

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA



“Evaluación de la eficacia de dos tratamientos a base de aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*) y un tratamiento con ácido orgánico para el control de la varroa (*Varroa destructor*) en abejas (*Apis mellifera*)”

AUTOR:

Jennifer Estefanía Lozada Lozada

TUTOR:

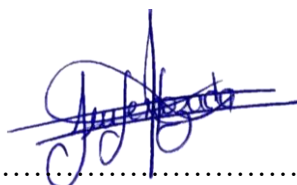
Ing. Oscar Patricio Núñez Torres

CEVALLOS

2023

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, JENNIFER ESTEFANÍA LOZADA LOZADA, portador de cédula de identidad número: 1804425914, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: **“Evaluación de la eficacia de dos tratamientos a base de aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*) y un tratamiento con ácido orgánico para el control de la varroa (*Varroa destructor*) en abejas (*Apis mellifera*)”** es original, auténtico y personal. En la virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



.....
JENNIFER ESTEFANÍA LOZADA LOZADA

C.I. 1804425914

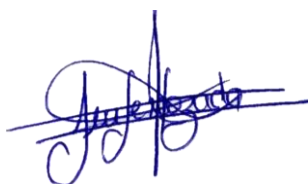
AUTOR

DERECHOS DEL AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “Evaluación de la eficacia de dos tratamientos a base de aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*) y un tratamiento con ácido orgánico para el control de la varroa (*Varroa destructor*) en abejas (*Apis mellifera*)” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.

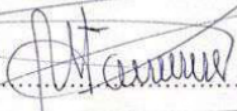


JENNIFER ESTEFANÍA LOZADA LOZADA


APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

“Evaluación de la eficacia de dos tratamientos a base de aceite esencial de ruda (*Ruda graveolens*) y un tratamiento con ácido orgánico para el control de la varroa (*Varroa destructor*) en abejas (*Apis mellifera*)”

REVISADO POR:


.....
Ing. Patricio Núñez, PhD.

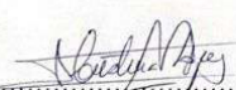
TUTOR


.....
Ing. Patricio Núñez, PhD.

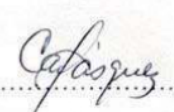
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN.

FECHA:

31/08/2023
.....


.....
BQF. Mg. Isabel Cristina López Villacis.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN.


.....
Ing. Carlos Luis Vásquez Freitez, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

31/08/2023
.....

DEDICATORIA

A Dios por permitirme llegar hasta este punto y haberme brindado la salud para lograr esta y varias metas de mi vida, además de todas las bendiciones que ha derramado sobre mí y mi familia.

A mi madre Guadalupe por nunca dudar de mí y darme ese empujón que más de una vez necesite para ver este sueño hecho realidad.

A mi padre Luis por guiarme y enseñarme a no rendirme ante las adversidades de la vida brindándome día a día un ejemplo de perseverancia y constancia.

A mis hermanos Cristina y Mauricio por siempre regáleme palabras de consuelo y una mano amiga cuando lo he necesitado. Su presencia en mi vida ha sido fundamental para no rendirme y siempre ir hacia delante.

A mis sobrinas Camila y Emilia, que con sus locuras y ocurrencias pintan mis días de colores.

A mi fiel compañera de desvelos mi mascota Annie, que me acompañó durante toda mi carrera universitaria dormida a mi lado mientras estudiaba recordándome que no estoy sola. Esto también es para ti.

Y sin dejar atrás a toda mi familia por confiar en mí, a mis abuelitos, tíos y primos, gracias por ser parte de mi vida y por permitirme ser parte de su orgullo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de tener y disfrutar de mi familia, gracias a la vida porque día a día me demuestra lo hermosa y justa que es.

Agradezco a mis padres por ser los pilares fundamentales de mi existencia, por jamás soltarme y siempre brindarme su apoyo incondicional tanto en mi vida académica como personal, por ser el motor de inspiración que he tenido para cumplir esta meta y varios sueños que siguen plasmados a futuro.

A mis hermanos que siempre me han brindado su consejo, cariño y una mano amiga antes las dificultades de la vida.

Agradezco a mi tutor Ing. Patricio Núñez por su paciencia y dedicación en la elaboración conjunta de este documento.

Un agradecimiento muy especial al Econ. Franklin Vilca por permitirme llevar a cabo una parte de mi proyecto en su distinguido Apiario, de igual forma por poner a mi disposición todos sus conocimientos con respecto a la apicultura.

A mis amigos y compañeros que me acompañaron en esta etapa, entre risas y tareas nos encaminamos a cumplir juntos esta meta.

A todos los docentes, administrativos y personal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias que fueron parte clave en mi formación académica, dejando varios de ellos una huella en mí y un profundo agradecimiento por todos los conocimientos y lecciones de vida que me brindaron.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

CAPITULO 1	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1 Antecedentes Investigativos	1
1.1.1 Generalidades	6
1.1.2 Integrantes de la colonia.....	7
1.1.3. Generalidades biológicas de la abeja	8
1.1.3 Enfermedades comunes.....	10
1.1.5 Varroa	10
1.1.5.4 Morfología de la <i>varroa destructor</i>	11
1.1.5.5 Ciclo biológico.....	11
1.1.5.6 Diagnóstico	12
1.1.5.8 Tratamiento.....	13
1.1.6 Métodos de defensa sanitaria de la colonia	13
1.1.8 Generalidades de la ruda.....	13
1.1.9 Generalidades del ácido oxálico	17
1.2 Objetivos.....	18
1.2.1. Objetivo general.....	18
1.2.2. Objetivos específicos	18
CAPÍTULO II	19
METODOLOGÍA	19
2.1 Materiales y equipos.....	19
2.1.1 Ubicación geográfica	19
2.2 Equipos y materiales.....	19
2.1.2 Protección para el operario	20
2.1.3 Materiales de laboratorio.....	20

2.1.4 Materiales de oficina	21
2.2 Factores de estudio	21
2.3 Métodos	21
2.3. 1 Diagnóstico	21
2.3.2 Preparación de la colmena	22
2.3.3 Revisión de las colmenas pre-aplicación de tratamientos	22
2.3.4 Obtención del aceite esencial de ruda.....	22
2.3.4.1 Recolección de la Materia Prima.	22
2.3.4.2 Tratamiento Pos-cosecha de las Hojas	23
2.3.4.3 Extracción del Aceite Esencial	23
2.3.6 Implantación de tratamientos.....	24
2.3.6.1 Tratamiento en base a aceite esencial de ruda	24
2.3.6.2 Tratamiento con ácido oxálico.....	24
2.4. Variables respuesta	25
Varroa muertas/día.....	25
Porcentaje de infestación de Varroa (%).....	25
2.5. Diseño experimental.....	26
CAPÍTULO III.	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
CAPÍTULO IV.....	30
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	30
4.1 Conclusiones.....	30
4.2 Recomendaciones	30
ANEXOS.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción zoológica de las abejas.....	6
Tabla 2. Porcentaje de infestación de <i>varroa destructor</i> durante la investigación de campo.....	27
Tabla 3. Porcentaje de efectividad de los diferentes tratamientos	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes formas de integrantes de la colonia. Parte superior insectos vistos desde arriba. Inferior insectos vistos de frente	8
Figura 2. Anatomía externa de la abeja.....	9
Figura 3. Estructura química de Metil-nonil cetona.....	14
Figura 4. Estructura del Metil etil cetona.....	14
Figura 5. Estructura química de furoacridona y quinolina.....	15
Figura 6. Estructura química de Quercetina y Rutina.....	15
Figura 7. Estructura química de Pinene	16
Figura 8. Estructura química de Limeneno.....	16

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal la evaluación de la eficacia de dos tratamientos a base de aceite esencial de ruda y el uso de ácido oxálico para el control de *Varroa destructor* en abejas (*Apis mellifera*), el experimento se llevó a cabo en los Apiarios “El sueño” y “Vilmor” ubicados en las Parroquias Atahualpa y la Península respectivamente del Cantón Ambato. Se trabajó con 15 unidades experimentales, las mismas fueron divididas en 5 tratamientos: T0 (control), T1 (5g de ácido oxálico), T2 (10g de ácido oxálico), T3 (aceite esencial de ruda al 10%) y T4 (aceite esencial de ruda al 15%). El trabajo de campo tuvo una duración de 20 días en donde se procedió a colocar 3 diferentes aplicaciones en un lapso de 8 días cada una. Se registraron valores en la infestación inicial llegando a una media de 14,42%, la cual se redujo hasta llegar a 1,67% en el tratamiento con mayor efecto acaricida, T2, siendo este el mejor resultado, seguido de T1, T4 y T3. De la misma manera se identificó el margen de efectividad, en donde T2 obtuvo el mejor porcentaje con 86,74 con diferencia significativas en relación a T1, T4 y T3. Al concluir la investigación se determinó que en los diferentes tratamientos los que obtuvieron mejores resultados acaricidas son los que mayor cantidad y concentración del principio activo poseían en este caso T2 y T4 (10g de ácido orgánico y aceite esencial de ruda al 15% respectivamente).

Palabras clave: *Apis mellifera*, ácido oxálico, aceite esencial de ruda, *Varroa destructor*, infestación, efectividad

SUMMARY

The main objective of this research work was to evaluate the efficacy of two treatments based on rue essential oil and the use of oxalic acid for the control of *Varroa destructor* in bees (*Apis mellifera*), the experiment was carried out in the Apiaries "El sueño" and "Vilmor" located in the Atahualpa and the Peninsula Parishes respectively of the Ambato Canton. We worked with 15 experimental units, which were divided into 5 treatments: T0 (control), T1 (5g of oxalic acid), T2 (10g of oxalic acid), T3 (essential oil of rue at 10%) and T4 (oil essential rue at 15%). The field work lasted 20 days where 3 different applications were placed in a period of 8 days each. Values were recorded in the initial infestation reaching an average of 14.42%, which was reduced to 1.67% in the treatment with the greatest acaricidal effect, T2, this being the best result, followed by T1, T4 and T3. In the same way, the effectiveness margin was identified, where T2 obtained the best percentage with 86.74 with significant differences in relation to T1, T4 and T3. At the conclusion of the investigation, it was determined that in the different treatments the ones that obtained the best acaricidal results were those with the highest amount and concentration of the active principle, in this case T2 and T4 (10g of organic acid and 15% rue essential oil respectively).

Keywords: *Apis mellifera*, oxalic acid, rue essential oil, *Varroa destructor*, infestation, effectiveness

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos

Varroa destructor ha sido combatida usando métodos físicos y sintéticos, pero ninguno ha demostrado ser 100% efectivo al momento de mantener la colmena totalmente protegida de dicho parásito (**Preedy, 2016**). Dentro de los apiarios se utilizan de forma rutinaria algunos tratamientos de carácter químico para llevar cierto control sobre este acaro, pero algunos estudios han demostrado que el uso excesivo y mal manejo de los productos han arrojado resultados realmente alarmantes ya que se observa resistencia a productos que inicialmente ayudaban a mantener el panal libre del patógeno (**Cameron & Ellis, 2021**).

Entre los acaricidas químicos usados para eliminar la varroa se tiene el fluvalinato y cumafós, estos han presentado valores de hasta un 95% de efectividad, pero el ácaro ya desarrolló resistencia a estos acaricidas y la presencia de residuos a nivel de productos derivados de la abeja significa graves pérdidas económicas para el apicultor, los métodos sintéticos tienen que ser usadas como último recurso (**Underwood & López, 2019**). **Neiraet al. (2011)** argumentan en base a una revisión científica que elementos tales como el fluvalinato, utilizado como acaricida deja residuos a nivel de cera en la cámara de cría y provoca un incremento en la prevalencia de daños en el desarrollo larvario como por ejemplo una disminución de peso y tamaño al nacer, pero características como el color, aroma y mortalidad no se vieron influidas por el producto, se llegó a la conclusión que la dosis letal media es de >18 ppm en los 3 estadios larvarios estudiados.

En otras investigaciones en donde se obtuvieron resultados muy significativos en lo que corresponde a la mortalidad del ácaro, se trabajó con el uso de ácido fórmico y timol para el control de la infestación en las colonias de abejas *Apis mellifera*, en el estudio se usaron 36 colmenas contaminados de varroa las mismas fueron divididas aleatoriamente en 4 grupos de 9 unidades experimentales cada uno. En el grupo

número 1 se colocó ácido fórmico al 65%, el grupo 2 se lo trató con 12,5g de timol por aplicación, el tercero con 25g de timol y finalmente el grupo número 4 fue un tratamiento control, es decir no fue puesto a prueba con ningún tipo de tratamiento, al terminar con el periodo de campo se colocaron tiras con flumetrina con el propósito de exterminar con cualquier sobrante del ácaro. Al finalizar el estudio se pudo constatar que los 3 productos tuvieron un mayor porcentaje de efectividad en las 2 primeras aplicaciones. En lo que respecta a los resultados podemos mencionar que el grupo 2 mostro una efectividad mayor a los demás tratamientos siendo este del 92,1%, seguido a esto tenemos el grupo tratado con ácido fórmico al 65% con un porcentaje de eficacia del 66,4. Estadísticamente hablando estos tratamientos con mayor respuesta mataron una cifra significativa de varroa (**Espinosa & Guzmán, 2007**).

La siguiente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto acaricida de infusiones de eucalipto, zacate limón, menta y naranja agria. Se trabajaron con 40 unidades experimentales (colmenas), las mismas se encontraban parasitadas de *Varroa destructor*. Se dividieron en 4 diferentes grupos, se colocó el producto en cada colmena una vez por semana en un lapso de 21 días, el nivel de infestación fue contabilizada cada 7 días. En lo que respecta a resultados, el grupo tratado con infusión de naranja agria con 1 y 2 aplicaciones arrojaron porcentajes de mortalidad de varroa del 65,8 y 56,8 respectivamente, seguido a esto se tiene las infusiones de eucalipto con un porcentaje del 51,6%. Por otro lado, cabe recalcar que con el uso de tres infusiones de menta la investigación tuvo una pérdida de 2 colmenas por migración, en cambio con dos aplicaciones de zacate limón no hubo cambios significativos en la caída de varroa. Es decir, solo el grupo tratado con naranja agria con una aplicación por cuadro mostro significancia estadística ($P < 0.05$) (**Cueto & Estevez, 2019**).

Se evaluó dos diferentes tratamientos con la finalidad de medir el nivel de eficacia con respecto a la disminución de *Varroa destructor* en abejas usando Tinturas de ruda (*Ruta chalepensis*) al 10% y Guachipilín (*Diphysa robinoides*) al 20%. Se trabajó con un grupo de 21 colmenas con un nivel de infestación de alrededor del 3%, fueron divididas en tres grupos, uno de ellos corresponde al tratamiento control, se colocaron tres dosis de los diferentes productos en un intervalo de 7 días. Las variables sometidas a estudio fueron: la eficacia de los tratamientos (tinturas de ruda al 10% y Guachipilín

al 20%), efectividad y nivel de infestación. Es importante mencionar que para que un acaricida sea considerado efectivo tendrá que mostrar resultados mayores o iguales al 95% de ácaros muertos en las colmenas. Los resultados obtenidos fueron: tintura de ruda al 10% mismo que obtuvo un 74% de eficacia a diferencia de la tintura de Guachipilín al 20% con un 85%, estadísticamente hablando no existe cambios estadísticos pero el segundo tratamiento tiene un mayor efecto en el aumento de la mortalidad de la varroa **(Cifuentes, 2014)**.

Existen varios métodos de control de varroa, en la siguiente investigación nos muestra la evaluación del sistema de atrapado de ácaros en panales de cría, como tratamiento para la varroasis. Se trabajó en abejas con colmenas tipo Lanstrongh, en primera instancia se confinó a las abejas reinas de todas las colmenas en lo que son panales trampa esto para que se pueda mantener controlada la ovoposición. Se llevó al laboratorio las celdas de cría con la finalidad de desopercularlas y contar el número exacto de varroas en las mismas, este método se instauró variando el número de panales trampa colocados, tanto para cuadros con celdas de obreras como para zánganos. Los resultados revelan que esta práctica solo es efectiva a niveles aceptables cuando se colocan 3 panales de cría de zánganos dejando un 84% de efectividad, al contrario, cuando se aplicó el procedimiento en celdas de obreras los márgenes de efectividad disminuyeron al 14%. Como ventaja se puede mencionar que al no incluir elementos químicos es un sistema totalmente amigable al ecosistema y no muestra contaminación a nivel de miel ni sus derivados, pero como desventaja podemos citar que disminuye considerablemente los niveles de producción de miel lo que conlleva a grandes pérdidas económicas para los apicultores **(Damiani & Marcangueli, 2006)**.

En la siguiente investigación se evaluó el control de *Varroa destructor* con el uso de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh), Clavo (*Eugenia caryophyllata* Thunb), y extracto comercial de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss), los mismos fueron aplicados usando como vehículo un sustrato de gel. Básicamente el objeto de estudio se basó en la determinación de la toxicidad de los mismos sobre el ácaro y por otro lado la efectividad que presenta cada uno. Se utilizaron colmenas de tipo Lanstrongh, los tratamientos empleados fueron en total siete con cuatro repeticiones cada uno. El primer grupo tenía como base el uso de gel con 5% de aceite esencial de eucalipto, el segundo grupo uso gel con el 15% de extracto de Nin, tercer grupo gel con 25% de aceite esencial de clavo, cuarto grupo solo gel, quinto grupo fue el testigo, en el sexto se colocó ácido oxálico y finalmente en el grupo número siete se aplicó flumetrina (**García, 2009**).

A nivel estadístico se pudo observar que los grupos tratados con métodos tradicionales y los grupo manejados con aceite de eucalipto y Nin no presentaron diferencias significativas. En lo que corresponde al grupo en donde se aplicó aceite esencial de clavo con sustrato en gel no presento niveles de eficacia matando ácaros pero si existió cierto retardo en la multiplicación del mismo. Los mejores resultados los tienen el aceite esencial de eucalipto y extracto de Nim ya que tuvo una alta significancia en el ataque contra los ácaros, el primer provoco un 100% de mortalidad de la varroa a diferencia del aceite de Nim que solo obtuvo una eficacia del 70% (**García, 2009**)

Algunos autores han citado el uso del humo de diferentes plantas para el control de la varroa entre ellos se puede citar la siguiente investigación en donde se tomó alrededor de 250 abejas, las mismas que fueron diagnosticadas con un 28% de infestación de varroa. En este caso se trabajó con tres tratamientos. En el conjunto 1 se aplicó el uso de humo de Salvia, en el 2 en cambio se trabajó con el uso de humo de Caña Santa, finalmente un tratamiento control al que no se le aplico el uso de ningún tipo de tratamiento. Se hicieron 3 aplicaciones en un periodo de tiempo de 24 días, es decir cada aplicación se dio cada 7 días, cuando se llevó a cabo la última dosis del producto se procedió a contar el número exacto de varroas y abejas muertas, esto con el objetivo de realizar una comparación entre los diferentes métodos llevados a cabo. El tratamiento que mejores resultados obtuvo en esta investigación fue el tratamiento 1 (humo de Salvia) ya que mostró una eficacia del 73,33% a diferencia del tratamiento

2 (humo de Caña Santa) que tuvo un porcentaje del 69,23%. Se llegó a la conclusión que en el estudio existió una dependencia dosis – efecto en la actividad acaricida generado por la combustión generada por la Salvia y la Caña Santa (**Rodríguez et al., 2020**).

Se otra investigación realizada se evaluaron 3 tratamientos tradicionales para el control de la varroasis. Por un lado se menciona el tratamiento 1 en el que el autor trabaja con Ácido Fórmico (al 85%), el tratamiento 2 Ácido Oxálico (al 10% en jarabe de azúcar) en el caso del tratamiento 3 se tiene Timol (al 99% diluido en aceite de oliva) finalmente se incluyó un tratamiento número 4 (T0). Cada grupo está conformado por 4 colmenas con abejas de tipo Lantrongh, el tiempo en el que se instauró el campo fue de un mes. Inicialmente se determinó el nivel de infestación inicial que cada unidad experimental poseía, con la finalidad de solo seleccionar las colmenas que tuvieran un porcentaje similar de contaminación, en el caso del ácido fórmico es colocó 2 veces, es decir fue aplicado cada 15 días con la ayuda de un rociador, en cambio el ácido oxálico fue colocado en 4 ocasiones en lapsos de tiempo de 4 días. El timol disuelto en aceite de oliva fue aplicado cada 8 días. A nivel de eficacia se puede mencionar que con mejores resultados fue el uso de ácido fórmico ya que presenta un 95,1% y no tiene ninguna repercusión en los objetos de estudio en este caso las abejas, seguido a este se situó el ácido oxálico al 10% con un nivel de eficacia del 84,45%. De igual forma se tomó como variable la opción costo-beneficio en donde se observa el bajo costo que conlleva el uso de ácido fórmico en el control de varroasis (8,2 dólares/colmena) (**Díaz et al., 2019**). Hoy por hoy se incursiona en el uso del ácido oxálico por medio de dispositivos con una fuente de calor que convierte al ácido en gas, el mismo lo expelen a la colmena a través de la piquera (**Calatayud, 2014**).

Finalmente se tiene el uso del ácido oxálico, **Navarrete (2019)** obtiene resultados positivos al uso de ácido oxálico frente al control de varroa, la población del ácaro disminuyó de un 6,36% a un 0,35%, lo que se sitúa como una cifra totalmente manejable. De igual forma (**Morocho , 2021**) en su trabajo de investigación obtiene resultados favorables con respecto al uso de ácido oxálico, en su documento se describe el uso de 3 vías de administración del producto, se trabaja en 20 colmenas con una tasa de infestación del 0,84%, los resultados arrojados tuvieron una diferencia significativa del ($p < 0,05$) entre los tratamientos, por un lado tenemos un porcentaje de eficacia del

86,26% en el tratamiento a base de tiras de celulosa + ácido oxálico + glicerina, el segundo tratamiento se lo realizó con el uso de ácido oxálico + azúcar + agua destilada y el resultado de eficacia fue de 83,94% finalmente el último tratamiento a base de ácido oxálico dihidratado tuvo un porcentaje de eficiencia del 81,67%. Demostrando así que los mejores resultados los arroja el uso de las tiras de celulosa + glicerina + ácido oxálico.

1.1.1 Generalidades

Uno de los procesos de vital importancia para la reproducción de las plantas es la polinización, al hablar de este proceso nos referimos a la transferencia de polen desde estambres hasta el estigma de la planta, este intercambio da lugar a la fecundación, producto de dicho proceso obtenemos el fruto y por ende la semilla. Este ciclo es realizado tanto por factores abióticos como el agua y el viento, por otro lado los bióticos en donde encontramos a diferentes insectos. Cabe recalcar que las abejas tienen por excelencia el título de polinizadoras, es por esta razón que su conservación es de vital importancia tanto en el campo económico como ecológico (**Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), 2014**)

Descripción zoológica

Tabla 1. Descripción zoológica de las abejas

Reino	Animalia
Phyllum	Arthropoda
Clase	Insecta
Orden	Hymenopteran
Familia	Apidae
Género	Apis
Especie	Apis mellifera

Fuente: (**Mendizabal, 2004**)

Origen

La abeja (*Apis mellifera*) tiene su origen a nivel del viejo mundo, esta especie fue traída a América por colonizadores. **Roblero (2013)** argumenta que estos insectos han sido elegidos por apicultores por sus excelentes características tales como el comportamiento a nivel productivo, producción melífera y su docilidad al manejo. Las abejas elaboran productos tales como miel por medio del néctar de diversas flores,

polen apícola y propóleo por medio de las resinas vegetales (**Vit, 2004**).

La colmena

Las abejas son insectos sociales, no tienen la capacidad de vivir de manera solitaria necesitan formar parte de un colonia. Dentro de este ecosistema se puede encontrar un sinnúmero de individuos que forman parte esencial y cumplen diferentes roles (**Mendizabal, 2004**).

1.1.2 Integrantes de la colonia

Zánganos

Los machos o zánganos se destinan exclusivamente a la procreación, esto es el acto de fecundar a la reina durante el vuelo nupcial, la única hembra completa de la colonia que dedica toda su vida a la puesta de huevos (**Jean- Prest, 2007**).

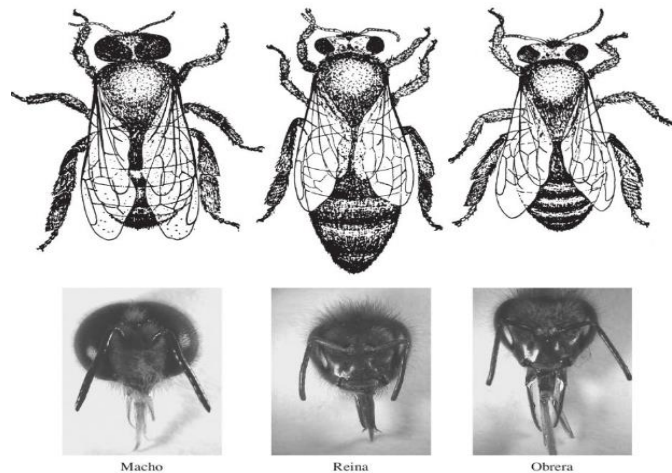
Obreras

La existencia de la abeja obrera tiene una duración de aproximadamente 40 a 45 días. Las obreras desempeñan en las distintas etapas de su existencia casi todas las funciones dentro de la colmena. En los primeros días que siguen a su nacimiento se ocupan de la limpieza de las celdas. Posteriormente se convierten en nodrizas, alimentando a las larvas de las celdillas con polen y miel, a partir del momento en que advierten que la producción de jalea real decrece, lo que sucede a los seis o siete días de haber estado ejerciendo de nodrizas, activan el funcionamiento de las glándulas cereras y se aplican a la producción de panal (**Jean- Prest, 2007**).

Reina

La reina es la hembra perfecta de la colmena y madre de todos los huevos que se transformarán en larvas, y posteriormente en pupas, dentro de las celdas de cría. Efectúa la puesta a cadencia de más de mil huevos diariamente y su vida puede ser excepcionalmente larga en comparación con la de los demás individuos de la colonia. Su existencia puede prolongarse hasta 4 a 5 años (**Jean- Prest, 2007**).

Figura 1. Diferentes formas de integrantes de la colonia. Parte superior insectos vistos desde arriba. Inferior insectos vistos de frente



Nota: Adaptado de *Apicultura: Conocimiento de la abeja. Manejo de la colmena*, **Jean-Prest, 2007**, (<https://n9.cl/pgyf1>).

Longevidad de las abejas

En primer lugar las obreras, tienen un lapso de tiempo relativamente corto, las nacidas en verano viven de 4 a 5 semanas, en cambio las nacidas en invierno tienen un tiempo más largo de vida de 6 a 7 meses. Por otro lado, los zánganos en invierno tienen un intervalo de tiempo de 22 a 50 días pero si nacen en invierno son expulsados de la colmena con la finalidad de provocarles una muerte temprana. Finalmente la reina, esta es la que más tiempo sobrevive alrededor de 5 años (**Mendizabal, 2004**).

1.1.3. Generalidades biológicas de la abeja

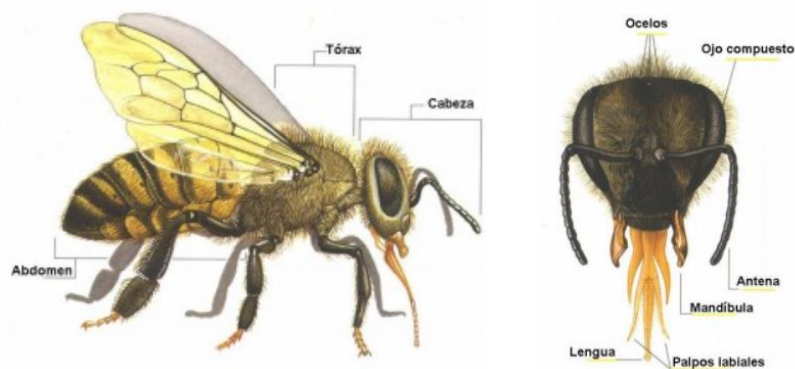
Las partes de una abeja son su cabeza, tórax y abdomen.

Cabeza.- Conformada en primera instancia por las antenas una a cada lado de la cabeza, de la misma forma sus enormes ojos, en la parte inferior se observa la boca la misma que se encuentra estructurada por dos labios, 2 maxilas y dos mandíbulas unidas entres si, forman una compleja red de tubos misma que permite absorber el néctar, expulsar la saliva, recoger el propóleo, defenderse de abejas y otros insectos extraños a la colmena (**Mendizabal, 2004**).

El tórax.- conformado por 2 pares de alas, como dato extra cabe mencionar que según el estado de las alas se puede obtener una idea de la edad de una abeja, de igual forma aquí se encuentran adosadas 3 pares de patas, el primer par tienen la función de limpiar la cabeza y mantener de pie a la abeja, el segundo par sirve para la locomoción finalmente el último par que es el más grande y se encuentra rodeado por pelos gruesos en su cara externa los mismos que forman una especie de transportador el mismo que usan para llevar el polen, solo obreras cumplen con esta característica (**Martínez et al., 2017**).

El abdomen.- su característica principal es tener forma anillada, se encuentra adherida al tórax por una delgada cintura. En este se encuentran alojados la mayoría de los sistemas tales como sistema digestivo, reproductor, sacos pulmonares, cadena nerviosa, corazón y aguijón. En lo que corresponde al sistema reproductor en las reinas y zánganos se encuentra funcional a diferencia a las obreras que esta atrofiado. Como dato interesante se menciona que el aguijón se encuentra en la parte trasera del cuerpo del insecto en el caso de las obreras es usado como método de defensa tanto para la protección de la colonia y su vida, en cambio las reinas solo lo usan para matar a otras reinas, finamente los zánganos no poseen aguijón (**Mendizabal, 2004**).

Figura 2. Anatomía externa de la abeja



Nota: Adaptado de *Fundación amigos de las abejas*, **Llorente, 2008**. (<https://abejas.org/anatomia-externa-de-las-abejas/>)

1.1.3 Enfermedades comunes

Hoy por hoy existe un sin número de amenazas que aquejan a las abejas a nivel global, entre las que se puede mencionar el síndrome de despoblamiento de colmenas en el cual se observa como los panales bajan su productividad por un declive significativo en el número de abejas del grupo llegando en el peor de los casos a la extinción de la colmena, por otro lado se tiene ciertos patógenos que de igual manera lesionan el panal (**Rodríguez, 2016**). Las abejas melíferas domésticas son afectadas ya sea por el uso indiscriminado de pesticidas a nivel agrícola, afecciones víricas (**Zúñiga, 2016**), en las que se encuentran virus pertenecientes a la familia de Dicistroviridae y Flaviridae (**Evansy Schwarz, 2011, como se citó por Zúñiga, 2016**) habla sobre bacterias, entre las más importantes están dadas por *Paenibacillus larvae* y *Melissococcus plutonius*, hongos tales como *Nosema apis* y *Nosema ceranae* desencadenan la llamada nosemosis una patología que daña a la abeja en su estadio adulto.

Finalmente se encuentran las parasitosis causadas por parásitos tales como el ácaro *Varroa destructor*, el piojo *Braula coca*, el ácaro *Tropilaelaps* y el coleóptero *Acthina tumida* (**Bautista, 2016**). En lo que respecta a la *Varroa destructor* la misma se ha situado como el agente patógeno más dañino de las colmenas a nivel mundial conjuntamente con la Laque americana un virus letal para dichos insectos. Estos parásitos absorben la hemolinfa de las abejas causando graves daños a nivel nervioso dificultando la orientación del animal, es importante mencionar que su infección puede acarrear el debilitamiento de la abeja lo que la deja predisponente a patologías víricas, fúngicas y bacterianas (**AGROCALIDAD, 2016**) estos ectoparásitos afectan de forma directa al insecto pero de manera indirecta provocan un declive en la producción agropecuaria dando como resultado grandes pérdidas a nivel económico esto desencadenado por una alta mortalidad y la poca o nula producción apícola, se ha identificado que esta patología incluso puede llevar a la desaparición por completo de la colmena (**Gallegos, 2022**).

1.1.4 Varroa

Flores et al. (2014) La varroa ataca a la abeja en dos estadios de la misma. Primero tenemos la fase reproductiva en donde el ectoparásito se posa sobre las crías de las abejas, se alimenta de la hemolinfa tanto la progenitora como la descendencia

provocando de esta manera graves daños a nivel morfológico de la abeja, tales como malformaciones, falta de tamaño al nacer, alas atrofiadas dejando así abejas poco aptas para la supervivencia por lo que terminan siendo excluidas de la colonia. Por otro lado se tiene los daños provocados en la fase forética, es decir, la adulta si bien es cierto no existe cambio visibles pero influirán de manera importante en las actividades que desarrolla la abeja.

Cabe mencionar que el parásito al alimentarse de hemolinfa se cataloga como un vector de varias enfermedades específicamente de cuadros víricos. Obviamente se presentará un declive significativo en la producción y posteriormente la extinción de la colmena (**Ritter, 1992**) argumenta que a partir de que el agente afectó a las abejas se ha venido desarrollando métodos que permitan eliminar por completo o controlar a la varroa de las colmenas, todos los métodos y sustancias que han sido utilizados se los ha puesto en marcha esto según el nivel de toxicidad presente tanto para la varroa como en la abeja en sí y finalmente los productos provenientes del mismo.

1.1.5.4 Morfología de varroa (*Varroa destructor*)

Al referirse a la morfología se debe separar hembras y machos, las hembras tienen la característica de tener un cuerpo plano y ovalado, un color rojizo oscuro presentan un escudo quitinoso que rodea su cuerpo, sus dimensiones son de aproximadamente 1,1 mm de largo x 1,5 mm de ancho x 0,5 de alto

En cambio los machos tienen dimensiones más pequeñas que las hembras, son periformes y triangulares, en lo que corresponde a su color con blanquecinos amarillentos, en etapas inmaduras suelen ser blanco crema (**OIE, 2018**).

1.1.5.5 Ciclo biológico

Como ya se mencionó la varroa se alimenta de la hemolinfa que obtiene de las abejas, las hembras ponen sus huevos en las celdas mismas que serán selladas por las abejas obreras provocando así un ambiente óptimo para su desarrollo (**Medina et al., 2011**).

Apareamiento.- en primer lugar la hembra pone un huevo macho y el resto hembras, pone alrededor de 1 huevo en un lapso de 30 horas. Cuando el macho llega a su madurez sexual se aparea con la primera hembra, cuando la segunda hija madura este

deja a la primera para reproducirse con la segunda, es importante mencionar que la hembra solo será fecundada en la celda en donde fue colocada (**Medina et al., 2011**).

Oviposición.- los huevos son colocados en celdas de cría de obreras y zánganos siendo estos últimos predilectos ya que tienen un tiempo de desarrollo larvario más largo. La varroa hembra pondrá los huevos en la celda 15 horas antes que esta sea sellada por las abejas adultas, se ubica en la parte baja de la celda para no poder ser eliminada por las abejas encargadas del cuidado de las crías (**Medina et al., 2011**).

Incubación.- en las celdas de los zánganos se puede encontrar de 6 a 7 ácaros en cambio en la de las obreras tan solo de 3 a 4 (**Medina et al., 2011**).

1.1.5.6 Diagnóstico

Diagnóstico en la cría.- En este tipo de procedimientos el operario tendrá que desopercular de 50 a 100 celdas esto en forma de cruz, posterior a esto observar dentro de cada celda, con el fin de determinar la presencia o no de varroa, las mismas puede verse a simple vista por sus colores. Se tendrá que contar el total de larvas para saber el porcentaje de infestación si la misma es mayor al 10% que hace referencia a un intervalo de 10 a 100 larvas la colmena no necesita de manera emergente un tratamiento pero al contrario si es superior a dichos valores se necesita la instauración de métodos de control de varroa (**Vandame et al., 2000**).

Diagnóstico de abejas adultas.- el método más usado es el denominado prueba de Davi De Jong la misma que propone que si la infestación es menos al 5%, es decir 5 de cada 100 varroas, no se implantará de manera urgente tratamientos, pero si es mayor no se tendrá que perder tiempo. Para llevar a cabo este procedimiento se tiene que proceder a tomar un aproximado de 200 abejas, las mismas son sumergidas en alcohol, se procede a agitar el contenedor por un lapso de 5 minutos, en una botella previamente colocada una malla criba en el extremo de la parte superior, se procede a destapar y verter el contenido sobre un paño de colores claros el mismo deberá ser colocado sobre un contenedor ancho, los insectos se quedaran en la malla y los ácaros pasaran al paño dejándose observar de manera sencilla (**Vandame et al., 2000**).

1.1.5.8 Tratamiento

Varroa destructor ha sido combatida usando métodos físicos y sintéticos, pero ninguno ha demostrado ser 100% efectivo al momento de mantener la colmena totalmente protegida de dicho parásito (**Preedy, 2016**). Dentro de los apiarios se utilizan de forma rutinaria algunos tratamientos de carácter químico para llevar cierto control sobre este ácaro, pero algunos estudios han demostrado que el uso excesivo y mal manejo de los productos han arrojado resultados realmente alarmantes ya que se observa resistencia a productos que inicialmente ayudaban a mantener el panal libre del patógeno (**Cameron y Ellis, 2021**).

Entre los acaricidas químicos usados para eliminar la varroa se tiene el fluvalinato y cumafós, estos han presentado valores de hasta un 95% de efectividad, pero el ácaro ya desarrolló resistencia a estos acaricidas y la presencia de residuos a nivel de productos derivados de la abeja significa graves pérdidas económicas para el apicultor, los métodos sintéticos tienen que ser usadas como último recurso (**Underwood & López, 2019**).

1.1.6 Métodos de defensa sanitaria de la colonia

Fernández (2014) alega que las colmenas tienen cero nivel de tolerancia a la varroa. el problema se presenta cuando la cantidad de abejas parasitadas es relativamente grande, a manera de ejemplo se puede citar los diferentes mecanismos para que la varroa no se expanda, entre ellas se tiene el bajo nivel de producción del parásito, es decir cuando la operculación es corta el parásito tiende a morir, de igual manera cabe mencionar el comportamiento grooming en donde las abejas desparasitan a sus compañeras, finalmente varias celdas de crías son exterminadas cuando se detecta al parásito esto se realiza con el fin de mantener un equilibrio en el panal.

1.1.8 Generalidades de la ruda (*Ruta graveolens*)

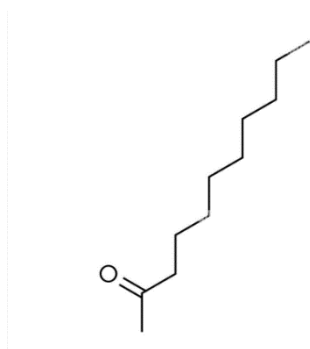
La ruda (*Ruta graveolens*) se define como una hierba de alrededor de un metro, tiene un fuerte aroma, sus flores son amarillentas se cultiva en huertos y jardines, es usada para el tratamiento de problemas digestivos, respiratorios y nerviosos (**Cifuentes, 2014**).

1.1.8.2 Componentes

La composición fotoquímica de la ruda es:

- Cetonas (90%):
 - Metil-nonil cetona

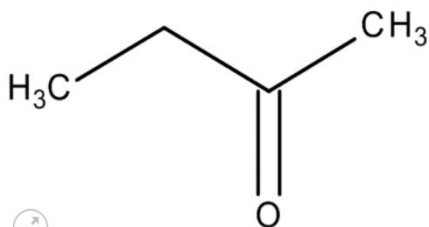
Figura 3. Estructura química de Metil-nonil cetona



Nota: Adaptado de *Molécula de undecanona o metil nonilcetona* por **Alamy, 2021**, Alamy (<https://acortar.link/hjpDoe>)

- Metil etil cetona

Figura 4. Estructura del Metil etil cetona

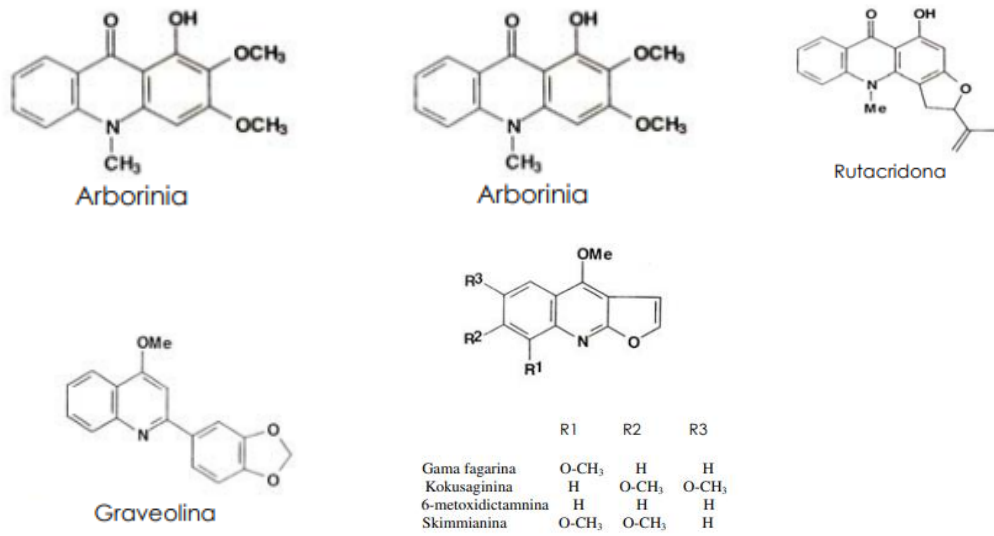


Nota: Adaptado de *Butanone metil etil cetona (MEK) solvente industrial, estructura química*, por **Alamy, 2017** (<https://acortar.link/1iPFLk>)

- Alcaloides (0,4-1,4%):

Del tipo furoacridona y quinolina: arborinina, graveolina, rutacridona, gamafagorina, kokusaginina, 6 metoxidictamnina y sikimmnianina.

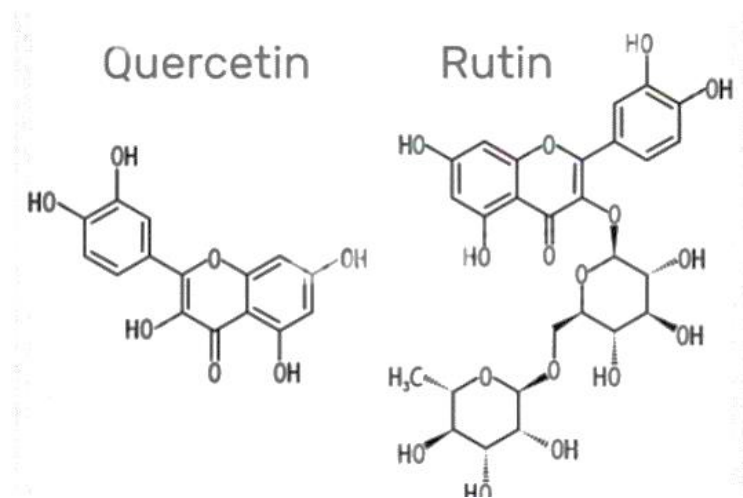
Figura 5. Estructura química de furoacridona y quinolina



Nota: Adaptado de *Ruta graveolens* L. **Universidad Austral de Chile, 2007** (http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fce.77s/doc/monografias/Ruta_graveolens.pdf).

- Flavonoides:
 - Quercetina.
 - Rutina

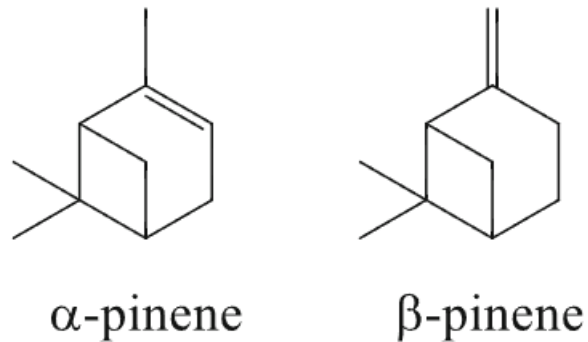
Figura 6. Estructura química de Quercetina y Rutina



Nota: Adaptado de *La quercetina, rutin molécula* por **Alamy, 2021**, Alamy (<https://acortar.link/hjpDoe>)

- Alcoholes:
 - Metil-etil-carbinol
- Hidrocarburos:
 - Pinene.

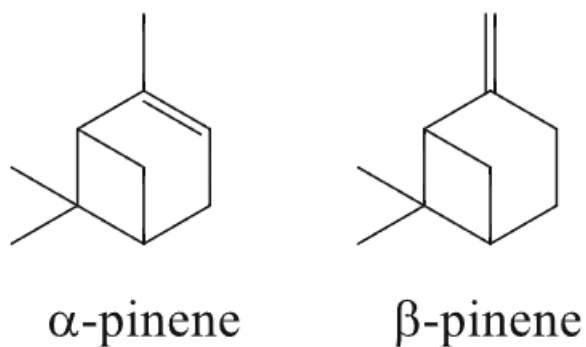
Figura 7. Estructura química de Pinene



Nota: Adaptado de *Biotransformation of α - and β -pinene into flavor compounds*, Vespermann, 2017 (DOI 10.1007/s00253-016-8066-7)

- Limeneno (Benalcázar et al, 2015)

Figura 8. Estructura química de Limeneno



Nota: Adaptado de *Resumen de compuestos de PubChem para CID 22311, limoneno, (+/-)-.Centro Nacional de Información Biotecnológica, 2023* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Limonene>)

Acción del aceite esencial de ruda sobre la varroa

Muñoz (2004) manifiestan que la Ruda está constituida en la mayoría por sesquiterpenos como principio activo que le atribuye a la planta un efecto antihelmíntico, y sedante, se estima valores de 0,2 a 0,7% de Aceite esencial en toda la planta. La varroa ataca principalmente al sistema nervioso bloqueándolo y produciendo somnolencia, así mismo en el sistema circulatorio afecta directamente a la hemolinfa ya que de ella sobrevive, es de vital importancia que se alimenten de la hemolinfa de las abejas, pero con el efecto de la ruda los paraliza y por ende caen de las abejas y muere.

1.1.9 Generalidades del ácido oxálico

Por otra parte, el uso de compuestos orgánicos tales como el ácido oxálico el mismo que se encuentra latente de forma natural en ciertas plantas tales como *Oxalis* y *Rumex*, también se encuentra a nivel de productos derivados del insecto como lo es la miel, y al no tener propiedades degradables no tiene efectos adversos en la misma, se ha demostrado que su pico de eficacia se da cuando la colmena no se encuentra en periodos de cría, adicionalmente se menciona que no presenta efectos adversos si es usada en las dosis recomendables y en periodos de tiempo sugeridos (**Navarrete, 2019**).

Acción del ácido oxálico sobre la varroa

El ácido oxálico actúa matando a los ácaros parásitos, con limitados efectos indeseables para las abejas si se emplea correctamente. Este tratamiento es eficaz porque el ácido oxálico penetra en los tejidos del ácaro e interrumpe el metabolismo celular (**Vásquez, 2006**).

1.2 Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Evaluar de la eficacia de dos tratamiento a base de aceite esencial de ruda (*Ruda graveolens*) y un tratamiento con ácido orgánico para el control de la varroa (*Varroa destructor*) en abejas (*Apis mellifera*).

1.2.2. Objetivos específicos

- Medir la tasa de infestación de varroa en cada colmena pre y post tratamiento.
- Comparar la eficacia de diferentes concentraciones de ácido oxálico y aceite esencial de ruda para el tratamiento de la varroa.

1.3. Hipótesis

Ha: Los tratamiento en base al uso de aceite esencial de Ruda y compuestos orgánicos (ácido oxálico) muestran diferentes niveles de efectividad en lo que corresponde al control de la *Varroa destructor*

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Materiales y equipos

2.1.1 Ubicación geográfica

El experimento se llevó a cabo en Ambato, cabecera cantonal del cantón Ambato y capital de la provincia de Tungurahua, se localiza en el centro de la Región Interandina del Ecuador, específicamente hablando se lo realizó en 2 apiario. El primero ubicado en la Parroquia Urbana la Península, sector El Estadio entre las calles Cochabamba y Asunción. Apiario “Vilrom” con las siguientes coordenadas 1°14'43.5"S 78°36'31.4"W. y el segundo se ubica en la Parroquia Atahualpa en el barrio Corazón de Jesús. Apiario “El sueño” con las siguientes coordenadas 1°12'55.6"S 78°35'48.8"W

2.2 Equipos y materiales

15 colmenas, cada una de las mismas se encuentra conformada por

- Cámara de cría (15)
- Bases de colmenas (15)
- Piquera (15)
- Marcos con cera estampada para cámara de cría (150)
- Entretapas (15)
- Tapas (15)
- Sublimador marca X- nox
- Escobilla
- Alcohol antiséptico (5L)
- Botella de plástico
- Cuchillo
- Encendedor
- Malla gruesa para filtrar las abejas 5mm (13m)

- Malla fina para atrapar ácaros 3mm (½ m)
- 13 pliegos de cartulina blanco
- Marcador negro permanente
- Colador
- Cámara fotográfica
- Mochila
- 2kg de ruda

2.1.2 Protección para el operario

- Traje apícola
- Velo
- Guantes
- Ahumador
- Palanca de apicultor

2.1.3 Materiales de laboratorio

- Destilador
- Microscopio
- Tubos de ensayo
- Olla de 30 litros
- 10 litros de agua destilada
- Estufa
- Balanza
- Agua destilada
- Probetas
- Gas
- Mandil
- Guantes
- Frasco de vidrio ámbar (1)

- Destilador de vapor

2.1.4 Materiales de oficina

- Hojas INEN A4
- Computadora
- Esferos
- Material bibliográfico
- Escritorio
- Cuaderno
- Impresora
- Calculadora

2.2 Factores de estudio

- Las colonias del grupo I (Tratamiento 0) Tratamiento control.
- Las colonias del grupo II (Tratamiento 1) Se usó una cantidad de 5gramos por colmena de ácido oxálico por medio del método de sublimación.
- Las colonias del grupo III (Tratamiento 2) Se usó una cantidad de 10 gramos por colmena de ácido oxálico por medio del método de sublimación.
- Las colonias del grupo IV (Tratamiento 3) Se usó una concentración del 10% de aceite esencial de ruda.
- Finalmente, el grupo V (Tratamiento 4) se usó una concentración del 15% de aceite esencial de ruda.

2.3 Métodos

2.3.1 Diagnóstico

El diagnóstico se realizó por medio de la prueba de David De Jong (1997). Dicha prueba también es conocida como "Lavado de abejas" tiene como finalidad dejar caer los ácaros del cuerpo de la abeja. Se colocó como mínimo 200 abejas en alcohol, se procedió a agitar de manera continua el recipiente por alrededor de 1 minuto, seguido a esto se filtró en un sistema estructurado por mallas en donde la primera fase tiene una malla gruesa es aquí en donde se quedaron las abejas, finalmente la segunda malla

estuvo formada por una malla fina en donde se atrapó en cambio los ácaro (**Polo et al., 2022**).

Tasa de infestación % = (número de ácaros / número de abejas) x 100

El grado de infestación se estableció dividiendo el número de ácaros para el número de abejas por 100 (**Servicio Agrícola y Ganadero, Chile 1994 citado por Guerra y Rosero, 2013**). Si el resultado muestra valores inferiores al 5% no se aplicará un tratamiento de forma emergente, pero si el resultado es mayor al 5% la colonia requiere un tratamiento urgente (**Polo et al., 2022**). Cabe recalcar que estos datos fueron tomados 4 días antes y 4 después de culminar los 20 días de tratamiento. (**Moyón, 2013**).

2.3.2 Preparación de la colmena

Ya identificadas las colmenas contaminadas con un nivel de infestación similar de con *varroa destructor* se procedió a cambiar todo material que no se encuentre en buen estado o no cumpla con las características para un buen manejo apícola (**Moyón, 2013**).

2.3.3 Revisión de las colmenas pre-aplicación de tratamientos

Se observó de manera detallada el comportamiento del panal en un lapso de tiempo de un mes con la finalidad de detectar algún cambio a nivel del comportamiento en las abejas y en la presencia de *varroa* en dichos panales (**Moyón, 2013**).

2.3.4 Obtención del aceite esencial de ruda

2.3.4.1 Recolección de la Materia Prima.

La recolección de la ruda se realizó en la mañana ya que se necesitaba que esta se encuentre fresca para mantener de esta manera sus propiedades químicas y físicas. Se seleccionaron las hojas en un peso fresco de 2kg (**Benalcázar et al, 2015**).

2.3.4.2 Tratamiento Pos-cosecha de las Hojas

Se procedió a eliminar toda clase de impureza de la materia prima, es decir, hojas dañadas, basura etc (**Benalcázar et al, 2015**).

2.3.4.3 Extracción del Aceite Esencial

El método escogido para la obtención del aceite esencial de Ruda fue por destilación por arrastre de vapor esto ya que su costo/beneficio es mucho mejor a comparación de otros métodos. Esta técnica es muy usada cuando de una mezcla se separan sustancias insolubles en agua y ligeramente volátiles de otras no volátiles (**Benalcázar et al, 2015**).

Se pesaron 750 mg y 500mg de planta para obtener concentraciones del 15% y el 10% de aceite respectivamente, posteriormente se procedió a incluir todo el material en la máquina de destilación con 5L de agua destilada, tomando en consideración la concentración de la solución madre lo determinaron el porcentaje de m/v:

Tratamiento 4:

$$\%pv : m/v \times 100$$

$$\%pv : (0,750 \text{ kg} / 5L) \times 100$$

$$\%pv: 15\%$$

Tratamiento 3:

$$\%pv : (0,500\text{kg}/5L) \times 100$$

$$\%pv: 10\%$$

Una vez obtenido el aceite se procedió a filtrar la sustancia con el fin de eliminar cualquier sustancia extraña. Finalmente se colocó el producto dentro de una botella ámbar y en la refrigeradora con el propósito de conservar sus propiedades (**Benalcázar et al, 2015**).

2.3.6 Implantación de tratamientos

2.3.6.1 Tratamiento en base a aceite esencial de ruda

Se tomaron dos grupos de 3 colmenas cada uno, se les aplicó el aceite esencial en 2 diferentes concentraciones 10% y 15% respectivamente, el mismo fue colocado con ayuda de bandas previamente empapadas del producto. Se realizó 3 aplicaciones cada 8 días de la misma manera la toma de datos se realizó cada 4 días en un periodo de 20 días. Durante el período de prueba de campo, los ácaros muertos caídos se recolectaron y se contaron en todos los grupos. Cada colmena se equiparó con un tablero deslizante compuesto por láminas de plástico fijas recubiertas con una capa de grasa (vaselina) las mismas fueron cambiadas cada 4 días después del conteo de ácaros. El tablero inferior pegajoso estuvo cubierto por una malla plástica para evitar que las abejas entraren en contacto con los escombros (**Koumad, 2019**).

2.3.6.2 Tratamiento con ácido oxálico

Se tomaron 6 colmenas, 3 para cada tratamiento con ácido oxálico, se les aplicó diferentes proporciones de ácido orgánico en este caso procedió a usar 5g y 10g respectivamente (**Morocho, 2021**).

Para este tratamiento se usó un sublimador de marca X-nox donde se colocó 5 g y 10g según el grupo a tratar de ácido oxálico en la cápsula contenedora , al encender el aparato se tuvo que esperar 25 segundos para permitir la sublimación del ácido oxálico y que el caldero llegue a temperaturas de 157° C a 190° C. Se esperó 10 segundos más para introducir el producto por la piquera. Se mantuvo durante 5 segundos el pico dentro de la colmena, oprimiendo de 7 a 8 bocanadas de aire. Dicho procedimiento se llevó a cabo en 3 aplicaciones cada 8 días, la revisión de efectividad se realizó cada 4 días hasta finalizar un período de 20 días. El flujo debe ser suave y salir con vitalidad (**Morocho, 2021**). De igual forma se colocó inicialmente una malla plástica conjuntamente con la lámina untada con vaselina en el piso sanitario con el fin de poder llevar un conteo del número de varroas muertas.

2.4. Variables respuesta

Varroa muertas/día

Caída de varroa sobre la lámina de cartulina untada con vaselina, cuando se obtiene ya la varroa se procedió a determinar el promedio de varroa caídas por día, así se estimó la población de varroa existente (Moyón, 2013)

Con el resultado obtenido, se tomarán en cuenta los siguientes criterios:

- Menor de 5 varroas por día = población baja
- 6 - 10 varroas por día = población media
- Más de 10 varroas por día = población alta (Moyón, 2013)

Cabe mencionar que en la investigación se determinará la caída de varroas por día lo cual se calculó mediante una regla de tres simple.

Porcentaje de infestación de Varroa (%)

La fórmula para evaluar el porcentaje de infestación es la siguiente:

$$\% \text{ De infestación: } \frac{\text{No. De Ácaros colectados}}{\text{No. De Abejas en la muestra}} \times 100 \quad (\text{Moyón, 2013})$$

Eficacia del tratamiento (%)

Con el porcentaje de infestación pre-tratamiento y post-tratamiento Mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia: } (\% \text{ de infestación inicial} - \% \text{ de infestación final}) / \% \text{ infestación inicial} \times 100$$

El porcentaje de infestación final de varroa será tomada al terminar el mes, es decir al cabo de 30 días de haberse aplicado los tratamientos (Moyón, 2013).

2.5. Diseño experimental

Las colmenas a utilizar en la investigación fueron cuidadosamente seleccionadas para obtener colmenas homogéneas, es decir con características similares, es por este motivo que se utilizó un diseño completamente al azar (DCA). Se evaluaron 4 tratamientos experimentales y un control, por cada uno de los mismos se usó 3 colmenas (repeticiones) contaminadas con *Varroa destructor*. La media de los resultados obtenidos fue sometida a la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%.

CAPÍTULO III.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2. Porcentaje de infestación de *Varroa destructor* durante la investigación de campo

Tratamientos	Infestación Inicial (%)	Infestación primera aplicación (%)	Infestación segunda aplicación (%)	Infestación tercera aplicación (%)	Infestación final (%)
T1	14,42 ^a	4,98 ^a	3,13 ^a	2,12 ^a	3,26 ^{ab}
T2	14,42 a	4,08 ^a	2,90 ^a	1,88 ^a	1,67 ^a
T3	14,42 a	9,51 ^{ab}	8,42 ^{bc}	7,65 ^{ab}	6,90 ^c
T4	14,42 a	7,20 ^{ab}	5,80 ^{ab}	5,45 ^{ab}	5,08 ^{bc}
T0	14,42 ^a	11,57 ^b	11,40 ^c	11,19 ^b	21,59 ^d
E.E	0,51	1,25	1,10	1,25	0,50
Valor P	0,0018	0,0087	0,0012	0,0017	<0,0001

Los resultados de la media en una columna con letras distintas tienen diferencia significativa ($p < 0,05$).
E.E: Error estándar
T1 : ácido oxálico 5g T2: ácido oxálico 10g
T3: aceite de ruda al 10% T4: aceite de ruda al 15% T0: grupo control

En la tabla 2 se puede observar los porcentajes de infestación inicial y final conjuntamente con las diferentes aplicaciones realizadas a nivel de campo, se puede evidenciar mejores resultados con los tratamientos T1 y T2, con diferencias significativas en relación con los demás tratamientos, pero iguales entre sí, ya que la prueba Tukey dio un resultado de ($p < 0,05$). Seguido por T3 y T4. El tratamiento perteneciente a la aplicación de ácido oxálico 10g presenta el mejor valor numérico. Cabe recalcar que en la segunda aplicación T3 tiene diferencia significativa con T4 y los demás protocolos. Esto en base al conteo realizado con la ayuda de malla plástica con su respectiva cuadrícula. Pero al estimar la infestación final por el método de David De Jong, encontramos que todos los tratamientos tienen diferencias significativas entre sí, teniendo un mejor desempeño T2.

Si se comparará con la investigación realizada por **Reyes (2020)** donde entre uno de sus tratamientos se encontraba el ácido oxálico, si bien, su infestación inicial fue menor, teniendo 4,23%, mientras en el presente estudio fue de 14,42%, el porcentaje final de infestación fue similar, de 1,66 y 1,67% respectivamente. Esto con el ácido oxálico a

10g. Por otro lado se menciona el estudio realizado por **Alcívar (2023)** donde se utilizó ácido oxálico en tiras y jarabe con una infestación inicial mayor de 6,59%, teniendo unos resultados de infestación final de 3,66 y 2,04%.

Finalmente cabe recalcar que en la investigación llevada a cabo podemos ver una actividad acaricida mayor en la primera aplicación, mostrando valores significativos entre productos más no en concentraciones de los mismos. Resultados similares a los obtenidos por **Espinosa & Guzman (2007)** en donde se pusieron a pruebas productos tales como ácido fórmico y timol, se pudo observar como en la primera aplicación existió una alta mortalidad, matando un número significativo de parásitos ($P < 0.0001$) a diferencia del resto de aplicaciones en donde la eficacia disminuyó notablemente.

En cuanto a la Ruda, en un estudio de **Balcázar (2016)** se encontró una infestación inicial similar de 12,12%, disminuyendo en la final a 3,25%. Diferiendo con los resultados de esta investigación donde el aceite de ruda disminuyó el porcentaje a 5,08. Esto puede ser debido a la concentración de la solución, siendo de 50% en caso de Balcázar y 15% en el nuestro. También **Jumbo et al. (2022)** probó aceite esencial de ruda, teniendo una infestación inicial de 14,1%, siendo reducida por los tratamientos a 4,17% siendo un poco más cercano al obtenido en el presente trabajo.

Tabla 3. Porcentaje de efectividad de los diferentes tratamientos

Tratamientos	Efectividad primera aplicación (%)	Efectividad segunda aplicación (%)	Efectividad tercera aplicación (%)	Efectividad final (%)
T1	56,70ab	72,78 ^a	81,97ab	75,53b
T2	68,62 ^a	74,78 ^a	85,50 ^a	86,74 ^a
T3	30,77c	26,75bc	44,89c	43,83d
T4	41,04bc	49,54ab	57,15bc	58,65c
T0	0,83d	4,52c	4,12d	0e
E.E	5,49	9,23	5,95	1,92
Valor P	0,0001	0,0012	<0,001	<0,0001

Los resultados de la media en una columna con letras distintas tienen diferencia significativa ($p < 0,05$).

E.E: Error estándar

T1 : ácido oxálico 5g T2: ácido oxálico 10g

T3: aceite de ruda al 10% T4: aceite de ruda al 15% T0: grupo control

En la tabla 3 se evidencian los resultados de efectividad de los tratamientos, teniendo mejor desempeño T2, con diferencias significativas con los demás tratamientos, excepto con T1 en la segunda aplicación. Seguido de T1, T4 y T3 en cuanto a efectividad. Comparando con **Jumbo et al. (2019)** donde obtuvo efectividad del 59% con una concentración de ruda al 40%, resultados similares con esta investigación que fue 58,65%, pero con concentración al 15%. Por otro lado, con el ácido oxálico, se puede comparar con (**Minaya y Pérez, 2022**) quien registra porcentaje de eficacia de 54,09% con excipiente de jarabe de azúcar resultado inferior a T1 y T2. Además, **Reyes et al. (2020)** por su lado probó el ácido oxálico, obteniendo una eficacia de 62,81%, lo cual es menor a T1 y T2. Esto puede ser debido a la metodología de aplicación de producto, ya que **Reyes et al. (2020)** puso el principio activo en papel Kraft, mezclado con azúcar, mientras en nuestro estudio el principio activo fue aplicado por dispersión de humo.

También **García (2009)** en su investigación menciona el uso de aceite esencial de eucalipto en concentración al 5%, el mismo mostró un fuerte impacto en la variable de efectividad, eliminando casi por completo las celdas infectadas con el ácaro, en un porcentaje de 7,59 a 1,29% de infestación, en lapso de 2 meses. Esto se puede deber al tiempo de duración del tratamiento, el mismo que duplica al establecido en este estudio.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- El tratamiento que mostró una mayor efectividad controlando *varroa destructor* es el T2 (ácido oxálico 10g), dándonos resultados positivos del 86,74%, mientras que con el uso de aceite esencial de ruda se obtuvo resultados aceptables del 58,65% en lo que corresponde a T4 con una concentración al 15%.
- La infestación inicial mostró una media de 14,42% la cual se redujo con la administración de los diferentes tratamientos tanto de ácido oxálico como de aceite esencial de ruda, con relación al tratamiento control en donde la infestación aumenta de manera considerable.
- Al comparar los tratamientos según la cantidad y concentración del principio activo se pudo observar que los mejores resultados a nivel de efectividad los obtuvieron el T2 y T4 (10g de ácido orgánico y aceite esencial de ruda al 15% respectivamente), los mismos que tenían una mayor presencia de producto.

4.2 Recomendaciones

- Realizar investigaciones con una mayor cantidad de principios activos con la finalidad de observar niveles de efectividad mejores a los propuestos en esta investigación.
- Tener un calendario sanitario en donde las colmenas cumplan con periodos de desinfección contra *Varroa destructor* semestralmente.
- Probar otros tipos de tratamientos en base a plantas como es el caso del eucalipto que de igual forma posee propiedades acaricidas y observar cómo actúa en la varroasis.
- Dar a conocer los resultados obtenidos con la finalidad de brindar alternativas y disminuir el empleo de productos químicos convencionales del mercado de la zona.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROCALIDAD. (2016). *Programa nacional sanitario apícola*. Obtenido de: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu166394anx.pdf>.
- Aguirre, L., Demedio, L. J., Gómez, P. R. C., & Varela, R. A. (2001). Caracterización morfológica de *Varroa jacobsoni* (Oudemans1904)(acari: varroidae) en Baja California Sur, México. XV Seminario Americano de Apicultura. Tepic, Nayarit. México, 81-96.
- Alamy (2021). Molécula de undecanona o metil nonilcetona. <https://acortar.link/hjpDoe>
- Alcívar, R. (2023). *Evaluación de acaricidas sobre el nivel de infestación del ácaro Varroa destructor en abejas Apis mellifera en el apiario Mi Reina* (Master's thesis, Calceta: ESPAM MFL). <https://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/2032>
- Balcázar, M. B. (2015). *ELABORACION DE UN ACARICIDA NATURAL A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE RUDA (Ruta graveolens) PARA EL CONTROL DE VARROASIS (Varroa jacobsoni Oudemans)*. Loja: Universidad Nacional de Loja. Area Agropecuaria de Recursos Naturales y Renovables.
- Bautista, B. (2016). Diagnóstico de enfermedades parasitarias en abejas africanizadas Apis mellifera en el municipio de Marsella. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 7(1)
- Calatayud, F. (2014). Hacia un control integrado y sostenible de varroa. *APICULTURA IBÉRICA* (28). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6460183>
- Cameron, J., & Ellis, J. (2021). Integrated pest management control of Varroa destructor (Acari: Varroidae), the most damaging pest of (Apis mellifera L.(Hymenoptera: Apidae)) colonies. *Journal of Insect Science*, 21(5), 6. doi: 10.1093/jisesa/ieab058.
- Centro Nacional de Información Biotecnológica (2023). Resumen de compuestos de PubChem para CID 22311, limoneno, (+/-). (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Limonene>)
- Cifuentes, J. R. (2014). *“Evaluación de la eficacia de las tinturas de*

guachipilín (Diphysa robinoides) al 20% y ruda (Ruta chalepensis) al 10% como tratamientos alternativos de origen natural para el control de varroasis (Varroa destructor) en abejas (Apis mellifera)". Guatemala: Universidad De San Carlos De Guatemala. Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia. Escuela De "Medicina Veterinaria".
<https://repositoriosidca.csuca.org/Record/RepoUSAC1816/Details>

- Cueto, J. M., & Estevez, J. A. (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* (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2020).
<https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/6842>
- Damiani y Marcangeli (2006). Control del parásito Varroa destructor (Acari: Varroidae) en colmenas de la abeja Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) mediante la aplicación de la técnica de atrapado. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 65 (1-2): 33-42, http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=s0373-56802006000100004&script=sci_arttext
- Díaz, B., Moyón J., & Baquero M. (2019). Evaluación de tres alternativas para el control de varroasis (Varroa destructor) en apiarios ecuatorianos. *Ciencia y Agricultura*, 16(1), 63-78.
<https://www.redalyc.org/journal/5600/560059292005/560059292005.pdf>
- Espinosa G. & Guzmán E. (2007). Eficacia de dos acaricidas naturales, ácido fórmico y timol, para el control del ácaro Varroa destructor de las abejas (Apis mellifera L.) en Villa Guerrero, Estado de México. Distrito Federal México: Universidad Nacional Autónoma de México. *Veterinaria México*, vol. 38 (1), pp. 9-19 <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=12391>
- Evans, J. D., Schwarz, R. S., Chen, Y. P., Budge, G., Cornman, R. S., De la Rúa, P., ... & Pinto, M. A. (2013). Standard methods for molecular research in Apis mellifera. *Journal of apicultural research*, 52(4), 1-54.
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3896/ibra.1.52.4.11>
- FAO. (2014). *Principios y avances sobre la polinización como servicio ambiental para la agricultura sostenible en países de Latinoamérica y el Caribe*. 1º Edición. Santiago.

- Fernández, M. (2014). Varroa, el enemigo de las abejas. CENID- Parasitología Veterinaria -INIFAP. Obtenido de: CENID- Parasitología Veterinaria - INIFAP.
- Flores, C. A., Guzmán-Novoa, E., Espinosa-Montaña, L. G., Uribe-Rubio, J. L., Gutiérrez-Luna, R., & Gutiérrez-Piña, F. J. (2014). Frecuencia de varroosis y noseosis en colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en el estado de Zacatecas, México. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 20(3), 159-167.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-40182014000300001
- Gallegos, A. F. (2022). *Prevalencia de parásitos externos en abejas*. Cuenca, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca.
<https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/21703>
- García, C. A. (2009). “*Evaluación de tres productos naturales para el control alternativo del ácaro varroa (Varroa destructor anderson & truman) en colmenas de abejas (Apis mellifera l.) usando gel como sustrato portador*”. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía. Área Integrada. http://biblioteca.usac.edu.gt/EPS/01/01_2500.pdf
- Guerra Narváez, A. P., & Rosero Mayanquer, H. P. (2013). *Evaluación de cinco tratamientos para el control del acaro" Varroa destructor" en abejas (Apis mellifera)*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/3129>
- Jean-Prest, P. (2007). *Apicultura: Conocimiento de la abeja. Manejo de la colmena*. Madrid: Ediciones MUNDI PRENSA.
- Jiménez, K. (2021). *Extractos vegetales para el control del ácaro rojo de las palmas*. México: Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía. <http://eprints.uanl.mx/21830/>
- Jumbo, P. (2019). *Elaboración de un acaricida natural a base de aceite esencial de ruta graveolens para el control de varroosis (varroa jacobsoni oudemans) en abejas (Apis mellifera)*. Loja: Docentes-Investigadores de la Universidad Nacional de Loja.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7781990>
- Koumad, S. & Berkani, J. (2019). Evaluación de la eficacia de 4 plantas medicinales como fumigantes contra la varroa destructor en Argelia. Argelia:

<https://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az/article/view/4148>

- Llorente, 2008. Fundación amigos de las abejas. <https://abejas.org/anatomia-externa-de-las-abejas/>
- Martínez L, Martínez F. y Cetzal R. (2017), *Apicultura: Manejo, Nutrición, Sanidad y Flora Apícola*, Universidad Autónoma de Campeche, Campeche. 112.
https://www.academia.edu/35836633/Apicultura_Manejo_Nutrici%C3%B3n_Sanidad_y_Flora_ap%C3%ADcola
- Medina-Flores, C. A., Guzmán-Novoa, E., Aréchiga-Flores, C. F., Aguilera-Soto, J. I., & Gutiérrez-Piña, F. J. (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. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 2(3), 313-317.
- Mendizabal, F. M. (2004). *Abejas*. 1ra Edición. Editorial Albatros. <https://lc.cx/dZCrzf>
- Minaya, I., & Pérez, I. (2022). *Eficacia de tres formulaciones artesanales a base de ácido oxálico para el control de Varroa destructor en Apis Mellifera, en ambiente de bosque húmedo* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña). <https://repositorio.unphu.edu.do/handle/123456789/4333>
- Morocho, M. (2021). *Eficacia del ácido oxálico mediante tres vías de administración para el control de Varroosis en abejas (Apis mellifera)*. . Ecuador: Universidad Central del Ecuador. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/25039>
- Moyon, J. (2013). *Evaluación de tres Alternativas para el Control de Varroosis Varroa destructor en tres Apiarios de la Provincia de Chimborazo* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2683>
- Muñoz, O. (2004). “Plantas medicinales de uso enchile: química y farmacología”. Editorial Universitaria/ Enero del 2004/ pg. 16.
- Navarrete S. (2019). *Niveles de ácido oxálico para el control de varroosis (Varroa destructor) EN ABEJAS (Apis mellifera), en el recinto Aguas Frías del*

cantón Mocache, año 2018". Quevedo. Ecuador: Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Facultad de Ciencias Pecuarias. Carrera de Ingeniería Zootécnica. <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3722>

- Neira, M., & Carolina Kauzlarich, G. N. (2011). RESIDUOS DE TAU FLUVALINATO (PIRETROIDE) EN LA CERA DE LA CÁMARA DE CRÍA Y SU EFECTO SOBRE LARVAS DE ABEJAS DE LA CASTA OBRERA (*Apis mellifera*). *Agro Sur* Vol. 39 (1). <https://doi.org/10.4206/agrosur.2011.v39n1-03/>
- OIE. (2018). Varroosis de las abejas melíferas. In Manual Terrestre de OIE (pp. 1–6). https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.02.07_Varroosis.pdf
- Polo, J. (2022). *Extermination of the infestation index by Varroa destructor in colonies of Apis mellifera, under natural conditions*. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. Universidad Nacional Intercultural. <https://doi.org/10.51343/racs.v5i1.799>
- Preedy, V. (2016). *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2012-0-06581-7>
- Reyes, F., Vargas, J., Martos, A., & Chura, J. (2020). Eficacia de cuatro acaricidas sobre el ácaro *Varroa destructor*. *Anales Científicos* 81 (1), pp. 229-242).
- Ritter, W. (1992). Chemical control: options y problems. In Matheson A. Ed. *Living with Varroa*. Cardiff, U.K. pp. 17-24.:IBRA.
- Roblero, O. (2013). *Detección de abeja africana (Apis mellifera scutellata) en la región lagunera del estado de Durango*. México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/3396>
- Rodríguez Ferradá, y. L. (2000). Estudio de la propagación vegetativa de la ruda *Ruta graveolens* L. *Revista cubana de plantas medicinales*, 5(2), 56-59.
- Rodríguez E., Fonseca, Y., & Rojas M. (2020). Eficacia del humo de *Salvia officinalis* y *Cymbopogon citratus* en el control de *Varroa destructor* (Original). *Redel. Revista Granmense De Desarrollo Local*, 4, 973-982. <https://revistas.udg.co.cu/index.php/redel/article/view/1965>

- Rodríguez, A. (2016). *Monitorización de los principales patógenos de las abejas para la detección de alertas y riesgos sanitarios*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria. <https://docta.ucm.es/entities/publication/34329ded-1054-402f-ba6d-1e8a6293549c>
- Underwood, M. y López, U. (2019). *Métodos para el control de Varroa destructor: un enfoque de manejo integrado de plagas*. Universidad Estatal de Pensilvania. <https://pollinators.psu.edu/assets/uploads/documents/Me%CC%81todos-para-el-control-de-Varroa-destructor-un-enfoque-de-manejo-integrado-de-plagas.pdf>
- Universidad Austral de Chile, (2007). Ruta graveolens L. http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fce.77s/doc/monografias/Ruta_graveolens.pdf.
- Vandame, R., Nájera, M. O. A., & De La Cruz, E. P. (2000) Manual Apícola.
- Vásquez J. (2006). Efecto del ácido oxálico, ácido fórmico y coumaphos sobre Varroa destructor (Acari: Varroidae) en colonias de abejas. *Revista Peruana de Entomología*, 45(1), 149-152.
- Vespermann, (2017). Biotransformation of α - and β -pinene into flavor compound. DOI 10.1007/s00253-016-8066-7
- Vit, P. (2004). Productos de la colmena recolectados y procesados por las abejas: Miel, polen y propóleos. . Apiterapia y Bioactividad, Departamento Ciencia de los alimentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis Universidad de los Andes, Mérida: *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 35 (2) 32-39 https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0798-04772004000200006&script=sci_arttext
- Zúñiga, C. (2016). *La interacción parásito-pesticida (imidacloprid) tiene efecto sinérgico en la mortalidad de abejas melíferas* (Doctoral dissertation, Universidad Andrés Bello). <https://repositorio.unab.cl/xmlui/handle/ria/3687>

ANEXOS

Anexos 1. Prueba de análisis de covarianza y Tukey de la infestación inicial y final de *Varroa destructor* en *Apis mellifera*

Análisis de la covarianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
INFESTACIÓN FINAL	15	0,99	0,99	11,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Coef
Modelo	774,15	5	154,83	206,58	<0,0001	
Tratamientos	767,24	4	191,81	255,92	<0,0001	
Infestación inicial	14,42	1	14,42	19,24	0,0018	0,51
Error	6,75	9	0,75			
Total	780,90	14				

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,37691

Error: 0,7495 gl: 9

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
T2	1,67	3	0,50	A	
T1	3,26	3	0,51	A	B
T4	5,08	3	0,50	B	C
T3	6,90	3	0,53		C
T0	21,59	3	0,50		D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 2 . Prueba de análisis de varianza y Tukey en la primera aplicación de los tratamientos.

Caída de varroa después de la primera aplicación

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Caída después primera aplicación	15	0,71	0,60	28,88

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	116,23	4	29,06	6,24	0,0087
Tratamientos	116,23	4	29,06	6,24	0,0087
Error	46,54	10	4,65		
Total	162,77	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,79678

Error: 4,6536 gl: 10

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
T2	4,08	3	1,25	A	
T1	4,98	3	1,25	A	
T4	7,20	3	1,25	A	B
T3	9,51	3	1,25	A	B
T0	11,57	3	1,25		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 3 . Prueba de análisis de varianza y Tukey en la segunda aplicación de los

tratamientos

Caída de varroa después de la segunda aplicación

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Caída después de la segunda aplicación	15	0,81	0,74	30,06

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	157,21	4	39,30	10,85	0,0012
Tratamientos	157,21	4	39,30	10,85	0,0012
Error	36,22	10	3,62		
Total	193,43	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,11415

Error: 3,6221 gl: 10

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T2	2,90	3	1,10	A
T1	3,13	3	1,10	A
T4	5,80	3	1,10	A B
T3	8,42	3	1,10	B C
T0	11,40	3	1,10	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 4 . Prueba de análisis de varianza y Tukey en la tercera aplicación de los tratamientos

Caída de varroa después de la tercera aplicación

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Caída después de la tercera aplicación	15	0,80	0,72	38,26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	184,32	4	46,08	9,84	0,0017
Tratamientos	184,32	4	46,08	9,84	0,0017
Error	46,83	10	4,68		
Total	231,15	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,81479

Error: 4,6825 gl: 10

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T2	1,88	3	1,25	A
T1	2,12	3	1,25	A
T4	5,45	3	1,25	A B
T3	7,65	3	1,25	A B
T0	11,19	3	1,25	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 5. Niveles de efectividad por cada tratamiento

Efectividad primera aplicación

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Efec prime	15	0,90	0,86	24,02

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8152,39	4	2038,10	22,54	0,0001
Tratamiento	8152,39	4	2038,10	22,54	0,0001
Error	904,27	10	90,43		
Total	9056,66	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=25,55305

Error: 90,4272 gl: 10

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T2	68,62	3	5,49	A
T1	56,70	3	5,49	A B
T4	41,04	3	5,49	B C
T3	30,77	3	5,49	C
T0	0,83	3	5,49	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Efectividad segunda aplicación

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
efec segu	15	0,81	0,73	35,01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10946,33	4	2736,58	10,70	0,0012
Tratamiento	10946,33	4	2736,58	10,70	0,0012
Error	2557,53	10	255,75		
Total	13503,86	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=42,97374

Error: 255,7526 gl: 10

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T2	74,78	3	9,23	A
T1	72,78	3	9,23	A
T4	49,54	3	9,23	A B
T3	26,75	3	9,23	B C
T0	4,52	3	9,23	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Efectividad tercera aplicación

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
efec terc	15	0,92	0,89	18,84

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13056,82	4	3264,20	30,71	<0,0001
Tratamiento	13056,82	4	3264,20	30,71	<0,0001
Error	1062,86	10	106,29		
Total	14119,68	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=27,70325

Error: 106,2858 gl: 10

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T2	85,50	3	5,95	A
T1	81,97	3	5,95	A B
T4	57,15	3	5,95	B C
T3	44,89	3	5,95	C
T0	4,12	3	5,95	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Efectividad final

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
efec final	15	0,99	0,99	6,28

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13713,71	4	3428,43	310,18	<0,0001
Tratamiento	13713,71	4	3428,43	310,18	<0,0001
Error	110,53	10	11,05		
Total	13824,24	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,93370

Error: 11,0529 gl: 10

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T2	86,74	3	1,92	A
T1	75,53	3	1,92	B
T4	58,65	3	1,92	C
T3	43,83	3	1,92	D
T0	0,00	3	1,92	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 6. Pesos de las unidades experimentales

N° Colmenas	Peso de colmenas (kg)	Cantidad de abejas aproximadas
1	5,64	41,470
2	6,01	44,191
3	6,84	50,294
4	6,19	45,551
5	5,56	40,882
6	4,67	34,338
7	6,09	44,779
8	6,33	46,544
9	4,29	31,544
10	5,97	43,897
11	6,67	49,044
12	5,41	39,779
13	5,08	37,352
14	10,14	38,529
15	6,08	44,705

Anexo 7. Porcentaje de infestación de varroa destructor en cada colmena al inicio de la investigación

Unidades experimentales	T0 (Tratamiento control)	T1 (5g de ácido oxálico)	T2 (10g de ácido oxálico)	T3 (10% de aceite esencial de ruda)	T4 (15% de aceite esencial de ruda)
1	11,5	13,5	12,5	13,5	8,5
2	10,5	11	14,5	15	11,5
3	13	9,5	9,5	12,5	16

Anexo 8. Porcentaje de infestación después de la primera aplicación

Unidades experimentales	T0 (Tratamiento control)	T1 (5g de ácido oxálico)	T2 (10g de ácido oxálico)	T3 10% de aceite esencial de ruda)	T4 (15% de aceite esencial de ruda)
1	11,43	6,32	4,9	9,74	5,31
2	10,46	4,49	4,98	10,38	6,6
3	12,92	4,95	3,18	9,38	10,24

Anexo 9. Porcentaje de infestación después de la segunda aplicación

Unidades experimentales	T0 (Tratamiento control)	T1 (5g de ácido oxálico)	T2 (10g de ácido oxálico)	T3 10% de aceite esencial de ruda)	T4 (15% de aceite esencial de ruda)
1	11,22	4,97	3,34	8,54	4,39
2	10,32	3,4	3,28	9,86	5,4
3	12,78	3,67	2,14	8,32	8,44

Anexo 10. Porcentaje de infestación después de la tercera aplicación

Unidades experimentales	T0 (Tratamiento control)	T1 (5g de ácido oxálico)	T2 (10g de ácido oxálico)	T3 10% de aceite esencial de ruda)	T4 (15% de aceite esencial de ruda)
1	11,01	4,05	2,08	7,76	3,75
2	10,11	2,55	1,86	9,3	4,48
3	12,50	2,61	1,51	7,61	7,31

Anexo 11. Porcentaje de infestación de varroa destructor en cada colmena al final de la investigación

Unidades experimentales	T0 (Tratamiento control)	T1 (5g de ácido oxálico)	T2 (10g de ácido oxálico)	T3 (10% de aceite esencial de ruda)	T4 (15% de aceite esencial de ruda)
1	21,5	4	1,5	7	3,5
2	19	2,5	2,5	8,5	4,5
4	23,5	2	1	7,5	7

Anexo 12. Archivo fotográfico.

Adecuación del lugar de estudio



Varroa destructor en abeja



Varroa destructor en larva de Zángano



Varroa vista en microscopio



Recolección de ruda en la mañana



Limpieza de la planta recolectada



Pesar la ruda



Colocación de ruda dentro de la caldera



Recolección del aceite madre



Obtención del aceite en diferentes concentraciones



Fabricación de mallas con cuadrícula previamente empapada de vaselina



Preparación de cintas de cartón empapadas de aceite



Colocación de bandas de aceite en colmenas



Colocación y retiro de mallas



Colocación de ácido oxálico en el sublimador



Sublimador calentando el producto



Introducción del producto por medio de la piqueta



Introducción y retirada de malla



Mallas usadas para el conteo

