

**Evaluación del efecto acaricida de las infusiones
de *Cymbopogon* sp., *Eucalyptus* sp., *Citrus
aurantium* y *Mentha* sp., en el control de *Varroa
destructor* en *Apis mellifera* L.**

**José Miguel Cueto Peña
José Angel Estevez Belliard**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2019

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Evaluación del efecto acaricida de las infusiones
de *Cymbopogon* sp., *Eucaliptus* sp., *Citrus
aurantium* y *Mentha* sp., para el control de *Varroa
destructor* en *Apis mellifera* L.**

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

Presentado por

**José Miguel Cueto Peña
José Angel Estevez Belliard**

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2020

Evaluación del efecto acaricida de las infusiones de *Cymbopogon* sp., *Eucaliptus* sp., *Citrus aurantium* y *Mentha* sp., en el control de *Varroa destructor* en *Apis mellifera* L.

Presentado por

José Miguel Cueto Peña
José Angel Estevez Belliard

Aprobado:


Jesus Orozco (Nov 13, 2020 08:17 CST)
Jesus Orozco, Ph.D.
Asesor Principal


Rogel Castillo, M.Sc.
Director
Departamento de Ciencia y
Producción Agropecuaria


Ludovic Bouilly (Nov 13, 2020 08:52 CST)
Ludovic Bouilly, Dr.
Asesor


Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Vicepresidente y Decano Académico


Katerin Aguilar (Nov 13, 2020 08:53 CST)
Katerin Mariela Aguilar, Lcda.
Asesora

Evaluación del efecto acaricida de las infusiones de *Cymbopogon* sp., *Eucaliptus* sp., *Citrus aurantium* y *Mentha* sp., como alternativa para el control de *Varroa destructor* en *Apis mellifera* L.

**José Miguel Cueto Peña
José Angel Estevez Belliard**

Resumen. La varroosis, causada por el ácaro *Varroa destructor* Anderson y Trueman, es considerada la enfermedad más grave en la producción apícola. Se han probado productos de varios tipos para su control, sin embargo, se ha visto que *Varroa* ha desarrollado resistencias a algunos productos de origen químico, mientras otros de estos han causado problemas de contaminación. Hoy la tendencia a seguir es usar productos naturales que sean amigables con el ambiente. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto acaricida de diferentes infusiones de plantas en *V. destructor* y evaluar la variación del peso de las colmenas con respecto a las diferentes infusiones aplicadas. Las unidades experimentales consistieron en 40 colmenas de abejas parasitadas por el ácaro. Se utilizaron cuatro tratamientos: infusión de naranja agria, eucalipto, menta, y zacate limón, y cuatro testigos que no recibieron ningún tratamiento. Los productos se administraron directamente al panal semanalmente durante tres semanas. El porcentaje de *Varroa* en el panal se contabilizó cada siete días durante la duración del estudio. La naranja agria con una y dos aplicaciones presentó la mortalidad más alta (65.8 y 56.8% respectivamente). La infusión de zacate limón con tres aplicaciones y menta con dos aplicaciones no tuvieron efecto en la mortalidad de *Varroa*. La variación de peso más alta la tuvo el eucalipto con tres aplicaciones teniendo una ganancia de 0.1 kg/día, sin embargo, ninguno de los tratamientos presentó diferencia significativa en la variación de peso.

Palabras claves: Abeja, ácaro, infusión acuosa, varroosis.

Abstract. Varroosis, caused by the *Varroa destructor* mite (Anderson and Truman), is considered the most serious disease in beekeeping production. Different types of products have been tested to control it, however, it has been observed that *Varroa* has developed resistance to some chemical products, while some of these have caused contamination issues. The trend is to keep using natural, eco-friendly products. The objective of this research was to evaluate the acaricidal effect of different plant infusions on *V. destructor*, and the weight variation of the hives regarding the applied infusions. The experimental units consisted of 40 beehives contaminated by the mite. Four treatments were used: sour orange infusion, eucalyptus, peppermint and lemongrass; and four witnesses that didn't receive any treatment. Products were applied directly to the hive every week for three weeks. The percentage of *Varroa* in the hive was calculated every seven days during the research. The sour orange infusion, with one and two applications, showed the highest mortality (65.8% and 56.8% respectively). The lemongrass infusion with three applications, and peppermint with two applications did not have a mortality effect on *Varroa*. Eucalyptus showed the highest weight variation, with three applications, with an increase of 0,1 kg. a day. However, none of the treatments showed a significant variation of weight.

Keywords: Aqueous infusion, bee, mite, varroosis.

ÍNDICE GENERAL

Portadilla	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Índice General	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	4
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES.....	15
5. RECOMENDACIONES.....	16
6. LITERATURA CITADA.....	17
7. ANEXOS.....	20

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Plantas utilizadas y sus componentes pesticidas.....	4
2. Porcentaje de mortalidad de <i>Varroa</i> para los diferentes tratamientos y aplicaciones.....	8
3. Porcentaje inicial de <i>Varroa</i> comparado con el porcentaje final utilizando eucalipto y naranja agria.....	9
4. Porcentaje inicial de <i>Varroa</i> comparado con el porcentaje final utilizando menta y zacate limón.....	10
5. Peso inicial de las colmenas comparado con el peso final utilizando eucalipto y naranja agria.....	11
6. Ganancia de peso diaria de las colmenas.....	12
7. Peso inicial de las colmenas comparado con el peso final utilizando menta y zacate limón.....	13
Figuras	Página
1. Proceso de elaboración de infusiones.....	5
2. Ciclo biológico de la <i>Varroa</i>	6
3. Proceso de toma de datos.....	6
4. Cambio en el porcentaje de <i>Varroa</i> con control de naranja agria desde la primera semana hasta la semana cuatro.....	9
5. Comparación de abejas.....	10
6. Cambio en el peso de las colmenas con control de naranja agria y eucalipto respectivamente.....	13
7. Cambio en el peso de las colmenas con los tratamientos de menta y zacate limón en comparación con el control.....	13
Anexos	Página
1. Abeja con presencia de <i>Varroa</i>	20
2. <i>Varroa</i> observada a través de un estereoscópico.....	20

1. INTRODUCCIÓN

La abeja doméstica (*Apis mellifera* L.), es la abeja que posee la mayor distribución en el mundo (Moritz *et al.* 2005) y es la especie más ampliamente explotada con fines comerciales. La importancia de la apicultura no solo reside en la producción de miel, sino que también de varios productos como el propóleo (mezcla resinosa obtenida por las abejas de las yemas de los árboles), api-toxinas (veneno de abejas), polen y cera. Según la Secretaría de Agricultura y Ganadería de Honduras (SAG), la industria apícola hondureña produjo unas 1,239 toneladas métricas de miel en el año 2020. Sin embargo, la demanda del país es de unas 1,700 toneladas métricas de miel, por lo que no se cubre con la producción nacional (Martín Lanza, com. pers.).

Una de las amenazas que recibe este rubro es *Varroa destructor* Anderson y Trueman [Parasitiformes: Varroidae], un acaro pequeño, que se adhiere a las abejas y succiona la hemolinfa del insecto (Botta y Carmenate 2004). *Varroa* es un ácaro forético obligado, que causa varroasis, enfermedad parasitaria considerada como la más grave y peligrosa para la apicultura, debido a sus daños directos y efectos indirectos sobre las abejas (Ball y Allen 1988).

Las infestaciones por *Varroa* generalmente, ocasionan la muerte de las colonias infectadas después de dos a cuatro años de iniciada la infestación (Medina-Flores *et al.* 2011). El ciclo biológico del ácaro en su etapa adulta se divide en las fases forética y reproductiva; en la fase forética (desplazamiento de *Varroa* de una abeja a otra en la misma colmena) el ácaro parasita la abeja y en la fase reproductiva los ácaros se introducen al interior de las celdas con cría operculada (Gusman-Novoa *et al.* 1999). Los daños sobre las abejas pueden ser directos e indirectos. El daño directo ocurre porque *Varroa* se alimenta de la hemolinfa de las abejas, mermando su desarrollo, su tiempo de vida y su capacidad productiva; y los daños indirectos son causados porque *Varroa* está asociada como vector de virus y bacterias (Santillán-Galicia *et al.* 2015).

Las abejas parasitadas viven aproximadamente la mitad del tiempo que las sanas (Medina-Flores *et al.* 2011). El efecto negativo sobre la productividad comienza cuando la población de ácaros afecta el 10% en una colonia de abejas adultas; cuando la infestación llega a ser de 30–40% esta normalmente termina con la colonia (Franco 2009). La varroasis produce la reducción del peso corporal, malformaciones en las patas y abdomen y degeneración de las alas (Schatton-Gadelmaye y Engels 1988); también se ha reportado reducción de las proteínas hemo-linfáticas (Weinberg y Madel 1985); y disminución de la vida media. Es de importancia verificar que las colmenas no vayan perdiendo peso, ya que es un símbolo claro de enfermedad o ataque de plagas, especialmente de *Varroa*.

El trabajo realizado en Canadá por Medina-Flores *et al.* (2011), encontró que las infestaciones por *Varroa* están asociadas a más del 85% de los casos de mortalidad de las colonias en invierno; en esta época, las abejas se encuentran susceptibles a ataques de *Varroa* debido a que no se dispone de flores, que son el suministro de materia prima para que las abejas elaboren su alimento. La varroasis, aparte de producir una pérdida económica directa en los productos derivados de la apicultura, también puede tener repercusión en la producción hortofrutícola y en la producción de semillas de hortalizas, forrajeras y oleaginosas, como consecuencia de una baja en la masa polinizadora, en la cual la abeja es el insecto de mayor efectividad (Peldoza 1994).

Para controlar esta plaga, algunos acaricidas órganos-sintéticos fueron desarrollados por varias compañías químicas; sin embargo, el uso intensivo de estos productos ha ocasionado problemas de resistencia (Milani 1999). Los insecticidas, además de generar este problema de resistencia, también generan problemas relacionados con la acumulación de residuos en los productos de la colmena (Neira *et al.* 2004).

Además de los insecticidas químicos, también se han desarrollado diversas medidas biotécnicas, tales como humos botánicos, tratamientos térmicos, uso de panales de cría de zángano, y dispositivos de captura de ácaros, con distintos grados de éxito. En los últimos años, se han evaluado diversos tratamientos para el control de *Varroa*, como la aplicación de productos químicos tradicionales y métodos de control alternativo y biológico; sin embargo, los resultados obtenidos en reducción de las poblaciones de los ácaros han sido insuficientes, debido a las características biológicas del ácaro, que hacen difícil encontrar un tratamiento efectivo (Pino *et al.* 2011). Entre las características que hacen difícil el control de la *Varroa* está que esta se encuentra en su fase reproductiva en celdas operculadas, lo que hace la difícil penetración del producto, también, las *Varroas* ya adultas se encuentran en el abdomen por debajo de los escleritos (Pomagualli 2017).

Dentro de los productos naturales, los aceites esenciales presentan un importante efecto acaricida, muchos de ellos, o sus componentes, han sido probados en la lucha contra *Varroa* con distintos resultados (Imdorf *et al.* 1999). Varios de los aceites que se han evaluado han mostrado ser efectivos en condiciones de laboratorio (Ruffinengo *et al.* 2005); sin embargo, y a pesar de estos resultados positivos, existen en el mercado muy pocas formulaciones comerciales a base de aceites esenciales (Imdorf *et al.* 1999). Los aceites esenciales son formas altamente concentradas de la parte de la planta de la cual se extraen (Montoya 2010). En un experimento se demostró que el aceite esencial de lavanda y el aceite de laurel pudieron remover el 100% de la población de *Varroa*, no obstante, estos presentaron baja mortalidad para *Varroa*, variando desde 35% para el aceite de laurel, hasta 41.67% para lavanda (Neira *et al.* 2004). En otra investigación realizada por Huamán y Silva (2020) en el cual probaron el efecto acaricida del aceite de molle (*Schinus molle*) en *Varroa*, se obtuvo una mortalidad de ± 2.22 ácaros por día.

A nivel mundial, actualmente se realiza la búsqueda de nuevos métodos que permitan el control del ácaro y que no afecten a las abejas o representen una fuente de contaminación a los productos de la colmena y el medio ambiente en general (Neira *et al.* 2004). En la Republica Dominicana, los apicultores y los extensionistas apícolas dicen que en las últimas décadas la apicultura ha tenido un descenso. Este descenso lo atribuyen a la deforestación, al aumento en el uso de insecticidas y al parásito *Varroa destructor* (May y Rodríguez 2012).

Se ha observado que las infusiones logran mantener varios componentes químicos que se han relacionado a sus contenidos de compuestos fenológicos y flavonoides (McKay y Blumberg 2006; Pereira *et al.* 2009). Una infusión busca extraer las sustancias orgánicas las partes solubles en agua, a una temperatura mayor que la del ambiente y menor que la del agua hirviendo. Estas no solo difieren de los aceites esenciales por el método de extracción, sino también, en la concentración de los componentes.

Las hojas de zacate limón, naranja agria y menta poseen compuestos entre los cuales se encuentran ingredientes acaricidas como Citronellal, α -Terpineol y el Menthol (Campos *et al.* 2018) y en el eucalipto está el compuesto 1,8 Cineol que es también acaricida (González-Guiñez *et al.* 2016).

En este estudio se realizaron pruebas con infusiones de plantas fáciles de conseguir y que además que poseen ingrediente activo acaricida, como el zacate limón (*Cymbopogon* sp.), la naranja agria (*Citrus aurantium*), menta (*Mentha* sp.) y eucalipto (*Eucalyptus* sp.). Los objetivos de este proyecto fueron:

- Evaluar el efecto acaricida de infusiones de zacate limón, naranja agria, menta y eucalipto a diferentes niveles de aplicación en colmenas de abejas con *Varroa*.
- Evaluar el efecto de las diferentes infusiones aplicadas en la variación del peso de las colmenas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La primera parte de esta investigación se realizó de julio a agosto de 2020, en Carbonera, Republica Dominicana (19°38'42''N, 71°41'11''W), situado a una altura aproximada de 131 msnm, con una temperatura promedio de 29 °C para los meses de julio y agosto, y una precipitación anual de 1500 mm. La segunda parte se realizó en los apiarios de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, ubicada a 30 km de Tegucigalpa, Francisco Morazán. Zamorano tiene a una elevación aproximada de 800 msnm, una temperatura promedio de 26 °C en los meses de julio y agosto, y una precipitación anual de 1100 mm.

Colmenas

Se utilizaron 40 colmenas Langstroth, las cuales poseen medidas estándar de 24 cm de alto, 51.5 cm de largo y 43 cm de ancho. Estas tienen una capacidad de 10 cuadros de un alto de 23 cm, cabezal de 47.8 cm y pancita de 44.7 cm. Cada una de estas colmenas se consideró como una unidad experimental. Las colmenas aptas para el experimento fueron las enfermas de varroasis, se observó si las colmenas presentaban una buena población, y que no presentaran ninguna limitante extra en su desarrollo como presencia de gusano de la cera *Galleria mellonella* o enfermedades tales como ascosferosis y loque europea.

Pesado de colmenas

Esta se realizó antes de cada aplicación y siete días después de la misma. El pesado se hizo con una Balanza Plataforma Multiusos Baxtran TMM 100 Kg. El propósito del pesado fue evaluar si las aplicaciones estaban afectando a la población, es decir, si intervienen en el trabajo tanto de la reina como de las obreras.

Obtención de las infusiones

Se utilizó alrededor de 0.45 kg de hojas frescas de cada una de las plantas seleccionadas (Cuadro 1) por cada litro de agua; estas fueron trituradas en una licuadora hasta reducir el tamaño de las partículas, con el fin de aumentar el área de penetración del agua caliente. Posteriormente se filtró y se almacenaron en un frasco previamente esterilizado y rotulado (Figura 1).

Cuadro 1. Plantas utilizadas y sus componentes pesticidas.

Planta	Componente
<i>Mentha</i> sp.	Menthol (1)
<i>Citrus aurantium</i>	α -Terpineol (1)
<i>Cymbopogon</i> sp.	Citronellal (1)
<i>Eucaliptus</i> sp.	1,8 Cineol (2)

(1) (Campos *et al.* 2018)

(2) (González-Guñeiz *et al.* 2016).



Figura 1. Proceso de elaboración de infusiones. (A) hojas de plantas a utilizar; (B) pesado de la cantidad de materia prima utilizada; (C) licuado de la materia prima; (D) materia prima antes de calentar; (E) materia prima después de enfriado y (F) infusión colada, etiquetada y envasada.

Aplicación de la infusión

Las aplicaciones se dividieron en tres diferentes dosis, las dosis consistieron en el número de veces en que se le aplicó el rocío a cada uno de los cuadros de las colmenas; siendo una aplicación por cuadro (3.09 mL), dos aplicaciones (6.18 mL) y tres aplicaciones (9.27 mL). Dichas aplicaciones se hicieron mediante un rociador (spray, atomizador o aerosol) de plástico con capacidad de 700 mL previamente ajustado para que lanzara las gotas lo más pequeño posible. Las aplicaciones se realizaron a 30-40 cm del cuadro con dirección al viento para evitar estropear a las abejas y/o larvas aún sin opercular, además de evitar la deriva, se realizaron cerca al medio día, ya que la infusión se aplicó a la temperatura ambiente y de esta manera se evita un choque térmico. En el caso de las infusiones aplicadas en República Dominicana, la aplicación se realizaba un día después de preparadas y en el caso de Zamorano, las infusiones preparadas se aplicaban durante una semana y media. Todas las infusiones fueron almacenadas en envases plásticos con tapas a temperatura ambiente. Además de los tratamientos se utilizaron controles, que consistieron en el manejo normal de las colmenas sin ningún tipo de tratamiento. En el caso de las colmenas de Zamorano, se realizaba alimentación a todas las colmenas, cada una ajustada a su tamaño con una proporción de 100 mL/cuadro que tenía cada colmena, mientras que a las colmenas en República Dominicana no contaron con alimentación.

Las aplicaciones de los tratamientos se hicieron a todos los panales y a las abejas, no obstante, dichas aplicaciones iban dirigidas a las abejas adultas y a las celdas que todavía no se habían operculado ya que, una vez operculado, el producto no puede ingresar dentro de las celdas donde se encuentra la *Varroa*, dado a que una parte del ciclo biológico de la *Varroa* se desarrolla dentro de una celda operculada (Figura 2), las aplicaciones y toma de datos se dividieron en cuatro semanas y de esta forma poder cubrir varias generaciones.

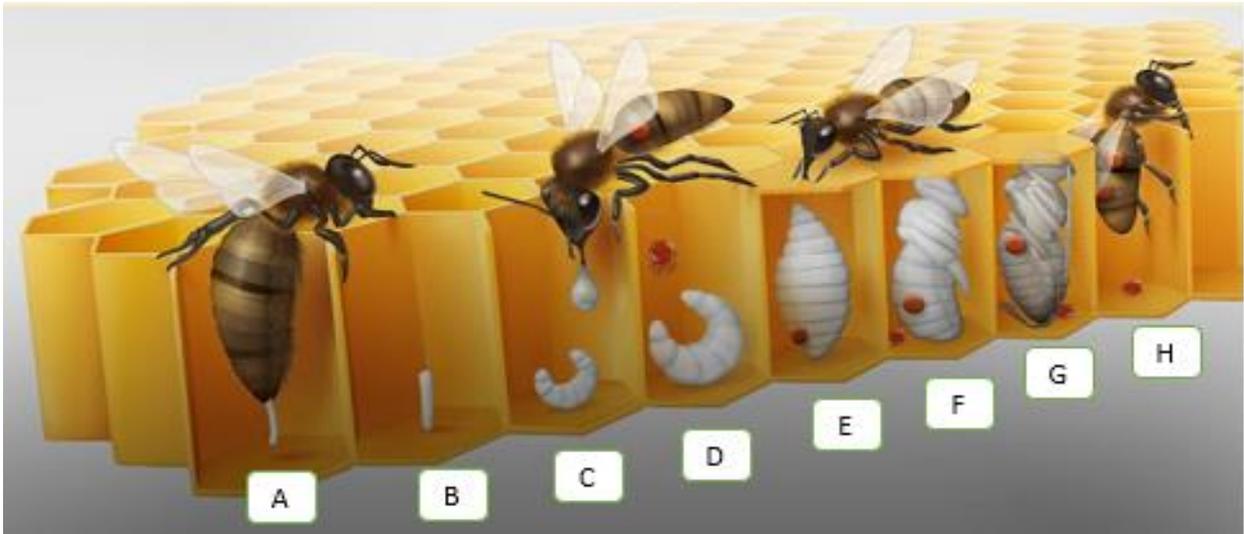


Figura 2. Ciclo biológico de la *Varroa*. (A) postura de huevo de abeja; (B) inicio de crecimiento de huevo; (C) inicio de desarrollo larval; (D) *Varroa* hembra fecundada empieza su postura de huevo; (E) huevo de *Varroa* pasa a ser una larva y la larva de abeja se convierte en pupa; (F) larva de *Varroa* pasa a ser protoninfa y la pupa de la abeja empieza a diferenciarse; (G) protoninfa pasa a ser deutoninfa y la pupa de abeja está completamente diferenciado y (H) deutoninfa desarrolla a *Varroa* adulta y la pupa de abeja se rompe para dar origen a una abeja adulta. Fuente: (Julio 2018)

Porcentaje de control de *Varroa*

Para realizar esta prueba se utilizó un frasco donde se recolectaron muestras de 200 a 300 abejas y se les aplicó agua con detergente para separar la *Varroa* de las abejas, esta prueba es conocida como la prueba del frasco. Luego se realizó un conteo de abejas y de *Varroa*, y posteriormente se sacó un porcentaje de infestación. El porcentaje de infestación de *Varroa* se realizó, dividiendo la cantidad de *Varroa* encontrada entre la cantidad de abejas tomadas en la muestra, y el resultado se multiplicó por 100. La prueba se realizó antes de cada aplicación (Figura 3) y siete días después de las aplicaciones, para tener un porcentaje de referencia de los niveles de infección de cada colmena.



Figura 3. Proceso de toma de datos. (A) pesado de la colmena; (B) aplicación de la infusión correspondiente al tratamiento y (C) toma de muestra para la prueba de la *Varroa*.

Análisis estadístico

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), compuesto de 12 tratamientos, infusiones de cuatro plantas: menta, zacate limón, eucalipto, y naranja agria, cada una con tres dosis, cada dosis establecida por las veces que se aplique el rocío a cada cuadro. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento. Para los controles solo se utilizaron dos repeticiones en cada lugar debido a la disponibilidad de colmenas. Tanto el porcentaje de *Varroa* como la variación del peso de las colmenas se analizaron utilizando el programa Infostat versión 2020 I. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA), y separación de medias por el método Duncan a una significancia de $P \leq 0.05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de *Varroa*

El tratamiento naranja agria con una aplicación por cuadro fue la que obtuvo el mayor porcentaje de mortalidad de *Varroa* (65.8%) (Cuadro 2); el segundo tratamiento con mayor porcentaje de mortalidad fue la naranja agria con dos aplicaciones con 56.2%, seguido del eucalipto con 51.6% de mortalidad. También se pudo observar que el tratamiento menta con tres aplicaciones por cuadro causó la emigración de dos colmenas. Los tratamientos zacate limón con tres aplicaciones y la menta con dos aplicaciones no tuvieron ningún efecto en la mortalidad de *Varroa*.

Durante el experimento se evidenció una clara reducción del parasitismo en los tratamientos naranja agria y eucalipto, aunque a nivel estadístico solo el tratamiento con naranja agria correspondiente a una aplicación por cuadro mostró significancia ($P < 0.05$) (Cuadro 3). Los tratamientos: naranja agria, eucalipto y cada aplicación fueron eficaces en la reducción de *Varroa*, que va desde el eucalipto con dos aplicaciones cuya reducción al porcentaje de *Varroa* fue de 27.1%, hasta la naranja agria con una aplicación por cuadros, con una reducción en el porcentaje *Varroa* de 65.8% (Cuadro 2). Comparado con (Neira *et al.* 2004), el mejor tratamiento fue 30.753% mayor que el aceite de laurel que tuvo 35% de mortalidad de *Varroa* y un 14.116 mayor que el aceite de lavanda el cual obtuvo 41,67% de mortalidad de *Varroa*.

Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de *Varroa* para los diferentes tratamientos y aplicaciones.

Lugar	Tratamiento	Porcentaje de mortalidad
Carbonera, Rep. Dom.	Eucalipto-1	32.5
	Eucalipto-2	27.1
	Eucalipto-3	51.6
	Naranja agria-1	65.8
	Naranja agria-2	56.2
	Naranja agria-3	46.2
	Control	-28.1
EAP ZAMORANO	Menta-1	10.3
	Menta-2	-0.8
	Menta-3	31.7
	Zacate-1	28.1
	Zacate-2	34.7
	Zacate-3	-26.3
	Control	-21.6

Cuadro 3. Porcentaje inicial de *Varroa* comparado con el porcentaje final utilizando eucalipto y naranja agria.

Tratamiento	Semana 1	Semana 4
Naranja agria-1	8.40a*	2.88bc
Naranja agria-2	5.92abc	2.59c
Naranja agria-3	7.06ab	3.80bc
Eucalipto-1	4.73abc	3.19bc
Eucalipto-2	5.04abc	3.67bc
Eucalipto-3	6.37abc	3.08bc
Control	5.33abc	5.56abc
P-valor		0.0423
R ²		0.54
Coefficiente de variación		37.25

*: Medias con diferentes letras en la misma fila indica diferencias estadísticas significativas.

El tratamiento con naranja agria de una aplicación por cuadro tuvo un efecto más rápido y potente en la primera semana (Figura 4), bajando la población de *Varroa* de 8.40 a 4.06%. En el tratamiento con tres aplicaciones, para la primera semana bajó de 7.06 a 4.87%; En la semana tres se presentó un aumento de *Varroa* a 5.33%, reduciendo el porcentaje de efectividad de la aplicación. Este resultado puede deberse al cambio de temperatura que ocurre al hacer una aplicación, causando un desbalance de la humedad de la colmena y la temperatura, lo que causa problemas de enfermedades y plagas que debilitan las abejas y la hacen más propensa al ataque de *Varroa* (Natsopoulou *et al.* 2016; Nazzi y Le Conte, 2016).

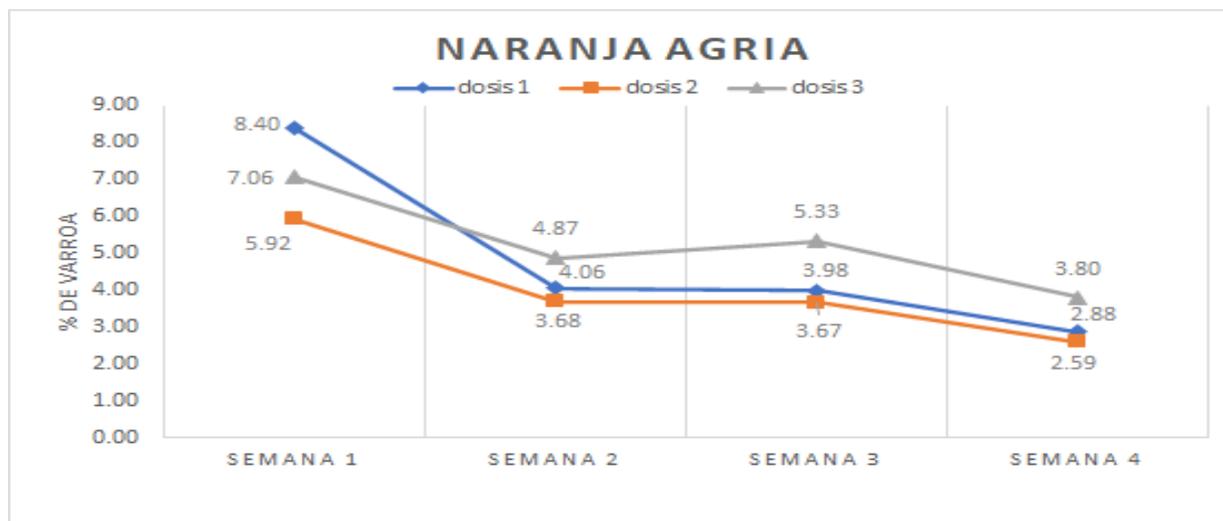


Figura 4. Cambio en el porcentaje de *Varroa* con control de naranja agria desde la primera semana hasta la semana cuatro.

En las demás semanas de dicha aplicación se observó una reducción regular de 5.33 a 3.80% en la cantidad de *Varroa*. Luego de realizar la aplicación del rocío, se pudo observar un cambio en el

comportamiento de las abejas. Las abejas después de las aplicaciones se presentaban con las alas unidas (Figura 5). También tomando en cuenta que dejaban de hacer la labor que estaban haciendo y después de un momento continuaban normalmente.



Figura 5. Comparación de abejas. (A) abejas antes de la aplicación y (B) abejas post aplicación.

Todos los tratamientos, a excepción del tratamiento Zacate con tres aplicaciones, para la semana cuatro causaron reducción en el porcentaje de *Varroa* (Cuadro 4). Aun sin presentar diferencias significativas, en la mayoría de los tratamientos se presentó una disminución, caso contrario a lo que ocurrió con el control. En el caso de la menta, se presentó el problema de que, utilizando tres aplicaciones por cuadro, dos colmenas emigraron. La menta posee un alto poder de repelencia de insectos y pudo causar este fenómeno (Morales *et al.*, 2019); también se pudo deber al hecho de que algunos productos químicos en presencia del mentol tienden a ser mucho más potentes que si se aplicaran solo, lo que quiere decir que la aplicación de mentol como tratamiento contra las *Varroa*, pudo causar toxicidad si en el ambiente existía algún químico o residuos de uno (Jankowska *et al.* 2019).

Cuadro 4. Porcentaje inicial de *Varroa* comparado con el porcentaje final utilizando menta y zacate limón.

Tratamiento	Semana 1	Semana 4
Menta-1	6.10 ab	5.47 ab
Menta-2	6.71 ab	6.76 ab
Menta-3	7.78 ab	5.32 b
Zacate-1	10.59 ab	7.62 ab
Zacate-2	7.40 ab	4.83 b
Zacate-3	4.97 b	6.29 ab
Control	9.39 ab	11.41 a
P-valor		0.0423
R ²		0.54
Coefficiente de variación		37.25

*: Medias con diferentes letras en la misma fila indica diferencias estadísticas significativas.

Las infusiones en comparación con los aceites esenciales son una alternativa eficiente contribuyendo de manera natural al control de plagas, disminuyendo el uso de químicos. Estos también son de más fácil obtención, ya que para obtener una infusión vegetal solo hay que extraer de las sustancias orgánicas las partes solubles en agua, aplicando un poco de temperatura a la misma.

El efecto que tienen los compuestos de los aceites sobre la *Varroa* se ha definido como atrayentes, tóxicos y de repelencia (Rickli *et al.* 1991). El desprendimiento de *Varroa* de su hospedero podría deberse al efecto desorientador que causan los compuestos de los aceites y/o infusiones, los cuales estarían actuando en el olfato de los ácaros; esta hipótesis se basa en (Kraus *et al.* 1994) el cual dice que el estímulo olfatorio desempeña un rol muy importante en la conducta de la *Varroa*. Los éteres alifáticos que están presentes en las crías de obreras son reconocidos por los ácaros causando preferencia por las celdillas de zánganos. Asimismo, el factor primordial para el reconocimiento de las abejas ya adultas y el cambio de hospedero por el ácaro es el olfato. Por esto es posible que las alteraciones en el olfato por olores naturales, como son las infusiones y aceites esenciales, pueden causar daños en la orientación del ácaro, resultando en la modificación de la conducta que tendrá la *Varroa* y ser de esta manera un control efectivo (Kraus *et al.* 1994).

Peso de la colmena

Ninguno de los tratamientos presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la variación del peso de las colmenas (Cuadro 5). Aun sin presentar diferencias significativas se puede observar que en general todas las colmenas aumentaron su peso o se mantuvieron (Figura 4) en comparación con los controles, que también presentaron el mismo patrón. Esto no quiere decir que la *Varroa* no cause pérdida de peso en las colmenas, sino, que la similitud en el peso se pudo deber al corto periodo que estuvimos realizando el experimento, por ende, las *Varroas* que se encontraban en las colmenas controles, no contaron con suficiente tiempo como para alterar el peso.

Cuadro 5. Peso inicial de las colmenas comparado con el peso final utilizando eucalipto y naranja agria.

Tratamiento	Semana 1	Semana 4
Naranja agria-1	40.35	40.93
Naranja agria-2	37.53	38.06
Naranja agria-3	36.55	37.12
Eucalipto-1	38.71	39.94
Eucalipto-2	41.30	42.20
Eucalipto-3	40.30	41.37
Control	42.65	42.84
P-valor		0.0469
R ²		0.41
Coeficiente de variación		7.84

*: Medias con diferentes letras en la misma fila indica diferencias estadísticas significativas.

Las mediciones de peso de colmenas realizadas semanalmente no mostraron diferencias significativas para ($p < 0.05$), sin embargo, el exiguo crecimiento o aumento de peso de las colmenas se considera un éxito ya que las colmenas no tenían ningún motivo para que aumentaran de peso en esta época. Lo anterior significa que los tratamientos con infusiones de hojas de naranja agria y eucalipto tienen similitud en el incremento de peso de una colmena que no posee ningún tratamiento.

Comparando los datos de pesos obtenidos de los tratamientos naranja agria y eucalipto se pudo observar un incremento de peso mayor en el tratamiento de eucalipto (cuadro 6), ganando en promedio 1.010 kg al final de las 4 semanas, siendo esto 0.45 kg más que en el tratamiento con naranja agria el cual obtuvo una ganancia de peso al final de las 4 semanas de 0.56 kg. Comparando los resultados obtenidos de naranja agria y eucalipto con los resultados de la colmena control se obtuvo en el caso de la naranja agria un incremento de 0.3 kg mayor que en control y con eucalipto hubo un incremento de 0.93 kg mayor que la colmena control.

Cuadro 6. Ganancia de peso diaria de las colmenas.

Tratamiento	Peso inicial	Peso final	Ganancia de peso/día
Naranja agria- 1	40.35	40.93	0.021
Naranja agria- 2	37.53	38.06	0.019
Naranja agria- 3	36.55	37.12	0.020
Eucalipto- 1	38.71	39.94	0.044
Eucalipto- 2	41.30	42.20	0.032
Eucalipto- 3	40.30	41.37	0.038
Zacate limón- 1	20.98	22.05	0.038
Zacate limón- 2	29.97	29.62	-0.013
Zacate limón- 3	17.47	18.02	0.020
Menta- 1	22.32	22.37	0.002
Menta- 2	21.05	21.77	0.026
Menta- 3	16.70	19.60	0.104

En un ensayo realizado por Pilataxi (2017) en el cual estaban probando diferentes dietas alimenticias en la formación de núcleos, siendo el primer tratamiento T1 (25% harina de maíz, 10% miel, 45% de soya y 20% de polen), el segundo T2 (50% harina de maíz, 10% miel, 30% de soya y 10% de polen) y el tercer tratamiento T3 (75% harina de maíz, 10% miel y 15% de soya), resultó de una ganancia diaria de peso de 0.037 kg para T1, 0.061 kg para T2 y 0.0639 kg para T3. Al comparar los resultados de Pilataxi (2017) con los de este estudio, nos damos cuenta de que las colmenas con los tratamientos naranja agria y eucalipto (figura 5), y menta y zacate limón (figura 6) poseen gran similitud en la ganancia de peso diario, siendo en promedio para naranja agria una ganancia de peso de 0.02 kg/día y de eucalipto de 0.038 kg/día; también se puede observar que, aunque con el tratamiento menta con tres aplicaciones presentó problemas en la emigración de dos colmenas, esta superó la ganancia de peso del primer tratamiento de Pilataxi (2017), llegando a ganar 0.104 kg/día; con una ganancia de peso de la primera a la cuarta semana de 16.70 kg a 19.60 kg, siendo una ganancia total de 2.9 kg (cuadro 7).

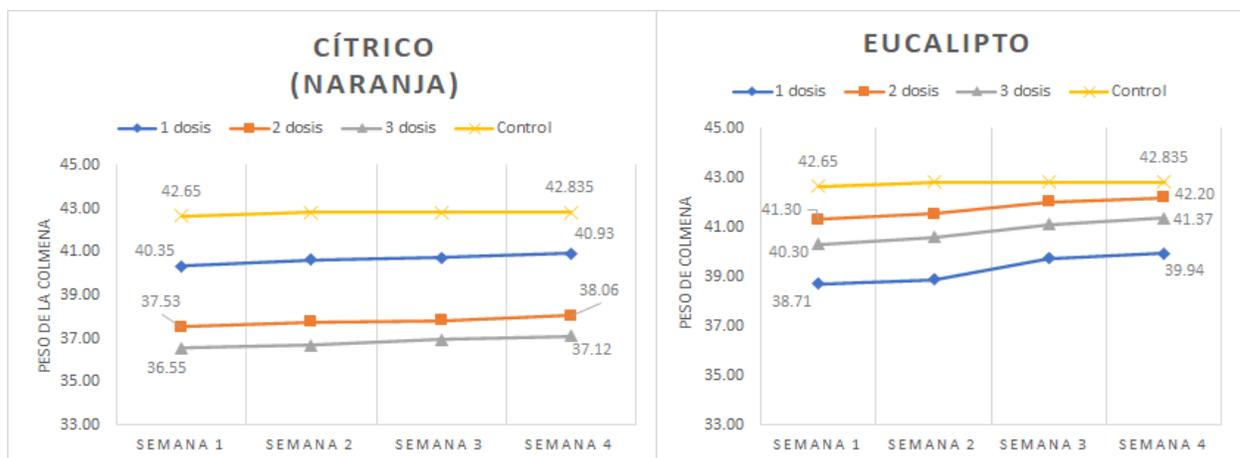


Figura 6. Cambio en el peso de las colmenas con control de naranja agria y eucaliptus respectivamente.

Cuadro 7. Peso inicial de las colmenas comparado con el peso final utilizando menta y zacate limón.

Tratamiento	Semana 1	Semana 4
Menta-1	22.32 ab	22.37 ab
Menta-2	21.05 ab	21.77 ab
Menta-3	16.70 a	19.60 ab
Zacate-1	20.98 ab	22.05 ab
Zacate-2	29.97 b	29.62 b
Zacate-3	17.47 a	18.02 a
Control	25.13 ab	25.78 ab
P-valor		0.0092
R ²		0.60
Coefficiente de variación		20.87

*: Medias con diferentes letras en la misma fila indica diferencias estadísticas significativas.

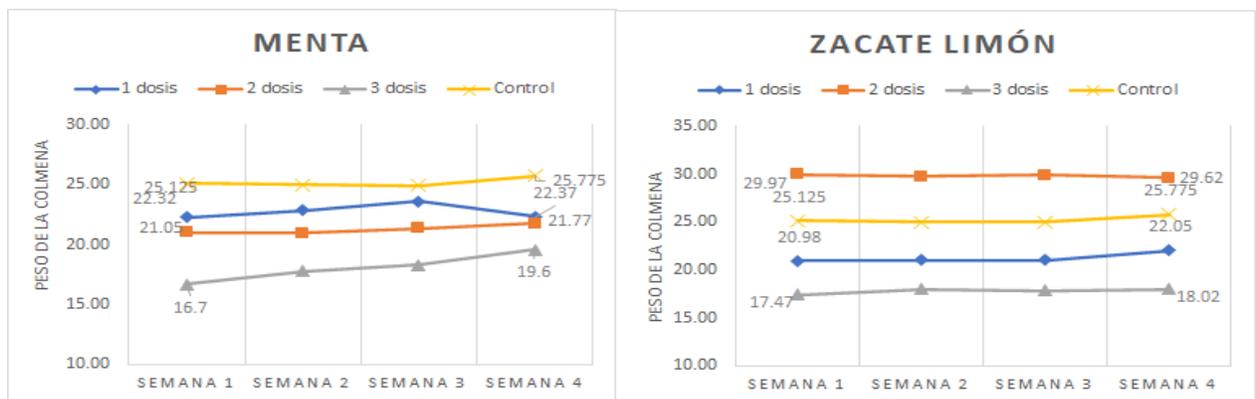


Figura 7. Cambio en el peso de las colmenas con los tratamientos de menta y zacate limón en comparación con el control.

El comportamiento normal de una colmena es el de ir en aumento poblacional, ya que esto supone una buena postura, lo normal es que mientras se dé una buena postura y alimentación de dichas larvas, estas vayan aumentando de peso y con ella el incremento de peso de las colmenas. En este caso, se estuvo aplicando directamente al panal. Las colmenas tienen una temperatura promedio de 35 °C (Sebeok *et al.* 1963); esta temperatura constante es crucial para el crecimiento y desarrollo normales de la cría (Tautz *et al.* 2003). Se tuvo la idea de que habría una interacción con el cambio de temperatura generado por las aplicaciones de los tratamientos, pudiendo causar algún tipo de mortalidad en las larvas o que las colmenas presentaran alguna enfermedad y por ende una reducción en el peso de la colmena (Natsopoulou *et al.* 2016; Nazzi y Le Conte, 2016).

El experimento fue realizado en verano y las colmenas no recibieron ningún tipo de alimentación suplementaria, por lo que no se esperaba un incremento drástico en el peso de las colmenas, sino, que lo normal es observar que el peso se mantenga. En la Figura 4 se puede observar un incremento mínimo en las colmenas, desde el comienzo del experimento hasta su finalización, esto nos quiere decir que los tratamientos no tuvieron efecto negativo en el desempeño de las labores de las abejas.

4. CONCLUSIONES

- La infusión de naranja agria con una aplicación por cuadro (3.09 mL), causó una mortalidad de *Varroa* 65.8%, siendo la más alta en comparación a las demás infusiones probadas y la única que presentó diferencia significativa, siendo las infusiones de menta y zacate limón los que presentaron mortalidades más bajas.
- La mayor variación de peso la tuvo el tratamiento eucalipto con una aplicación por cuadro (3.09 mL), teniendo una ganancia diaria de peso de 0.044 kg, los tratamientos presentaron medias muy relacionadas, es decir, no presentaron diferencias significativas. Las infusiones de menta con una aplicación por cuadro y zacate limón con dos aplicaciones por cuadro fueron las que presentaron las variaciones de peso más bajas siendo 0.05 y - 0.35 kg respectivamente.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar el mismo experimento utilizando otras plantas que tengan un componente químico acaricida y que a su vez sean de fácil obtención por parte de los pequeños apicultores, aumentando el tiempo de experimento para tomar en cuenta el comportamiento de las colmenas y cubrir el ciclo desde la postura de un huevo de zángano, hasta su nacimiento.
- Llevar a cabo un análisis costo/beneficio en comparación con los métodos convencionales para validar que dichas infusiones son una alternativa eficiente y económica.
- Repetir el experimento intentando replicar los resultados obtenidos en el tratamiento menta, pero esta vez en lugares diferenciados por la presencia y ausencia de productos plaguicidas en los alrededores de los apiarios.
- Calcular la mortalidad de abejas que se obtiene al realizar el tratamiento de *Varroas* con las infusiones tratadas en este proyecto y así validar que los tratamientos solo afectan al ácaro *Varroa destructor*.
- Realizar un análisis cromatográfico, estimando la proporción de los componentes aleloquímicos para las diferentes infusiones.
- Establecer diferentes bioformulados, determinando el efecto respuesta en la reducción del porcentaje de *Varroa* y evaluar las posibles interacciones de las moléculas (efecto adictivo, antagónico y sinérgico) de las mejores infusiones resultantes.

6. LITERATURA CITADA

- Ball BV, Allen MF. 1988. The prevalence of pathogens in honeybee (*Apis mellifera*) colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Ann. Appl. Biol.* 113(2):237–244. doi: [10.1111/j.1744-7348.1988.tb03300.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1988.tb03300.x)
- Botta E, Carmenate H. 2004. Varroasis, peligrosa enfermedad de la abeja melífera. *Fitosanidad-Redalic*; [consultado el 23 de agosto de 2020]. 8(2):47-55. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209117836013>
- Campos EVR, Proenca PLF, Oliveira JL, Bakshi M, Abhilash PC, Fraceto LF. 2018. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. *Ecol. Indic.* 105:483–495. doi: [10.1016/j.ecolind.2018.04.038](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.038)
- Franco-García CA. 2009. Evaluación de tres productos naturales para el control alternativo del ácaro *Varroa* (*Varroa destructor* Anderson & Trueman) en colmenas de abejas (*Apis mellifera* L.) usando gel como sustrato portador. [Tesis]. Universidad de San Carlos de Guatemala: 106p; [consultado el 27 de agosto de 2020]. http://biblioteca.usac.edu.gt/EPS/01/01_2500.pdf
- González-Guñeiz R, Silva-Aguayo G, Urbina-Parra A, Gerding-González M. 2016. Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill y *Eucalyptus nitens* H. Deane & Maiden (Myrtaceae) para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chil. j. agric. anim. sci.* 32(3):110-216. doi: [10.4067/S0719-38902016005000005](https://doi.org/10.4067/S0719-38902016005000005)
- Gusman-Novoa E, Vandame R, Arechavaleta ME. 1999. Susceptibility of European and Africanized bees (*Apis mellifera* L.) to *Varroa jacobsoni* Oud. in Mexico. *Apidologie (Celle)*; [consultado el 27 de julio de 2020]. 30(2-3):173–182. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00891576>
- Huamán N, Silva G. 2020. Efecto acaricida de aceite esencial de molle (*Schinus molle*) en el control de *Varroa destructor* en colmenas de abejas (*Apis mellifera*). *Agroind. Sci.*; [consultado el 17 de noviembre de 2019] 10(2):145–151. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience/article/view/2974/3302>
- Imdorf A, Bogdanov S, Ibáñez R, Calderone N. 1999. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honeybee colonies. *Apidologie (Celle)*. 30 (2–3):209–228. doi: [10.1051/apido:19990210](https://doi.org/10.1051/apido:19990210)
- Jankowska M, Lapied B, Jankowski W, Stankiewicz M. 2019. The unusual action of essential oil component, menthol, in potentiating the effect of the carbamate insecticide, bendiocarb. *Pestic. Biochem. Physiol.* 180:101-111. doi: [10.1016/j.pestbp.2019.04.013](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.04.013)
- Julio E. 2018. La familia de la apicultura [Figura]. *The beekeeping of family*; [modificado el 22 de febrero de 2018; [consultado el 23 de agosto de 2020]. <https://lafamiliapicola.blogspot.com/2018/02/>
- Kraus B, Koeniger N, Fuchs S. 1994. Screening of substances for their effect on *Varroa jacobsoni*: attractiveness, repellency, toxicity, and masking effects of ethereal oils. *J. Apic. Res.* 33(1):34–43. doi: [10.1080/00218839.1994.11100847](https://doi.org/10.1080/00218839.1994.11100847)
- May T, Rodríguez S. 2012. Plantas de interés apícola en el paisaje. observaciones de campo y la percepción de apicultores en República Dominicana. *Rev. geogr. Am. Cent.* [consultado el 25 de julio de 2020]. 48:133–162. <https://www.revistas.una.ac.cr/index.php/geografica/article/view/4002/3843>

- McKay DL, Blumberg JB. 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother. Res.* 20(7):519-530. doi: [10.1002/ptr.1900](https://doi.org/10.1002/ptr.1900)
- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Aréchiga-Flores CF, Aguilera-Soto JI, Gutiérrez-Piña FJ. 2011. Efecto del nivel de infestación de *Varroa destructor* sobre la producción de miel de colonias de *Apis mellifera* en el altiplano semiárido de México. *Rev. mex. de cienc. Pecuarias.* [consultado el 20 de junio de 2020]. 2(3):313–317. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242011000300006
- Milani N. 1999. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie (Celle)*. 30(2–3):229–234. doi: [10.1051/apido:19990211](https://doi.org/10.1051/apido:19990211)
- Montoya G. 2010. Aceites esenciales una alternativa de diversificación para el eje cafetero. 1a Ed. Universidad Nacional de Colombia sede Manizales. [consultado 27 de jul. de 2020]. <http://www.bdigital.unal.edu.co/50956/7/9588280264.pdf>
- Morales M. 2019. Evaluación de la actividad insecticida de aceites esenciales de menta (*Mentha pulegium*) Y eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) para el control del gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*). [Tesis]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. 92p; [consultado el 7 de agosto. De 2020]. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3847/1/T-UTEQ-0195.pdf>
- Moritz RF, Härtel S, Neumann P. 2005. Global invasions of the western honeybee (*Apis mellifera*) and the consequences for biodiversity. *Ecoscience*. 12(3):289–301. doi: [10.2980/i1195-6860-12-3-289.1](https://doi.org/10.2980/i1195-6860-12-3-289.1)
- Natsopoulou ME, McMahon DP, Paxton RJ. 2016. Parasites modulate within-colony activity and accelerate the temporal polyethism schedule of a social insect, the honeybee. *Behav. Ecol. Sociobiol.* [consultado el 12 de noviembre de 2019]. 70(7):1019–1031. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00265-015-2019-5>
- Nazzi F, Le Conte Y. 2016. Ecology of *Varroa destructor*, the major ectoparasite of the western honeybee, *Apis mellifera*. *Ann. Appl. Biol.* 61(1):417–432. doi: [10.1146/annurev-ento-010715-023731](https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023731)
- Neira M, Heinsohn P, Carrillo R, Báez A, Fuentealba J. 2004. The Effect of Lavender and Laurel Essential Oils on *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Acari: Varroidae). *Agric. Téc. Bioline international.* [consultado el 5 de noviembre de 2019]. 64(3):238-244. <http://www.bioline.org.br/request?at04025>
- Peldoza J. 1994. Apicultura y control de Varroasis [internet]. Colección Manuales Prácticos FAO. Santiago de Chile: FAO.144. [Consultado el 02 de agosto del 2020]. <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/011/ak399s/ak399s00.pdf>
- Pereira R, Fachineto R, Prestes A, Puntel R, Silva G, Heinzmann B, Boschetti T, Athayde M, Bürger M, Morel A, Morsch V, Rocha J. 2009. Antioxidant Effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. *Neurochem. Res.* 34:973–983. doi: [10.1007/s11064-008-9861-z](https://doi.org/10.1007/s11064-008-9861-z)
- Pilataxi H. 2017. Evaluación de diferentes dietas alimenticias en la formación de núcleos de abejas. [Tesis]. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. 110p; [consultado el 12 de agosto de 2020]. <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/7756>
- Pino O, Sánchez Y, Rodríguez H, Correa TM, Demedio J, Sanabria JL. 2011. Chemical characterization and acaricidal activity of the essential oil from *Piper aduncum* subsp. *ossanum* against *Varroa destructor*. *Rev. Protección Veg.* [consultado el 20 de junio de 2020]. 26(1):52–61. <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/186/168>

- Pomagualli C. 2017. Acaricidas sintéticos y naturales para el control de *Varroa destructor* en colmenas *Apis mellifera*. [Tesis]. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. 87p; [consultado el 3 de noviembre de 2019]. <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/8140>
- Rickli M, Imdorf A, Kilchenmann V. 1991. Varroa-Bekämpfung mit Komponenten von ätherischen Ölen. *Apidologie (Celle)*. 22 : 417-421. doi : [10.1051/apido:19910406](https://doi.org/10.1051/apido:19910406)
- Ruffinengo S, Eguaras M, Floris I, Faverin C, Bailac P, Ponzi M. 2005. LD50 and repellent effects of essential oils from Argentinian wild plant species on *Varroa destructor*: *J. Econ. Entomol.* 98(3):651–655.
- Santillán-Galicia M, Ball B, Clark S, Alderson P. 2015. El virus de la parálisis lenta de la abeja y su transmisión por *Varroa destructor*: *J. Apic. Res.* 1(1):146–154.
- Schatton-Haselmayer K, Engels W. 1988. Hemolymph Proteins and Body Weight in Newly Emerged Worker HoneyBees According to Different Rates of Parasitation by Brood Mites (Hymenoptera: Apidae: *Apis mellifera* / Acarina: Varroidae: *Varroa jacobsoni*. *Entomol. Gener.* 14:93–101. doi: [10.1127/entom.gen/14/1988/093](https://doi.org/10.1127/entom.gen/14/1988/093)
- Sebeok TA, Lindauer M, Kellogg WN, Lilly JC. 1963. Communication among social bees. *Language.* 39(3): 448.doi:10.2307/411126.
- Tautz J, Maier S, Groh C, Rössler W, Brockmann A. 2003. Behavioral performance in adult honeybees is influenced by the temperature experienced during their pupal development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; [consultado el 4 de agosto de 2020]. 100 (12):7343–7347. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC165877/>
- Weinberg KP, Madel G. 1985. The influence of the mite *Varroa jacobsoni* oud. on the protein concentration and the haemolymph volume of the brood of worker bees and drones of the honeybee *Apis mellifera* L. *Apidologie (Celle)*; [consultado el 20 de agosto de 2020]. 16 (4):421-436. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00890670/document>

7. ANEXOS

Anexo 1. Abeja con presencia de *Varroa*.



Anexo 2. *Varroa* observada a través de un estereoscópico.

