

**Universidad Nacional
Facultad Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria**

**Efectividad del ácido oxálico en el control integrado del
ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas
africanizadas en Atenas, Alajuela.**

Modalidad: Tesis

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado
Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria**

Oriana Quirós Vargas

Campus Pbro. Benjamín Núñez, Heredia

2023

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EVALUADOR

Laura Bouza Mora, M.Sc.

Vicedecana Facultad de Ciencias de la Salud

Julia Rodríguez Barahona, Ph.D.

Subdirectora Escuela de Medicina Veterinaria

Rafael Ángel Calderón Fallas, Ph.D

Tutor

Ana Jiménez Rocha, Ph.D

Lectora

Luis Sánchez Cháves, M.Sc.

Lector

Fecha de la defensa: 15 de noviembre de 2023 .

DEDICATORIA

A mi mamá, Arlet Vargas Morales, por su apoyo incondicional, amor y consejos: gracias por estar siempre para mí, por darme todo y por ayudarme a alcanzar mis metas.

A mis mascotas (Camilo, Spike, Camilo2, Cloe hámster, Nacho, Toby, Cloe, Valentina, Negro, Terry, Robbie, Goofy, Spot) por ser siempre la fuente de mi motivación, por permitirme aprender de ellos y por ser mi apoyo emocional.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor, el Dr. Rafael Calderón: gracias por compartirme parte de sus conocimientos y por toda la ayuda brindada en la realización de esta Tesis.

A mis lectores, la Dra. Ana Jiménez Rocha y el M.Sc. Luis Sánchez Chaves y al M.Sc. Fernando Ramírez Arias: gracias por toda la ayuda brindada, por los consejos y por estar a disposición durante el tiempo que realicé este Trabajo Final de Graduación.

Al CINAT por permitirme utilizar algunas de sus colmenas, disponer del Laboratorio de Patología y facilitarme instrumentos y transporte para realizar mi investigación. Además, gracias a todo el personal del CINAT, quienes siempre fueron muy amables y colaboradores conmigo.

A la Dra. Gaby Dolz Wiedner, al Dr. Mauricio Pereira Mora y a la Dra. Julia Rodríguez Barahona, por haberme dado la oportunidad de realizar la pasantía en Alemania y por la ayuda en los trámites necesarios.

Al DAAD por otorgarme la beca que me permitió realizar la pasantía en Alemania. También a Frau Johanna Kroll: gracias por toda la ayuda brindada durante mi estadía en Alemania.

A la Dra. Marta Bonilla y a la Dra. Nicole De Buhr: gracias porque me ayudaron a desarrollar un poco más mis habilidades de investigación; además de que siempre me apoyaron y me ayudaron mucho en mi estadía en Alemania.

Al Dr. Michael Wendt: gracias por organizar todo con respecto a mi pasantía en Alemania, por interceder por mí para que me aceptaran en el Instituto de Apicultura de Celle.

Al Dr. Otto Boecking, director del Instituto de Apicultura de Celle, por permitirme realizar la pasantía en dicho instituto y por todo el apoyo brindado. Además, gracias a trabajadores de este instituto, tales como Stephan Lembke, quien siempre se preocupó porque yo estuviera cómoda en lo que estuviera haciendo. También Pawl, quien supervisaba todas mis prácticas y Raphael que siempre estuvo anente a ayudarme cuando lo fue necesario.

A los estudiantes del Instituto de Apicultura de Celle: Madita, Stephan, Mara, Simon, Jimmy, Peter, Lina por haberme hecho sentir como una compañera más y por hacer el esfuerzo de hablar inglés para poder comunicarse conmigo.

A Andrea Odio y a Mar Arce por haber formado mi pequeña familia en Alemania y ser mi lugar seguro durante nuestra estadía allá.

A mi amiga Katherine Sandí y al Dr. Bernardo Vargas Leitón, por su ayuda en el análisis estadístico.

A mi amiga Cynthia por siempre apoyarme en todo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EVALUADOR.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	xii
GLOSARIO.....	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUCCIÓN	18
1.1. ANTECEDENTES	18
1.2. Justificación	21
1.2.1. Importancia	23
1.2.2. Hipótesis.....	27
1.3. Objetivos.....	27
1.3.1. Objetivo general	27
1.3.2. Objetivos específicos.....	27
2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
2.1. Método de goteo.....	30
2.2. Método de toalla	30
2.3. Método de tiras de cartón impregnado.....	30
2.4. Producto de choque.....	31
2.5. Mortalidad de los ácaros en las colmenas experimentales.....	32
2.6. Efectividad de los tratamientos.....	32
2.7. Posibles efectos adversos de los tratamientos sobre la condición de las colmenas	33
2.8. Análisis de datos.....	34
3. RESULTADOS	36
3.1. Método de goteo.....	36

3.1.1 Efectividad.....	36
3.1.2. Mortalidad de ácaros durante el period de aplicación	37
3.1.3. Mortalidad de ácaros por colmena	38
3.2. Método de toalla	39
3.2.1. Efectividad	39
3.2.2. Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación.....	39
Mortalidad por colmena.....	40
3.3. Tiras de cartón impregnadas	41
3.3.1. Efectividad	41
3.3.2. Mortalidad de ácaros durante el period de aplicación	42
3.3.3. Mortalidad de ácaros por colmena	43
3.4. Grupo control	44
3.4.1. Mortalidad natural de ácaros durante el periodo de aplicación	44
3.4.2. Mortalidad natural de ácaros por colmena.....	46
3.5. Comparación entre los métodos de aplicación del ácido oxálico y el grupo control.....	47
3.6. Efectos adversos.....	50
3.6.1. Método de goteo.....	50
3.6.2. Método de toalla	51
3.6.3. Tiras de cartón impregnado.....	52
3.6.4. Grupo control	53
4. DISCUSIÓN	55
4.1. Método de goteo.....	55
4.1.1. Efectividad	55
4.1.2. Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación.....	56
4.1.3. Mortalidad de ácaros por colmena	56
4.2. Método de toalla	57
4.2.1. Efectividad	57
4.2.2. Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación.....	58
4.2.3. Mortalidad por colmena.....	58
4.3. Tiras de cartón impregnadas.....	58
4.3.1. Efectividad.....	58
4.3.2. Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación.....	59

4.3.3. Mortalidad de ácaros por colmena	60
4.4. Grupo control	60
4.4.1. Mortalidad natural de ácaros durante el periodo de aplicación	60
4.4.2. Mortalidad natural de ácaros por colmena.....	61
4.5. Comparación entre los métodos de aplicación del ácido oxálico y el grupo control.....	61
4.6. Efectos adversos.....	62
5. CONCLUSIONES.....	64
6. RECOMENDACIONES	65
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
8. ANEXOS	79

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Efectividad del ácido oxálico (AO) por el método de goteo (n= 4, $\bar{x} \pm DE$) mediante el registro de ácaros caídos durante las primeras cuatro semanas.....	36
Cuadro 2. Efectividad del ácido oxálico (AO) en el control del ácaro varroa mediante la técnica de toalla (n= 4, $\bar{x} \pm$) durante un periodo de cuatro semanas.....	39
Cuadro 3. Efectividad del ácido oxálico (AO) en el control del ácaro varroa mediante el método de tiras de cartón impregnadas con ácido oxálico (n= 4, $\bar{x} \pm DE$) durante un periodo de cuatro semanas.....	42
Cuadro 4. Conteo de ácaros caídos de manera natural en el grupo control ($\bar{x} \pm DE$) durante un periodo de cuatro semanas.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Caída de <i>V. destructor</i> durante la aplicación de ácido oxálico mediante el tratamiento de goteo (n= 4, $\bar{x} \pm DE$) en cuatro semanas.....	37
Figura 2. Conteo de ácaros en cada colmena durante la aplicación de ácido oxálico mediante el tratamiento de goteo.	38
Figura 3. Distribución de la caída de ácaros durante el periodo de aplicación de ácido oxálico con el método de toalla (n= 4, $\bar{x} \pm DE$) en cuatro semanas	40
Figura 4. Conteo de ácaros en cada colmena durante la aplicación del ácido oxálico mediante el tratamiento de toalla	41
Figura 5. Caída de ácaros durante las cuatro semanas de aplicación de ácido oxálico en tiras de cartón impregnadas (n= 4, $\bar{x} \pm DE$).	43
Figura 6. Conteo de ácaros por cada colmena durante la aplicación de ácido oxálico mediante el tratamiento de tiras de cartón.	44
Figura 7. Caída natural de ácaros en el grupo control ($\bar{x} \pm DE$) durante cuatro semanas 45	
Figura 8. Caída natural de ácaros en cada colmena del grupo control	46
Figura 9. Caída semanal de ácaros (promedio) para cada grupo de tratamiento y las colmenas control	47
Figura 10. Comparación de medias ajustadas y desviaciones estándar de los grupos tratamiento y control.....	48
Figura 11. Comparación semanal de la mortalidad del ácaro varroa en los tratamientos con ácido oxálico y su caída natural en el grupo control	49

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. BITÁCORA DE PASANTÍA EN EL INSTITUTO DE APICULTURA DE CELLE.....	79
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

AO: Ácido oxálico

DE: Desviación estándar

±: Más, menos

\bar{x} : Promedio aritmético

GLOSARIO

- **Apiario:** conjunto de colmenas.
- **Alza:** parte de la colmena donde se ubican los marcos utilizados para el almacenamiento de la miel (producción).
- **Cámara de cría:** espacio de la colmena, donde se ubican los panales con cría. Usualmente está localizada en la parte inferior.
- **Colmena:** es el nido, constituido por la colonia y sus panales de cera; corresponde a la unidad de producción apícola.
- **Colonia:** conjunto de abejas que interactúan intercambiando alimentos y otras sustancias necesarias para su vida, y llevando a cabo diferentes actividades (defensa de la colonia, alimentación de la cría, búsqueda de alimentos, entre otros).
- **Control Integrado:** uso de diferentes métodos y productos alternativos para el control de plagas, con el fin de disminuir al máximo el uso de químicos.
- **Enjambre:** grupo de abejas obreras que junto a la reina abandonan la colmena y se instalan en un nuevo sitio (forma de reproducción de la colmena)
- **Piquera:** espacio que se encuentra en la parte inferior de la colmena, el cual es utilizado para la entrada y salida de las abejas.
- **Piso:** accesorio de la colmena ubicado en la parte inferior.

RESUMEN

La disminución de colmenas de abejas *Apis mellifera*, se ha relacionado con la presencia de enfermedades, una de ellas es la varroosis, la cual es ocasionada por el ácaro *Varroa destructor*, un ectoparásito obligado de las abejas. Para su control, tradicionalmente se han utilizado los acaricidas químicos, sin embargo, su uso inadecuado e indiscriminado puede tener consecuencias, como el desarrollo de resistencia del ácaro y la presencia de residuos en miel y cera. Por lo que es necesaria la investigación de productos alternativos de bajo impacto ambiental.

En el presente estudio se determinó la efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro varroa. El experimento se desarrolló en un apiario constituido por 16 colmenas de abejas africanizadas, ubicado en Atenas, Alajuela. Las colmenas se dividieron en cuatro grupos para aplicar y comparar los tratamientos: **1-** método de goteo (35 g de ácido oxálico y 1 Kg de azúcar), **2-** método de toalla (12 g de ácido oxálico, 13 ml de glicerina, 10 ml de agua destilada por toalla), **3-** método de cartón impregnado (7.5 g de ácido oxálico y 12.5 ml de glicerina por tira) y **4-** grupo control, al cual no se le aplicó ningún producto.

En cuanto al método de goteo, se aplicó semanalmente 5 ml sobre los marcos. Para el método de toalla, esta se colocó sobre los marcos, mientras que, para el de cartón, se utilizaron cuatro tiras por colmena, las que permanecieron durante cuatro semanas. Los tres tratamientos, se aplicaron en la cámara de cría y se realizaron observaciones para determinar posibles efectos adversos. Posteriormente, se aplicó Flumevar® (flumetrina), como producto de choque durante cinco semanas.

Las efectividades de los diferentes métodos en el control de varroa, correspondieron a: 74.4% con la toalla, 63.0% con el goteo y 50.0% con las tiras de cartón. Con base en lo anterior, se puede concluir que el ácido oxálico mostró efectividad en el tratamiento de *V. destructor* en abejas africanizadas en condiciones tropicales, por lo que se puede recomendar su uso.

Palabras clave: Ácido Oxálico, Abeja Africanizada, *Varroa destructor*, Control Integrado

ABSTRACT

The decrease in *Apis mellifera* beehives has been related to the presence of diseases, one of them is varroosis, which is caused by the mite *Varroa destructor*, an obligate ectoparasite of honey bees. For varroa mites control, chemical acaricides have traditionally been used, however, their inappropriate and indiscriminate use can have consequences, such as the development of mite resistance and the presence of residues in honey and wax. Therefore, research into alternative products with low environmental impact and non-toxic is necessary. In the present study, the effectiveness of oxalic acid in the control of varroa mites was carried out.

The experiment was developed in an apiary made up of 16 Africanized honey bee colonies, located in Atenas, Alajuela. The hives were divided into four groups to apply and compare the treatments: 1- trickling method (35 g of oxalic acid and 1 Kg of sugar), 2- towel method (12 g of oxalic acid, 13 ml of glycerin, 10 ml of distilled water per towel), 3- impregnated cardboard method (7.5 g of oxalic acid and 12.5 ml of glycerin per strip) and 4- control group, to which no oxalic acid was applied.

As for the trickling method, 5 ml was applied weekly to the top of the frames. For the towel method, this was placed on the frames, while, for the cardboard method, four strips were used per hive, which remained for four weeks. The three treatments were applied in the brood chamber and observations were made to determine possible adverse effects. Later, Flumevar® (flumethrin) was applied as a shock product during five weeks.

The effectiveness of the different methods for varroa control corresponded to: 74.4% with the towel, 63.0% with trickling and 50.0% with cardboard strips. According with the results, it can be concluded that oxalic acid showed effectiveness in the treatment of *V. destructor* in Africanized honey bees in tropical conditions, so its use can be recommended.

Key words: Oxalic Acid, Africanized bee, *Varroa destructor*, Integrated control.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES

Existen aproximadamente 20 000 especies de abejas descritas y de estas, la abeja melífera, *Apis mellifera*, es la que se utiliza principalmente para la producción de miel, polen, cera, propóleo, jalea real, entre otros (Zammit y Blundell 2023). No obstante, la principal función de las abejas es la polinización de los bosques y cultivos agrícolas, lo cual proporciona diferentes beneficios ya que tiene un impacto en la conservación del ambiente y la seguridad alimentaria al favorecer la formación de frutos y semillas (Solano y Odio 2019).

Las abejas melíferas cumplen un papel relevante en la salud pública, tanto a nivel de la salud humana como animal, debido a que sus productos son utilizados por sus propiedades curativas o como suplementos alimenticios (Zammit y Blundell 2023). Estas abejas fueron traídas a América por los primeros conquistadores europeos (Van Veen y Arce 1993) y desde entonces, en Costa Rica se han utilizado para la polinización de cultivos agrícolas y para la producción de miel, además de otros productos apícolas (Ramírez y Van Veen 1993).

En 1956 se introdujeron a Brasil abejas de origen africano, *A. mellifera scutellata* L, con el fin de obtener colonias más adaptadas a condiciones tropicales y que a su vez, produjeran una mayor cantidad de miel. Sin embargo, algunos enjambres de abejas africanas abandonaron los apiarios experimentales y se cruzaron con las de origen europeo, originando un híbrido denominado abeja africanizada, la cual migró, de forma natural, a la mayoría de los países de América (Calderón et al. 2019), donde desplazaron a las abejas de origen europeo (Guzmán et al. 2011). En 1983, se

detectaron los primeros enjambres africanizados en Costa Rica y actualmente, esta abeja es la que predomina en la apicultura del país (Muñoz 1988; Van Veen et al. 1990).

Costa Rica se ha caracterizado por un alto consumo de miel de abeja (200 a 400 g per cápita). Algunos usos de la miel en la industria alimentaria están relacionados con la fabricación de jaleas, endulzante natural y la producción de alimentos. Mientras que, en el ámbito de la salud, se puede mencionar su aplicación como antiséptico y cicatrizante en heridas y quemaduras, además de su uso en la formulación de medicamentos y cosméticos (Calderón et al. 2016; Solano y Odio 2019).

En el año 2019, de acuerdo con Sepsa (2020), se reportaron en Costa Rica aproximadamente 1376 apiarios con un total de 39 976 colmenas, no obstante, para el periodo 2016-2019 se indicó una disminución en el número de apiarios y colmenas. Dicha reducción podría estar relacionada, entre otras causas, con la presencia de enfermedades en los apiarios, ya que según Guzmán-Novoa y colaboradores (2011), la presencia de algunas de ellas, sin control ni manejo sanitario adecuado, pueden llevar a la pérdida de colmenas.

Una de las enfermedades de mayor importancia económica en la apicultura mundial, es la varroosis (Espina y Ordetx 1984; Bailey y Ball 1991), la cual es ocasionada por el ácaro *Varroa destructor* (Anderson y Trueman 2000). Este ácaro, originalmente infestaba la abeja asiática *A. cerana*, sin causar daños en las poblaciones. En la actualidad es un ectoparásito obligado de las abejas melíferas (*A. mellifera*) que se alimenta de la hemolinfa y/o cuerpo graso de los individuos adultos y

larvas, así como también de la pupa en las celdas con cría sellada (Bailey y Ball 1991; Ramsey et al. 2019).

De acuerdo con Ritter y colaboradores (1983), una infestación severa de *V. destructor* puede causar la muerte de toda una colonia de *A. mellifera* entre tres y cuatro años posterior a su infestación; mientras que Le Conte y colaboradores (2010), señalan que, si no se trata una colonia contra este ácaro, no sobrevive más de dos años. En Estados Unidos y Europa se han reportado grandes pérdidas de colmenas debido a este parásito (Ritter y De Jong 1984; Bailey y Ball 1991). En cuanto a países de clima tropical, la infestación podría tener consecuencias aún peores, ya que hay presencia de cría durante todo el año, en la cual el ácaro se reproduce (cría sellada) y de esta manera aumenta su población en las colmenas (Calderón et al. 2012). En Costa Rica, *V. destructor* fue detectado en setiembre de 1997 (Calderón et al. 1998) y desde entonces, productores de distintas zonas apícolas del país, han reportado la pérdida de colmenas y reducción en la producción de miel, relacionadas con su presencia (Calderón 2009).

El ciclo reproductivo del ácaro varroa inicia cuando ingresa a la celda con cría antes de ser operculada, posteriormente se traslada hasta el fondo y permanece en el alimento larval, luego cuando las obreras operculan la celda, el ácaro se desplaza hacia la larva y se alimenta. Después de 60 h de que la celda ha sido operculada, la hembra pone el primer huevo que da origen al macho y posteriormente oviposita cada 30 h, dando origen a las hembras (Vandame 2000; Ritter 2001). Debido a que la mayoría de los productos acaricidas actúan por contacto sobre el ácaro adulto en fase forética (sobre las abejas adultas), cuando *V. destructor* se está reproduciendo dentro

de la cría sellada, se encuentra protegido, lo cual representa una limitante para la mayoría de los tratamientos (Koeniger y Fuchs 1988).

Tradicionalmente, para el control de la varroosis se han utilizado diferentes acaricidas químicos; sin embargo, esto tiene algunos inconvenientes, como el desarrollo de resistencia del ácaro y la presencia de residuos químicos en la miel. Uno de los productos naturales que se ha utilizado como alternativa en el tratamiento del ácaro *V. destructor* corresponde al ácido oxálico (Adjlane et al. 2016). Este ácido se produce de manera natural en forma de oxalatos en las raíces y rizomas de plantas de la familia *Oxalis* (Martínez 2015) y *Rumex*, de las cuales fue aislado originalmente. El mismo se encuentra en las plantas como sal potásica ácida o como sal de calcio (Mariani et al. 2003).

Al ácido oxálico también se le conoce como ácido etanodioico, es el más sencillo de los ácidos dicarboxílicos y su fórmula química corresponde a $H_2C_2O_4$ (OIT y OMS 2018), cristaliza en forma de pirámides rómbicas y pueden formar fácilmente dihidrato. Este ácido se comercializa principalmente en cristales que contienen 71.4% de ácido oxálico anhidro y 28.6% de agua (Mariani et al. 2003).

Estudios preliminares sobre el uso del ácido oxálico en el control del ácaro varroa en abejas africanizadas en condiciones tropicales como las de Costa Rica, indican una efectividad que varía entre un 60.0% y 70.0%, dependiendo del método de aplicación y de la época del año (Villegas 2021).

1.2. Justificación

Costa Rica es el país con mayor uso de agroquímicos de América Latina (Solano y Odio 2019) y como consecuencia de su aplicación desmedida en los cultivos,

se ha relacionado con una alta mortalidad de abejas (Alvarado 2020). A pesar de que los principales productos químicos que afectan a las abejas son los empleados en la agricultura y ganadería, es recomendable reducir o eliminar su uso en la apicultura.

Algunos acaricidas químicos que han sido utilizados en el tratamiento del ácaro *V. destructor* en abejas melíferas son el fluvalinato (Apistan®), flumetrina (Bayvarol®) y coumafos (Checkmite®) (Aliano et al. 2006; Calderón et al. 2014). Sin embargo, el ácaro ha generado resistencia a algunos de estos acaricidas, debido principalmente a su uso inadecuado; como, por ejemplo, la subdosificación, la aplicación por periodos cortos o prolongados y el uso de preparaciones caseras (Milani 1995; Trouiller 1998; Kanga et al. 2010). Además, el uso de estos acaricidas químicos puede llegar a afectar la salud de las colmenas, así como también podría afectar la salud pública, ya que se ha detectado la presencia de residuos en miel y cera (Al-Rifai y Akeel 1997; Wallner 1999). Otra desventaja del uso de estos productos es que tienen precios elevados que aumentan los costos de producción (Calderón et al. 2014). Por lo anterior, es necesario estudiar tratamientos alternativos naturales y amigables con el ambiente para combatir al ácaro *V. destructor* y así evitar la contaminación de las colmenas y muerte de abejas.

Se debe considerar que las alternativas orgánicas pueden tener una efectividad menor a los acaricidas químicos, no obstante, si se realiza un manejo integrado de las colmenas, la efectividad de los productos orgánicos aumenta de manera considerable (Giovenazzo y Dubreuil 2011). De acuerdo con el Manual de Buenas Prácticas Apícolas Centroamericano (OIRSA 2010), para que los apiarios tengan un adecuado manejo sanitario, deben cumplir al menos con las siguientes recomendaciones:

- Las colmenas deben ubicarse en sitios con semisombra, evitando lugares muy húmedos.
- La zona de pecoreo debe estar libre de aplicaciones intensivas de agroquímicos
- Debe haber fuentes de agua libres de residuos a menos de un Km de las colmenas o de ser necesario, colocar bebederos en los apiarios.
- Proporcionar alimentación a las colmenas durante la época de escasez (estación lluviosa).
- Realizar cambio anual de la abeja reina.
- Renovar anualmente al menos un 20.0% de los panales de la cámara de cría.

1.2.1. Importancia

El ácaro *V. destructor* representa un serio inconveniente para la producción apícola nacional (Calderón 2009). Este ácaro es vector del virus que deforma las alas, el virus Kashmir y el virus de la parálisis aguda, los cuales también afectan la producción y la sobrevivencia de las colmenas (Bailey y Ball 1991; Ritter 2001). En colonias fuertemente infestadas, las abejas emergen de las celdas con alas deformes o mutiladas (Boecking y Genersch 2008).

Este parásito también debilita el sistema inmune de su hospedero, ocasiona una disminución de hasta un 30.0% del peso corporal de la abeja (Bowen-Walker y Gunn 2001) y una reducción de sus proteínas totales (Dandeu et al. 1991). Al haber un debilitamiento del sistema inmune, las abejas se tornan más susceptibles a infecciones virales y bacterianas (Yang y Cox-Foster 2005). Durante su alimentación, *V. destructor*

actúa como activador y transmisor de agentes patógenos, principalmente de algunos virus presentes en estado de latencia en las abejas (Tentcheva et al. 2004).

En un estudio realizado en Costa Rica en diciembre de 2008, se observó una infestación del 40.5% de varroa en colmenas ubicadas en las provincias de Cartago y Puntarenas. Se debe tomar en cuenta que, en esta época inicia la cosecha de miel y, por ende, las colmenas deben estar en un óptimo estado sanitario, con una mínima infestación del ácaro varroa (Calderón y Sánchez 2011). Es por esta razón que se recomienda evaluar los niveles de infestación de las colmenas y de ser necesario, aplicar los tratamientos en la época de escasez de alimento (estación lluviosa: cuando no hay presencia de miel en las colmenas).

Considerando las desventajas de los acaricidas químicos, es necesario evaluar alternativas orgánicas, seguras para las colmenas y, sobre todo, eficaces en el control del ácaro. El ácido oxálico corresponde a una opción a considerar, ya que es un componente natural presente en la miel de abeja (Charriere y Imdorf 2002) y, además, se ha reportado que presenta baja toxicidad para las abejas melíferas, pero una alta mortalidad en el ácaro *V. destructor* (Aliano et al. 2006). Aún se desconoce su mecanismo de acción; sin embargo, su función acaricida se ha atribuido a la sensibilidad de los ácaros al pH ácido (Maggie et al. 2015; Nanetti 2017). Por tanto, para que el ácido oxálico sea efectivo debe estar en contacto directo con el parásito en fase forética (Aliano et al. 2006).

Por lo anterior, se debe tomar en cuenta que la efectividad del ácido oxálico depende del contacto que tenga con el ácaro, porque, como se mencionó, cuando se encuentra en la cría sellada, está protegido de la mayoría de acaricidas. Los

principales métodos que se utilizan para su aplicación en las colmenas son el goteo, método de toalla, sublimación (evaporación) (Aliano et al. 2006) y actualmente en Suramérica se están usando tiras de cartón impregnadas (Esteban 2015).

Para dichos métodos se emplean soluciones de ácido oxálico con glicerina o con azúcar (Charriere y Imdorf 2002). La glicerina es un disolvente muy efectivo, por lo que mejora la eficacia del ácido oxálico. Además, posee afinidad por la cutícula de la abeja y del ácaro, lo que facilita que el ácido se adhiera a ella (Maggie et al. 2015, Oliver 2017). Respecto al azúcar, se indica que su propósito es incrementar la adhesión del ácido al cuerpo de las abejas, de manera que los ácaros que están adheridos lo ingieran y se intoxiquen (Sabová et al. 2019).

En el método por goteo se utiliza una solución azucarada con ácido oxálico (Charriere y Imdorf 2002), la cual se aplica sobre o entre los espacios de los marcos de la cámara de cría (Rademacher y Harz 2006). Como se indicó, el ácido oxálico posee una alta toxicidad para *V. destructor* y baja para las abejas. También se debe tener presente, que no se puede exceder la cantidad de azúcar porque podría provocar diarrea en las abejas. Distintos estudios con el método de goteo han reportado diferentes efectividades que varían entre un 39.0% a un 99.0%. Esta diferencia en los porcentajes de efectividad está relacionada con la ubicación de los apiarios, la temporada y la presencia o ausencia de cría en las colmenas (Charriere y Imdorf 2002; Gregorc y Planinc 2002).

La mayoría de los estudios con ácido oxálico para el control del ácaro varroa, se han realizado con abejas de tipo europeo en condiciones de clima templado (Canadá, México, Estados Unidos y Europa) o con influencia de clima mediterráneo

(Argelia). Se ha reportado una mortalidad del ácaro que varía entre un 25.0% (aplicación del ácido oxálico en periodo con cría sellada) y un 97.0% (aplicación en periodo sin cría) y una efectividad entre un 53.0% y 90.6% (Mutinelli et al 1997, Gregorc y Planinc 2002; Charriere y Imdorf 2002; Nanetti et al 2003; Gregorc et al 2006; Aguirre et al 2007; Giovenazzo y Dubreuil 2011; Adjlane et al 2016; Sabahi et al 2020). Siendo los estudios en abejas africanizadas en condiciones tropicales, escasos (Calderón et al. 2019). De ahí la importancia de realizar investigaciones en condiciones presentes en Costa Rica, en los cuales hay presencia de cría durante todo el año, en la cual el ácaro se puede reproducir. Además, de ofrecer alternativas de tratamiento viables para los apicultores, con productos de bajo costo y fácil aplicación.

1.2.2. Hipótesis

H₀: No existen diferencias entre los tratamientos con ácido oxálico para el control del ácaro varroa en colmenas de abejas africanizadas.

H₁: Existen diferencias entre los tratamientos con ácido oxálico para el control del ácaro varroa en colmenas de abejas africanizadas.

1.3. Objetivos:

1.3.1. Objetivo general

Determinar la efectividad del ácido oxálico en el manejo integrado del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas

1.3.2. Objetivos específicos

1. Determinar la efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro varroa en abejas africanizadas para recomendar su uso en condiciones tropicales.
2. Identificar el método de aplicación del ácido oxálico más efectivo en el control del ácaro varroa para su uso en las colmenas.
3. Identificar posibles efectos adversos del ácido oxálico en las colmenas para mejorar su aplicación.

2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS

Al inicio de la presente Tesis se realizó una pasantía de cuatro meses en Alemania, a través del proyecto ISAP TiHo-UNA que permitió la matrícula en la Universidad de Medicina Veterinaria de Hannover (TiHo). Esta pasantía se dividió en dos partes, la primera se llevó a cabo en el Instituto de Bioquímica del 31 de enero al 25 de marzo de 2022, lugar donde se desarrollaron mayores destrezas para la investigación y trabajo en laboratorio. Mientras que la segunda parte se realizó en el Instituto de Apicultura de Celle del 28 de marzo al 27 de mayo de 2022.

Dicho instituto brindó un espacio para realizar la pasantía debido a que mantiene cooperación con la Universidad de Medicina Veterinaria de Hannover. Esta estadía permitió un desarrollo personal, además de mejorar habilidades y conocimientos generales en apicultura, los cuales facilitaron un mejor desempeño en la realización de la Tesis.

Posteriormente, el estudio para determinar la efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro varroa en colmenas de abejas africanizadas, bajo condiciones tropicales, se realizó de julio a agosto 2022 (época lluviosa y con mayor prevalencia del ácaro varroa en las colmenas) (Calderón et al. 2007). Dicho trabajo se llevó a cabo en un apiario experimental constituido por 16 colmenas de abejas africanizadas, ubicado en el cantón de Atenas, provincia de Alajuela (09°57'45" N y 84°21'50" O, 535 msnm), clasificado como bosque húmedo premontano, con una temperatura promedio de 27.3°C y una humedad relativa entre 83.0% y 92.0%. El apiario pertenece al Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) de la Universidad Nacional.

Cada colmena estaba conformada por ocho panales y una abeja reina joven de aproximadamente seis meses de edad. Además, se alimentaron con una solución saturada de azúcar y agua, la cual se proporcionó mediante alimentador interno (el cual reemplazó dos panales).

En el momento en que se inició el estudio, las colmenas tenían más de seis meses de no haber recibido tratamiento para el control del ácaro varroa. Además, se cuantificó su nivel de infestación mediante el método de tamizaje, para lo cual se tomó una muestra de aproximadamente 100 abejas adultas de la cámara de cría de cada colmena, luego se contaron los ácaros y las abejas para establecer una relación de infestación mediante la siguiente fórmula: número de ácaros / número de abejas adultas x 100 (Bailey y Ball 1991).

Para determinar la efectividad del ácido oxálico en el tratamiento del ácaro varroa e identificar el método de aplicación más efectivo, el apiario se dividió en cuatro grupos de cuatro colmenas, para lo cual se consideró su nivel de infestación (niveles de infestación similares). Al grupo uno se le aplicó ácido oxálico a través del método de goteo, mientras que las colmenas del grupo dos recibieron tratamiento mediante toalla. En cuanto al grupo tres, se trataron con tiras de cartón impregnadas con ácido oxálico y las restantes cuatro colmenas se utilizaron como grupo control.

Con el fin de identificar cada grupo de colmenas en el apiario, se utilizaron chinches de pizarra con colores específicos. Se utilizó el color verde para el método de goteo, el amarillo para el método de toalla, mientras que el rojo se usó para las tiras de cartón y finalmente, el color blanco para las colmenas pertenecientes al grupo control.

Descripción de los métodos de aplicación del ácido oxálico

2.1. Método de goteo

Se utilizaron 35 g de ácido oxálico, los cuales se mezclaron en una solución que contenía 1 kg de azúcar (moreno) y 1 L de agua destilada. Posteriormente de esta solución, se aplicaron 5 ml sobre los marcos de la cámara de cría. Esta preparación se realizó con base en un estudio preliminar desarrollado en el país (Villegas 2021). La aplicación se realizó cada siete días durante un periodo de cuatro semanas.

2.2. Método de toalla

Para cada toalla se utilizaron 12 g de ácido oxálico, 13 ml de glicerina grado alimenticio y 10 ml de agua destilada. En este caso, se calentó la mezcla de agua destilada con glicerina (60°C) y posteriormente se agregó el ácido oxálico. Esta preparación se basó en la metodología planteada por Villegas (2021). Para garantizar una adecuada distribución del ácido oxálico, cada toalla se humedeció de manera individual. Posteriormente, se colocó una toalla sobre los marcos de la cámara de cría de cada colmena, la cual permaneció durante un periodo de cuatro semanas.

2.3. Método de tiras de cartón impregnado

Para este método se tomó como base la metodología propuesta por Esteban (2015). Se utilizaron tiras de cartón de 2 mm de espesor con medidas de 3 cm de ancho por 46 cm de largo. Se colocaron cuatro tiras por colmena, para un total de 16 por tratamiento. Para impregnar 16 tiras, se calentaron 200 ml de glicerina a 65°C (observándose traslúcida o cristalina); posteriormente se añadieron 120 g de ácido oxálico, se disminuyó la temperatura entre 30°C y 40°C (la solución se empezó a observar opaca). Luego, se mezcló y calentó nuevamente hasta que la temperatura

subió a los 65°C (la solución se observa cristalina). Cabe destacar que no se debe exceder la temperatura, porque el ácido oxálico se puede degradar y generar ácido fórmico (cáustico y corrosivo).

Después del proceso anterior, se redujo la temperatura de la solución y se remojaron las 16 tiras de manera individual. Lo anterior, para asegurar que la mezcla del ácido oxálico se distribuyera de manera homogénea entre las tiras. Se remojaron las tiras durante cuatro horas, para que se impregnaran de manera adecuada. Posteriormente, las tiras se almacenaron en bolsas con cierre hermético para su traslado al apiario.

En las colmenas, las tiras se colocaron entre los marcos de la cámara de cría (las tiras se doblaron a la mitad para cubrir ambos lados del panal) y permanecieron durante cuatro semanas, con el fin de liberar el producto y completar el tratamiento. Se debe mencionar, que anteriormente se había descrito un método similar, el cual utilizaba papel periódico en vez de cartón (Emsen et al. 2007). No obstante, este método no es tan práctico, ya que el papel periódico se adhiere a los marcos de madera, lo cual dificulta o imposibilita su remoción completa.

2.4. Producto de choque

Se aplicaron los diferentes tratamientos con ácido oxálico durante cuatro semanas y posteriormente, se aplicó a todas las colmenas, el acaricida Flumevar® (flumetrina), como producto de choque durante cinco semanas. El Flumevar® eliminó aquellos ácaros que no se removieron con el ácido oxálico en los grupos tratamiento y los ácaros que no cayeron de manera natural en las colmenas control (ácaros remanentes). Lo anterior permitió calcular la efectividad de los tratamientos.

El Flumevar® es un producto químico formulado en tiras plásticas (polietileno) cuyo ingrediente activo es la flumetrina, en una concentración de 0.3 g. Este acaricida pertenece al grupo químico de los piretroides y posee una efectividad superior al 99.0% en el control del ácaro varroa (Buzatto et al. 2009).

2.5. Mortalidad de los ácaros en las colmenas experimentales

Para determinar la mortalidad de los ácaros, que cayeron al aplicar el ácido oxálico y la caída natural en las colmenas control, se colocó una trampa en el piso (fondo) de cada colmena. Esta trampa estaba protegida con un cedazo metálico para evitar que las abejas removieran los ácaros. Además, en el interior de cada trampa, se colocó una cartulina blanca impregnada con vaselina (para facilitar la colecta del ácaro varroa). La cartulina se reemplazó una vez por semana y se trasladó al laboratorio de Patología Apícola del CINAT, donde se realizó la identificación, conteo y registro de los ácaros. Para lo cual se utilizó una lupa de laboratorio, provista con fuente de luz, para facilitar la observación de los ácaros en el fondo blanco de la cartulina.

2.6. Efectividad de los tratamientos

Con el fin de calcular en términos porcentuales la efectividad de los distintos tratamientos con ácido oxálico, para el control del ácaro varroa, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Efectividad} = \frac{\text{Número de ácaros caídos durante el tratamiento con ácido oxálico}}{\text{Número total de ácaros caídos en la colmena}} \times 100$$

*Número total de ácaros caídos en la colmena= ácaros caídos con ácido oxálico + ácaros caídos con el producto de choque (Flumevar®).

2.7. Posibles efectos adversos de los tratamientos sobre la condición de las colmenas

Para identificar posibles efectos adversos de la aplicación del ácido oxálico en las colmenas, se realizaron observaciones, descritas a continuación, sobre la condición general, tanto de la cría como de las abejas adultas.

- Abejas adultas: Al inicio y al final de la aplicación de los productos, se estimó el número de panales cubiertos con abejas adultas, observando ambos lados de los marcos. Asimismo, se realizó una inspección semanal del fondo de la colmena y de la piquera (entrada), para cuantificar la mortalidad de abejas adultas.
- Cría: Se realizó la inspección de aproximadamente 50 celdas de cría abierta y sellada por colmena, para determinar mortalidad de cría. Así como algún efecto adverso (lesión evidente) sobre la cutícula de las larvas y/o pupas, como un cambio de color, olor desagradable o cambio de posición en la celda.
- Postura de la reina: Con el fin de identificar si el ácido oxálico ocasionó una reducción en la postura de la reina, se revisó una semana después de iniciado los tratamientos el interior de las celdas para determinar oviposición.
- Evasión de colmenas: La evasión o pérdida de colmenas fue uno de los principales factores a considerar con la aplicación de los tratamientos. Se cuantificó en cada visita al apiario el número de colmenas presentes por tratamiento.

2.8. Análisis de datos

La unidad experimental

Para efectos de esta investigación, se tomó como unidad experimental, la colmena conformada por ocho panales y una abeja reina, a las cuales se les colectó una muestra de 100 abejas adultas de la cámara de cría para estimar la infestación inicial de varroa y de esta manera agrupar las colmenas considerando los niveles de infestación (homogéneos entre los grupos).

El análisis de los datos se realizó mediante el software Minitab, además de contar con estadísticas descriptivas como desviaciones estándar, medias y porcentajes para explicar los resultados. Tal como se mencionó, se requiere determinar la efectividad de los tratamientos para el control del ácaro varroa. Los datos se muestran en porcentajes tomando en consideración aquellos ácaros caídos dentro de la colmena en las mediciones semanales, y de esta manera se cuantificó la efectividad.

Una de las variables correspondió a los métodos de aplicación del ácido oxálico (T1: tratamiento con método de goteo; T2: tratamiento mediante toalla; T3: con tiras de cartón impregnado; T4: grupo control), los cuales se compararon entre ellos. Otra variable fue el tiempo en que se aplicaron los tratamientos (semanas).

La hipótesis nula hace referencia a que el promedio de efectividad para el tratamiento del ácaro varroa en las colmenas fue igual para los diferentes métodos, es decir, $H_0: \mu_{T1} = \mu_{T2} = \mu_{T3} = \mu_{T4}$. Por otro lado, la hipótesis alternativa indica que al menos uno de los métodos de aplicación (variables) tiene una efectividad promedio diferente. Con el análisis de variancia (ANOVA), se contrastó la hipótesis nula, tomando como

referencia el estadístico Chi-Cuadrado (X^2), para lo cual se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

Para seleccionar el tratamiento más efectivo se utilizó la prueba de Tukey para comparaciones múltiples, la cual consiste en comparar los promedios de cada tratamiento (todos contra todos), mediante intervalos de confianza para cada comparación y su respectiva media, a un nivel de confianza del 95.0%. Por lo que las comparaciones se visualizaron de la siguiente manera:

- T1 Vs. T2
- T1 Vs. T3
- T1 Vs. T4
- T2 Vs. T3
- T2 Vs. T4
- T3 Vs. T4

Aunado a esta comparación, se realizó la prueba de Dunnett para comparaciones múltiples entre intervalos de confianza, para contrastar la efectividad promedio de la media de cada tratamiento con respecto a la media del control. Con un nivel de confianza del 90.0% entre todas las comparaciones. A continuación, se muestran las comparaciones que se llevaron a cabo:

- T4 Vs. T1
- T4 Vs. T2
- T4 Vs. T3

3. RESULTADOS

Se determinó la efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro *V. destructor* en colmenas de abejas africanizadas en condiciones tropicales mediante tres métodos de aplicación. Este ácido mostró un control adecuado del ácaro varroa, siendo el método de toalla el que presentó la efectividad más elevada ($P < 0.05$). Además, cabe recalcar que se observaron pocos efectos adversos en las colmenas al aplicar este ácido.

A continuación, se indica la efectividad del ácido oxálico para cada uno de los métodos utilizados y la mortalidad de ácaros.

3.1. Método de goteo

3.1.1 Efectividad

El promedio de ácaros caídos en las colmenas tratadas con el método de goteo fue de 115.5 ± 102.3 ($n= 4$). Al aplicar el producto de choque (flumetrina), se obtuvo una caída de 67.7 ± 80.9 ($n= 4$). Lo anterior permite establecer una efectividad del 63.0% (Cuadro 1).

Cuadro 1

Efectividad del ácido oxálico (AO) por el método de goteo ($n= 4$, $\bar{x} \pm DE$) mediante el registro de ácaros caídos durante las primeras cuatro semanas.

Periodo de muestreo (semana)	1	2	3	4	Total de ácaros caídos con AO	Total de ácaros caídos con flumetrina	Efectividad
Ácaros caídos	70.7 ± 66.3	2.7 ± 2.7	32 ± 36.2	10 ± 18.0	115.5 ± 102.3	67.7 ± 80.9	63.0 %

3.1.2. Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación

La mayor mortalidad del ácaro varroa en este grupo, se dio principalmente durante la primera semana de aplicación. Luego, se observó un descenso considerable en el conteo de varroa en la segunda semana, el cual aumentó durante la tercera, para volver a disminuir en la cuarta semana (Figura 1).

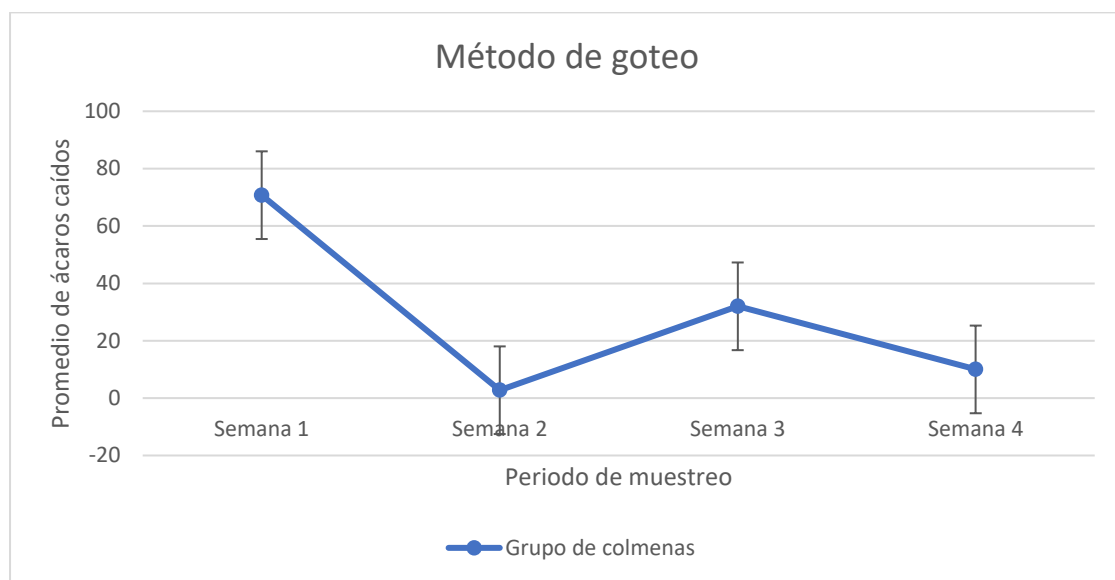


Figura 1.

Caída de *V. destructor* durante la aplicación de ácido oxálico mediante el tratamiento de goteo ($n=4$, $\bar{x} \pm DE$) en cuatro semanas.

3.1.3 Mortalidad de ácaros por colmena

En las colmenas de este grupo (n= 4), la mayor mortalidad de ácaros ocurrió durante la primera semana del tratamiento, la cual se redujo en la segunda semana. Durante la tercera, en dos colmenas se observó un aumento en la caída de ácaros, mientras que en las otras dos la mortalidad se mantuvo constante y para la cuarta semana, se registró un descenso en la mortalidad (Figura 2).

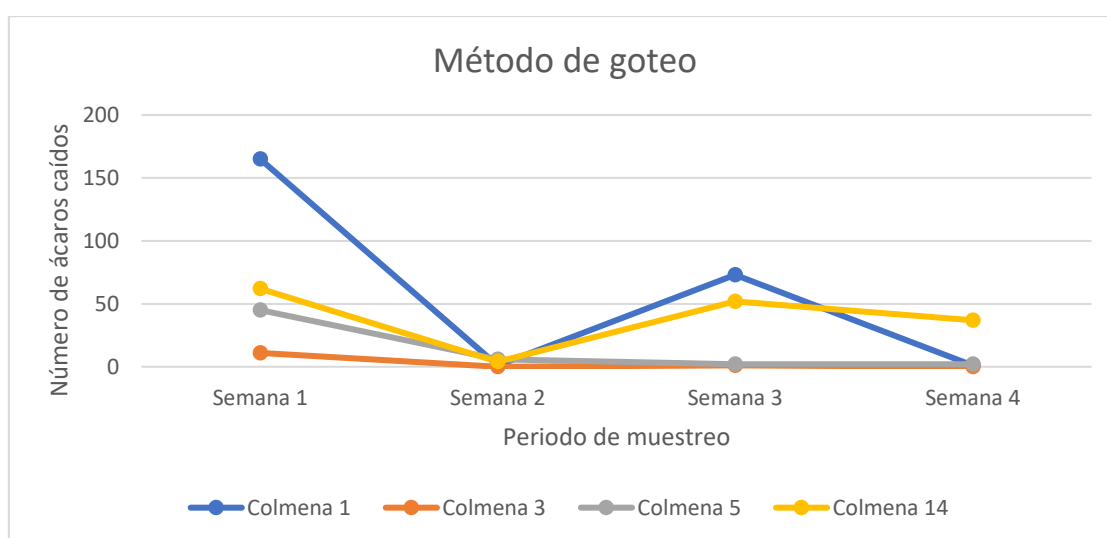


Figura 2.

Conteo de ácaros en cada colmena durante la aplicación de ácido oxálico mediante el tratamiento de goteo.

3.2. Método de toalla

3.2.1 Efectividad

El promedio de ácaros caídos en las colmenas tratadas con el método de toalla, en un periodo de cuatro semanas, fue de 451.7 ± 154.9 ($n= 4$). La mayoría de los ácaros (77.0%) se eliminó en la primera semana de tratamiento con ácido oxálico, mientras que en la tercera se observó un incremento moderado. Al aplicar flumetrina (Flumevar), se obtuvo una caída de 155.5 ± 57.0 ($n= 4$). Lo anterior permitió establecer una efectividad del 74.4% en el control de varroa (Cuadro 2).

Cuadro 2.

Efectividad del ácido oxálico (AO) en el control del ácaro varroa mediante la técnica de toalla ($n= 4$, $\bar{x} \pm$) durante un periodo de cuatro semanas.

Periodo de muestreo (semanal)	1	2	3	4	Total de ácaros caídos con AO	Ácaros caídos con flumetrina	Efectividad
Ácaros caídos	349.5 ± 112.1	13.2 ± 11.3	70.7 ± 48.5	18.7 ± 22.0	451.7 ± 154.9	155.5 ± 57.0	74.4%

3.2.2. Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación

De acuerdo con los datos, en las colmenas tratadas mediante el método de toalla, la mayor mortalidad de ácaros se registró durante la primera semana. Posteriormente, se observó un descenso considerable en la segunda semana, seguido de un aumento moderado en la tercera (Figura 3).

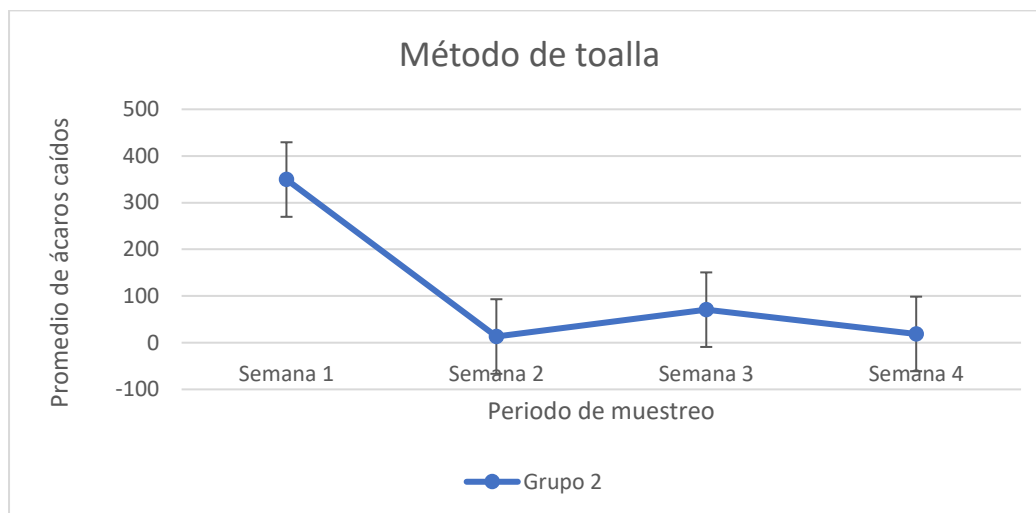


Figura 3.

Distribución de la caída de ácaros durante el periodo de aplicación de ácido oxálico con el método de toalla (n= 4, $\bar{x} \pm DE$) en cuatro semanas.

3.2.3. Mortalidad por colmena

En las colmenas de este grupo (n= 4), la mayor mortalidad del ácaro varroa ocurrió durante la primera semana del tratamiento y hubo una disminución considerable durante la segunda. Posteriormente se observó un leve aumento durante la tercera semana, el cual disminuyó nuevamente al finalizar el periodo de tratamiento. A pesar de las diferencias en los niveles de infestación en las colmenas, la mortalidad de ácaros en este grupo (n= 4) fue similar (Figura 4).

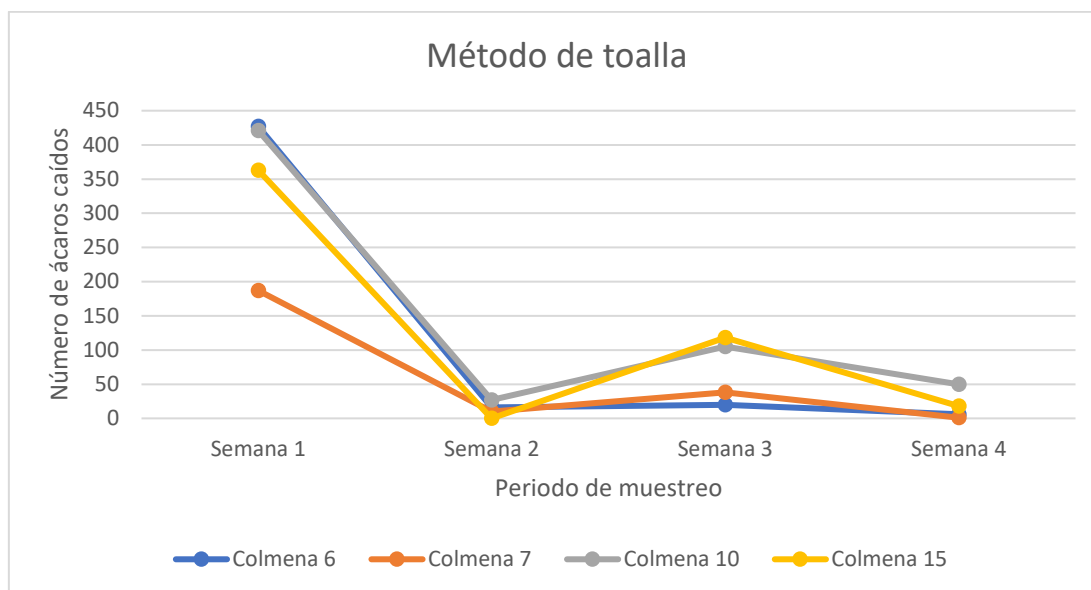


Figura 4.

Conteo de ácaros en cada colmena durante la aplicación del ácido oxálico mediante el tratamiento de toalla.

3.3. Tiras de cartón impregnadas

3.3.1. Efectividad

El promedio de ácaros caídos en las colmenas tratadas con el método de tiras de cartón fue de 127.7 ± 209.0 ($n= 4$). Se puede observar que la principal mortalidad de ácaros en este método ocurrió en la segunda y tercera semana. Al aplicar flumetrina (Flumevar®), se obtuvo una caída de 127.5 ± 195.8 ($n= 4$). Lo anterior, permite establecer una efectividad del 50.0% (Cuadro 3).

Cuadro 3.

Efectividad del ácido oxálico (AO) en el control del ácaro varroa mediante el método de tiras de cartón impregnadas con ácido oxálico ($n= 4$, $\bar{x} \pm DE$) durante un periodo de cuatro semanas.

Periodo de muestreo (semanal)	1	2	3	4	Total de ácaros caídos con AO	Ácaros caídos con flumetrina	Efectividad
Ácaros caídos	27.5 \pm 23.3	50.0 \pm 98.7	43.5 \pm 84.3	6.7 \pm 10.2	127.7 \pm 209.0	127.5 \pm 195.8	50.0%

3.3.2. Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación

La caída de *V. destructor* en este grupo se comportó muy diferente con respecto a los otros tratamientos, ya que en la primera semana el conteo de ácaros fue menor que las otras semanas. Como se indicó, la mayor mortalidad de varroa se presentó durante la segunda semana, mientras que, durante la tercera y cuarta semanas, se observó una reducción considerable (Figura 5).

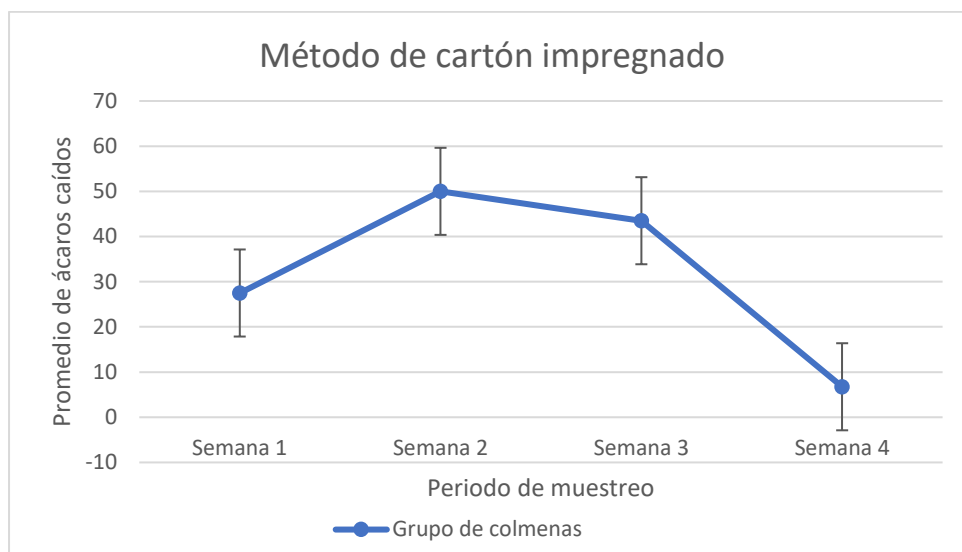


Figura 5.

Caída de ácaros durante las cuatro semanas de aplicación de ácido oxálico en tiras de cartón impregnadas ($n=4$, $\bar{x} \pm DE$).

3.3.3. Mortalidad de ácaros por colmena

Este gráfico permite observar que una de las colmenas presentó una fuerte mortalidad de ácaros en la segunda y tercera semana de tratamiento, mientras que, en las otras ($n=3$), la caída de varroa fue leve y se mantuvo constante (Figura 6).

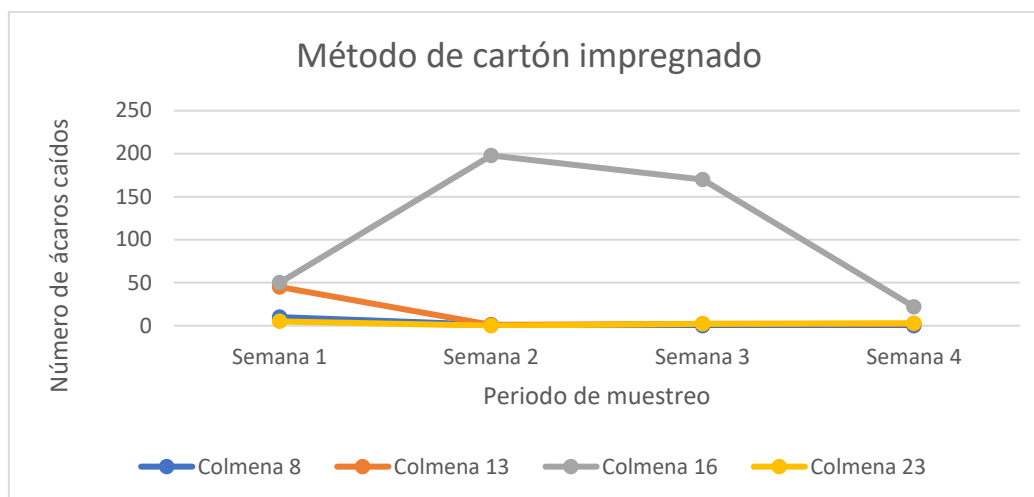


Figura 6.

Conteo de ácaros por cada colmena durante la aplicación de ácido oxálico mediante el tratamiento de tiras de cartón.

3.4. Grupo control

3.4.1. Mortalidad natural de ácaros durante el periodo de aplicación

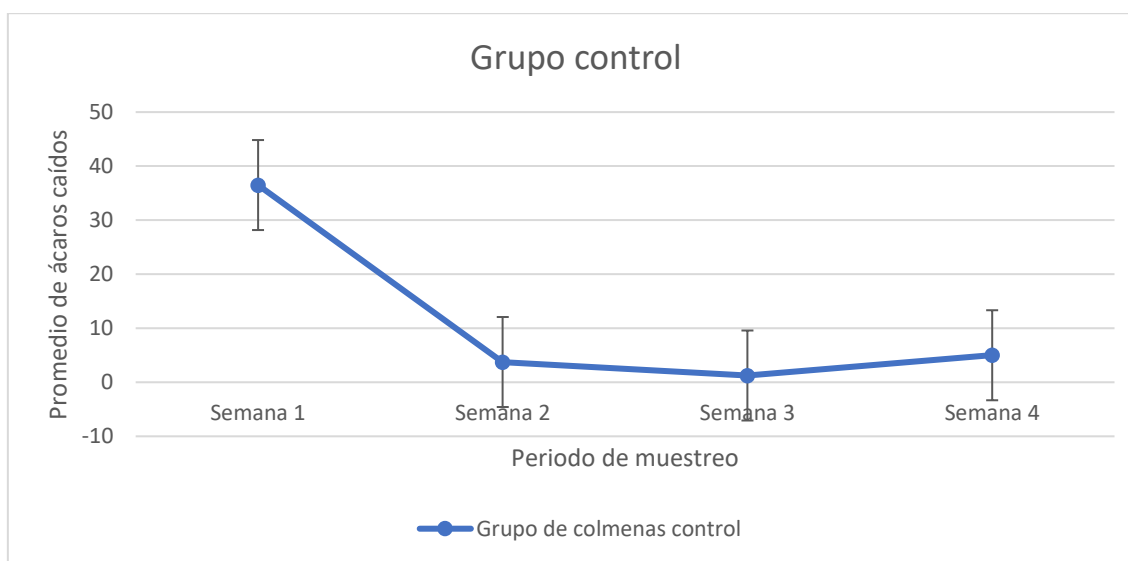
El promedio de ácaros caídos de forma natural en las colmenas del grupo control fue de 46.5 ± 43.4 ($n= 4$), en un espacio de cuatro semanas, resultado que es menor al determinado con el uso del ácido oxálico en los tratamientos. Durante la primera semana se determinó la principal caída de ácaros. Al aplicar flumetrina (Flumevar®), se obtuvo una mortalidad de 89.7 ± 61.5 ($n= 4$). Lo anterior permite establecer que la caída natural de varroa durante ese periodo correspondió a un 34.1% de los ácaros presentes en las colmenas (Cuadro 4).

Cuadro 4.

Conteo de ácaros caídos de manera natural en el grupo control ($\bar{x} \pm DE$) durante un periodo de cuatro semanas.

Periodo (semanal)	1	2	3	4	Ácaros caídos naturalmente	Ácaros caídos con flumetrina	Mortalidad natural de ácaros
Ácaros caídos	36.5 ± 38.2	3.7 ± 5.0	1.2 ± 1.2	5 ± 4.2	46.5 ± 43.4	89.7 ± 61.5	34.1%

En estas colmenas, la mayor caída de ácaros se dio durante la primera semana y fue disminuyendo en las siguientes semanas. En este grupo, al igual que en el de toalla, la mortalidad de ácaros tuvo un comportamiento bastante homogéneo en las colmenas (Figura 7).

**Figura 7.**

Caída natural de ácaros en el grupo control ($\bar{x} \pm DE$) durante cuatro semanas.

3.4.2 Mortalidad natural de ácaros por colmena

Como se observa en la Figura 8, la mortalidad de ácaros en las colmenas del grupo control fue similar, a excepción de la colmena 12, la cual presentó un mayor número de ácaros caídos la primera semana.

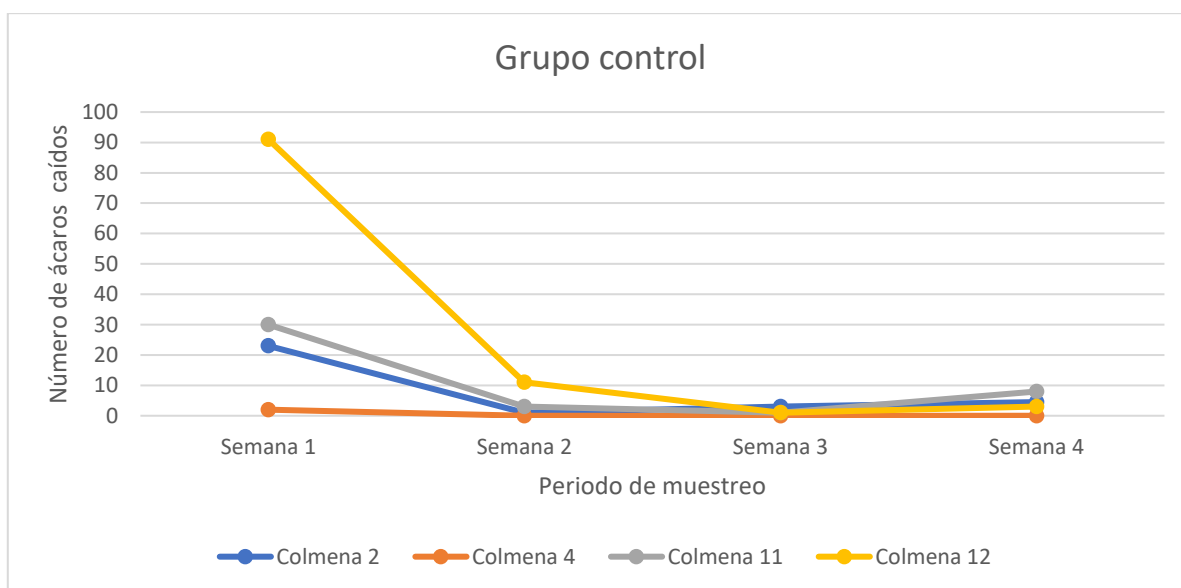


Figura 8.

Caída natural de ácaros en cada colmena del grupo control

3.5. Comparación entre los métodos de aplicación del ácido oxálico y el grupo control

Como se mencionó, el método de toalla fue el tratamiento que obtuvo el mayor porcentaje de efectividad, el cual correspondió a un 74.4% ($P < 0.006$), mientras que los métodos de goteo y de tira de cartón, alcanzaron un 63.0% y un 50.0%, respectivamente. En cuanto al grupo control, al cual no se le aplicó ácido oxálico, con la finalidad de cuantificar la caída natural de ácaros, obtuvo un porcentaje de mortalidad de varroa de 34.1%. En la figura 9 se puede observar la diferencia en la caída de ácaros de los distintos grupos.

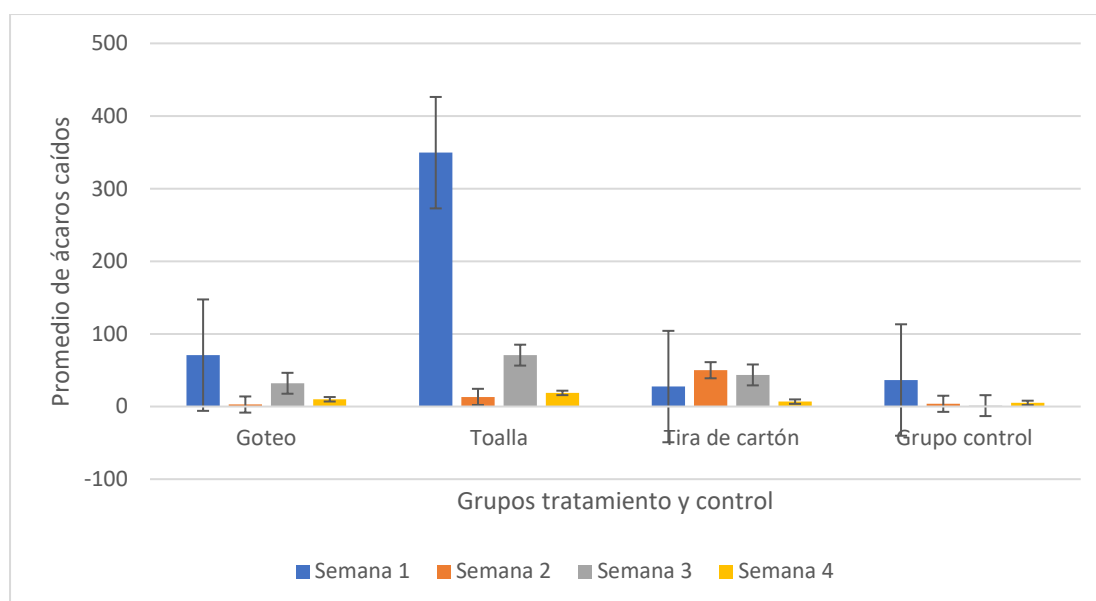


Figura 9.

Caída semanal de ácaros (promedio) para cada grupo de tratamiento y las colmenas control.

En la Figura 10 se observan las medias ajustadas y las desviaciones estándar de los diferentes grupos (tratamientos y control), lo cual muestra que la mortalidad de ácaros fue homogénea entre las colmenas del grupo de toalla (su desviación estándar tiene poco traslape con las demás). Por otro lado, la caída de varroa en las colmenas con tiras de cartón, fue diferente entre ellas, mostrando una alta variabilidad (amplio margen de desviación estándar).

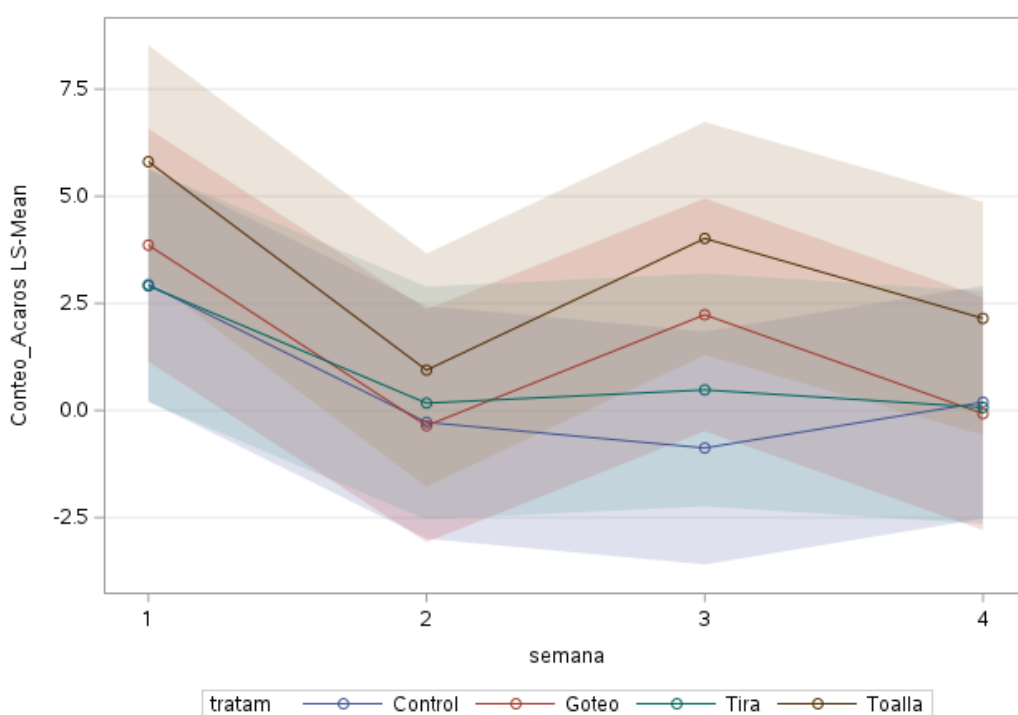


Figura 10.

Comparación de medias ajustadas y desviaciones estándar de los grupos tratamiento y control.

A pesar de que el porcentaje de efectividad del método goteo y el de toalla es notablemente mayor que la caída natural de ácaros en el grupo control, al realizar el análisis de varianza, solo la toalla presenta diferencias estadísticamente significativas

($P < 0.05$), con respecto al grupo control. Por otro lado, al comparar los tratamientos entre ellos con la prueba de Tukey, no se encontraron diferencias significativas. De igual manera, al contrastar las medias de los tratamientos con el control, mediante la prueba de Dunnett, no se encontraron diferencias significativas.

Durante el periodo de aplicación, el método de toalla fue el que presentó la mayor caída de ácaros (Figura 11). En los grupos de toalla y goteo, el promedio de ácaros caídos fue mayor durante la primera y tercera semana. Mientras que, que en el cartón se observó un aumento en la segunda semana y posteriormente un descenso en la mortalidad, lo cual puede estar relacionado al comportamiento de limpieza presente en abejas africanizadas, el cual varía entre colmenas del mismo apiario.

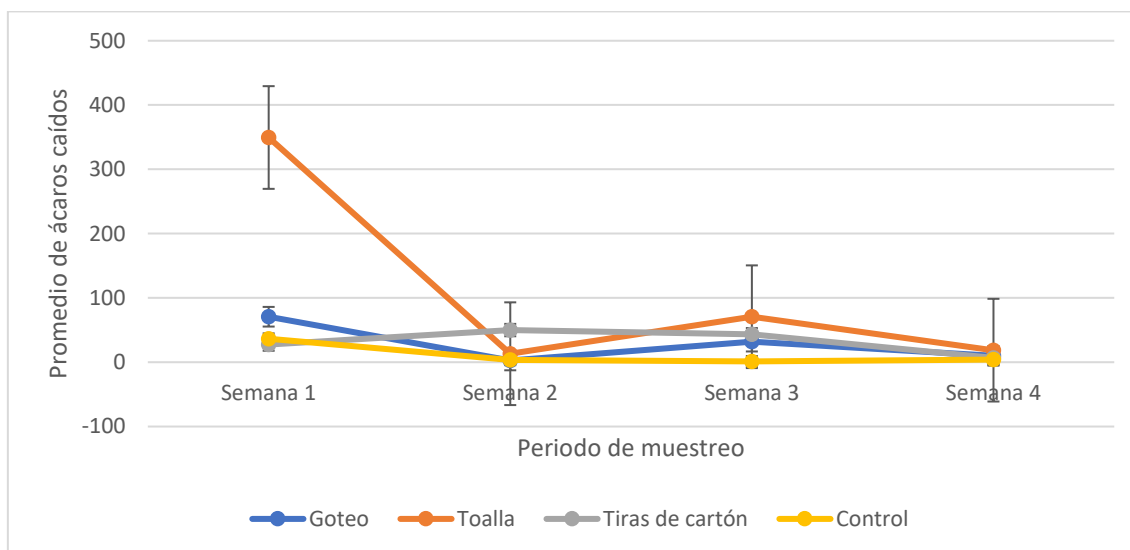


Figura 11.

Comparación semanal de la mortalidad del ácaro varroa en los tratamientos con ácido oxálico y su caída natural en el grupo control.

3.6. Efectos adversos

Para identificar posibles efectos adversos de la aplicación del ácido oxálico en las colmenas, se analizó la condición general tanto de la cría como de las abejas adultas.

3.6.1. Método de goteo

a. Abejas adultas

Al inicio de la aplicación del ácido oxálico, las colmenas de este grupo presentaban entre seis y siete panales cubiertos con abejas adultas (total panales= ocho). Durante las inspecciones semanales, no se observó mortalidad de abejas en el fondo de la colmena ni frente a la piquera. Al finalizar el tratamiento, la cantidad de panales cubiertos con abejas adultas era similar a la cantidad inicial o presentaron un leve aumento.

b. Cría

Al realizar la inspección de la cría abierta y sellada por colmena, no se observó mortalidad ni lesiones evidentes en la cutícula de larvas y/o pupas. La cría se observó con una coloración normal (blanco perlado), sin olor y posicionada de manera correcta en la celda (con la cabeza apuntando hacia el opérculo).

c. Postura de la reina

No se identificó una reducción evidente en la postura de la reina. Al contrario, en algunas colmenas de este grupo la oviposición se mantuvo constante o tuvo un ligero aumento.

d. Evasión de colmenas

Durante la aplicación del ácido oxálico mediante el método de goteo, no hubo evasión de colmenas. Sin embargo, posterior al tratamiento, cuando se estaba aplicando el producto de choque, una de las colmenas evadió y se observó mortalidad de abejas frente a la piquera. Un aspecto evidente en esta colmena fue la invasión de abejas nativas (*Trigona* spp.) al apiario, probablemente del género *Lastrimelita*, el cual se considera oportunista (invasor).

3.6.2. Método de toalla

a. Abejas adultas

Al inicio de la aplicación del ácido oxálico en toalla, las colmenas de este grupo tenían siete panales cubiertos con abejas adultas (total de panales= ocho); una de las colmenas presentaba un alza (dos cajas), una de ellas tenía los ocho panales cubiertos con abejas adultas, mientras que la otra solo presentaba cuatro panales con abejas. Al finalizar el tratamiento, se observó un ligero aumento en la población de las colmenas. Por otro lado, durante el periodo de estudio no se determinó mortalidad de abejas adultas en el fondo de la colmena, ni frente a la piquera.

b. Cría

Al igual que en el método anterior (goteo), al revisar la cría abierta y sellada, no se identificó mortalidad ni lesiones evidentes. Las larvas y/o pupas se observaron de color blanco, sin olor y colocadas correctamente en la celda.

c. Postura de la reina

En las colmenas tratadas con ácido oxálico en toalla, las reinas mantuvieron postura (presencia de huevos) en los panales de la cámara de cría. El patrón de oviposición en la cría sellada fue irregular (cría salteada) al inicio y posterior al tratamiento, se observó uniforme, con continuidad en los opérculos.

d. Evasión de colmenas

Durante la aplicación del ácido oxálico en el método de toalla, no hubo evasión de colmenas. Todas las colmenas se mantuvieron hasta finalizar el experimento, es decir, tanto durante la aplicación del ácido oxálico como del acaricida de choque.

3.6.3. Tiras de cartón impregnado

a. Abejas adultas

Tanto al inicio como al final de la aplicación del ácido oxálico, las colmenas se mantuvieron entre cinco y siete panales cubiertos con abejas adultas (total ocho panales). En dos de las colmenas, se observó un leve aumento de la población de abejas.

b. Cría

Una de las colmenas de este grupo, presentaba la cámara de cría y un alza (dos cajas). Sin embargo, a la tercera semana de haber colocado la tira de cartón, se observó que la cría y la mayoría de las abejas adultas, se trasladaron a la caja superior.

c. Postura de la reina

No se observó una reducción evidente en la postura de huevos; sin embargo, en dos de las colmenas, la reina no ovipositó en las celdas que estaban en contacto con las tiras de cartón, aun cuando había espacio suficiente para realizarla.

d. Evasión de colmenas

Al aplicar el ácido oxálico en el método de tiras de cartón, no se determinó evasión de colmenas. Sin embargo, como se indicó, la postura de la reina se trasladó de la cámara de cría hacia el alza.

3.6.4. Grupo control

En este grupo de colmenas no se aplicó ácido oxálico. No obstante, se realizaron observaciones, con el fin de identificar posibles efectos adversos en las colmenas.

a. Abejas adultas

En el periodo en el que no se aplicó ningún producto (cuatro semanas) no se observó aumento ni disminución evidente de la población de abejas adultas. Las colmenas de este grupo mantuvieron entre cinco y siete panales cubiertos de abejas (total de panales= ocho), con excepción de una colmena, que solamente tuvo cuatro panales completamente cubiertos.

b. Cría

La cría de las colmenas de este grupo, además de estar infestadas con el ácaro varroa (opérculos perforados o abiertos), fueron afectadas por la polilla de la cera (polilla mayor *Gallería mellonella*). Lo anterior, afectó el desarrollo de cría, tanto de

larvas como de pupas, siendo retiradas de la celda por las abejas adultas (comportamiento higiénico).

c. Postura de la reina

La oviposición de la reina no disminuyó durante el periodo de estudio. Sin embargo, se observó que el patrón de postura era irregular, con grupos de celdas (parches) de cría sellada aislados, sin continuidad en los opérculos.

d. Evasión de colmenas

La colmena más débil de este grupo (poca población de abejas adultas y una infestación moderada de varroa= 7.3%) evadió durante la sexta semana del ensayo (específicamente en el periodo de aplicación de Flumevar®). Lo anterior coincidió con la presencia de abejas nativas en el apiario, del género *Trigona* (probablemente *Lestrimelitta*), las cuales invadieron esta colmena (lo que pudo ocasionar su pérdida).

4. DISCUSIÓN

Se analizó la efectividad del ácido oxálico en el control integrado del ácaro *V. destructor* en abejas africanizadas. Este ácido, se ha utilizado como control alternativo de varroa (Aliano et al. 2006). En el presente estudio, se aplicó a las colmenas mediante los métodos de goteo, toalla y tiras de cartón.

Cada uno de los métodos analizados presentó diferentes niveles de efectividad, en el control de varroa. Los porcentajes de efectividad obtenidos concuerdan, en algunos casos, con los reportados en estudios realizados en países de clima templado, con influencia mediterránea o en zonas subtropicales.

4.1. Método de goteo

4.1.1. Efectividad

Al utilizar este método se obtuvo una efectividad del 63% (35 g de AO). Este resultado es similar a estudios realizados en Eslovenia, Argelia y México. En Eslovenia (clima templado), se realizó una investigación en diferentes estaciones del año. La efectividad fue de 97% en la época sin cría y de un 25% al aplicar el AO en presencia de cría sellada (Gregorc y Planinc 2002).

Por otro lado, en Argelia (clima mediterráneo), se realizó un estudio en el que utilizó el método de goteo en tres concentraciones y obtuvieron efectividades de 65.0% (50 g de AO), 72.0% (75 g de AO) y 81.0% (100 g de AO). La efectividad del 65.0%, se obtuvo al utilizar una concentración similar a la empleada en esta investigación; mientras que para alcanzar la efectividad del 81.0%, usaron una cantidad elevada de ácido oxálico (100 g), con el inconveniente que se presentaron efectos adversos, como el debilitamiento de las colmenas (Adjlane et al 2006).

Por otra parte, en Baja California, México (clima subtropical) se aplicaron dos tratamientos con el método de goteo, reportando eficacias de 82.8% (30 g de AO) y 90.6% (40 g de AO) (Aguirre et al 2007). Mientras que, en Costa Rica, se realizó un estudio en el cual se utilizó este mismo método en dos concentraciones, la primera de 35 g con la que se alcanzó una efectividad del 89.0% y la segunda de 100 g (diluida en 2 L de agua destilada), cuya efectividad fue de 67.0% (Villegas 2021), similar a la obtenida.

4.1.2. Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación

La mayor mortalidad del ácaro se dio durante la primera y la tercera semana de aplicación del AO. Esto puede deberse a que dicho producto actúa sobre los ácaros en estado forético (Rademacher y Harz 2006). Es decir, que durante la primera semana los ácaros que murieron fueron los que se encontraban sobre las abejas adultas, mientras que durante la segunda semana *V. destructor* estaba protegido en la cría sellada. Posteriormente, al emerger las abejas adultas durante la tercera semana, los ácaros se expusieron al AO y, por ende, aumento su mortalidad.

4.1.3. Mortalidad de ácaros por colmena

En dos colmenas de este grupo, la mortalidad se mantuvo constante a partir de la segunda semana, mientras que en las otras hubo variabilidad en la caída de ácaros a través del tiempo de aplicación del AO. Estas diferencias en la mortalidad de ácaros en las colmenas del mismo grupo podrían deberse a los distintos niveles de infestación de *V. destructor* entre ellas, los cuales se homogenizaron entre los tratamientos (al inicio) de acuerdo con su intensidad.

4.2. Método de toalla

4.2.1. Efectividad

En el método de toalla, se utilizaron 12 g de AO y tuvo una efectividad del 74.4%. La concentración empleada y el porcentaje obtenido son similares a los reportados en otros estudios, los cuales en su mayoría se han realizado en condiciones distintas a las de Costa Rica (clima templado y abejas de origen europeo). Por ejemplo, en una investigación llevada a cabo en Ontario, Canadá, colocaron dos toallas por colmena, cada una de ellas con 6 g de AO y 6.5 ml de glicerina. De esta forma se reportó una efectividad del 78.7% (Sabahi et al 2020).

Por otro lado, el investigador Randy Oliver ha realizado múltiples experimentos en Estados Unidos, con el fin de encontrar el método más práctico, efectivo y amigable con el ambiente para controlar al ácaro *V. destructor*. En una de sus investigaciones, utilizó el método de toalla (sin cuantificar la efectividad) y determinó que el conteo de ácaros se redujo hasta en un 75.0%, además de que su uso posee menos efectos adversos que la sublimación (Oliver 2018).

En cuanto a estudios realizados en clima tropical, se encuentra uno llevado a cabo en Costa Rica, en el cual se utilizaron 12 g de AO y se obtuvo una efectividad del 61.0% (Villegas 2021). Mientras que, en México, en una zona de clima templado subhúmedo y con abejas africanizadas, se comparó el método de sublimación con el de toalla, obteniendo una efectividad del 86.8% y 88.3%, respectivamente (Gallardo et al 2019).

4.2.2. Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación

En este grupo, la mortalidad de ácaros fue alta durante la primera semana y considerablemente más baja el resto del tiempo. Lo cual podría estar relacionado a que pocos ácaros ingresaron a la cría antes de ser sellada, eliminando la gran mayoría, desde los primeros días posteriores a la colocación de las toallas en las colmenas.

4.2.3. Mortalidad por colmena

A pesar de que la infestación inicial del ácaro varroa en cada colmena era distinta, su mortalidad fue similar entre las colonias. La principal caída de ácaros se registró en la primera semana y hubo un leve aumento durante la tercera. Dicho aumento puede deberse al ciclo de *V. destructor*, que se encuentra protegido mientras permanece dentro de la cría sellada, pero que queda expuesto al ácido oxálico al emerger de la celda (fase forética) (Rademacher y Harz 2006).

4.3. Tiras de cartón impregnadas

4.3.1. Efectividad

En el método de tiras de cartón impregnadas, se utilizaron 50 g de AO por colmena (12.5 g por tira), con una efectividad del 50.0%. Aun cuando esta efectividad se considera baja, cabe mencionar, que esta es la primera vez que se usa el AO aplicado en tiras de cartón en una investigación en Costa Rica; sin embargo, este método ha sido ampliamente estudiado y aplicado en América del Sur. Por ejemplo, en Argentina existe una versión comercial llamada Aluen CAP® y Pérez y colaboradores (2022) determinaron que, al utilizar dos tiras, la eficacia fue del 84.5%, mientras que, al utilizar cuatro tiras, la eficacia superó el 96.0%.

Por otro lado, en Uruguay utilizaron tiras de cartón, para determinar la efectividad en distintas estaciones. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: 91.0% en marzo (transición verano-otoño), 97.5% en junio (transición otoño-invierno), 69.0% en setiembre (transición invierno-primavera), 71.0% en octubre (primavera) y 94.0% en enero (verano). También determinaron que la efectividad fue mayor, en las colmenas donde se colocaron las tiras en la cámara de cría. Por otra parte, no se observaron efectos adversos en abejas adultas ni en la cría. Cabe destacar que los autores concluyeron que la efectividad disminuyó en primavera, ya que las colmenas se estaban expandiendo y royeron las tiras (Branchiccela et al 2022).

Al comparar los resultados obtenidos en Argentina y Uruguay con los del presente estudio, se hace evidente que hay una diferencia considerable, ya que la efectividad observada fue menor. Factores como el clima, la temperatura y la humedad pueden haber afectado la liberación de AO de las tiras y por ende la efectividad. También podría deberse a que el cartón utilizado, no absorbió todo el ácido de forma adecuada. Este aspecto en particular, puede ser objeto de una próxima investigación, para evaluar la adherencia del químico en diferentes tipos de cartón y medir en cada caso su efectividad.

4.3.2. Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación

La mayor mortalidad se presentó durante la segunda semana. Esto puede deberse a que durante la primera semana había más ácaros dentro de la cría sellada, los cuales se vieron afectados días después en la fase forética. Posteriormente, la caída de ácaros disminuyó, lo cual puede deberse a que las tiras de cartón perdieron

efectividad debido a factores externos o a que desde un principio no absorbieron la cantidad suficiente de AO.

4.3.3. Mortalidad de ácaros por colmena

La mortalidad de ácaros en las cuatro colmenas de este grupo fue distinta. Esta diferencia puede estar relacionada al nivel de infestación de cada colonia y al comportamiento de limpieza de las abejas (que varían entre ellas) (Espinosa et al 2008).

4.4. Grupo control

4.4.1. Mortalidad natural de ácaros durante el periodo de aplicación

La caída natural de ácaros en el grupo control, correspondió a un 34.1%. En un estudio realizado en Costa Rica, Calderón y Sánchez (2023) determinaron una mortalidad natural de 25.7%. Este porcentaje de caída natural de varroa, no es comparable con estudios realizados en otros países, debido a que, en ellos solo contabilizaron la cantidad de ácaros muertos en el grupo control en un periodo definido; sin embargo, no establecieron un porcentaje de mortalidad como tal.

En condiciones naturales, los ácaros mueren en la cría sellada debido al espacio limitado por el tamaño de las celdas (Donze y Guerin 1994), además de la competencia entre diferentes estadios por el sitio de alimentación en la pupa (Martin 1994). En el macho, específicamente, la principal mortalidad ocurre por la falta de alimento, ya que su aparato bucal está modificado para la transferencia de espermatozoides y no es utilizado para la alimentación (Ritter 2001).

4.4.2. Mortalidad natural de ácaros por colmena

La mortalidad por colmena y por semana fue similar, pero hubo una colonia en particular cuyo número de ácaros caídos fue mayor. Esta diferencia puede deberse a su comportamiento de limpieza y al nivel de infestación de varroa.

4.5 Comparación entre los métodos de aplicación del ácido oxálico y el grupo control

Al comparar los diferentes métodos de aplicación del AO, los métodos de toalla y goteo presentaron la mayor efectividad. No obstante, al realizar análisis de varianza entre el grupo control y los tres tratamientos, solamente el de toalla presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Mientras que, al aplicar las pruebas de Tukey y Dunnet, no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos. Lo anterior puede deberse, a que se necesita aumentar el tamaño de la muestra (número de colmenas) con el fin de mejorar la potencia de la prueba estadística.

Sin embargo, en estudios con abejas africanizadas, la cantidad de colmenas que se utilizan es limitado por diversas razones. Entre ellas están que los apiarios deben tener un tamaño máximo de 20 a 25 colmenas, porque si el número es mayor, aumentan las probabilidades que en época de escasez (periodo lluvioso), ocurra` pillaje (robo de alimento entre colmenas) y evasión de colonias. Además, se debe tomar en cuenta el comportamiento defensivo de las abejas africanizadas, lo cual hace difícil el manejo de apiarios con más de 20 colmenas. Por otro lado, para aumentar la cantidad de individuos (n), habría que utilizar diferentes apiarios y, por ende, variar las condiciones entre ellos, lo cual podría afectar los resultados del estudio. Además, por

este comportamiento defensivo, se deben mantener los apiarios lejos de centros de población (casas de habitación, escuelas, entre otros).

También cabe resaltar, que uno de los objetivos del estudio, fue evaluar los posibles efectos adversos del ácido oxálico sobre la condición de las abejas. Por lo que no era conveniente, exponer un número elevado de colmenas al producto, y con ello evitar un impacto ambiental.

Otro factor que pudo influir en que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos tratamiento, fue probablemente el comportamiento individual de las colonias (higiénico y limpieza), el cual provocó variación de los resultados entre las colmenas del mismo grupo. El comportamiento higiénico se refiere a la capacidad de las abejas adultas para detectar y remover de la celda cría afectada (larvas y/o pupas) (Espinosa et al 2008). Este comportamiento les permite a las abejas remover de las celdas los patógenos que están afectando a la colmena, como puede serlo el ácaro *V. destructor* (Espinosa et al 2008) y puede variar entre un 20.0% y un 80.0% entre colmenas del mismo apiario (Araneda et al 2008).

4.6 Efectos adversos

Con respecto a efectos adversos, se determinó que, en las concentraciones de ácido oxálico utilizadas son prácticamente nulos o poco evidentes, debido a que no se observaron consecuencias negativas ocasionadas por el uso del producto. Igualmente, Villegas (2021) no reportó ningún efecto adverso al administrar ácido oxálico mediante goteo y toalla, en abejas africanizadas en condiciones similares. Cherriere e Imdorf (2002) utilizaron AO en diferentes cantidades (30 g, 37 g y 45 g) y mencionan que, a

partir de los 45 g, se observó que las colmenas se debilitaron levemente. Por otro lado, Adjlane (2006) reportó que, al utilizar 100 g de ácido, la efectividad fue alta, pero hubo un fuerte debilitamiento de las colmenas. Por lo cual, el AO puede ocasionar daño en las colmenas cuando se utiliza en concentraciones elevadas.

Otros productos alternativos como el ácido fórmico pueden provocar la salida de abejas de la colmena, las cuales abandonan temporalmente el nido de cría y se agrupan cerca de la piquera. Además, se han observado abejas adultas muertas en el suelo y una cantidad considerable de cría abierta afectada. Así mismo, el ácido fórmico puede causar mortalidad en abejas que emergen de las celdas y evasión de colmenas (Ramírez 2013).

En el caso de los acaricidas químicos, pueden ser tóxicos aún en pequeñas cantidades. Por ejemplo, en el caso del amitraz, se recomienda utilizar solamente 1 g por colmena, debido a su toxicidad (DL50 en población sensible fue de 0.78 $\mu\text{g/ml}$, mientras que la DL95 correspondió a 6.38 $\mu\text{g/ml}$) (Bolois 2012). Además, productos químicos como el fluvalinato, la flumetrina y el amitraz pueden afectar el desarrollo de las abejas, su habilidad de aprendizaje y la postura de la reina (Berry et al 2013). Por otro lado, en un estudio realizado en Canadá (Gashout et al 2018), indican que los acaricidas naturales (timol y ácido fórmico) fueron significativamente menos tóxicos que los sintéticos (coumafós, fluvalinato y amitraz). Adicionalmente, cabe destacar que hay lugares donde el ácaro *V. destructor* ha generado resistencia a estos productos químicos (Martinez y Medina 2011; Kamler et al 2016). Por lo anterior, se debe promover el uso de productos orgánicos, como el ácido oxálico, cuya eficiencia permite el control del ácaro varroa, sin afectar las colmenas y el ambiente.

5. CONCLUSIONES

1. El ácido oxálico mostró efectividad en el control del ácaro *Varroa destructor* en abejas africanizadas en condiciones tropicales. Los métodos de aplicación mediante goteo y toalla presentaron una efectividad moderada, mientras que la efectividad con tiras de cartón fue baja.
2. Al comparar los tratamientos, el método de toalla presentó la mayor efectividad, seguido del goteo, por lo que ambos pueden ser considerados como una alternativa en el manejo integrado del ácaro varroa. El método de tiras de cartón presentó la menor efectividad en el control de varroa. No obstante, se debe considerar que es la primera vez que se evalúa en Costa Rica, por lo que se debe continuar su investigación.
3. Las concentraciones de ácido oxálico utilizadas en el presente estudio, se consideran aptas para su uso en abejas africanizadas, ya que no se observaron efectos adversos evidentes sobre las colmenas.

6. RECOMENDACIONES

- Al CINAT: realizar más investigación dirigida al uso del ácido oxálico en tiras de cartón, ya que este es el primer estudio con este método en Costa Rica. Se recomienda modificar algunos aspectos de la metodología, como la cantidad de horas que estuvo en contacto el ácido con el cartón. Además, valorar el tipo de cartón utilizado y su grosor, de manera que mejore la absorción del ácido.
- Al CINAT: comparar diferentes tipos de toalla, para medir absorción, durabilidad y efectividad en el control de varroa.
- Al CINAT: realizar estudios sobre el costo/beneficio o la viabilidad de reutilizar las toallas. Además, se recomienda evaluar su efectividad y posibles efectos adversos de utilizarlas entre los marcos.
- Al CINAT: aumentar la cantidad de aplicaciones de los métodos de toalla y tiras de cartón y evaluar si mejora la efectividad en el control del ácaro varroa.
- Al CINAT: comparar la efectividad del método de goteo al aplicarlo sobre los marcos y entre los marcos. Los diferentes estudios mencionan solamente una forma de aplicación y no se comparan las técnicas entre sí. Además, en el país hay apicultores que no dejan espacio entre la parte superior de los marcos (cabezales) y la tapa, por lo que administrarlo entre los marcos podría ser una opción viable.
- A la Escuela de Medicina Veterinaria: Incluir en la malla curricular de la carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, un curso optativo sobre las abejas, considerando su biología, manejo y su impacto en la conservación ambiental.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adjlane N, Tarek EO, Haddad N. 2016. Evaluation of Oxalic Acid Treatments against the Mite *Varroa destructor* Secondary Effects on Honey Bees *Apis mellifera*. Journal Arthropod-Borne Diseases. 10 (4): 501-509.
- Aguirre JL, Demedio J, Roque E. 2007. Eficacia varroicida del ácido oxálico en jarabe de sacarosa por goteo. Revista Salud Animal. 29 (2): 118-122.
- Aliano N, Ellis M, Siegfried B. 2006. Acute contact toxicity to *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and their *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) hosts in laboratory bioassays. Journal of Economic Entomology. [Internet]; [citado el 20 de julio de 2021]. 99 (5): 1579-1582. Disponible en: <http://www.bioone.org/doi/full/10.1603/0022-0493-99.5.1579> doi: <http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-99.5.1579>
- Al-Rifai J, Akeel N. 1997. Determination of pesticide residues in imported and locally produced honey in Jordan. Journal of Apicultural Research. 36: 155-161
- Alvarado JB. [Internet]. 2020. Muerte de 250 mil abejas al día denuncian apicultores. 07 de diciembre de 2020. La República. Costa Rica. [citado el 10 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://www.larepublica.net/noticia/muerte-de-250-mil-abejas-al-dia-denuncian-apicultore>

- Anderson D L, Trueman J. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*. 24: 165-189
- Araneda X, Pérez R, Castillo C, Medina L. 2008. Evaluación del comportamiento higiénico de *Apis mellifera* L. en relación al nivel de infestación de *Varroa destructor* Anderson & Trueman. *IDESIA*. 26 (2): 59-67.
- Bailey L, Ball B. 1991. *Honeybee pathology*. 2 ed. Academic Press, London. P 193
- Berry J, Hood M, Pietravalle S, Delaplane K. 2013. Field-level sublethal effects of approved bee hive chemicals on honey bees (*Apis mellifera* L). *Plos One* [Internet]. [citado el 16 de mayo]; 8 (10): e76536. Disponible en: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3799823/pdf/pone.0076536.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3799823/pdf/pone.0076536.pdf)
doi:10.1371/journal.pone.0076536
- Boecking O, Genersch E. 2008. Varroosisthe Ongoing Crisis in Beekeeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*. 2: 221-228
- Bolois M. 2012. Amitraz frente a *Varroa destructor*. Eficacia y detección de resistencia. Trabajo fin de Máster en Veterinaria. Universidad Zaragoza, España.
- Bowen P, Gun A. 2001. The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate and lipid levels. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 101 (3): 101-112

- Branchiccela B, Díaz S, Mendoza Y, Ramallo G, Silva C. 2022. Control de *Varroa destructor* con ácido oxálico en tiras de celulosa: aspectos claves para maximizar su eficacia. Resúmenes de FILAPI; 2022 Nov 16 al 19; Cusco, Perú. 2022. p. 146
- Calderón R. 2009. Diagnóstico de enfermedades de la cría en abejas africanizadas en Costa Rica. Memorias del X Congreso Nacional de Apicultura: Apicultura y su impacto en la seguridad alimentaria. San José, Costa Rica. 66 p.
- Calderón R, Arce H, Van Veen J. 1998. Detección, distribución y control de *Varroa jacobsoni* Oudemans en Costa Rica. Ciencias Veterinarias. 21: 31-40.
- Calderón R, Herrera E, Ramírez M. 2016. Experiencias sobre el uso de la miel de abejas nativas sin aguijón para el tratamiento de heridas y problemas oculares en animales domésticos. Revista Notas Apícolas. 16: 52-56
- Calderón R, Fallas N, Sánchez L. 2007. Detección de enfermedades en abejas africanizadas en Costa Rica. Ciencias Veterinarias. 25: 335-348.
- Calderón R, Ortiz R, Sánchez L, Lalama K. 2000. Control del ácaro *Varroa jacobsoni* en abejas melíferas (*Apis mellifera*) bajo condiciones tropicales. Ciencias Veterinarias. 27 (2): 45-55
- Calderón R, Padilla S, Ramírez M. 2019. Estudio preliminar sobre la presencia de enfermedades en enjambres de abejas africanizadas (*Apis mellifera*) en diferentes zonas de Costa Rica. Ciencias Veterinarias. 37 (1): 12-25.

- Calderón R, Ramírez M, Ramírez F, Villalobos E. 2014. Efectividad del ácido fórmico y el timol en el control del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas. *Agronomía Costarricense*. 38 (1): 175-188.
- Calderón R, Ramírez F, Sánchez L. 2023. Trampa de fondo como una alternativa en el control integrado del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas. *Revista Ciencias Veterinarias*. 4 (2): 1-13.
- Calderón R, Sánchez L. 2011. Diagnóstico de enfermedades en colmenas de abejas africanizadas en Costa Rica: prevalencia y distribución de setiembre a noviembre del 2007. *Agronomía Costarricense*. 35 (2): 49-60.
- Calderón R, Ureña S, Van Veen J. 2012. Reproduction of *Varroa destructor* and offspring mortality in worker and drone brood cells of Africanized honey bees. *Experimental and Applied Acarology*. 56: 297-307. DOI 10.1007/s10493-012-9518-0
- Castillo L, Chaverri F, Ruepert C, Wesseling C. 1995. Manual de Plaguicidas. Guía para América Central. EUNA, Heredia, Costa Rica. 680 p.
- Charriere J, Imdorf A. 2002. Oxalic acid treatment by trickling against *Varroa destructor*: recommendation for use in central Europe and under temperate climate conditions. *Bee World* [Internet]. [citado el 16 de octubre de 2021]; 83 (2): 51-60. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/277646223>

- Dandeu J, Lux M, Colin M, Rabillon J, David B. 1991. Étude immuno-chimique de l'hémolymphe d'abeille ouvrière adulte (*Apis mellifera* L) saine ou infestée par *Varroa jacobsoni*. Oud. Apidologie. 22: 37-42
- Donzé G, Guerin P. 1994. Behavioral attributes and parental care of varroa mites parasiting honey bee brood. Behavioral Ecology and Sociobiology. 34 (1994): 305-319.
- Emsen B, Guzmán-Novoa E, Kelly P. 2014. The effect of three methods of application on the efficacy of thymol and oxalic acid for the fall control of the honey bee parasitic mite *Varroa destructor* in the Northern climate. American Bee Journal. 147: 535-539.
- Espina D, Ordetx G. 1984. Apicultura tropical. Tecnológica de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. 506 p.
- Espinosa L, Guzmán E, Sánchez A, Montaldo H, Correa A. 2008. Estudio comparativo de tres pruebas para evaluar el comportamiento higiénico en colonias de abejas (*Apis mellifera* L.). Revista Veterinaria México 39 (1): 39- 54.
- Esteban F. 2015. Estado de la técnica del manejo de Varroa con tiras de cartón con ácido oxálico. Revista Apicultura del Centro del País. N° 112.
- Gallardo H, Ordoñez A, De la Torre P, Martínez D, Ramírez C. 2019. Evaluación de dos métodos de tratamiento con ácido oxálico para el control de *Varroa*

destructor en colonias de abejas *Apis mellifera* L. [Internet]. México. [citado el 09 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://hermeshoney.com/>

Gashout H, Goodwin P, Guzman E. 2018. Lethality of synthetic and natural acaricides to worker honey bees (*Apis mellifera*) and their impact on the expression of health and detoxification-related genes. Environmental Science and Pollution Research [Internet]. [citado el 18 de abril de 2023]; 25 (2018): 34740-34739. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-018-3205-6>
<https://doi.org/10.1007/s11356-018-3205-6>

Giovenazzo P, Dubreuil P. 2011. Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada. Experimental and Applied Acarology. 55: 65-76. DOI 10.1007/s10493-011-9447-3

Gregorc A, Planinc I. 2002. The control of *Varroa destructor* using oxalic acid. The Veterinary Journal. 163: 306-310. doi:10.1053/tvjl.2001.0675

Guzmán-Novoa E, Correa A, Espinosa L, Guzmán G. 2011. Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México. Revista Veterinaria. [Internet]. [citado el 25 de julio de 2021]; 42 (2): 149-178. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922011000200005

Kamler M, Nesvorna M, Stara J, Erban T, Hubert J. 2016. Comparison of taufluvalinate, acrinathrin and amitraz effects on susceptible and resistant populations of

Varroa destructor in vial test. Experimental and applied acarology [Internet]. 69 (1): 1-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10493-016-0023-8>

Kanga L, Adamczyk J, Marshall K, Cox R. 2010. Monitoring of resistance to organophosphorus and pyrethroid insecticides in varroa mite populations. Journal of Economic Entomology. 5: 1797-1802.

Koeniger N, Fuchs S. 1988. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. In honeybee colonies containing sealed brood cells. Apidologie. 19: 117-130.

Le Conte Y, Arnold G, Trouiller J, Masson C, Chappe B, Ourisson G. 1989. Attraction of the parasitic mite varroa to the drone larvae of honeybees by simple aliphatic esters. Science Journal. 245: 638-639.

Maggie M, Tourn E, Negri P, Szawarski N, Marconi A, Gallez L, Medici S, Ruffinengo S, Brasesco C, De Feudis L, Quintana S, Sammataro D, Eguaras M. 2015. A new formulation of oxalic acid for *Varroa destructor* control applied in *Apis mellifera* colonies in the presence of brood. Apidologie. [Internet]. [citado el 10 de octubre de 2021] 47: 596-605. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/283489668>. DOI: 10.1007/s13592-015-0405-7

Mariani F, Lambrech R, Testiani M. 2003. Evaluación del ácido fórmico para el control de la varroasis en la colmena en mielada. Vida Apícola. 122: 48-51

- Martin S. 1994. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Experimental and Applied Acarology*. 18 (1994): 87-100.
- Martínez K. 2015. Evaluación de diferentes variedades de *Oxalis tuberosa* (OCA) para la obtención de harina con fines industriales. Tesis de grado para la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador.
- Martínez J, Medina L. 2011. Evaluación de la resistencia del ácaro *Varroa destructor* al fluvalinato en colonias de abejas (*Apis mellifera*) en Yucatán, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 2 (1): 93-100.
- Milani N. 1995. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud to pyrethroids: a laboratory assay. *Apidologie*. 23: 257-272.
- Molina A. 1978. Las abejas: algunas notas sobre su importancia y clasificación. *Actualidades Biológicas*. 7 (25): 79-84. Disponible desde: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/actbio/article/view/330439/20786755>
- Muñoz R. 1988. Perfil de la situación de la Apicultura en Costa Rica. MAG. Dirección General de Mercadeo Agropecuario. San José, Costa Rica [Internet]. [citado el 1 de agosto de 2021]. 53 p. Disponible en: https://mag.go.cr/congreso_agronomico

- Mutinelli F, Baggio A, Capolongo F, Piro R, Prandin L, Biasion L. 1997. A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis. *Apidologie*. 28: 461-462.
- Nanetti A, Büchler R, Charriere J, Fries I, Helland S, Imdorf A, Kornela S, Kristiansen P. 2003. Oxalic acid treatments for varroa control (Review). *Apiacta*. 38: 81-87
- OIRSA. 2010. Manual de buenas prácticas apícolas para la producción de miel. Managua, Nicaragua.
- OIT, OMS. [Internet] 2018. ICSC 0707-Ácido oxálico dihidrato. España. [actualizado el 5 de marzo de 2021; citado el 3 de setiembre 2021]. Disponible en: https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_lang=es&p_card_id=0707&p_version=2
- Oliver R. [Internet]. 2018. Oxalic shop towel updates. California (Estados Unidos de América): scientificbeekeeping.com; [actualizado en 2017; citado el 20 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://scientificbeekeeping.com/oxalic-shop-towel-updates/>
- Perez I, Rinaldi JP, Tellarini E, Zarate JE, Almuni A, Revello E, Tourn E. 2022. Eficacia del ácido oxálico en tiras de liberación lenta para el control de *Varroa destructor* con 2, 3 y 4 tiras en colonias de *Apis mellifera* L. Resúmenes de FILAPI; 2022 Nov 16 al 19; Cusco, Perú. 2022. p. 114

- Rademacher E, Harz M. 2006. Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies-a review. *Apidologie*. 37: 98-120
- Ramírez J, Van Veen J. 1993. Uso de colmenas para la polinización de cultivos. En: *Perspectivas para una apicultura sostenible*. Conferencia de II Congreso Nacional de Apicultura, MAG, San José, Costa Rica [Internet]. [citado el 20 de julio de 2021]; pp 33-36. Disponible en: <https://mag.go.cr>
- Ramírez M. 2013. Evaluación de la efectividad del ácido fórmico y el timol en el manejo integrado del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas bajo condiciones tropicales. Tesis para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de Costa Rica.
- Ramsey S, Ochoa R, Bauchan G, Gulbranson C, Mowery J, Cohen A, Lim D, Joklik J, Cicerco J, Ellis J, Hawthorne D, vanEngelsdorp D. 2019. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 16 (5): 1792-1801.
- Ritter W. 2001. Enfermedades de las abejas. Acribia, Zaragoza, España. 146 p.
- Ritter W, De Jong D. 1984. Reproduction of *Varroa jacobsoni* O. in Europe, the Middle East and tropical South America. *Z Angewandte Entomology*. 98: 55-57
- Ritter W, Perschil F, Hövell R. 1983. Reconocimiento del ácaro *Varroa* mediante métodos simples. *Apicultura Alemana*. 17: 221-222

Q, Morfin N, Nehzati-Paghaleh G, Guzman-Novoa E. 2020. Detection and replication of deformed wing virus and black queen cell virus in parasitic mites, *Varroa destructor*, from Iranian honey bee (*Apis mellifera*) colonies. Journal of Apiculture Research. 59: 211-217.

Sabová L, Sobeková A, Staron M, Sabo R, Legáth J, Staronová D, Lohajová L, Javorský P. 2019. Toxicity of oxalic acid and impact on some antioxidant enzymes on in vitro-reared honeybee larvae. Environmental Science and Pollution Research. 26: 19763-19769. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05247-2>

Sepssa. 2020. Boletín Estadístico Agropecuario: Serie cronológica 2016-2019. 30 ed. Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria, Ministerio de Agricultura y Ganadería, Costa Rica. [Internet]. [citado el 10 de octubre de 2021]. Disponible en: <http://www.infoagro.go.cr/BEA/BEA30.pdf>

Solano I, Odio N. [Internet]. 2019. Abejas: actores claves en la preservación de nuestros ecosistemas. UCR (San José, Costa Rica): accionsocial.ucr.ac.cr; [actualizado el 20 de mayo de 2019; citado el 10 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://accionsocial.ucr.ac.cr/noticias/abejas-actores-clave-en-la-preservacion-de-nuestros-ecosistemas>

Tentcheva D, Gauthier L, Jouve S, Canabady-Rochelle L, Dainat B, Cousserans F, Colin M, Ball B, Bergoin M. 2004. Polymerase chain reaction detection of

- deformed wing virus (DWV) in *Apis mellifera* and *Varroa destructor*. *Apidologie*. 35: 431-440.
- Trouiller J. 1998. Monitoring *Varroa jacobsoni* resistance to pyrethroids in western Europe. *Apidologie*. 29: 537-546.
- Vandame R. 2000. Control alternativo de varroa en apicultura. El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). Chiapas, México. 30 p.
- Van Veen JW, Arce H. 1993. Situación actual y perspectivas de la apicultura en Costa Rica. Conferencia de II Congreso Nacional de Apicultura, MAG, San José, Costa Rica [Internet]. [citado el 20 de julio de 2021]; pp 57-66. Disponible en: <https://fdocuments.in/document/perspectiva-actual-apicultura-costa-rica-1993.html>
- Van Veen JW, Bootsma MC, Arce H, Hallim M, Sommeijer M. 1990. Biological limiting factors for the beekeeping with stingless bees in the Caribbean and Central America. *Social Insects and the Environment*. Oxford and IBH Publishing Co, New Delhi. pp 472-473.
- Villegas X. 2021. Prevalencia y manejo integrado del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas. Heredia, Costa Rica: Tesis para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Universidad Nacional de Costa Rica.
- Wallner K. 1999. Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie*. 30: 235-248

Yang X, Cox-Foster D. 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 102: 7470-7475

Zammit G, Blundell R. 2023. A review on the phytochemical composition and health applications of honey. *Heliyon*. 9 (2023): e12507

8. ANEXOS

ANEXO 1. BITÁCORA DE PASANTÍA EN EL INSTITUTO DE APICULTURA DE CELLE

LAVES Institut für Bienenkunde Celle | Herzogin-Eleonore-Allee 5 | 29221 Celle | Germany

Oriana Natalia Quirós Vargas

Activity Log

Week 1:

03/28/2022

Activities:

- Meeting with Dr. Otto Boecking
- Welcome Institute for Apiculture Celle
- Institute introduction
- Practical activities with beekeeping students:
 - Adjusting the screws of the beehives' frames
 - Tightening of the frames' wires

03/29/2022

- Organization of personal affairs: Renewal of the TiHo card (university card)

03/30/2022

- Practical activities:
 - Tightening of the frames wires
 - Labeling of honey jars

03/31/2022

- Observation of the cleaning of the beehive frames and other tools
- Practical activities:
 - Melting wax for making small frames
 - Building small frames for mating boxes
 - Checking the beehives that belongs to the Institute but are in the forest

04/01/2022

- Practical activities:
 - Melting wax for making small frames
 - Building small frames for mating boxes
 - Repairing frames

Week 2:**04/04/2022**

- Practical activities:
 - Repairing little frames (frames for mating boxes)
 - Melting wax for building small frames for mating boxes

04/05/2022

- Practical activities:
 - Repairing little frames (for mating boxes)
 - Preparing cell bars for bio-beekeepers queen breeding (cell bars are made with wax)

04/06/2022

- Practical activities:
 - Gluing the cell bars to the wooden base

04/07/2022

- Practical activities:
 - Washing wooden beehive frames

04/08/2022

- Practical activities:
 - Visiting beehives that are in the forest to place more brood frames, so they have more space for breeding

Week 3:**04/11/2022**

- Practical activities:
 - Visiting beehives that are in the forest to check that they are well and if necessary, remove cells and remove drone brood to help control the varroa mite.

04/12/2022

- Practical activities:
 - Filling jars of honey
 - Putting wax panels on the frames

04/13/2022

- Practical activities

- Repairing little frames (for mating boxes)
- Putting wax panels on the frames

04/14/2022

- Practical activities
 - Tightening of the frames' wires
 - Taking samples for lab tests (pesticide test)

04/15/2022

Free for easter holiday

Week 4

04/18/2022

Free for easter holiday

04/19/2022

- Practical activities:
 - Visiting beehives that are in the forest to check that they are well and if necessary, remove cells and remove drone brood to help control the varroa mite.
 - Placing frames on honey boxes (preparing honey supers)

04/20/2022

- Practical activities:
 - Placing informative cardboard inside the lids of the honey jars

04/21/2022

- Practical activities:
 - Moving beehives from winter site to summer site
 - Tightening of the frames' wires
 - Putting wax panels on the frames

04/22/2022

- Practical activities:
 - Tightening of the frames' wires
 - Putting wax panels on the frames

Week 5

04/25/2022

- Practical activities
 - Placing wax panels on the frames
 - Taking samples of young bees for lab test (55 young bees from each beehive)

04/26/2022

- Practical activities
 - Placing wax panels on the frames
 - Putting honey supers on the beehives that are in the forest.

04/27/2022

- Practical activities
 - Placing wax panels on the frames
 - Putting honey supers on the beehives that are in the forest.
 - Tightening of the frames' wires

04/28/2022

- Practical activities
 - Grafting of larvae for queen breeding

04/29/2022

- Practical activities
 - Placing wax panels on the frames
 - Tightening of the frames' wires
 - Visiting to a Beekeeper with Dr Catharina Ewest (Celle's Official Veterinary) to take samples and rule out the presence of American foulbrood

Week 6**05/02/2022**

Free for personal affairs: picking up the monthly money of the scholarship at TiHo Tower.

05/03/2022

- Practical activities
 - Putting honey in queen cages (for breeding queens)

05/04/2022

- Practical activities
 - Preparing honey supers

- Placing honey supers on the beehives that are in the forest.

05/05/2022

- Practical activities
 - Preparing honey supers
 - Tightening of the frames wires
 - Placing honey supers on the beehives that are in the forest.
 - Grafting of larvae for queen breeding

05/06/2022

I was stung by bees on Thursday and half of my face was swollen and my right eye was closed so I had the day off.

Week 7

05/09/2022

- Practical activities
 - Placing honey supers on the beehives that are in the forest.

05/10/2022

- Practical activities
 - Marking of the queens
 - Folding belts

05/11/2022

- Practical activities
 - Marking of the queens
 - Collecting bees to make new beehives
 - Receiving visitors from TIHO University

05/12/2022

- Practical activities
 - Checking beehives of the Institute to make sure that they are well and if necessary, remove swarm cells and remove drone brood to help control the varroa mite.
 - Grafting of larvae to breed queens
 - Placing honey supers on the beehives of the Institute

05/13/2022

- Practical activities

- Placing honey supers on the beehives of the Institute

Week 8

05/16/2022

- Practical activities
 - Visiting beehives that are in the forest to check that they are well and if necessary, remove cells and remove drone brood to help control the varroa mite.
 - Collecting bees to make new beehives

05/17/2022

- Practical activities
 - Visiting beehives that are in the forest to check that they are well and if necessary, remove cells and remove drone brood to help control the varroa mite. And putting honey supers if necessary.
 - Removing wax cells from the queen cages

05/18/2022

- Practical activities
 - Visiting beehives that are at the mountain (rapes fields) to check that they are well and if necessary, remove cells and remove drone brood to help control the varroa mite. And putting honey supers if necessary.

05/19/2022

- Practical activities
 - Grafting of larvae for queen breeding
 - Marking of queen bees
 - Placing queen pupae in cages with honey

05/20/2022

Day off for accrued working hours

Week 9

05/23/2022

- Practical activities:
 - Placing of mating boxes at the mountain
 - Building of mating boxes

05/24/2022

- Practical activities:
 - Removing wax cells from the queen cages
 - Marking of queen bees
 - Cleaning up of stuff for queen breeding

05/25/2022

- Observation of how the measurement of HMF in honey is carried out
- Observation of pictures of different types of pollen under a microscope
- Practical activities:
 - Visiting beehives to check that they are well and if necessary, remove cells and remove drone brood to help control the varroa mite. And putting honey supers if necessary.

05/26/2022

Day off for Ascension Holiday

05/27/2022

Day off for accrued working hours

Supervisor: Dr. Otto Boecking (acting director of the institute)

Signature: _____

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Otto Boecking", written over a horizontal line.

Attached – two pictures of Oriana Natalia Quirós Vargas (queen-production)

