abierta y sellada, reservas de miel y polen presente en las colmenas, al inicio y final de la investigación.....	22
Cuadro 3. Porcentaje de infestación inicial de la cría sellada, abejas adultas y ácaros que cayeron en forma natural en un día.. .....	24
Cuadro 4. Porcentaje de ácaros muertos en la cría sellada.....	26
Cuadro 5. Acaros que cayeron durante la aplicación del tratamiento en cada una de las colmenas.....	28
Cuadro 6. Promedio de ácaros que cayeron en cada tratamiento.. .....	29
Cuadro 7. Evaluación de la infestación final en los panales con cría sellada.....	30
Cuadro 8. Porcentaje de la infestación final en las abejas adultas.. .....	31
Cuadro 9. Caída de ácaros de <i>Varroa</i> al inicio, durante la aplicación y posterior a cada tratamiento.. .....	32
Cuadro 10. Efectividad del tratamiento con ácido fórmico en abejas adultas y en la cría sellada.. .....	34
Cuadro 11. Tiempo utilizado por las abejas para limpiarse en diferentes tratamientos.....	36
Cuadro 12. Abejas muertas diariamente en frente de la piquera.....	38

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de ácaros muertos en la cría sellada en cada grupo. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.....	26
Figura 2. Porcentaje de ácaros muertos en cada aplicación del ácido fórmico, dentro de la cría sellada. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.....	27
Figura 3. Promedio de ácaros que cayeron en las trampas por aplicación. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998. ....	29

## INDICE DEL APENDICE

8.1 Información complementaria de la infestación inicial.....	48
8.2 Información complementaria de los ácaros presentes en la cría sellada .....	50
8.3 Información complementaria de la infestación final .....	51
8.4 Datos complementarios de la efectividad .....	52
8.5 Datos complementarios del comportamiento de limpieza de las abejas (colmena de observación).....	54
8.6 Datos complementarios de la mortalidad de abejas.....	57

## INDICE DE CUADROS Y FIGURA DEL APENDICE

Cuadro A- 1. Infestación inicial en los panales con cría sellada.....	48
Cuadro A- 2. Infestación inicial de ácaros maduros en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.....	48
Cuadro A- 3. Infestación inicial de ácaros inmaduros en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.....	49
Cuadro A- 4. Infestación inicial de ácaros totales (maduros e inmaduros totales) en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998. ....	49
Cuadro A- 5. Infestación inicial en las abejas adultas. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.....	49
Cuadro A- 6. Resumen de los ácaros encontrados en la cría sellada.....	50
Cuadro A- 7. Infestación final de ácaros maduros vivos presentes en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.....	51
Cuadro A- 8. Infestación final de ácaros inmaduros en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.....	51
Cuadro A- 9. Infestación final de ácaros totales (maduros vivos más inmaduros) en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998. ....	51
Cuadro A- 10. Efectividad del tratamiento sobre los ácaros maduros vivos presentes en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998. ....	52
Cuadro A- 11. Efectividad del tratamiento sobre los ácaros inmaduros en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.....	52
Cuadro A- 12. Efectividad del tratamiento sobre los ácaros totales (maduros vivos e inmaduros) en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998....	53
Cuadro A- 13. Efectividad de los tratamientos en las abejas adultas. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998. ....	53
Cuadro A- 14. Tiempo utilizado por las abejas en la limpieza sin ningún tratamiento. ....	54
Cuadro A- 15. Tiempo utilizado por las abejas en la limpieza durante la aplicación de 4 ml. de agua. ....	54
Cuadro A- 16. Tiempo utilizado por las abejas en la limpieza durante la aplicación de 4	

ml. de ácido fórmico.....	55
Cuadro A- 17. Tiempo utilizado por las abejas en la limpieza durante la aplicación de 4 ml. de agua. ....	55
Cuadro A- 18. Tiempo utilizado por las abejas en la limpieza durante la aplicación de 4 ml. de ácido fórmico.....	56
Figura 1. Datos complementarios de la mortalidad de abejas. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.....	57

## 1. INTRODUCCIÓN

Las abejas *Apis mellifera* L. son insectos sociales que el hombre ha explotado desde hace más de 6000 años (Crane, 1992). De ellas ha utilizado sus productos como: la miel, la cera, el polen, la jalea real, el propóleo y el veneno. Además, se ha beneficiado de su actividad polinizadora (Shuel, 1992; Morse, 1990). Se calcula que más de 1 billón de kilos de miel son producidos anualmente, con más de 50 millones de colmenas (Veen y Arce, 1993). A pesar de ello el mayor valor de las abejas lo constituye la polinización de muchos cultivos agrícolas. En Estados Unidos se estimó que cerca de 90 cultivos dependen para su polinización de las abejas melíferas. Si se calcula el valor de las abejas basado en los frutos, vegetales y semillas resultantes de la polinización, se tiene un valor aproximado de 150 veces el valor de la miel y la cera (McGregor, 1976). La mayor cantidad de miel producida en Costa Rica, así como en la mayoría de los países de América Central, proviene de medianos y pequeños productores, que practican la apicultura como una actividad complementaria a sus labores agrícolas (Arce y Veen, 1995).

Las colonias de abejas se ven afectadas por una serie de agentes etiológicos, entre los cuales se encuentran principalmente los virus, bacterias, hongos y parásitos. Se han reportado aproximadamente 23 enfermedades de las abejas melíferas; sin embargo, solamente alrededor de 10 causan daños de importancia económica (Bailey y Ball, 1991). Entre las enfermedades más comunes causantes de daños económicos en la producción apícola, se encuentran: la Varroasis, Loque Americana, Loque Europea, Nosemiasis, Acariosis, Parálisis, Cría Sacciforme, Cría de Cal y Cría de Piedra (Shimanuki, 1977). Las enfermedades generalmente debilitan la colonia disminuyendo drásticamente su capacidad polinizadora y productora de miel (Bailey y Ball, 1991).

La Varroasis o Varroatoxis es una enfermedad parasitaria de gran importancia para la apicultura a nivel mundial, se ha reportado que colmenas infestadas con este ácaro no sobreviven, a menos que se apliquen medidas efectivas de control (Hung *et al.*, 1995; Bew, 1992; Matheson, 1993). El ácaro que causa esta parasitosis, es originario de Asia, fue descrito por primera vez parasitando abejas de la especie *A. cerana* en ese continente. La relación huésped parásito entre el ácaro y esta especie de abejas parece estar balanceada, debido a que muestran una alta tolerancia al ácaro comparado con *A. mellifera*, esto le ha permitido a las abejas del género *A. cerana*, vivir en equilibrio con el ácaro en su medio natural (Morse, 1990; Mobus and Bruyn, 1993). Los mecanismos de defensa de la abeja contra el ácaro, una limitada reproducción y la adaptabilidad del ácaro a *A. cerana*, determinan que la reproducción exitosa del ácaro sea limitada a una ocurrencia estacional de cría de zánganos y es ausente o casi nula en la cría de obreras (Boecking and Ritter, 1994). El traslado de colmenas de abejas *A. mellifera* a zonas donde estaba presente *A. cerana* infestada con el ácaro de la *Varroa*, hizo posible que este ácaro encontrara en las abejas melíferas un nuevo huésped (Morse, 1978; Matheson, 1993).

Además de los serios daños que causa el ácaro de la *Varroa* a las abejas (succionando hemolinfa, activando y transmitiendo agentes infecciosos), se puede afirmar en términos generales que una abeja infestada con *Varroa* vive la mitad del tiempo que una sana, por ello cuando el número de abejas infestadas en una colonia es alto, los daños ocasionados por la enfermedad son cuantiosos. Para que los niveles de infestación de la Varroasis dentro de una colonia de abejas alcancen altos porcentajes, se requieren probablemente varios años. A su vez, los factores ambientales, el manejo y la “raza” de abejas, pueden jugar un papel muy importante en el desarrollo y la dinámica de la parasitosis.

El control de la *Varroa* es difícil, requiere de mucha responsabilidad y manejo por parte del apicultor, para que pueda mantener niveles bajos de infestación en las colmenas que no causen pérdidas económicas. El ácaro necesita obligatoriamente completar su ciclo reproductivo en la cría sellada, donde eventualmente queda protegido de la mayoría de productos químicos utilizados en el tratamiento, haciendo algunas veces difícil su control.

Actualmente, se están utilizando varios productos para combatir esta enfermedad parasitaria, sin embargo, ninguno es 100 % efectivo y su uso debe realizarse con precaución para evitar la contaminación de la miel, la cera y evitar que el ácaro desarrolle resistencia (Watkins, 1996). Además, la mayoría de estos productos actúan únicamente sobre los ácaros que se encuentran en las abejas adultas, no observándose ningún efecto sobre aquellos presentes en las celdas con cría operculada.

El ácido fórmico ha sido reportado como un producto efectivo en el control de la Varroasis. Además, es el único producto que controla los ácaros en las abejas adultas y que a la vez actúa sobre los que se encuentran en las celdas selladas (Matheson, 1993). Sin embargo, no existen reportes que indiquen cuantitativamente en qué proporción elimina los ácaros en la cría sellada.

Por tanto, siendo el ácido fórmico una alternativa de control que consideramos importante en nuestra región, ya que es accesible, bajo costo, fácil aplicación y sin presentar problemas de introducir residuos en la miel, se pretende medir su acción acaricida cuantificando el porcentaje de ácaros que son eliminados en la cría sellada, bajo condiciones tropicales. Además, se evaluará la efectividad del tratamiento en colmenas altamente infestadas, midiendo la población de ácaros al inicio y final del tratamiento, tanto en abejas adultas como en la cría.

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto acaricida del ácido fórmico en celdas con cría sellada de abejas africanizadas *A. mellifera* scutellata, infestadas con el ácaro *V. jacobsoni* Oudemans.

### **Objetivos Específicos**

Determinar el porcentaje de ácaros de *Varroa* que son eliminados en la cría sellada después de la aplicación de ácido fórmico utilizando diferentes dosis.

Evaluar la efectividad del tratamiento con ácido fórmico en colmenas altamente infestadas con el ácaro.

Realizar observaciones sistemáticas para determinar si la aplicación del ácido fórmico causa mortalidad de abejas adultas.

Determinar si la aplicación del ácido fórmico en la colmena aumenta el comportamiento de limpieza de las abejas.

### **Hipótesis**

Por ser inocuo a las abejas y altamente acaricida, el ácido fórmico puede ser utilizado en el control de la Varroasis en colmenas altamente infestadas, ya que elimina la mayoría de ácaros presentes en las abejas adultas y en la cría sellada, reduciendo significativamente su población, sin causar daños económicos a la colmena.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 ETIOLOGÍA

La Varroasis o Varroatosis es una parasitosis externa y contagiosa, originaria de Asia, que afecta tanto a la cría como a las abejas adultas. Esta enfermedad es causada por el ácaro *Varroa jacobsoni* Oudemans (Bailey y Ball, 1991). La hembra tiene un color rojo castaño oscuro y una forma ovalada, mide 1.1 mm. de largo por 1.6 mm. de ancho, siendo visible a simple vista (Fries, 1993). Además, es plano en sentido dorso ventral y posee cuatro pares de apéndices (patas); los dos anteriores tienen una función táctil y olfativa, mientras que los dos posteriores actúan en la locomoción (BID/OIRSA, 1990).

El ácaro *V. jacobsoni* puede sobrevivir sin alimento fuera del huésped hasta unos nueve días y alrededor de 30 dentro de cría operculada a temperatura ambiente. En clima templado, las hembras que emergen durante la época de verano viven de 2 a 3 meses, mientras que en el otoño o en períodos de poca producción de cría, pueden mantenerse por más de ocho meses (Bew, 1992).

### 2.2 EPIZOOTIOLOGÍA

Los ácaros de *Varroa* dependen de las abejas adultas para su transporte, en las cuales se alimentan de la hemolinfa perforando las membranas intersegmentales (Fries, 1993). Antes de reinfestar las celdas con cría o durante períodos donde ésta es escasa, se ocultan bajo los segmentos abdominales, lo cual hace muy difícil su observación, especialmente en los estadios iniciales de infestación (Bailey y Ball, 1991).

*V. jacobsoni* se encuentra distribuido ampliamente en colmenas de abejas melíferas (*A. mellifera*) en varios países de Europa. Está presente en nuestro continente en los países con poblaciones de abejas de origen europeo como USA y Canadá, y en la mayoría de los países latinoamericanos donde han invadido las abejas africanizadas. En América se reportó inicialmente en 1971 en Paraguay, donde se considera que fue introducido por la importación de reinas procedentes de Japón (Matheson, 1993). Hasta 1993, Centro América y Panamá se consideraban libres de esta parasitosis (Matheson, 1993). Recientemente en setiembre de 1997, se determinó por primera vez la presencia de *V. jacobsoni* en Costa Rica (Veen *et al.*, 1998); a partir de esta primera detección y a pesar de que no se han muestreado todas las zonas apícolas, se ha encontrado que el ácaro está distribuido casi a todo lo largo del territorio costarricense (Calderón *et al.*, 1998). A su vez, en los primeros meses de 1998 se comunicó la detección del ácaro de la *Varroa* en Honduras (Salas y Quan, comunicación personal).

Los ácaros se diseminan naturalmente de colmena a colmena a través del pillaje, la entrada equivocada de abejas (especialmente de zánganos) a otras colmenas (deriva) y por enjambres infestados. Sin embargo, el principal medio para la diseminación del ácaro es el propio apicultor, intercambiando panales entre colmenas sanas e infestadas,

realizando migraciones de colmenas a largas distancias generalmente sin conocer de la presencia del ácaro y por lo tanto exponiendo las colmenas a infestaciones o infestando zonas libres, introduciendo al apiario enjambres de origen desconocido, o importando reinas de un criadero o país afectado (Bailey y Ball, 1991).

### 2.2.1 Origen y distribución geográfica de la varroasis en el mundo

Desde que la Varroasis fue descrita por primera vez por Oudemans en 1904, se ha distribuido ampliamente a nivel mundial. De acuerdo a los siguientes autores: Morse, (1990), Bailey y Ball (1991), Mobus y Bruyn (1993), Bew (1992), entre otros, la *Varroa* se ha diseminado en el siguiente orden cronológico:

<b>Año</b>	<b>Hospedero</b>	<b>Lugar</b>	<b>Citado por:</b>
1904	<i>Apis cerana</i>	Java	Bailey y Ball, 1991
1909	<i>Apis cerana</i>	Japón	Bailey y Ball, 1991
1918	<i>Apis cerana</i>	Sumatra	Mobus and Bruyn, 1993
1944		Singapur	Mobus and Bruyn, 1993
1950		Corea	Mobus and Bruyn, 1993
1951	<i>Apis cerana</i>	China	Mobus and Bruyn, 1993
1951	<i>Apis cerana</i>	Singapur	Mobus and Bruyn, 1993
1953		Japón	Mobus and Bruyn, 1993
1955		Pakistán	Mobus and Bruyn, 1993
1957	<i>Apis mellifera</i>	China	Mobus and Bruyn, 1993
1958	<i>Apis mellifera</i>	Japón	Bailey y Ball, 1991
1962	<i>Apis mellifera</i>	Hong Kong	Mobus and Bruyn, 1993
1963	<i>Apis mellifera</i>	Filipinas	Mobus and Bruyn, 1993
1964		USSR (E. coast)	Mobus and Bruyn, 1993
1970		Bulgaria	Mobus and Bruyn, 1993
1972		Yugoslavia	Mobus and Bruyn, 1993
1973	<i>Apis mellifera</i>	Paraguay	Mobus and Bruyn, 1993
1976	<i>Apis mellifera</i>	Argentina	Mobus and Bruyn, 1993
1977		Turquía	Mobus and Bruyn, 1993
1977	<i>Apis mellifera</i>	Alemania	Mobus and Bruyn, 1993
1978	<i>Apis mellifera</i>	Brasil	Mobus and Bruyn, 1993
1978	<i>Apis mellifera</i>	Uruguay	Mobus and Bruyn, 1993
1978		Grecia	Mobus and Bruyn, 1993
1980		Túnez	Mobus and Bruyn, 1993
1980		Finlandia	Mobus and Bruyn, 1993
1981		Argelia	Mobus and Bruyn, 1993
1981		Italia	Mobus and Bruyn, 1993
1982		Polonia	Mobus and Bruyn, 1993
1983		Holanda	Mobus and Bruyn, 1993

1984	Israel	Mobus and Bruyn, 1993
1984	Irán	Mobus and Bruyn, 1993
1984	<i>Apis mellifera</i> España	Mobus and Bruyn, 1993
1987	<i>Apis mellifera</i> Portugal	Mobus and Bruyn, 1993
1987	<i>Apis mellifera</i> USA	BID/OIRSA, 1990
1989	Marruecos	Mobus and Bruyn, 1993
1990	<i>Apis mellifera</i> Canadá	Mobus and Bruyn, 1993
1992	<i>Apis mellifera</i> México	Mobus and Bruyn, 1993
1992	<i>Apis mellifera</i> Reino Unido	Bew, 1992
1995	<i>Apis mellifera</i> Guatemala	Ocheita, Comun. pers., 1995
1997	<i>Apis mellifera</i> Costa Rica	Veen <i>et al.</i> , 1998
1998	<i>Apis mellifera</i> El Salvador	Salas, Comun. pers., 1998
1998	<i>Apis mellifera</i> Honduras	Salas, Comun. pers., 1998

Nota: En los espacios en blanco la fuente no especifica claramente el hospedero.

### 2.3 BIOLOGÍA Y REPRODUCCIÓN

El ácaro *V. jacobsoni* es primariamente un parásito de la cría. Aunque prefiere reproducirse en la cría de zánganos, también infesta las celdas de obreras (Al Ghandi and Hoopingarner, 1997). Una vez infestada una colonia, se inicia el proceso reproductivo de los ácaros. La hembra fecunda abandona la abeja adulta de cuya hemolinfa se alimentó, penetrando en una celda de cría (con una larva de aproximadamente 5 a 6 días de edad) justamente antes de ser operculada. La hembra oviposita aproximadamente seis huevos en una celda de obrera y siete en una de zángano (Matheson, 1993). La primera oviposición ocurre después de 60 horas de operculada la celda. Los siguientes huevos son colocados a intervalos de unas 30 horas. A las 48 horas de haber sido ovipositados, los huevos dan origen a ninfas, las cuales comienzan a alimentarse de la hemolinfa de la cría. Únicamente, las hembras se alimentan, ya que los machos carecen de ganchos mandibulares para perforar la piel de su huésped, presumiblemente mueren después que la abeja abandona la celda (Mobus and Bruyn, 1993). Del primer huevo emerge un macho y del resto hembras, con las cuales eventualmente el macho se aparea dentro de la celda operculada, antes de que la abeja emerja (Shimanuki *et al.*, 1992).

La duración de la metamorfosis es de 5-6 días en los machos y de 7-8 días en las hembras. En las celdas de obreras, por cada hembra fecunda, únicamente de 1 a 2 hijas tienen suficiente tiempo para desarrollarse y copular antes de que la obrera abandone la celda (Bailey y Ball, 1991). Sin embargo, en celdas de zánganos, pueden emerger más de tres hembras fecundas por madre, ya que estas celdas permanecen operculadas tres días más que las de obrera (Shimanuki *et al.*, 1992). La hembra del ácaro, posee una espermateca en la cual almacena los espermatozoides, que posteriormente serán utilizados en la fecundación de los huevos.

### 2.4 PATOGENÍA Y DAÑO A LAS ABEJAS

En las abejas adultas, el ácaro selecciona las zonas blandas de su cuerpo (menos queratinizadas) para perforarlas y succionar la hemolinfa. Las áreas más frecuentemente afectadas y donde es más común observarlos son: las membranas intersegmentales de los primeros segmentos abdominales, las articulaciones, la base de las alas, las áreas entre la cabeza y el tórax; y entre el tórax y el abdomen.

El daño provocado a las abejas es de carácter físico y tóxico infeccioso. Físico, debido a que succionan hemolinfa del huésped y con ello producen una serie de trastornos entre los cuales se cita: una marcada reducción del peso de la abeja (Fries, 1993), cambios en la concentración y composición de las proteínas de la hemolinfa, alteraciones en el número y tipo de hemocitos (células que constituyen la hemolinfa) y en los componentes antigénicos. A su vez, se produce una reducción en la expectativa de vida y la longevidad de la abeja, la cual está directamente relacionada con el grado de infestación (Ball, 1993). Las abejas parasitadas realizan su primer vuelo unos días antes que las abejas que no lo están, de manera que algunas fallan en su vuelo de retorno a la colmena (Bailey y Ball, 1991).

El daño tóxico infeccioso se produce ya que las heridas causadas por el ácaro al alimentarse propician la entrada de toxinas y la transmisión de microorganismos. Uno de los aspectos más importantes es la participación del ácaro como vector de diferentes virus (Ball, 1996), entre ellos el virus deformador de las alas (Allen and Ball, 1996), el virus de la cría sacciforme, el virus de las celdas reales negras y el virus de la parálisis aguda (APV) (Hung *et al.*, 1995). Bailey y Ball (1991) y Ball (1993), sugieren que este ácaro actúa primariamente como un activador de la replicación del virus de la parálisis y secundariamente como un vector del mismo.

Una colmena infestada con una población baja de ácaros puede sobrevivir sin ningún efecto evidente. Pueden transcurrir de 3 a 5 años para que una población de ácaros pueda llegar a ser tan grande que destruya una colonia. Sin embargo, en áreas de una alta infestación y en colmenas sin tratamiento, este tiempo puede reducirse a unos dos años. Se ha reportado que en clima templado las colonias infestadas y sin tratamiento eventualmente desaparecen, el tiempo que dura este proceso depende no sólo del número de ácaros que invaden la colonia, sino también del tamaño de la misma y de la cantidad de cría (Bew, 1992).

Períodos de encierro de las abejas dentro de la colmena (lluvias, vientos, fríos, nevadas), favorecen el aumento en los niveles de infestación de una colonia. En países con un invierno prolongado, la Varroasis se manifiesta severamente al final de las épocas del mal tiempo. En los países tropicales las infestaciones se incrementan durante los periodos de lluvia.

## 2.5 CUADRO CLÍNICO

La parasitosis comienza sin mostrar signos visibles de la enfermedad, por tanto, el apicultor no percibe su presencia. Cuando se manifiesta y es detectada, generalmente ya el caso es grave. Los principales signos son: la reducción de la población de la colonia, la cual se debilita, las abejas se muestran inquietas, hay mortalidad de la cría, algunas abejas emergen con malformaciones en las alas, patas, abdomen y tórax, otras carecen de alas o tienen imposibilidad para extenderlas (Ball, 1993). Generalmente las abejas que presentan malformaciones son retiradas de la colmena, éstas se arrastran en la piquera y es notoria la reducción en el tamaño de su cuerpo (Shimanuki *et al.*, 1992).

Para tratar de quitarse los parásitos, las obreras frotan sus patas en las zonas del cuerpo donde están presentes en mayor número (entre los segmentos abdominales), o también restregando su cuerpo en las paredes de la celda. Al examinar las celdas de cría (especialmente las de los zánganos que son las más afectadas) pueden observarse ácaros en diferentes estadios de desarrollo (BID/OIRSA, 1990).

## 2.6 DIAGNÓSTICO

### 2.6.1 Diagnóstico clínico o de campo

Para detectar el ácaro de la *Varroa*, es importante una atenta observación por parte del apicultor, ya que esta enfermedad parasitaria inicia sin signos visibles, haciendo difícil determinar su presencia. Cada vez que se revisa una colmena, es importante la observación de abejas adultas y la inspección rutinaria de celdas de zánganos y obreras.

### 2.6.2 Diagnóstico de laboratorio

Para el diagnóstico de la *Varroa* se puede emplear uno o más métodos, ya que ninguno es totalmente confiable, en especial cuando la cantidad de ácaros presente en la colonia es baja. Este ácaro puede ser encontrado en las abejas adultas, en la cría y en los restos o detritos de la colmena.

**2.6.2.1 Examen de las abejas adultas.** Para este examen se debe colectar una muestra de 200-500 abejas en un frasco de vidrio transparente. Las abejas pueden ser examinadas a simple vista o con la ayuda de una lupa o microscopio. Cuando los ácaros se están moviendo alrededor de la abeja, son fácilmente detectados, pero una vez que ellos se adhieren entre los segmentos del abdomen (para succionar hemolinfa), son bastante difíciles de observar. Por lo que se recomienda el uso de alguno de los métodos de diagnóstico que se describen a continuación.

Uno de los métodos más utilizados consiste en recoger de 200 a 300 abejas adultas en un frasco de boca ancha el cual debe contener alrededor de 200 ml de agua con una pequeña

cantidad de jabón en polvo (de uso común). Esta solución jabonosa con abejas se agita manualmente durante unos minutos y posteriormente se filtra en una malla con orificios de 2.5 mm. para separar las abejas. El líquido filtrado se vuelve a agitar con movimientos circulares y se deja escurrir sobre una tela blanca que sirva de colador, de manera que los ácaros sean retenidos. Esta tela es luego revisada minuciosamente para determinar la presencia del ácaro. Si se encuentran ácaros, estos se cuentan para establecer una relación con el número de abejas. Este método se puede aplicar fácilmente a nivel de campo, sin embargo, tiene la desventaja de que cuando la cantidad de ácaros presente en la colmena es baja, resulta poco confiable.

Hay un método similar, en el cual se utiliza alcohol etílico al 70% en lugar de la solución jabonosa. En este caso, las abejas en alcohol se agitan mecánicamente por 30 minutos y posteriormente se filtran dos veces hasta obtener los ácaros. Este método tiene la ventaja que el alcohol también preserva las abejas para otros propósitos, como el examen para *Acarapis woodi* Rennie.

**2.6.2.2 Examen de la cría.** Para investigar la presencia de *Varroa* en los panales con cría, se deben examinar preferiblemente celdas operculadas de zánganos (pupas), aun cuando también se puede revisar celdas de obreras. Inicialmente, se selecciona un área del panal con cría operculada, luego con la ayuda de pinzas se abren de 50 a 100 celdas, se sacan y revisan las crías. Además, se debe examinar el interior de la celda. El ácaro adulto de *Varroa* que es de color rojo castaño oscuro, puede ser observado y reconocido a simple vista contra la superficie blanca de la pupa.

**2.6.2.3 Inspección de los desechos de la colmena.** Los desechos que caen al piso de la colmena (partículas de cera, polen, abejas y crías muertas, etc.) y que las abejas limpian regularmente, pueden ser colectados y examinados para determinar la presencia de *V. jacobsoni*. En una colmena infestada, se puede observar ácaros de *Varroa* que caen periódicamente al morir o al ser eliminados por las abejas de su cuerpo.

La colecta de los detritos puede ser facilitada elaborando y colocando una trampa en el piso de la colmena. La misma consiste en una lámina de cartulina blanca (36 x 45 cm.), cubierta con vaselina y protegida con cedazo metálico de aproximadamente 13 agujeros por pulgada (cedazo de 2 mm de diámetro). Cuando no se utiliza un producto acaricida esta trampa debe permanecer en la colmena de 2 a 4 semanas. Debido a que los ácaros pueden ser fácilmente observados a simple vista contra la superficie blanca de la cartulina, la trampa puede ser revisada preliminarmente a nivel de campo. Si la cantidad de detritos presentes en la trampa es tan alta que no permite diferenciar los ácaros, se recomienda la separación de la cera y demás partículas, mediante la extracción con alcohol. Mediante este método los ácaros de *Varroa* flotan y pueden ser separados para su identificación y conteo (Ritter and Ruttner, 1980).

Al revisar los ácaros estos deben ser diferenciados del piojo de la abeja (*Braula coeca*), aunque es similar en tamaño al *V. jacobsoni* es diferente en morfología. Este piojo es un

insecto del orden de los dípteros, y como tal tiene tres pares de patas a diferencia del *Varroa* que tiene cuatro.

Sin embargo, toda muestra debe ser enviada al laboratorio, donde con la ayuda de equipo especializado se realiza un examen detallado y se da un diagnóstico definitivo.

Este método de diagnóstico puede ser acelerado cuando se utiliza para muestrear algún producto acaricida como por ejemplo, ácido fórmico, Apistan, etc. También se ha reportado el uso de tabaco, el cual se aplica mediante el ahumador en la colonia, de manera que algunos ácaros presentes en las abejas adultas mueren por el efecto del humo y son recogidos en el fondo de la colmena (Ruijter and Eijnde, 1984).

## 2.7 TRATAMIENTO Y CONTROL

Es importante detectar la presencia del ácaro en las colmenas antes de que aparezcan los síntomas. Cuando la infestación es detectada en una fase muy avanzada, el tratamiento resulta poco exitoso y las pérdidas en las colmenas pueden ser muy altas (Hung *et al.*, 1996).

Los ácaros de la *Varroa* poseen varias características que dificultan el realizar un control adecuado. Por ejemplo, son parásitos de la cría y de las abejas adultas, su metamorfosis es de 2 a 2.5 veces más corta que la de la abeja, por lo que nuevas generaciones del ácaro dentro de la celda operculada se reproducen a un ritmo más rápido que su huésped, además permanecen protegidos de la mayoría de productos acaricidas, ya que estos no tienen acción sobre los ácaros presentes en la cría sellada (BID/OIRSA, 1990).

El control puede realizarse por diversos métodos, el más simple, pero al mismo tiempo el más problemático, es la aplicación de productos químicos o medicamentos. La mayoría de los medicamentos que se han venido utilizando en el combate del ácaro, tienen una desventaja común: su uso inadecuado e indiscriminado puede llevar a que el ácaro desarrolle resistencia al producto. Este problema ha sido mencionado para uno de los productos más utilizados, el fluvalinato (Apistan®) (Dufol *et al.*, 1991; Watkins, 1996). Por otra parte, algunos de los productos químicos que se han empleado muestran efectos colaterales indeseables; algunos son tóxicos (organofosforados), mientras otros son cancerígenos (naftalina) (BID/OIRSA, 1990).

Tres de los métodos más utilizados para la aplicación de los productos son: la evaporación, el contacto y alimentación. En el primero, las sustancias volátiles son aplicadas en forma líquida mediante materiales absorbentes impregnados o en cristales colocados directamente en la colmena. La aplicación por contacto generalmente se realiza por medio de tiras plásticas que contienen el agente acaricida, el cual se adhiere al cuerpo de las abejas, distribuyéndose en la colmena. Generalmente, los piretroides se han utilizado como productos de contacto, los cuales persisten en la colmena durante varios meses, por esta razón causan la muerte de los ácaros que emergen constantemente de la cría. En la alimentación, el producto acaricida se mezcla con jarabe de azúcar, de manera

que la abeja lo consuma, pase al aparato digestivo y de aquí a la hemolinfa. Cuando el ácaro succiona la hemolinfa para alimentarse entra en contacto con el producto y muere (efecto sistémico).

Durante los últimos años se han ensayado muchos productos para tratar de controlar la Varroasis, entre estos tenemos: Tiodifenilamina (Fenotiazina), Clorobencilato (Folvex simple), Naftalina, Quinometinate (Varrostan), Hidrocloruro de cloro dimeformo (K-79), Azufre, Thymol, Sinescar, entre otros. Sin embargo, debido a sus diversos inconvenientes, se ha ido discontinuando su uso.

En el cuadro 1, se indican los medicamentos y productos químicos más efectivos, con menos inconvenientes y mas ampliamente utilizados a nivel mundial contra la Varroasis (Delaplane, 1997). Entre estos productos se incluyen los ácidos, que por ser productos genéricos y de acción acaricida comprobada, pueden ser utilizados de manera rápida y confiable.

**Cuadro 1.** Medicamentos y productos químicos utilizados en el tratamiento y control de *Varroa jacobsoni*.

Producto	Productor	Ingrediente Activo	Formulación	Aplicación
Acido fórmico		Acido fórmico	Solución acuosa	Evaporación
Acido láctico		Acido láctico	Solución acuosa	Aspersión
Api-Life-Var	LAIF	Aceites esenciales	Platos	Evaporación
Apistan	Zoecon/Sandoz	Fluvalinato	Tiras	Directa entre los marcos
Apitol	Ciba Geigy	Cymiazol	Solución acuosa	Goteo/Alimentación
Bayvarol	Bayer	Flumetrina	Tiras	Directa entre los marcos
Folvex-VA	Ciba Geigy	Bromopropilato	Tiras fumigantes	Fumigación
Perizina	Bayer	Coumaphos	Solución acuosa	Goteo/Alimentación

Es importante conocer el riesgo que significa para la salud humana la presencia de residuos de productos acaricidas en la miel. Por tanto, estos no deben aplicarse al inicio de las floraciones, ni durante estas.

Entre sus ventajas es que usualmente son rápidos y convenientes de aplicar, a menudo matan más del 95% de ácaros por colonia. Por otro lado, tienen grandes desventajas entre las cuales se citan: su uso inadecuado puede causar niveles indeseables de residuos químicos en la miel y cera, el uso constante de un único producto o su aplicación en dosis

inadecuadas, puede conllevar al desarrollo de resistencia del ácaro al producto. Además, normalmente el costo de los medicamentos acaricidas es elevado.

### **2.7.1 Ácido fórmico**

El ácido fórmico (HCOOH), también conocido como ácido metanoico, es un líquido incoloro, tóxico, corrosivo, cáustico que funde a 8.4 °C (47 °F) y que es soluble en agua, éter y alcohol. Este ácido es usado como un solvente químico en procesos de tinción y en fumigantes. También ha sido utilizado en la elaboración de la cerveza (proceso de fermentación), como un preservante de la comida y en la preparación de esteres metálicos. Algunas aves utilizan el ácido fórmico secretado por las hormigas para liberarse de ácaros que están en su plumaje (Matheson, 1993).

### **2.7.2 Uso del ácido fórmico en el control de la *Varroa***

El primer reporte oficial del uso del ácido fórmico en el control de los ácaros de la abejas melíferas fue descrito por Ritter y Ruttner (1980), en un ensayo realizado en Alemania contra la Varroasis. Otros artículos en los cuales se reporta el uso de este ácido en colmenas altamente infestadas, con un fuerte efecto acaricida (demostrando que puede ser usado efectivamente en el control de *V. jacobsoni*), se han publicando recientemente (Fries, 1993). Además, hay reportes del uso de este ácido en el tratamiento del ácaro de la traquea *A. woodie*.

Una de las principales ventajas del ácido fórmico comparado con otros productos acaricidas, es que se ha reportado que actúa sobre los ácaros presentes en la cría sellada (Matheson, 1993). Además, de que la miel contiene pequeñas trazas en forma natural, por tanto no se considera contaminante.

### **2.7.3 Dosis y método de aplicación**

Para el tratamiento de colmenas infestadas se utilizan tiras de cartón impregnadas con 10-15 ml. de ácido fórmico al 85% (equivalente a 2 ml de ácido al 60% por cada panal de la colmena). Para lograr un control adecuado, se recomienda cuatro tratamientos, aplicando una tira por colmena y a intervalos de cuatro días entre ellos. El ácido fórmico es muy volátil, por esta razón, debe colocarse en la colmena inmediatamente después de sacarse de una hielera, en la cual debe mantenerse para evitar su evaporación. Se recomienda utilizarlo a una temperatura entre 12 °C a 25 °C pero los mejores resultados se obtienen entre los 18 y 25 °C, el mejor momento para aplicarlo es en las últimas horas de la tarde, cuando ha decrecido tanto la temperatura ambiental como la actividad de vuelo de las abejas. Temperaturas menores de 12 °C disminuyen la evaporación del ácido obteniéndose pobres resultados, mientras que temperaturas mayores de 25 °C aumentan la velocidad de evaporación del ácido, causando daño a las abejas adultas y a la cría. También se ha reportado que la alta humedad influye negativamente, especialmente

durante los periodos de lluvia. Las colmenas tratadas deben de permanecer con la piquera abierta (Fries, 1993).

Las tiras impregnadas con ácido fórmico se pueden aplicar en dos posiciones: una de ellas es colocar la tira sobre los panales y la otra es debajo de la cámara de cría. Se ha observado que esta última causa menos daño a las abejas, reduce la pérdida de reinas, se puede aplicar sin necesidad de abrir la colmena y penetra mejor en las celdas selladas, entre otras ventajas.

#### **2.7.4 Algunos cuidados al preparar y utilizar el ácido fórmico**

El uso de este ácido para el control de la *Varroa* hace que el tratamiento sea barato y efectivo; sin embargo, debe tomarse en cuenta ciertos cuidados para su buen uso:

- . Utilizar guantes y anteojos durante su preparación.
- . Cuando hay contacto con la piel, ésta debe lavarse con suficiente agua.
- . Si hay contacto del ácido con los ojos, éstos deben lavarse por al menos 15 minutos y consultarle al médico tan pronto como sea posible.
- . Al preparar las tiras, debe hacerse al aire libre o en un cuarto bien ventilado.
- . Almacenar las tiras preparadas en la refrigeradora y transportarlas en una hielera.
- . No se debe almacenar estas tiras por períodos prolongados.
- . Mantenerlo fuera del alcance de los niños.

Debido a esta serie de cuidados y a lo difícil que resulta la preparación del ácido fórmico en el campo, se recomienda que la elaboración de las tiras con el producto sea realizada por una persona con experiencia y en un lugar adecuado.

#### **2.7.5 Ventajas**

El ácido fórmico se puede encontrar como un componente natural de la miel. En colonias que son tratadas durante el otoño, este ácido puede algunas veces ser detectado en la miel, pero los niveles están dentro de la variación normal (Bew, 1992). Sin embargo, no se recomienda su aplicación durante el flujo de néctar, ya que al ser una sustancia altamente soluble en agua, puede acumularse en la miel, aumentándose los residuos a niveles no deseados.

Otra ventaja, es que el tratamiento es menos costoso (aproximadamente 0.25 \$ por cuatro tratamientos) comparado con otros productos y por ser un producto genérico se puede conseguir fácilmente.

### **2.7.6 Desventajas**

El apicultor tiene que invertir trabajo extra, comparado con el uso de medicamentos convencionales.

Su efectividad se ve influenciada por condiciones externas como la temperatura y la humedad (Matheson, 1993).

En algunos tratamientos 5-10% de las reinas en colonias tratadas es esperado que mueran. Además, la cría en el último estadio y las abejas naciendo también pueden afectarse.

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DE LA ZONA EN LA QUE SE REALIZÓ EL ESTUDIO

La investigación se realizó en el Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) de Costa Rica. Localizado en Lagunilla, Barreal de Heredia (Valle Central), a 10°01' latitud norte y 84°07' latitud oeste, la altura es de 1130 msnm. La temperatura y precipitación promedio anual son respectivamente 24°C y 1878.8 mm (Chinchilla, 1987). Esta zona se clasifica como bosque húmedo premontano (Holdridge, 1978).

#### 3.2 APIARIO DE INVESTIGACIÓN

Se instaló un apiario constituido por nueve colmenas de abejas africanizadas *A. mellifera scutellata* infestadas con el ácaro *V. jacobsoni*. Estas colmenas se dividieron en tres grupos (A, B y C) de tres colmenas cada uno. Para la agrupación de las colmenas se tomó en cuenta el promedio de infestación inicial, de manera que este no fue significativamente diferente entre los tres grupos.

Grupo A: se aplicó tratamiento con 15 ml de ácido fórmico.

Grupo B: se aplicó tratamiento con 10 ml de ácido fórmico.

Grupo C: las colmenas de este grupo se utilizaron como control (no se aplicó ácido fórmico), recibiendo tratamiento con tiras impregnadas de agua destilada.

#### 3.3 CONDICIÓN DE LAS COLMENAS AL INICIO Y FINAL DEL ESTUDIO

Se realizó una evaluación de cada colmena al inicio y al final del estudio, tanto de los panales como de las abejas adultas. Para los panales se evaluó la cantidad de cría abierta, cría sellada, miel y polen. Para cualificar estos parámetros se utilizó un marco cuadrado del tamaño de un panal, midiendo cada división o cuadrante 100 cm<sup>2</sup> (un decímetro cuadrado). La evaluación se realizó colocando el marco sobre cada panal, registrando la cantidad presente de cada parámetro. Para las abejas adultas se cuantificó su población, mediante la observación del número de panales cubiertos con abejas, correspondiendo cada uno de estos panales a una población aproximada de 2000 abejas. Además, se registró el número de panales vacíos y totales.

#### 3.4 EVALUACIÓN INICIAL DE LA POBLACIÓN DE ÁCAROS EN LAS COLMENAS

Para determinar el grado de infestación inicial de las colmenas, se evaluó la población de ácaros en los panales con cría sellada, en las abejas adultas y en los restos o detritos que caen al fondo de la colmena. Para realizar un examen más detallado de la cría y a la vez causar el menor efecto negativo en ésta (ya que el panal se sacó de la colmena y se evaluó

en el laboratorio), se revisó tres colmenas por día, correspondiendo cada una a uno de los grupos. Este procedimiento se siguió para el análisis de las colmenas durante los tratamientos.

#### **3.4.1 Población inicial de ácaros en la cría sellada**

En cada colmena, se evaluó 50 celdas de obreras con cría sellada de aproximadamente 18 días de edad, utilizando el color de los ojos (Rojo-Morado) como un indicador de ésta. Para determinar la presencia de los ácaros, cada celda se desoperculo y se revisó la pupa y su interior. Esta revisión se realizó inicialmente a simple vista y posteriormente con lupa y estereoscopio. La infestación inicial se expresó como un porcentaje: número de ácaros/ número de celdas x 100.

#### **3.4.2 Población inicial de ácaros en las abejas adultas**

Se tomó una muestra de aproximadamente 500 abejas del interior de la colmena, utilizando un embudo de cartón y agitando el panal con abejas sobre éste. Estas abejas se colectaron en un frasco de vidrio transparente y de boca ancha, al cual se le agregó una solución jabonosa (300 ml. de agua más 0.5 g. de detergente en polvo). Esta solución se agitó manualmente por un minuto, luego para separar las abejas, se filtró con un cedazo de ocho agujeros por pulgada (orificios de 2.5 milímetros). El líquido filtrado se tamizó por segunda vez con una tela blanca, de manera que los ácaros quedaran separados y expuestos para su identificación. Los ácaros y las abejas se contaron y el resultado se expresó como un porcentaje: número de ácaros / número de abejas x 100.

#### **3.4.3 Ácaros que cayeron naturalmente**

Para coleccionar los ácaros que cayeron en forma natural, se colocó en el piso de cada colmena, una trampa para *Varroa* construida con una lámina de cartulina blanca de 36 x 45 cm., cubierta con vaselina y protegida con cedazo metálico de aproximadamente 13 agujeros por pulgada. Esta trampa se colocó en la tarde (4:00-6:00 p.m.) y se recogió al siguiente día por la mañana (8:00-10:00 a.m.) Los ácaros coleccionados en la trampa se contaron y se estableció una relación con el conteo de ácaros que se realizó al final del estudio.

### **3.5 EVALUACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA DEL ÁCIDO FÓRMICO**

### 3.5.1 Aplicación del ácido fórmico

Se utilizó ácido fórmico al 85% impregnado en tiras de cartón gris # 30. Estas tiras de 13 x 23 cm. se colocaron junto con la trampa para *Varroa*, entre la cartulina y el cedazo. Este cedazo se utilizó para evitar el contacto directo de las abejas con el ácido y a su vez, impedir que estas retiraran los ácaros de la trampa. Para los grupos A y B, se realizaron cuatro tratamientos con ácido fórmico con un intervalo de siete días entre uno y otro. Las trampas se colocaron en horas de la tarde (4:00-6:00 p.m.) y se recogieron en la mañana del siguiente día (8:00-10:00 a.m.). Se utilizó ácido fórmico en dos cantidades 10 y 15 ml, mientras que en el grupo control, se utilizó agua destilada.

Adicionalmente, entre cada uno de los tratamientos se colocó una trampa para *Varroa*, la cual permaneció en la colmena durante 24 horas, siendo luego sustituida por una nueva. De manera que para cada día (posterior a la aplicación), se cuantificó y registró el número de ácaros que cayeron diariamente durante un periodo aproximado de un mes.

### 3.5.2 Evaluación del efecto acaricida del ácido fórmico en celdas con cría sellada

Al día siguiente de cada aplicación se revisaron 50 celdas con cría sellada de obreras, en cada una de las colmenas. En cada celda se contó el número total de ácaros presente (adultos e inmaduros) y el número de ácaros adultos muertos. Para determinar que un ácaro se encontraba muerto, se estableció los siguientes parámetros:

- a) Locomoción: ácaro caminando sobre la pupa, en la celda, sobre el panal o en la mesa de trabajo.
- b) Movimiento de apéndices: Los ácaros que no presentaban locomoción, se observaban con el estereoscopio para determinar movimientos en sus apéndices: patas y queliceros. Aquellos, que no presentaban movimientos eran cuidadosamente estimulados con agujas de disección, para evaluar su reacción.

Se consideró como ácaros muertos aquellos que no presentaron ni locomoción, ni movimiento de apéndices.

### 3.5.3 Evaluación del efecto acaricida del ácido fórmico en las abejas adultas

Para determinar la efectividad del producto sobre los ácaros presentes en las abejas a través de las cuatro aplicaciones, se contó el número de ácaros que cayeron en la trampa para *Varroa* al día siguiente después de cada aplicación. En algunos casos se trató de registrar el número de ácaros vivos y muertos, sin embargo, debido a la presencia de gran cantidad de estos se cuantificó únicamente el número total.

### **3.6 EVALUACIÓN FINAL DE LA POBLACIÓN DE ÁCAROS EN LA COLMENA**

Con ésta evaluación se determinó la infestación final de las colmenas, cuantificando la población de ácaros al final del estudio. Este examen se realizó en la cría sellada, en las abejas adultas y en los restos de la colmena.

#### **3.6.1 Población final de ácaros en la cría sellada**

En cada una de las colmenas se evaluaron 50 celdas con cría sellada de obreras, en las cuales se contó los ácaros adultos vivos y ácaros inmaduros presentes, estableciendo una infestación final. La infestación final se expresó como un porcentaje: número de ácaros/número de celdas x 100.

#### **3.6.2 Población final de ácaros en las abejas adultas**

Para las abejas adultas se tomó una muestra aproximada de 500 abejas en solución jabonosa, se analizó y estableció una relación entre el número de abejas y ácaros presentes. El resultado se expresó como un porcentaje: número de ácaros / número de abejas x 100.

### **3.7 EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓRMICO**

La efectividad del tratamiento con ácido fórmico se midió tanto en la cría como de las abejas adultas. Está se obtuvo mediante la relación de la infestación inicial y final de las colmenas. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Efectividad} = \left( \frac{\% \text{ infestación inicial} - \% \text{ infestación final}}{\% \text{ infestación inicial}} \right) \times 100$$

### **3.8 EFECTO DEL ÁCIDO FÓRMICO SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE LIMPIEZA DE LAS ABEJAS**

Para observar el efecto que produce el ácido fórmico en el comportamiento de limpieza de las abejas, se utilizó un núcleo de dos panales tamaño estándar tipo Langstroth (con la reina y una población moderada de abejas adultas) de abejas africanizadas *A. mellifera scutellata* infestado con el ácaro de la *Varroa*. Este núcleo se instaló en una colmena de observación en un cuarto oscuro. La misma consistió de una caja de madera con paredes de vidrio transparente, acondicionado con una salida al exterior para que las abejas pudieran volar libremente. Durante las observaciones se utilizó luz roja para no disturbar la colmena.

Las observaciones se realizaron durante cinco días:

- a) día 1: no se aplicó ningún tratamiento
- b) día 2: se aplicó 4 ml de agua
- c) día 3: se aplicó 4 ml de ácido fórmico al 85%
- b) día 9: se aplicó 4 ml de agua
- d) día 11: Una semana después del tratamiento con ácido fórmico, se repitió su aplicación (4 ml).

En cada día de observación la colmena se evaluó cinco veces (8:00 a.m., 10:00 a.m., 12:00 p.m., 2:00 p.m. y 4:00 p.m.) en periodos de 20 minutos, observando 20 abejas en forma aleatoria durante un minuto cada una. Se determinó la presencia y posición del ácaro en la abeja, posición de la abeja en la colmena, el tiempo utilizado por la abeja para limpiarse, así como el número de ácaros que cayeron en cada día. El tiempo utilizado por la abejas para limpiarse se comparó entre cada uno de los días de tratamiento.

### **3.9 MORTALIDAD DE ABEJAS ADULTAS REGISTRADA DURANTE EL ESTUDIO**

Para determinar si la aplicación del ácido producía una mortalidad masiva de abejas (intoxicación severa), se colectó diariamente las abejas muertas en frente de las piqueras.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 EVALUACIÓN DE LAS COLMENAS

La evaluación final de las colmenas mostró una severa disminución en la cantidad de cría abierta y sellada, siendo en algunos casos ausente (Cuadro 2). Además, se observó un descenso en las reservas de miel y polen; así como, en la población de abejas adultas, respecto a la evaluación inicial. Uno de los factores probablemente asociados con la disminución de estos parámetros evaluados, puede ser el ambiental, ya que el período en que se realizó el estudio (18 de mayo al 16 de junio) coincidió con una época de lluvias, la cual puede relacionarse con escasez de alimento. De acuerdo a la literatura, bajo estas condiciones la reina disminuye la postura y las abejas consumen las reservas de miel y polen (Morse, 1990; Gary, 1992).

Otro factor que posiblemente influyó en la disminución antes mencionada, es la severa infestación que presentaban las colmenas con el ácaro de la *Varroa* (Cuadro 3). Mobus y Bruyn (1993), mencionan que en colmenas altamente infestadas (más de 3000 ácaros por colmena), la cría se ve severamente afectada, debido a que las abejas disminuyen su capacidad de producir alimento. En general la condición de colmenas fuertemente infestadas decae, observándose acortamiento en la vida de las obreras, deformidad de alas y pérdida de peso en las abejas (Morse, 1990), reducción en la producción de cera, actividad de vuelo, resistencia a enfermedades, capacidad de resistir el invierno (Mobus and Bruyn, 1993), también se ha observado presencia y desarrollo de infecciones víricas (parálisis, cría sacciforme) (Ball, 1993). Por otro lado, se menciona que el colapso de colmenas infestadas con la *Varroa*, coincide con una disminución en la producción de cría, la cual puede ocurrir aun en colmenas con una alta población de abejas (colmenas fuertes) (Bach *et al.*, 1998).

La aplicación de ácido fórmico puede ser otra de las causas por la cual las colmenas se debilitaron. En colmenas que son tratadas con este producto, se reporta pérdidas de un 5% a un 10 % de las reinas. Además, puede afectarse la cría que esta naciendo o la cría abierta (cría muy joven) (Mobus and Bruyn 1993; Fries, 1993). Por otra parte, se ha reportado la evasión de colmenas débiles, con mala alimentación, especialmente cuando el ácido es aplicado en horas de la mañana. Esto se debe probablemente al efecto negativo que le produce a la colmena, la rápida evaporación del ácido, junto al mal manejo del apiario (Calderón, Comunicación personal).

La colmena número siete murió en el transcurso del experimento. Esta colmena fue la más débil al inicio del experimento (poca cría, alimento y abejas), también, presentó la mayor infestación inicial en la cría sellada, 49 ácaros en 50 celdas (98%) (cuadro 2, cuadro 3). Se ha reportado que colmenas altamente infestadas con el ácaro de la *Varroa* no sobreviven a menos que se aplique un control adecuado (Hung *et al.*, 1995; Bew, 1992; Matheson, 1993). Por otro lado, la colmena número 10, la cual presentó un comportamiento altamente defensivo (mas africanizada) y al mismo tiempo el menor

porcentaje de infestación final, no disminuyo significativamente la cantidad de cría sellada, reservas de alimento, ni su población. Engels (1986) citado por Moretto (1991), reporta que en general entre las razas de abejas, las originarias de razas africanizadas son más resistentes al ácaro de la *Varroa* que las europeas (Moretto, 1991; Morse, 1990). Una de las principales razones puede deberse a la baja tasa de reproducción que el ácaro alcanza en la cría de obrera, comparado con las abejas europeas (Moretto, 1997). El tiempo promedio que permanece la cría de obrera operculada en la abeja africanizada es de 11 días, permitiendo únicamente el desarrollo de un ácaro hembra por madre (en algunos casos dos). Mientras, en razas Europeas la cría en promedio permanece operculada 12 días, lo cual permite que se desarrollen de dos a tres ácaros hembra por madre (Ball, 1993). Pequeñas diferencias entre estas tasas de reproducción pueden representar grandes diferencias entre el número de ácaros producidos en unas pocas generaciones. Por ejemplo, se ha estimado una diferencia aproximada de 20.000 ácaros entre una colmena Europea y una africanizada en un período de cuatro meses (Bailey y Ball, 1991).

Otra razón por la cual las abejas africanizadas son más resistentes al ácaro de la *Varroa*, es el alto grado de comportamiento de limpieza, en el cual las obreras muestran gran habilidad para defenderse, mediante movimientos que les permite la eliminación del ácaro (Moretto, 1997).

**Cuadro 2.** Evaluación de la cantidad de cría abierta y sellada, reservas de miel y polen presente en las colmenas, al inicio y final de la investigación (18 de mayo al 16 de junio). Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

Fecha de evaluación	No. de colmena	Cría abierta	Cría sellada	Miel	Polen	Panales con abejas	Panales vacíos	Panales totales
May-18 (I)	2	28	41.0	99	3.5	14	0	14
Jun-16 (F)		9	2	66	0.5	12	2	14
May-18 (I)	3	18.5	38	53.5	2.5	11	2	13
Jun-16 (F)		0	4.5	32	0	11	2	13
May-18 (I)	4	27.5	31	62.5	3.5	13	3	16
Jun-16 (F)		0	0	45.5	1	13	3	16
May-18 (I)	5	40	27	60	7	13	4	17
Jun-16 (F)		11	4.5	33	2.5	14	3	17
May-18 (I)	6	26	36.5	63.5	18.5	14	2	16
Jun-16 (F)		13	17	53	2.5	15	1	16
May-18 (I)	7	4.5	11	7.5	0	6	4	10
Jun-16 (F)		*	*	*	*	*	*	*
May-18 (I)	8	29.5	40	28	1	10	2	12
Jun-16 (F)		0	0	17	0	12	0	12
May-18 (I)	10	56	44	88.5	23.5	17	1	18
Jun-16 (F)		37.5	28	65	10	16	2	18

\* No hay datos, la colmena murió después de iniciado el experimento.

I = Evaluación inicial

F = Evaluación final

#### **4.2 INFESTACIÓN INICIAL DE LAS COLMENAS CON EL ÁCARO DE LA VARROA**

La evaluación de la infestación inicial de las colmenas examinando la cría sellada, las abejas adultas y la caída natural, mostró que estas presentaban un nivel alto de ácaros (Cuadro 3). Observándose, una mayor infestación de la cría respecto a las abejas adultas. Esto ha sido observado por otros investigadores, los cuales establecen una relación de infestación de 4:1 de la cría respecto a las abejas adultas (Raúl Rivera, comunicación personal, 1998).

#### **4.2.1 Infestación inicial de la cría sellada**

Al evaluar 50 celdas por colmena (n= 400 celdas), se encontró un promedio de  $20 \pm 8.53$  celdas positivas a Varroasis, con una tasa promedio de infestación inicial de la cría sellada de  $181.25 \% \pm 93.1$  ácaros por celda. Al examinar la cría se encontró una cantidad considerable de celdas con más de cuatro ácaros. En las celdas con ácaros, la infestación promedio fue de 1.40 ácaros maduros, 2.88 ácaros inmaduros y un total de 4.28 ácaros por celda infestada. La relación que se encontró entre ácaros maduros e inmaduros fue de 2.06, de manera que por cada ácaro adulto que se encontraba en la cría sellada habían 2.06 inmaduros. Se reporta que en promedio la hembra adulta de la *Varroa* deposita de tres a cuatro huevos (máximo seis) en la cría sellada de obrera, de los cuales se estima que de 1.0 a 1.7 hembras maduras hijas tienen la posibilidad de emerger (Fries, 1993). Bailey y Ball (1991) reportan para países con clima templado una tasa de reproducción entre 1.2 a 2.7 del ácaro de la *Varroa*.

#### **4.2.2 Infestación inicial de las abejas adultas**

Al tomar una muestra de aproximadamente 500 abejas adultas por colmena (n=4186 abejas), se encontró un promedio de infestación inicial de  $14 \% \pm 6.55$ . Para la región medio oeste de los Estados Unidos, la presencia de más de cinco ácaros en una muestra de 300 abejas adultas (1.67), es considerada una infestación elevada, por lo cual recomiendan la aplicación de un método de control (Bach *et al.*, 1998). En este estudio la colmena con el menor grado de infestación sobrepasaba este nivel, 34 ácaros en 460 abejas (7.4%), por tanto, estas colmenas se consideraron severamente infestadas.

Aún cuando en nuestras condiciones no se conoce con exactitud el nivel de infestación tolerable por la colmena, se ha reportado que los niveles en los cuales los daños económicos causados por el parásito son inferiores a los costos de su tratamiento, están abajo de un 10 % (BID/OIRSA, 1990). De acuerdo a esta recomendación y al promedio de infestación encontrado (14 %), estas colmenas necesitaban urgentemente la aplicación de un tratamiento adecuado.

Las colmenas más defensivas mostraron el porcentaje de infestación inicial más bajo, lo que se relaciona con reportes previos en los cuales se indica que el comportamiento de limpieza es un mecanismo de control de la abeja contra el ácaro (Eischen, 1997). Otros autores mencionan que las abejas africanizadas controlan mejor la infestación de la Varroasis que las abejas europeas, debido a su alto grado de limpieza (Morse, 1990; Moretto, 1997).

#### **4.2.3 Caída de ácaros sin tratamiento (natural)**

La caída natural de ácaros (sin aplicar ningún tratamiento), varió de una colmena a otra, probablemente influenciado por diferentes factores como el grado de infestación, población de abejas, comportamiento de limpieza. El promedio de ácaros que cayeron en forma natural (en un día) al inicio de la investigación fue de  $86.88 \pm 58.6$  por colmena. En países con clima templado se ha reportado que la caída de un ácaro por día, indica que la infestación no es tan alta y por lo tanto la aplicación de tratamiento puede esperar, pero si caen de dos a cinco ácaros se deben tomar medidas de control (Ritter, 1993).

La caída de ácaros en forma natural se da por diferentes razones, en la especie de abejas *A. cerana* la población de ácaros nunca se eleva a una cantidad peligrosa, debido a su efectivo comportamiento de limpieza. Se reporta que estas abejas son capaces de matar y dañar al ácaro de la *Varroa* por medio de movimientos rápidos de las patas o con la ayuda de otras obreras que utilizan sus mandíbulas para eliminarlo (Ruttner 1992). Este comportamiento también ha sido observado en *A. mellifera*, sin embargo, no se conoce exactamente con que intensidad y efectividad. Por tanto, en la caída natural de ácaros, intervienen factores como la habilidad de las abejas de limpiarse ellas mismas o por la ayuda de otras abejas (Lodesani *et al.*, 1996).

**Cuadro 3.** Porcentaje de infestación inicial de la cría sellada, abejas adultas y ácaros que cayeron en forma natural en un día. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

Colm.	Cría sellada (%)			Abejas adultas	Acaros
	Acaros maduros	Acaros inmaduros	% Total	% infestación	# ácaros caídos
# 2	48	94	142	16.70	145
# 3	70	216	286	9.00	30
# 4	34	56	90	24.13	195
# 5	72	208	280	21.6	31
# 6	82	212	294	6.62	110
# 7	98	114	212	15.7	13
# 8	36	74	110	11.4	82
# 10	16	22	38	7.4	89
Prom	$57 \pm 26.1$	$124.5 \pm 72.3$	$181.25 \pm 93.1$	$14.07 \pm 6.1$	$86.88 \pm 58.6$

### 4.3 EVALUACIÓN DEL EFECTO ACARICIDA DEL ÁCIDO FÓRMICO

#### 4.3.1 Evaluación del efecto acaricida del ácido fórmico en celdas con cría sellada.

Varios autores mencionan el efecto del ácido fórmico en la cría sellada (Ritter, 1993; Mobus and Bruyn, 1993; Fries, 1993), sin embargo, no se indica el porcentaje de mortalidad de ácaros dentro de ésta. En el presente estudio se encontró que el ácido fórmico posee un efecto acaricida sobre los ácaros adultos presentes en la cría sellada (Cuadro 4), confirmando lo anteriormente reportado. Se encontraron diferencias entre las dosis de ácido fórmico utilizadas, en el grupo de colmenas que se trató con 15 ml se obtuvo el mayor porcentaje de ácaros muertos dentro de la cría sellada: 48.16 % (Cuadro 4). En el grupo que se aplicó 10 ml se observó un 10.27 % de mortalidad en la celda, mientras que el grupo control, el cual recibió tratamiento con 15 ml de agua destilada, se encontró 1.03 % de ácaros muertos.

Al analizar estos porcentajes, existen diferencias significativas entre el tratamiento con 10 y 15 ml de ácido fórmico y entre 15 ml y el control (ANDEVA  $F=0.0001$ ). Sin embargo, no hay diferencias significativas entre el tratamiento con 10 ml de ácido y el grupo testigo con agua. No obstante, es importante indicar que se utilizó ácido fórmico en la cantidad de 10 ml., con el objetivo de observar si disminuía el efecto negativo del ácido en la colmena, manteniendo su efectividad en el control del ácaro. A su vez, se debe reconocer la utilidad de ácido fórmico en la cantidad de 10 ml en el diagnóstico de la Varroasis (Calderón, comunicación personal).

En algunas de las colmenas, al revisar la cría después de cada aplicación con ácido fórmico (cuatro aplicaciones) se encontró una disminución progresiva en la cantidad de ácaros inmaduros presentes. Por ejemplo, la colmena número 2 pasó de 50 ácaros inmaduros al inicio a 0 al final, a pesar de que los ácaros maduros se encontraban en igual cantidad o habían aumentado. Probablemente, esto se deba a un posible efecto acumulativo de los tratamientos con ácido fórmico sobre los ácaros maduros, de manera que conforme avanzan las aplicaciones más ácaros mueren o se ven severamente afectados dentro de la cría sellada, limitando su reproducción.

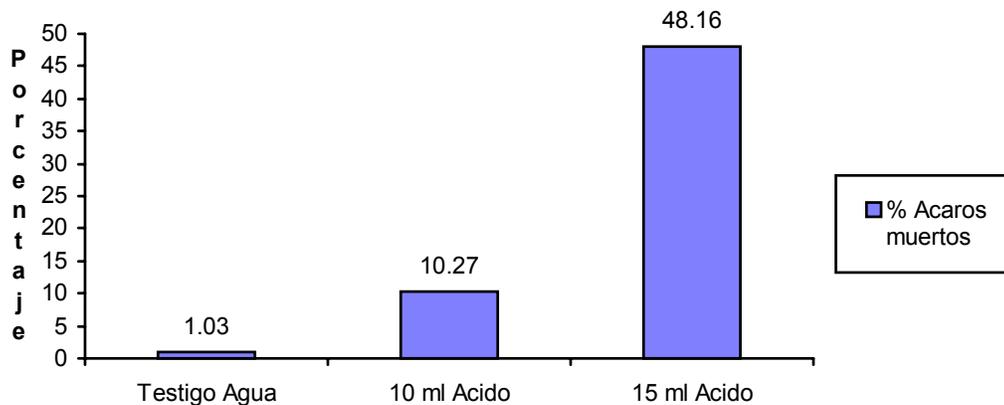
En general, entre mayor fue la dosis de ácido fórmico utilizada, mayor fue el porcentaje de ácaros muertos en la cría sellada (Fig. 2), sin embargo, también se observó diferentes respuestas de las colmenas al tratamiento. Por ejemplo, en la primera aplicación en una de las colmenas hubo un control de 3.7%, mientras que en otra hubo 7.1% y en otra un 60%. Algunos autores han reportado diferencias entre las colmenas al tratamiento con ácido fórmico (Fries, 1993; Feldlauffer *et al.*, 1997). Estas diferencias pueden deberse a variaciones en las condiciones ambientales de temperatura y humedad entre un día y otro. También puede relacionarse con el nivel de infestación de la colmena, número de abejas y cantidad de cría sellada presente. Por otro lado, Mobus y Bruyn (1993), mencionan que el lugar de aplicación del ácido en la colmena (piso o sobre los marcos) influye en su efectividad. En recientes ensayos se encontró que estas diferencias respecto al tratamiento con ácido fórmico, disminuyeron con la utilización de una fórmula de Gel con ácido. (Feldlauffer *et al.*, 1997).

En el grupo testigo se encontró 1.03% de ácaros muertos, lo cual indica que existe un bajo porcentaje de ácaros de *Varroa* que mueren en forma natural dentro de la cría sellada. Algunas de las causas de esta mortalidad pueden relacionarse con ácaros que mueren dentro del líquido que sirve de alimento a la cría sellada (Mobus and Bruyn, 1993), muerte por vejez, enfermedad, defectos congénitos (alta consanguinidad), etc.

**Cuadro 4.** Porcentaje de ácaros muertos en la cría sellada durante cuatro aplicaciones. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

Tratamiento	No. de colmenas utilizadas	Número de ácaros total	Número de ácaros muertos	% de ácaros muertos
A.F. 15 ml.	3	434	209	<b>48.16</b>
A.F. 10 ml.	2	224	23	<b>10.27</b>
Agua 15 ml.	2	292	3	<b>1.03</b>

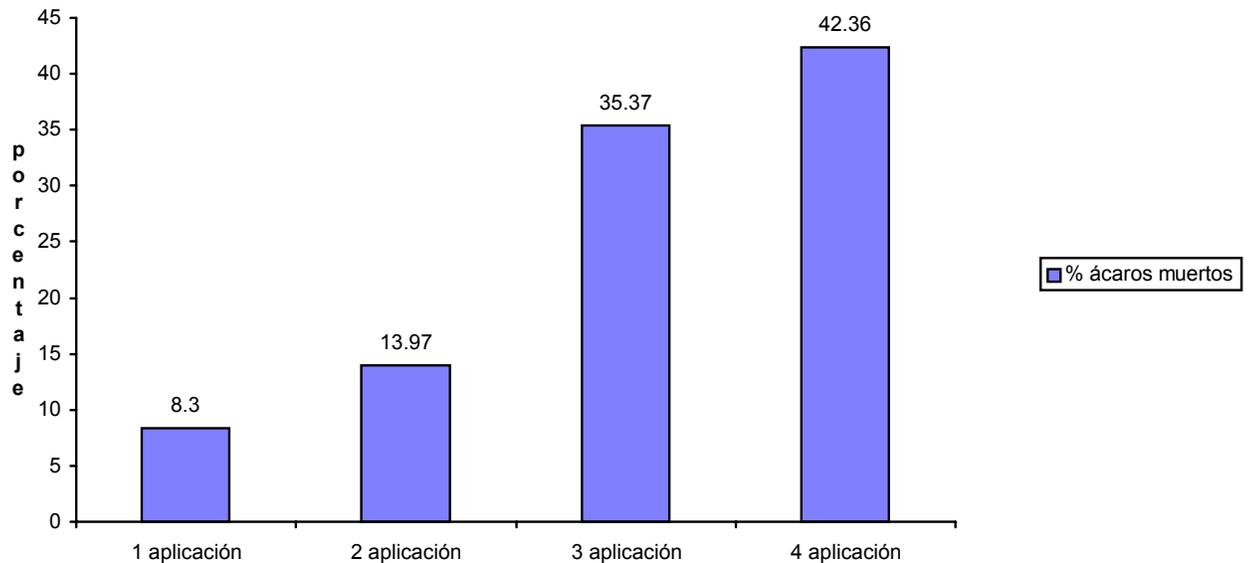
La relación directa entre la dosis de ácido fórmico y el porcentaje de ácaros muertos en la cría sellada (Fig. 1.) sugiere que la dosis requerida para eliminar el mayor número de ácaros en las celdas, probablemente se encuentra arriba de 15 ml. Sin embargo, debe tomarse en cuenta los aspectos negativos del tratamiento con ácido fórmico para la colmena, por ejemplo, mortalidad de reinas, cría y abejas adultas, evasión, etc., los cuales pueden eventualmente aumentarse.



**Figura 1.** Porcentaje de ácaros muertos en la cría sellada en cada grupo. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

Conforme aumento el número de aplicaciones, se observó un incremento en el número de ácaros muertos dentro de la cría sellada (Fig. 2). Esto puede relacionarse con el tiempo

que dura una celda de obrera operculada (12 días) y el intervalo de aplicación del ácido fórmico, el cual fue de siete días. De manera que algunos ácaros recibieron dos tratamientos. Esto podría interpretarse como un efecto acumulativo del ácido, de manera que ácaros presentes en la cría sellada que no mueren en la primera aplicación, sean eliminados durante la segunda.



**Figura 2.** Porcentaje de ácaros muertos en cada aplicación del ácido fórmico al 85% (10 y 15 ml., dentro de la cría sellada. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

#### 4.3.2 Evaluación del efecto acaricida del ácido fórmico en las abejas adultas

El primer reporte oficial del uso del ácido fórmico en el control de los ácaros presentes en las abejas melíferas fue descrito por Ritter y Ruttner (1980). En este estudio fue evidente que la aplicación del ácido fórmico dentro de la colmena produjo un aumento en la cantidad de ácaros que cayeron en las trampas respecto a la caída diaria de ácaros en forma natural y al grupo control (Cuadro 5). Encontrándose diferencias significativas en la caída de ácaros entre los diferentes grupos (ANOVA  $F=0.0396$ ). En el grupo de colmenas tratadas con 15 ml de ácido, cayó el mayor número, obteniéndose un promedio de 3546 ácaros ( $n=10638$ ) por colmena durante las cuatro aplicaciones. En las colmenas tratadas con 10 ml se registro una caída de 2197 ácaros ( $n=4394$ ), mientras que en el grupo control se encontró 495 ( $n=990$ ) (Cuadro 6). Por tanto, la introducción del ácido fórmico en colmenas infestadas con el ácaro de la *Varroa*, provocó un aumento en la caída de estos, teniendo un efecto sobre los ácaros que se encontraban en las abejas adultas, siendo el tratamiento con 15 ml 38% más efectivo que el de 10 ml.

Se encontró que cayeron más ácaros en la segunda y tercera aplicación de ácido fórmico (10 y 15 ml) respecto a la primera (Cuadro 5, Fig. 3). Esto pudo deberse a la tasa de evaporación, lo cual es un factor influenciado por las condiciones ambientales

(temperatura y humedad). También el grado de ventilación dentro de la colmena, ya que el ácido es más denso que el aire y al ser aplicado en el piso de la colmena, necesita cierta ventilación por parte de la abejas, para una dispersión más uniforme (Mobus and Bruyn, 1993).

Al revisar las trampas al día después de la aplicación, se encontró la mayoría de ácaros muertos, sin embargo, algunos estaban vivos (presentaban locomoción o movimientos). La presencia de ácaros vivos puede deberse a diferentes factores, por ejemplo la efectividad del ácido, la cual no es del 100%, también ácaros que reciben parcialmente el efecto del ácido (posición en la colmena, ácaros que emergen de las celdas selladas, momento de contacto con el producto), observándose ligeramente afectados (movimientos torpes, respondían lentamente a los estímulos).

En las colmenas mas africanizadas, las cuales presentaron un comportamiento más defensivo (presencia de un mayor número de abejas ante un estímulo), se registró la mayor caída de ácaros durante el tratamiento (Cuadro 5), aún cuando al inicio no mostraron el porcentaje más alto de infestación. Probablemente, estas colmenas presentaron un mayor comportamiento de limpieza. Peng *et al.*, (1987); Boecking (1990); Drescher (1993) y Ruttner *et al.*, (1993) citados por Boecking & Ritter (1994), mencionan que en algunas especies de abejas, el comportamiento de limpieza es un mecanismo de defensa contra el ácaro, especialmente en las razas africanizadas.

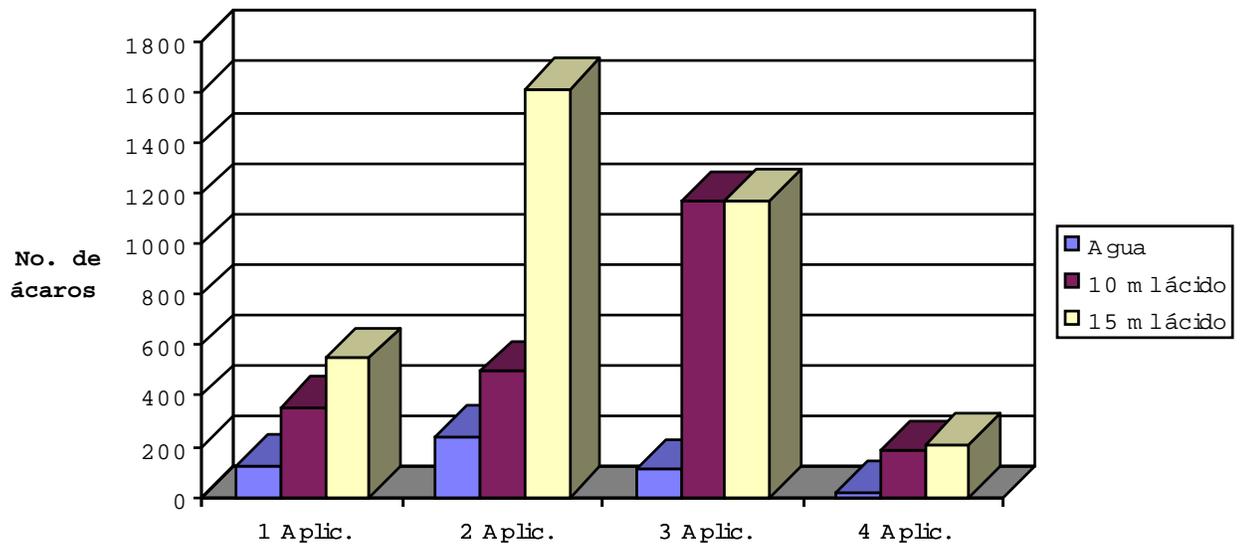
**Cuadro 5.** Ácaros que cayeron durante la aplicación del tratamiento en cada una de las colmenas. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

Colmena	Tratamiento	I Tratamiento	II Tratamiento	III Tratamiento	IV Tratamiento
4	agua	<b>165</b>	<b>415</b>	<b>156</b>	<b>4</b>
5	agua	<b>88</b>	<b>66</b>	<b>62</b>	<b>36</b>
3 *	ácido 10 ml	<b>565</b>	<b>834</b>	<b>2015</b>	<b>346</b>
8	ácido 10 ml	<b>143</b>	<b>154</b>	<b>321</b>	<b>16</b>
2	ácido 15 ml	<b>653</b>	<b>1305</b>	<b>530</b>	<b>111</b>
6 *	ácido 15 ml	<b>198</b>	<b>1423</b>	<b>2419</b>	<b>333</b>
10 *	ácido 15 ml	<b>802</b>	<b>2102</b>	<b>574</b>	<b>189</b>

\* Colmenas que mostraron un comportamiento más defensivo

**Cuadro 6.** Promedio de ácaros que cayeron en cada tratamiento. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

Aplicación	I Tratam.	II Tratam.	III Tratam.	IV Tratam.	Total
15 ml ac.	<b>551</b>	<b>1610</b>	<b>1174</b>	<b>211</b>	<b>3546</b>
10 ml ac.	<b>354</b>	<b>494</b>	<b>1168</b>	<b>181</b>	<b>2197</b>
agua	<b>126</b>	<b>240</b>	<b>109</b>	<b>20</b>	<b>495</b>



**Figura 3.** Promedio de ácaros que cayeron en las trampas por aplicación. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

#### 4.4 EVALUACIÓN DE LA INFESTACIÓN FINAL DE LAS COLMENAS

La evaluación de la infestación final de las colmenas con *Varroa* se realizó tanto a nivel de las abejas adultas como de los panales con cría sellada. Sin embargo, esta última no se logró realizar en todas las colmenas debido a la poca cantidad de cría sellada presente o a su ausencia.

##### 4.4.1 Evaluación de la infestación final de la cría

Como se discutió anteriormente (evaluación de las colmenas), en la mayoría de colmenas se redujo considerablemente la cantidad de cría sellada, por lo que se realizó la evaluación de la infestación final únicamente en cinco colmenas. En las colmenas evaluadas, se encontró el porcentaje más alto de infestación (406%), en una de las

colmenas testigo. Por otra parte, el menor número de celdas positivas y el menor porcentaje de infestación final (16%), se obtuvo en una de las colmenas que recibió tratamiento con 15 ml de ácido fórmico (Cuadro 7.).

**Cuadro 7.** Evaluación de la infestación final en los panales con cría sellada. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

Colmena	Tratamiento	Celdas Positivas en 50 celdas revisadas	Acaros maduros vivos	% de infestación ácaros maduro vivos.	Acaros inmaduros	% de ácaros inmaduros	% de infestación Total en panales
# 4 **	15 ml agua	-	-	-	-	-	-
# 5	15 ml agua	41	93	186	111	222	408
# 3	10 ml ácido	14	6	12	19	38	50
# 7 *	10 ml ácido	-	-	-	-	-	-
# 8 **	10 ml ácido	-	-	-	-	-	-
# 6	15 ml ácido	14	18	36	30	60	96
# 2	15 ml ácido	35	33	66	63	126	192
# 10	15 ml ácido	6	4	8	4	8	16

\* La colmena murió durante el experimento.

\*\* Poca cantidad de cría o ausencia de ésta.

#### 4.4.2 Evaluación de la infestación final de las abejas adultas con ácaros de *Varroa*

Al evaluar la infestación final de las abejas adultas con Varroasis, luego de finalizado el tratamiento, se encontró que todas las colmenas presentaron ácaros (cuadro 8), aunque en diferentes grados de infestación. En el tratamiento con 15 ml. de ácido se obtuvo el nivel más bajo de infestación promedio (6.89%). Mientras que en el grupo de 10 ml. y el control se obtuvo un porcentaje similar de infestación final (17.25 y 16.6 %, respectivamente). Estos grados de infestación entre 16 y 18 % sobrepasan los niveles que han sido considerados críticos para la colmena (Bach *et al.*, 1998). Por tanto, el tratamiento con 15 ml de ácido fórmico no eliminó totalmente los ácaros, pero redujó los niveles de infestación considerablemente, lo cual ha sido reportado por varios autores, indicando un control de la Varroasis entre un 60%-80% (Fries, 1993; Feldlaufer *et al.*, 1997; Kopernicky, 1995).

La colmena número ocho, la cual se trató con 10 ml de ácido fórmico presentó el grado mas alto de infestación. El comportamiento general de esta colmena fue diferente a las demás, ya que al ser tratada con el ácido fórmico no ventilaba en la misma magnitud que las otras, lo que sugiere que las ventilación de las abejas influye en la dispersión del ácido dentro de la colmena, afectando esto la efectividad del tratamiento.

**Cuadro 8.** Porcentaje de la infestación final en las abejas adultas. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

Colmena	# ácaros	# abejas	% de infestación
# 4 (15 ml agua)	88	470	<b>18.72</b>
# 5 (15 ml agua)	87	601	<b>14.48</b>
# 3 (10 ml ácido)	52	731	<b>7.11</b>
# 8 (10 ml ácido)	165	602	<b>27.40</b>
# 2 (15 ml ácido)	90	575	<b>15.65</b>
# 6 (15 ml ácido)	20	816	<b>2.45</b>
# 10 (15 ml ácido)	20	772	<b>2.59</b>

#### 4.4.3 Evaluación final de la caída de ácaros de *Varroa* en las trampas

En las colmenas tratadas con ácido fórmico (10 y 15 ml) se observó que cayeron más ácaros los días en que este se aplicó, comparado con los días posteriores a su aplicación (t-student  $P < 0.05$ ). Por otro lado, no se encontró diferencias entre el número de ácaros que cayeron en el grupo control a través de la investigación (t-student  $P > 0.05$ ). De manera que se puede concluir que el ácido fórmico tiene un efecto sobre los ácaros presentes en las abejas adultas, aumentando la caída de estos durante su aplicación.

En las colmenas a las que se les aplicó ácido fórmico, se encontró una disminución paulatina en el número de ácaros que cayeron durante el tratamiento, principalmente en las últimas dos aplicaciones respecto a las iniciales. Por ejemplo, en la tercera aplicación respecto a la segunda la caída de ácaros disminuyó en un 27 %, mientras que en la cuarta respecto a la tercera esta disminución fue de un 82%, además, se encontró que la infestación final en la abejas adultas fue reducida (7%).

En el grupo control siempre se encontró una caída constante de ácaros en forma natural, lo cual ha sido indicado por algunos autores (Feldlaufer *et al.*, 1997). Sin embargo, un aspecto importante es que la caída de ácaros también disminuyó conforme se avanzaba en las aplicaciones, aún cuando la evaluación final mostró que se mantenían altos grados de infestación (16%). En esta disminución probablemente participó en forma activa la trampa para *Varroa*, la cual impedía que ácaros que caían vivos al piso de la colmena, reinfestaran otras abejas. En todas las colmenas se colocó la trampa para el *Varroa*, la cual funcionó como un método de control adicional. Por tanto, podría recomendarse su uso en conjunto con otros métodos en el combate de la Varroasis.

Durante el estudio (19 Mayo al 19 de Junio) se colectó y cuantificó diariamente la caída de ácaros (Cuadro 9), obteniéndose un promedio de 9762 ácaros en el tratamiento con 15 ml, 5456 con 10 ml y 5319 con agua. Además, un promedio de 183.4 ácaros que cayeron diariamente en forma natural en el grupo control.

Cuadro 9. Caída de ácaros de *Varroa* al inicio, durante la aplicación y posterior a cada tratamiento. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

<b>Colmena Fecha</b>	<b>4 (agua)</b>	<b>5 (agua)</b>	<b>8 (10 ml)</b>	<b>3 (10 ml)</b>	<b>2 (15 ml)</b>	<b>6 (15 ml)</b>	<b>10 (15 ml)</b>
05/19/98 (Inicial)	195	31	82	30	145	110	89
05/20/98	-	<b>88</b>	-	<b>565</b>	-	<b>198</b>	-
05/21/98	<b>165*</b>	35	<b>143</b>	109	<b>653</b>	102	-
05/22/98	79	154	123	190	196	25	<b>802</b>
05/23/98	261	146	110	192	377	82	441
05/24/98	385	131	4	262	243	282	321
05/25/98	469	101	75	174	282	377	421
05/26/98	303	153	99	148	228	332	431
05/27/98	569	<b>66</b>	126	<b>834</b>	399	<b>1423</b>	522
05/28/98	<b>415</b>	333	<b>154</b>	444	<b>1305</b>	695	440
05/29/98	1025	279	211	256	938	559	<b>2102</b>
05/30/98	461	291	190	231	641	288	987
05/31/98	629	288	200	304	127	437	571
06/01/98	533	337	201	363	210	363	620
06/02/98	403	198	235	258	59	262	547
06/03/98	459	<b>62</b>	158	<b>2015</b>	109	<b>2419</b>	329
06/04/98	<b>156</b>	207	<b>321</b>	508	<b>530</b>	578	321
06/05/98	243	108	115	311	94	263	<b>574</b>
06/06/98	112	68	86	180	54	215	568
06/07/98	33	90	31	56	22	205	538
06/08/98	30	51	33	73	24	96	518
06/09/98	16	47	13	45	13	46	338
06/10/98	21	<b>36</b>	23	<b>346</b>	31	<b>333</b>	98
06/11/98	<b>4</b>	145	<b>16</b>	130	<b>111</b>	74	53
06/12/98	24	54	15	40	98	32	<b>189</b>
06/13/98	10	35	9	28	14	19	162
06/14/98	9	14	11	12	11	31	149
06/15/98	13	20	9	4	4	1	146
06/16/98	25	13	3	2	15	61	118
06/17/98	10	-	6	-	10	-	53
06/18/98	-	-	-	-	-	-	78
<b>Total de ácaros</b>	<b>7057</b>	<b>3581</b>	<b>2802</b>	<b>8110</b>	<b>6943</b>	<b>9908</b>	<b>12526</b>

\*: Día de aplicación en negrilla.

## 4.5 EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓRMICO

La efectividad del tratamiento con ácido fórmico, se calculó en los panales con cría sellada y en abejas adultas.

### 4.5.1 Efectividad en la cría sellada

La efectividad del tratamiento en la cría sellada, no se evaluó para todas las colmenas, debido a la poca cantidad de ésta al final del tratamiento o a su ausencia. (no se logró medir el porcentaje de infestación final en todas las colmenas). En las colmenas que se midió la efectividad, los resultados fueron muy irregulares (Cuadro 10). En los tratamientos con 10 y 15 ml de ácido fórmico, se observó las colmenas con los mayores porcentajes de efectividad (83.21 y 67.34), sin embargo, con 15 ml también se obtuvo uno de los porcentajes más bajos (-35.2).

Esta alta variabilidad en la eficiencia del tratamiento con 15 ml de ácido fórmico, en el cual se esperaba la mayor efectividad, puede deberse posiblemente a la drástica reducción en la cantidad de cría sellada. Por ejemplo, en la colmena 2 (efectividad = -35.2) la reducción en la cantidad de cría fue de 95.12%. Siendo el ácaro de la *Varroa*, un parásito que necesita obligatoriamente la presencia de cría sellada para completar su ciclo reproductivo (Fries, 1993; Bailey y Ball, 1991) y ante la disminución de ésta, la posibilidad de encontrar celdas infestadas aumentó. Probablemente este incremento en la infestación final se deba a que el ácaro utilizó intensivamente la cría presente. Por tanto, al calcular la efectividad del tratamiento se debe tomar en cuenta, la cantidad de cría inicial y final.

### 4.5.2 Efectividad en las abejas adultas

Al evaluar la efectividad del ácido fórmico en las abejas adultas, se encontró el porcentaje más alto en el grupo de colmenas tratadas con 15 ml, sin embargo, al igual que en la cría sellada, se presentó variabilidad. De las tres colmenas evaluadas en este grupo, una presentó un 6.3 % de efectividad, mientras que en las otras dos se obtuvo un promedio de 64.0 %.

Una de las colmenas tratadas con 10 ml de ácido fórmico mostró una efectividad negativa, presentando el porcentaje más alto de infestación final (27.4%). Este resultado puede deberse a las características que presentó esta colmena, la cual mostró muy poca actividad, las abejas no podían volar y se arrastraban en el suelo. Por medio del laboratorio, se descartó la presencia de nosemiasis (*Nosema apis*) y acariosis (*Acarapis woodi*), no pudiéndose realizar pruebas vírales, ni de intoxicación. Esta poca actividad de las abejas posiblemente afectó la dispersión del ácido dentro de la colmena, la cual depende en cierta medida de la ventilación por parte de las abejas (Mobus y Bruyn,

1993). Por otro lado, el comportamiento de limpieza de estas abejas probablemente no fue el óptimo, de manera que se favoreció el aumento de la infestación final.

Otro factor que posiblemente tubo influencia sobre el porcentaje de efectividad en las abejas adultas fue la disminución de la cantidad de cría. Lo cual probablemente obligó a los ácaros que no tenían huésped en la cría, a mantenerse en las abejas adultas (periodo forético), aumentando la infestación en estas.

En el grupo control se obtuvo un porcentaje de efectividad positivo (27%). En este caso se considera que la trampa colocada en el fondo de la colmena, funcionó como un método de control adicional permitiendo capturar y remover aquellos ácaros que cayeron vivos en forma natural y evitando que reinfestaran otras abejas. A través del experimento en el grupo control se eliminó un promedio de 5319 ácaros por colmena.

En conclusión, se puede indicar que la mayor eficiencia del tratamiento se obtuvo con la aplicación de 15 ml de ácido fórmico, y aun cuando hubo variabilidad en los resultados, se observó una tendencia de efectividad entre un 60-65%, lo cual ha sido indicado por varios autores. Por ejemplo, efectividades entre 29.6% a 62.3% (40 ml de ácido fórmico al 65% en carton absorbente) (Barbattini, et al, 1994); 78.2% a 88.0% (Kopernicky, 1995); 61.3%, 73.2% y 76.3% (promedio=70.3%) usando ácido fórmico en una formulación gel (Feldlaufer, 1997).

**Cuadro 10.** Efectividad del tratamiento con ácido fórmico en abejas adultas y en la cría sellada. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

Colmenas (Tratamiento)	Efectividad en las abejas adultas	Efectividad en la cría: ácaros maduros	Efectividad en la cría: ácaros inmaduros	Efectividad en la cría: ácaros totales
# 4 (Agua 15 ml)	22.5	*	-	-
# 5 (Agua 15 ml)	33.0	-158.33	-6.73	-45.71
# 3 (A.F. 10 ml)	21.1	82.86	82.41	83.21
# 8 (A.F. 10 ml)	-140.0	*	-	-
# 2 (A.F. 15 ml)	6.4	-37.5	-34.04	-35.21
# 6 (A.F. 15 ml)	63.0	56.1	71.70	67.35
#10 (A.F. 15 ml)	65.0	50	63.64	57.89

\* Ausencia de cría.

#### 4.6 EFECTO DE LA APLICACIÓN DEL ÁCIDO FÓRMICO SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE LIMPIEZA DE LAS ABEJAS

Se ha reportado que el comportamiento de limpieza de las abejas es un mecanismo de resistencia a la Varroasis (Boecking & Ritter 1994; Lodesani *et al.*, 1996;). De manera que se midió en este ensayo si la aplicación del ácido fórmico aumenta el tiempo utilizado por las abejas para limpiarse, lo cual podría influenciar el incremento en la caída de ácaros.

En cada día se midió en diferentes periodos (5 periodos) el tiempo utilizado por las abejas para limpiarse, utilizando ningún producto, agua y ácido fórmico. Encontrándose diferencias entre los periodos del día únicamente cuando se aplicó ácido fórmico (ANOVA  $P < 0.05$ ). Estas diferencias fueron principalmente entre el primer periodo (8:00 a.m.) y los restantes. De manera que al momento de introducir el ácido fórmico a la colmena las abejas aumentaron su comportamiento de limpieza, el cual disminuyó en el transcurso del día. Esto se debe probablemente a que la mayor evaporación del ácido fórmico se produce (mediante este método) al inicio de la aplicación (Imdorf *et al.*, 1996).

Al comparar los tratamientos se encontró que las abejas utilizaron más tiempo para limpiarse después de la aplicación del ácido fórmico (cuadro 11), en comparación con la aplicación de agua o sin ningún producto (Krusko-Wallis  $P = 0.0001$ ). No se encontró diferencias entre los días que se aplicó agua y cuando no se aplicó ningún producto (Krusko-Wallis  $P > 0.05$ ) lo cual indica que la aplicación del agua no influyó en el tiempo que las abejas utilizaron para limpiarse.

Se observó que las abejas se limpiaban restregándose el cuerpo con las patas en diferentes grados de intensidad y frecuencia, también se observó abejas que se sacudían y en algunos casos la ayuda de otra abeja que la inspeccionaba y le ayudaba a limpiarse. Sin embargo, aún cuando la caída de ácaros fue mayor en los tratamientos con ácido fórmico (promedio 250 ácaros) comparado a los otros tratamientos (2 ácaros), no se registró ninguna abeja eliminando directamente ningún ácaro de su cuerpo.

Se ha descrito que el comportamiento de limpieza de las abejas *A. mellifera* infestadas con el ácaro de la *Varroa* es poco frecuente entre ellas (allogrooming) (Büchler *et al.*, 1992) encontrándose muchas fallas al intentar remover los ácaros (Peng *et al.*, 1997), comparado con razas africanizadas. Las cuales presentan resistencia a este ácaro debido a su comportamiento de limpieza (Moretto, 1997). Aquellos ácaros que logran ser removidos por las abejas melíferas se encuentran en la mayoría de casos vivos y sin daños físicos (Wongsiri *et al.*, 1990).

Al aplicar el ácido fórmico, se observó un aumento en la ventilación por parte de las abejas (muchas abejas ventilando o agitando sus alas) y un desplazamiento de estas hacia los lugares más alejados de la fuente de ácido. En el fondo de la colmena de vidrio se observaron ácaros vivos y muertos, siendo estos últimos en mayor número. Al día siguiente de la aplicación se encontró un grupo de abejas muertas, que no habían

emergido totalmente de la celda, las cuales presentaban la cabeza afuera y la proboscide extendida. Liebig (1985) citado por Mobus y Bruyn (1993), indica que el ácido fórmico puede causar daño a las abejas que están emergiendo y las abejas jóvenes.

Por tanto, la introducción de ácido fórmico en la colmena aumento significativamente el tiempo utilizado por las abejas para limpiarse y aumento la caída de ácaros, sin embargo, no se puede concluir que el aumento en el comportamiento de limpieza este directamente relacionado con el incremento en la caída de ácaros.

**Cuadro 11.** Tiempo utilizado por las abejas para limpiarse aplicando diferentes tratamientos. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.

Fecha	Tratamiento	Segundos de observación	Segundos utilizados en la limpieza	% de tiempo que utilizó en la limpieza
06/30/98	Ninguno	6000	586	9.77
07/01/98	Agua 4 ml	6000	782	13.03
07/02/98	Acido 4 ml	6000	1274	21.23
07/08/98	Agua 4 ml	6000	682	11.37
07/10/98	Acido 4 ml	6000	1837	30.62

## 4.7 ASPECTOS NEGATIVOS DURANTE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

### 4.7.1 Mortalidad de abejas adultas

Al coleccionar y registrar diariamente el número de abejas muertas en frente de la piquera a través del experimento, se encontró diferencias en el porcentaje de mortalidad entre los grupos (ANOVA  $P < 0.05$ ), principalmente entre 10 y 15 ml Hallándose el mayor número de abejas muertas (1493 abejas en promedio) en el grupo tratado con 10 ml de ácido fórmico, mientras que el menor (635 abejas) se encontró en el grupo tratado con 15 ml (Cuadro 12). En el grupo testigo se encontró un promedio de 1036 abejas muertas por colmena. En la mayoría de las colmenas no se encontró diferencias en la mortalidad de abejas entre los días de aplicación y los días posteriores a esta. Sin embargo, en una de las colmenas tratada con 15 ml de ácido, se determinó que en los días en que este se aplicó, aumentó el número de abejas muertas en frente de la piquera (t-student  $P < 0.05$ ).

Probablemente, el conteo de abejas muertas frente a la piquera no sea una prueba lo suficientemente exacta para detectar todas las abejas que mueren en la colmena, sin embargo, permitió descartar la probabilidad de una muerte masiva de abejas por la aplicación del ácido.

#### **4.7.2 Mortalidad de reinas**

Una de las colmenas tratadas con 10 ml de ácido fórmico perdió la reina convirtiéndose al final del estudio en una colmena zanganera. Fries (1993) reporta que en colmenas tratadas con ácido fórmico es esperado que un 5-10% de las reinas mueran. Esta pérdida de reinas al aplicar el ácido fórmico posiblemente esta influenciado por el vigor de las reinas, colmenas con reinas viejas son mas susceptibles a quedar huérfanas (Ramirez comunicación personal,1998). Se conoce que reinas viejas liberan menos feromonas y a su vez, el ácido disturba los olores característicos de la colmena, lo que da la posibilidad que la reina sea eliminada por las obreras. Sin embargo, esta reina que murió no indica que esta pérdida se deba exclusivamente a la utilización del producto.

#### **4.7.3 Condición de las colmenas al finalizar el estudio**

Aun cuando no se encontró muerte masiva de abejas (Cuadro 12), la población de estas en la mayoría de colmenas disminuyó al igual que la presencia de cría.

Una de las colmenas más débiles al iniciar el experimento, altamente infestada con *Varroa* y tratada con 10 ml de ácido fórmico, quedo rápidamente sin abejas y murió. Lo cual podría sugerir que colmenas en malas condiciones (poca cría, pocas reservas de alimento y baja población de abejas) son colmenas que no deberían ser tratadas con ácido fórmico, a menos que reciban un fuerte estímulo alimenticio durante el tratamiento, específicamente si coincide con época de escasez (invierno).

**Cuadro 12.** Abejas muertas (diariamente) en frente de la piquera. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	5	4	8	3	2	6	10	$\Sigma$
Tratamiento	agua	agua	ácido	ácido	ácido	ácido	ácido	
Dosis	15 ml.	15 ml.	10 ml.	10 ml.	15 ml.	15 ml.	15 ml.	
05/18/98	34	76	24	35	35	45	51	313
05/19/98	-	-	-	-	-	-	-	-
05/20/98	11	90	12	28	57	1	17	216
05/21/98	18	7	4	24	18	3	7	83
05/22/98	25	6	21	22	19	11	20	127
05/23/98	270	47	235	113	54	34	1	764
05/24/98	275	115	227	394	85	91	11	1200
05/25/98	49	55	60	263	47	16	20	518
05/26/98	113	149	107	157	72	45	57	705
05/27/98	28	11	36	77	15	17	45	230
05/28/98	37	77	45	146	76	61	196	649
05/29/98	22	27	31	34	63	15	32	243
05/30/98	6	63	37	50	56	27	24	267
05/31/98	6	26	7	66	28	12	9	156
06/01/98	2	12	4	36	7	6	10	77
06/02/98	4	21	12	28	15	4	12	96
06/03/98	17	12	4	113	16	16	6	184
06/04/98	52	49	8	110	17	24	54	314
06/05/98	8	12	5	22	11	3	10	71
06/06/98	12	3	13	60	9	3	5	105
06/07/98	4	32	2	45	7	5	4	99
06/08/98	5	14	1	17	0	2	14	53
06/09/98	5	13	1	44	5	4	7	79
06/10/98	19	11	1	57	10	24	17	139
06/11/98	7	9	3	16	16	2	7	60
06/12/98	4	4	0	3	7	0	9	27
06/13/98	7	11	1	8	8	1	7	43
06/14/98	3	3	1	6	13	4	3	33
06/15/98	1	2	2	5	8	0	7	25
06/16/98	25	25	6	39	40	5	57	197
06/17/98	16	5	0	58	11	2	9	101
Total	1085	987	910	2076	825	483	728	7174
Promedio	36.1	32.9	30.33	69.2	27.5	16.1	24.27	239.13
Std.dev.	67.99	36.79	59.18	83.11	24.50	20.99	36.67	270.93

## 5. CONCLUSIONES

De acuerdo a este estudio, se puede concluir que el ácido fórmico tiene un efecto acaricida sobre los ácaros adultos de *Varroa jacobsoni* presentes en la cría sellada, encontrándose una mayor mortalidad de ácaros con la dosis de 15 ml (48.16 %), comparado con 10 ml (10.27 %). A su vez, en el grupo testigo se obtuvo un 1.03 % de ácaros muertos, lo que indica que existe un porcentaje de éstos que mueren en forma natural dentro de la cría sellada.

Otro aspecto importante, es que la aplicación del ácido fórmico en las colmenas infestadas produjo un aumento en la cantidad de ácaros que cayeron en las trampas respecto a los días en que no se aplicó (caída diaria en forma natural y grupo testigo). Por tanto, la introducción del ácido fórmico en colmenas infestadas con el ácaro de la *Varroa*, provocó un aumento en la caída de estos, siendo el tratamiento con 15 ml 38% más efectivo que el de 10 ml.

La introducción del ácido fórmico en la colmena aumentó significativamente el tiempo utilizado por las abejas para limpiarse y a su vez aumentó la caída de ácaros. Sin embargo, no se puede concluir que este aumento en el comportamiento de limpieza éste directamente relacionado con el incremento en la caída de ácaros.

Aún cuando la eficiencia del tratamiento con ácido fórmico no se logró medir satisfactoriamente, debido a la poca cantidad de cría al final del estudio, se puede indicar en forma general una tendencia de efectividad entre un 60-65%.

## 6. RECOMENDACIONES

Los resultados del tratamiento con ácido fórmico para el control del ácaro *Varroa jacobsoni* en condiciones tropicales son muy prometedores. Sin embargo, se deben realizar más estudios para evaluar el efecto que tiene su utilización en la evasión de colmenas, disminución en la postura y mortalidad de reinas. Además, la influencia de la época del año (seca, lluviosa) en la efectividad del tratamiento.

Analizar diferentes métodos de aplicación del ácido fórmico que permitan una liberación mas lenta y homogénea del producto, por ejemplo, formulaciones en gel, evaporadores, así como mejorar su aplicación en condiciones tropicales: frecuencia de aplicación, duración del tratamiento, dosis y concentración.

Las colmenas que son tratadas con ácido fórmico deben ser estimuladas mediante alimentación y otras prácticas de manejo que eviten su debilitamiento (reforzar colmenas débiles, reducir espacios entre los panales, prevenir la presentación de otras enfermedades), principalmente si la aplicación del tratamiento coincide con la época de escasez o periodos de “stress” para las abejas.

Como la literatura indica existe la posibilidad de pérdida de un 5-10% de reinas, debido a la aplicación de éste producto; una práctica que se puede implementar es realizar el cambio de reinas al final del tratamiento con ácido fórmico, de manera que se inicie un nuevo ciclo con reinas nuevas y un nivel de infestación que no afecte la colmena.

Debido a la importante cantidad de ácaros (5319 en promedio) que se logró eliminar en el grupo de colmenas testigo mediante el uso de la trampa para *Varroa*, la cual capturó los ácaros que cayeron en forma natural (vivos y muertos), evitando la reinfestación de otras abejas; se recomienda su utilización como un método de control complementario.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AL GHANDI, A.; HOOPINGARNER, R. 1997. Reproductive biology of *Varroa jacobsoni* in worker and drone brood of the Honey Bee *Apis mellifera* under midwest conditions. En Proceedings of the American Bee Research Conference. American Bee Journal. 137(3):221-229.
- ALLEN, M.; BALL, B. 1996. The incidence and world distribution of Honey Bee viruses. Bee World. 77(3):141-162.
- ARCE, H.; VAN VEEN, J. 1995. Production, processing and quality of honeys in Central America and Mexico. In Sommeijer, M j; Beetsma, J; Boot, W J; Robberts, E J; Vries de, R (eds.) Perspectives for honey production in the tropics. Nectar, Bennekom, p. 103-115.
- BACH, J.C.; DANKA, R.G.; ELLIS, M.D.; MUSSEN, E.C.; PETTIS, J.S.; SANFORD, M.T. 1998 Protecting Honey Bee from *Varroa jacobsoni* . The American Association of Professional Apiculturists Bee Culture special insert 126(6):1-8.
- BAILEY, L. 1984. Patología de las abejas. Zaragoza, España, Editorial Acibar. p. 116-119.
- BAILEY, L.; BALL, B.V. 1991. Honey bee pathology. 2 ed. Londres, Inglaterra Academic Press, p. 193.
- BALL, B. 1993. The damaging effects of *Varroa jacobsoni* infestation. En Andrew Matheson (ed). Living with *Varroa*. Cardiff, Inglaterra, The International Bee Research Association. p. 9-15.
- BALL, B. 1996. Honey bee viruses: a cause for concern. Bee World. 77(3):117-119.
- BEW, M. 1992. Varroasis disease of honey bees-diagnosis and control. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF) leaflet, p. 1-8.

- BID/OIRSA. 1990. Enfermedades de las abejas adultas. En programa regional para el manejo y control de la abeja africanizada (ed). Enfermedades y Plagas de la Abeja Melífera Occidental, San Salvador, El Salvador, p. 147.
- BOECKING, O.; RITTER, W. 1994. Current status of behavioral tolerance of the honey bee *Apis mellifera* to the mite *Varroa jacobsoni* , American Bee Journal no.134:689-694.
- BÜCHLER, R.; DRESCHER, W.; TORNIER, I. 1992. Grooming behavior of *Apis cerana*, *Apis mellifera* and *Apis dorsata* and its effect on the parasitic mites *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae*. Experimental and Applied acarology, 16:313-319
- CALDERÓN, R.; ARCE, H.; VAN VEEN, J. 1998. Detección, distribución y control de *Varroa jacobsoni* Oudemans en Costa Rica. Ciencia Veterinarias (C.R.) 21(1):31-40.
- CHINCHILLA, E. 1987. Atlas cantonal de Costa Rica. Instituto de fomento y asesoría municipal (IFAM), 396 pp.
- CRANE, E. 1992. The World's Beekeeping past and present. En Joe M. Graham (ed). The Hive and the Honey Bee. Chelsea, Michigan, EE.UU. p. 1-8.
- DELAPLANE, K. 1997. Practical science research helping beekeepers 3. *Varroa*. Bee World. 78(4):155-164.
- DUFOL, M.; MARTINEZ, A.; SÁNCHEZ, C. 1991. Comparative test of fluvalinate and flumethrin to control *Varroa jacobsoni* Oudemans. Journal of Apicultural Research. 30(2):103-106.
- EISCHEN, F. 1997. Higienic Behavior and Varroa. American Bee Journal. 137(8):574-575.
- FELDLAUFFER, M.; PETTIS, J.; KOCHANSKY, J.; SHIMANUKI, H. 1997. A Gel Formulation of Formic Acid for the Control of Parasitic Mites of Honey Bees. American Bee Journal. 137(9):661-663.

- FRIES, I. 1993. *Varroa* biology, a brief review. En Andrew Matheson (ed). Living with *Varroa*. Cardiff, Inglaterra, The International Bee Research Association, p. 3-7.
- FRIES, I. 1993. *Varroa* in cold climates: Population Dynamics, Biotechnical control and Organic Acids. En Andrew Matheson (ed). Living with *Varroa*. Cardiff, Inglaterra, The International Bee Research Association, p. 37-48.
- GARY, N.E. 1992. Activities and behavior of honey bees. En Joe M. Grahan (ed). The Hive and the Honey Bee. Illinois, EE.UU. p. 269-372.
- HOLDRIDGE, L. 1978. Ecología basada en zonas de vida. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San José, Costa Rica, p. 216.
- HUNG, A.C.F.; ADAMS, J.R.; SHIMANUKI, H. 1995. Bee Parasitic Mite Syndrome (II): The Role of *Varroa* Mite and Viruses. American Bee Journal. 135:702-704.
- HUNG, A.C.F.; SHIMANUKI, H.; KNOX, D. 1996. Inapparent Infection of Acute Paralysis Virus and Kashmir Bee Virus in the U.S. Honey Bees. American Bee Journal. 136:874-876.
- IMDORF, A.; CHARRIERE, J.; MAQUELIN, C.; KILCHENMANN, V.; BACHOFEN, B. 1996. Alternative *Varroa* Control. American Bee Journal. 136(3):189-1993.
- KOPERNICKY, J. 1995. *Varroa* control by means of formic acid. The XXXIV th. International apicultural Congress of APIMONDIA. Lausanne, Suiza p. 182.
- LODESANI, M.; PELLACANI, S.; BERGOMI, E.; CARPANA, T.; RABITTI,; LASAGNI, P. 1992. Residue determination from some products used against *Varroa* infestation in bees. Apidologie 23:257-272.
- McGREGOR, S.E. 1976. Insect Pollination of Cultivated Crop Plants. United States Department of Agriculture (ed), Washington D.C., USA, p. 1-7.
- MATHESON, A. 1993. Living with *Varroa*. En Andrew Matheson (ed). Living with *Varroa*. Cardiff, Inglaterra, The International Bee Research Association, p. 1-2.
- MATHESON, A. 1993. World Bee Health Report. Bee World. 74(4):176-212.

- MOBUS, B.; BRUYN, C. 1993. The New *Varroa* Handbook. Northern Bee Books, Scout Bottom Farm, Mytholmroyd Arc & Throstle. Todmorden, Scotland, p. 160.
- MORETO, G. 1997. Defense of Africanized Bee Workers Against the Mite *Varroa jacobsoni* in Southern Brazil. *American Bee Journal*. 137(10):746-747
- MORETO, G.; PILLATI, A.; DE JONG, D.; GONÇALVES, L.; CASSINI, F.L. 1995. Reduction of *Varroa* Infestations in the State of Santa Catarina, in Southern Brazil. *American Bee Journal*. 137 (1): 67-68
- MORSE, R. 1978. Honey Bee Pest, Predators and Diseases. Editorial Cornell University Press. USA, p. 430.
- MORSE, R. 1990. The ABC and XYZ of Bee Culture. 40 ed The A.I. Root Co. Ohio, USA, p. 516.
- PENG, Y-S.; FANG, C.; XU, S.; GE, L. 1987. The resistance mechanism of the Asian honey bees, *Apis cerana* Fabr., to an ectoparasitic mite, *Varroa jacobsoni* Odemans. *Journal Patology*, 49:54-60.
- RITTER, W.; RUTTNER, F. 1980. Neue Wege in der Behandlung der Varroatose. *Allg Dtsch Imkerztg*. 14:151-155.
- RITTER, W.; RUTTNER, F. 1980. Methods of diagnosis of *Varroa jacobsoni* infestation. *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung* 14:134-138
- RITTER, W. 1993. Chemical control: options and problems. En Andrew Matheson (ed). *Living with Varroa*. Cardiff, Inglaterra, The International Bee Research Association, p. 17-24.
- RUIJTER, A; EIJNDE, J VAN DEN 1984 Detection of *Varroa* mite in Netherlands using tobacco smoke. *Bee World* 65(4):151-154.

- RUIJTER, A. 1993. *Varroa* at the neighbors: ten years experience in the Netherlands. En Andrew Matheson (ed). Living with *Varroa*. Cardiff, Inglaterra, The International Bee Research Association, p. 33-36.
- SAMMATARO, D.; NEEDHAM, G.R. 1996. Developing and integrated pest management (IPM) scheme for managing parasitic bee mites. *American Bee Journal*. 136(6):440-443.
- SAMMATARO, D. 1996. Mechanisms of bee resistance/tolerance to *Varroa* mites. *American Bee Journal*. 136(8):567-568.
- SHIMANUKI, H. 1977. Identification and control of honey bee diseases. Agricultural Research service. Farmers Bulletin no. 2255, p. 1-17.
- SHIMANUKI, H.; KNOX, D.A.; DE JONG, D. 1992. Diseases of pests of honey bees. En Joe M. Graham (ed). *The Hive and the Honey Bee*. Dadant and sons, Illinois, EEUU. p. 1083-1151.
- SHIMANUKI, H.; KNOX, D.; FURGALA, B.; CARON, D.; WILLIAMS, J. 1992. Diseases and Pest of Honey Bees. Bookcrafters, USA, p. 1118-1125.
- SHUEL, R. 1992. The Production of Nectar and Pollen. En Joe M. Graham (ed). *The Hive and the Honey Bee*. Chelsea, Michigan, EE.UU. p. 401.
- VEEN, J.; ARCE ARCE, H. 1993. Situación actual y perspectiva de la apicultura en Costa Rica, Memorias del IX Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales, San José, Costa Rica. Vol. 1, No 57.
- VEEN, J.; CALDERÓN, R.; CUBERO, A.; ARCE, H. 1998. *Varroa jacobsoni* Oudemans in Costa Rica: Detection, Spread and treatment with Formic Acid. *Bee world*. 79(1):5-10.
- WATKINS, M. 1996. Resistance and its relevance to beekeeping. *Bee world* 77(4):15-22.
- WONGSIRI, S.; LEKPRAYOON, C.; POTICHOT, S. 1990. Biological control of the *Varroa jacobsoni* bee mite: mass rearing biological control agent by crossing the chinese strain *Apis cerana* with the Thai strain *Apis cerana indica* by artificial

insemination. *Proceeding of workshop on reserch in agricultural biotechnology*  
1990, Thailand, Kasetsart University and USAID.

## **8. APENDICE**

## 8.1 INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA DE LA INFESTACIÓN INICIAL

**Cuadro A- 1.** Infestación inicial en los panales con cría sellada. Se contó el número de celdas con ácaros de *Varroa*. y se estableció un promedio por celda (maduros e inmaduros) y un promedio total.

Colmena	# celdas positivas	Promedio ácaros Maduros	Promedio ácaros Inmaduros	Promedio Total
# 4	11	1.55	2.55	4.1
# 5	25	1.48	4.16	5.64
# 3	27	1.30	4.04	5.34
# 7	27	1.81	2.11	3.93
# 8	14	1.30	2.64	3.93
# 2	19	1.27	2.48	3.74
# 6	30	1.37	3.53	4.90
# 10	7	1.14	1.57	2.71
Promedio	20	1.40	2.89	4.29

**Cuadro A- 2.** Infestación inicial de ácaros maduros en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	# ácaros	# celdas	% de infestación
# 4	Agua	17	50	34
# 5	Agua	36	50	72
# 3	Ácido 10 ml.	35	50	70
# 7	Ácido 10 ml.	49	50	98
# 8	Ácido 10 ml.	18	50	36
# 2	Ácido 15 ml.	24	50	48
# 6	Ácido 15 ml.	41	50	82
# 10	Ácido 15 ml.	8	50	16

**Cuadro A- 3.** Infestación inicial de ácaros inmaduros en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	# ácaros	# celdas	% de infestación
# 4	Agua	28	50	56
# 5	Agua	104	50	208
# 3	Ácido 10 ml.	108	50	216
# 7	Ácido 10 ml.	57	50	114
# 8	Ácido 10 ml.	37	50	74
# 2	Ácido 15 ml.	47	50	94
# 6	Ácido 15 ml.	106	50	212
# 10	Ácido 15 ml.	11	50	22

**Cuadro A- 4.** Infestación inicial de ácaros totales (maduros e inmaduros totales) en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	# ácaros	# celdas	% de infestación
# 4	Agua	45	50	90
# 5	Agua	140	50	280
# 3	Ácido 10 ml.	143	50	286
# 7	Ácido 10 ml.	106	50	212
# 8	Ácido 10 ml.	55	50	110
# 2	Ácido 15 ml.	71	50	142
# 6	Ácido 15 ml.	147	50	294
# 10	Ácido 15 ml.	19	50	38

**Cuadro A- 5.** Infestación inicial en las abejas adultas. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	# ácaros	# abejas	% de infestación
# 4	Agua	133	551	24.14
# 5	Agua	108	500	21.6
# 3	Ácido 10 ml.	39	433	9.01
# 7	Ácido 10 ml.	51	326	15.64
# 8	Ácido 10 ml.	87	762	11.42
# 2	Ácido 15 ml.	97	580	16.72
# 6	Ácido 15 ml.	38	574	6.62
# 10	Ácido 15 ml.	34	460	7.39

## 8.2 INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA DE LOS ÁCAROS PRESENTES EN LA CRÍA SELLADA

**Cuadro A- 6.** Resumen de los ácaros encontrados en la cría sellada.

	Cel. posv.	Adultos	Muertos	Vivos	Inmaduros	Muertos	Vivos
<b>Colm.4 Inicial</b>	11	17	-	-	28	-	-
1 aplicación	5	10	0	10	20	4	16
2 aplicación	18	30	0	30	74	17	57
3 aplicación	26	67	1	66	60	26	34
4 aplicación	-	-	-	-	-	-	-
Final	-	-	-	-	-	-	-
<b>Colm.5 Inicial</b>	25	36	-	-	104	-	-
1 aplicación	20	32	0	32	78	33	45
2 aplicación	27	35	1	34	55	17	38
3 aplicación	19	29	0	29	56	31	25
4 aplicación	32	87	1	86	2	0	2
Final	41	95	2	93	111	34	77
<b>Colm.3 Inicial</b>	27	35	-	-	108	-	-
1 aplicación	14	25	1	24	59	35	24
2 aplicación	19	28	2	26	29	22	7
3 aplicación	20	25	8	17	46	27	19
4 aplicación	29	57	6	51	22	6	16
Final	14	25	19	6	19	9	10
<b>Colm.8 Inicial</b>	14	18	-	-	37	-	-
1 aplicación	18	21	3	18	34	20	14
2 aplicación	11	14	0	14	17	7	10
3 aplicación	18	32	1	31	39	23	16
4 aplicación	-	-	-	-	-	-	-
Final	-	-	-	-	-	-	-
<b>Colm.2 Inicial</b>	19	24	-	-	47	-	-
1 aplicación	15	29	2	27	50	34	16
2 aplicación	21	30	10	20	55	33	22
3 aplicación	16	25	7	18	4	1	3
4 aplicación	46	130	41	89	0	0	0
Final	35	63	30	33	63	49	14
<b>Colm.6 Inicial</b>	30	41	-	-	106	-	-
1 aplicación	21	27	1	26	61	25	36
2 aplicación	18	23	11	12	32	23	9
3 aplicación	21	31	30	1	6	2	4
4 aplicación	30	62	46	16	37	30	7
Final	14	25	7	18	30	21	9
<b>Colm.10 Inicial</b>	7	8	-	-	11	-	-
1 aplicación	12	20	12	8	12	7	5
2 aplicación	15	15	9	6	20	14	6
3 aplicación	20	36	35	1	4	3	1
4 aplicación	8	8	5	3	11	7	4
Final	6	8	4	4	4	3	1

\*\* Poca cantidad de cría o ausencia de ésta.

### 8.3 INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA DE LA INFESTACIÓN FINAL

**Cuadro A- 7.** Infestación final de ácaros maduros vivos presentes en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	# ácaros	# celdas	% de infestación
# 4	Agua	*	50	*
# 5	Agua	93	50	186
# 3	Ácido 10 ml.	6	50	12
# 7	Ácido 10 ml.	*	50	*
# 8	Ácido 10 ml.	*	50	*
# 2	Ácido 15 ml.	33	50	66
# 6	Ácido 15 ml.	18	50	36
# 10	Ácido 15 ml.	4	50	8

\* No había cría para realizar la evaluación.

**Cuadro A- 8.** Infestación final de ácaros inmaduros en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	# ácaros	# celdas	% de infestación
# 4	Agua	-	50	-
# 5	Agua	111	50	222
# 3	Ácido 10 ml.	19	50	38
# 7	Ácido 10 ml.	-	50	-
# 8	Ácido 10 ml.	-	50	-
# 2	Ácido 15 ml.	63	50	126
# 6	Ácido 15 ml.	30	50	60
# 10	Ácido 15 ml.	4	50	8

\* No había cría para realizar la evaluación.

**Cuadro A- 9.** Infestación final de ácaros totales (maduros vivos más inmaduros) en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	# ácaros	# celdas	% de infestación
# 4	Agua	-	50	-
# 5	Agua	204	50	408
# 3	Ácido 10 ml.	25	50	50
# 7	Ácido 10 ml.	-	50	-
# 8	Ácido 10 ml.	-	50	-
# 2	Ácido 15 ml.	96	50	192
# 6	Ácido 15 ml.	48	50	96
# 10	Ácido 15 ml.	8	50	16

\* No había cría para realizar la evaluación.

## 8.4 DATOS COMPLEMENTARIOS DE LA EFECTIVIDAD

**Cuadro A- 10.** Efectividad del tratamiento sobre los ácaros maduros vivos presentes en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	% infes. inicial	% infes. final	efectividad en %
# 4	Agua	34	*	*
# 5	Agua	72	186	-158.33
# 3	Ácido 10 ml.	70	12	82.86
# 7	Ácido 10 ml.	98	*	*
# 8	Ácido 10 ml.	36	*	*
# 2	Ácido 15 ml.	48	66	-37.5
# 6	Ácido 15 ml.	82	36	56.1
# 10	Ácido 15 ml.	16	8	50

\* No había cría para realizar la evaluación.

**Cuadro A- 11.** Efectividad del tratamiento sobre los ácaros inmaduros en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	% infes. inicial	% infes. final	efectividad en %
# 4	Agua	56	-	-
# 5	Agua	208	222	-6.73
# 3	Ácido 10 ml.	216	38	82.41
# 7	Ácido 10 ml.	114	-	-
# 8	Ácido 10 ml.	74	-	-
# 2	Ácido 15 ml.	94	126	-34.04
# 6	Ácido 15 ml.	212	60	71.7
# 10	Ácido 15 ml.	22	8	63.64

\* No había cría para realizar la evaluación.

**Cuadro A- 12.** Efectividad del tratamiento sobre los ácaros totales (maduros vivos e inmaduros) en la cría sellada. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	% infes. inicial	% infes. final	efectividad en %
# 4	Agua	90	-	-
# 5	Agua	280	408	-45.71
# 3	Ácido 10 ml.	286	50	82.52
# 7	Ácido 10 ml.	212	-	-
# 8	Ácido 10 ml.	110	-	-
# 2	Ácido 15 ml.	142	192	-35.21
# 6	Ácido 15 ml.	294	96	67.35
# 10	Ácido 15 ml.	38	16	57.89

\* No había cría para realizar la evaluación.

**Cuadro A- 13.** Efectividad de los tratamientos en las abejas adultas. Lagunilla de Heredia. Costa Rica, 1998.

Colmena	Tratamiento	% infes. inicial	% infes. final	efectividad en %
# 4	Agua	24.14	18.72	22.4524
# 5	Agua	21.6	14.48	32.963
# 3	Ácido 10 ml.	9.01	7.11	21.0877
# 7	Ácido 10 ml.	15.64	*	*
# 8	Ácido 10 ml.	11.42	27.41	-140.0175
# 2	Ácido 15 ml.	16.72	15.65	6.3995
# 6	Ácido 15 ml.	6.62	2.45	62.9909
# 10	Ácido 15 ml.	7.39	2.59	64.9526

\* La colmena murió

## 8.5 DATOS COMPLEMENTARIOS DEL COMPORTAMIENTO DE LIMPIEZA DE LAS ABEJAS (COLMENA DE OBSERVACIÓN).

**Cuadro A- 14.** Tiempo utilizado por las abejas en la limpieza sin ningún tratamiento.

Observación 30/6/98	Periodo	Segundos de observación	Segundos utilizados en la limpieza	% de tiempo que utilizado en la limpieza
1	8:00-10:00	1200	68	5.67
2	10:00-12:00	1200	79	6.58
3	12:00-2:00	1200	146	12.17
4	2:00-4:00	1200	233	19.42
5	4:00-6:00	1200	60	5
Total		6000	586	9.77

**Cuadro A- 15.** Tiempo utilizado por las abejas en la limpieza durante la aplicación de 4 ml. de agua.

Observación 1/7/98	Periodo	Segundos de observación	Segundos utilizados en la limpieza	% de tiempo que utilizado en la limpieza
1	8:00-10:00	1200	114	9.5
2	10:00-12:00	1200	189	15.75
3	12:00-2:00	1200	276	23
4	2:00-4:00	1200	87	7.25
5	4:00-6:00	1200	116	9.67
Total		6000	782	13.03

**Cuadro A- 16.** Tiempo utilizado por las abejas en la limpieza durante la aplicación de 4 ml. de ácido fórmico.

Observación 2/7/98	Periodo	Segundos de observación	Segundos utilizados en la limpieza	% de tiempo que utilizado en la limpieza
1	8:00-10:00	1200	499	41.58
2	10:00-12:00	1200	349	29.08
3	12:00-2:00	1200	205	17.08
4	2:00-4:00	1200	16	1.33
5	4:00-6:00	1200	205	17.08
Total		6000	1274	21.23

**Cuadro A- 17.** Tiempo utilizado por las abejas en la limpieza durante la aplicación de 4 ml. de agua.

Observación 8/7/98	Periodo	Segundos de observación	Segundos utilizados en la limpieza	% de tiempo que utilizado en la limpieza
1	8:00-10:00	1200	73	6.08
2	10:00-12:00	1200	123	10.25
3	12:00-2:00	1200	57	4.75
4	2:00-4:00	1200	175	14.58
5	4:00-6:00	1200	254	21.17
Total		6000	682	11.37

**Cuadro A- 18.** Tiempo utilizado por las abejas en la limpieza durante la aplicación de 4 ml. de ácido fórmico.

Observación 10/7/98	Periodo	Segundos de observación	Segundos utilizados en la limpieza	% de tiempo que utilizado en la limpieza
1	8:00-10:00	1200	528	44
2	10:00-12:00	1200	243	20.25
3	12:00-2:00	1200	241	20.08
4	2:00-4:00	1200	467	38.92
5	4:00-6:00	1200	358	29.83
Total		6000	1837	30.62

## 8.6 DATOS COMPLEMENTARIOS DE LA MORTALIDAD DE ABEJAS

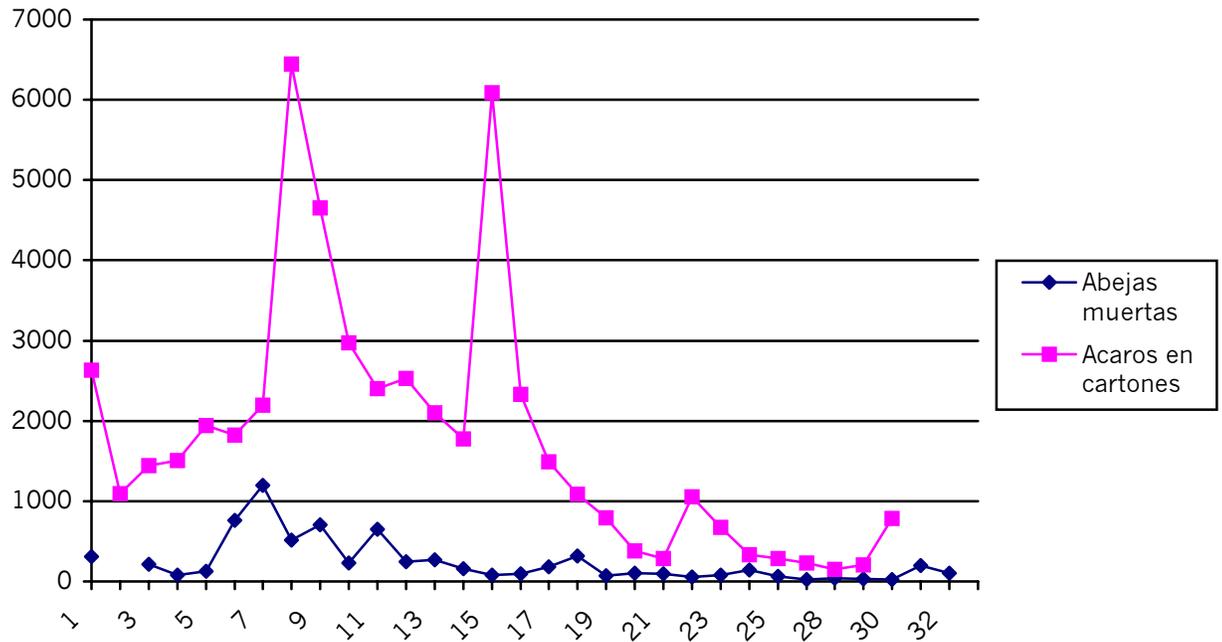


Fig.1 Abejas muertas y caída de ácaros sobre las trampas en el transcurso del experimento. Lagunilla de Heredia, Costa Rica. 1998.