EVALUACIÓN DE MÉTODOS ALTERNATIVOS DE MANEJO NUTRICIONAL ENERGÉTICO Y CONTROL DE VARROOSIS CON ACARICIDAS ORGÁNICOS EN COLONIAS DE Apis mellifera, EN CLIMA SUBTROPICAL

EVALUATION OF ALTERNATIVE METHODS OF NUTRITIONAL ENERGY MANAGEMENT AND CONTROL OF VARROOSIS WITH ORGANIC ACARICIDES IN COLONIES OF *Apis mellifera*, IN SUBTROPICAL CLIMATE

Aignasse A.M.E.¹

¹Facultad de Recursos Naturales, Universidad Nacional de Formosa, Ministerio de la Producción y Ambiente, Programa para El desarrollo Apícola de la Provincia de Formosa. Instituto Universitário de Formosa, departamento de proyectos e investigación, Formosa, Argentina. aaignasse@gmail.com

Keywords: Varroa destructor; Organics treatments; Wintering; Environment; Locals bee.

Palabras clave: Varroa destructor; Tratamientos orgánicos; Invernada; Ambiente; Abejas locales.

ABSTRACT

The degree of africanization of the bee colonies in the province of Formosa located in the subtropical region of the country, demands a different productive and sanitary management than the one used and studied for bees of the european type and region of temperate climates of Argentina. In provincial registries, the loss of hives is a fundamental problem when it comes to stabilizing the systems. The described causes of the problem are the formation of swarms, flight and death of the colonies, with an effect on the loss of colonies at values that amount to 30 and 40% annually. The objective of this work was to evaluate different wintering strategies and organic treatments in Apis mellifera colonies of subtropical climate. The measurements were carried out during two years of testing in the East of the province of Formosa with local ecotypes of Apis mellifera, in this way it was possible to obtain through this work, application recommendations, dose and energetic feeding for the beekeeper. Homogeneous hives of local genetics were randomly used with two energy feeding strategies, traditional wintering (IT; n = 23) and technological path wintering (IST; n = 23). Within each wintering group, four acaricidal treatments were evaluated: T1, n = 6 IT + 6 IST with oxalic acid (OA) solution and distilled water; T2, n = 6 IT + 6 IST with AO solution and sucrose syrup; T3, n = 6 IT + 6 IST, half thymol dose and T4, n = 5 IT + 5 IST control hives. At the end of the treatments, a chemical shock was applied with synthetic acaricides of proven efficacy. The parameters to estimate the efficacy of organic acaricides were: fallen mites on floors (ACP), varroa phoretic (PVF) and varroa in rearing (VC), jointly the production of honey was valued and quantified through the variables: variation in the honey reserves (CCM) and honey production for harvest (MC); finally, to complete the studies, the adverse effects on the bee population of each of the treatments were observed and analyzed through the measurements of: dead bees in pike traps (ATP), squares covered with bees (CCA) and squares covered with brood (CCC). All variables were measured before and after the application of organic treatments. For the mentioned variables, a descriptive statistical analysis was carried out and supplemented with ANOVA. The acaricidal efficiencies of the molecules evaluated showed high percentages in the Varroa destructor control. Under these conditions of field study in the East of the province of Formosa, subtropical region of Argentina, it is concluded that the organic acaricidal molecules together with the energy feeding strategy with sucrose syrup, are a very good alternative in the control of the mite Varroa destructor in local Apis mellifera ecotypes, showing significant differences compared to control hives. Finally, through this work, it was possible to obtain recommendations for application, dosage and energy feeding for the beekeeper.

RESUMEN

El grado de africanización de las colonias de abejas de la provincia de Formosa ubicado en la región subtropical de Argentina, demanda un manejo productivo y sanitario diferente al utilizado y estudiado para abejas de tipo

europeo y región de climas templados de Argentina. En registros provinciales la pérdida de colmenas es un problema fundamental a la hora de estabilizar los sistemas. Las causas descriptas de la problemática son, la formación de enjambres, fuga y muerte de las colonias, con efecto sobre la perdida de colmenas a valores que ascienden de un 30 y 40% anualmente. El objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes estrategias de invernada y tratamientos orgánicos en colonias de Apis mellifera de clima subtropical. Las mediciones se realizaron durante dos años de ensayo en el Este de la provincia de Formosa con ecotipos locales de Apis mellifera. Se utilizaron al azar colmenas homogéneas de genética local con dos estrategias de alimentación energética, invernada tradicional (IT; n= 23) e invernada sendero tecnológico (IST; n=23). Dentro de cada grupo de invernadas se evaluaron cuatro tratamientos acaricidas: T1, n=6 IT+ 6 IST con solución de ácido oxálico (AO) y agua destilada; T2, n=6 IT+ 6 IST con solución de AO y jarabe de sacarosa; T3, n=6 IT+ 6 IST, media dosis de timol y T4, n=5 IT+ 5 IST colmenas testigos. Al finalizar los tratamientos se aplicó un shock químico con acaricidas sintéticos de eficacia probada. Los parámetros para estimar la eficacia de acaricidas orgánicos fueron: ácaros caídos en pisos (ACP), varroa forética (PVF) y varroa en cría (VC), conjuntamente se valoró y cuantificó la producción de miel a través de las variables: variación en las reservas de miel (CCM) y producción de miel para cosecha (MC); finalmente para completar los estudios se observó y analizó los efectos adversos sobre la población de abejas de cada uno de los tratamientos a través de las mediciones de: abejas muertas en trampas de piquera (ATP), cuadros cubiertos con abejas (CCA) y cuadros cubiertos con cría (CCC). Todas las variables fueron medidas antes y después de la aplicación de los tratamientos orgánicos. Para las variables mencionadas se procedió a realizar un análisis estadístico de tipo descriptivo y se complementó con ANOVA. Las eficacias acaricidas de las moléculas evaluadas mostraron porcentajes elevados en el control de Varroa destructor. Bajo estas condiciones de estudio a campo en el Este de la provincia de Formosa, región subtropical de Argentina, se concluye que las moléculas acaricidas orgánicas junto con la estrategia de alimentación energética con jarabe de sacarosa, son una muy buena alternativa en el control del ácaro Varroa destructor en los ecotipos de Apis mellifera local, mostrando diferencias significativas ante las colmenas testigo. Finalmente, se logró obtener a través de este trabajo, recomendaciones de aplicación, dosis y alimentación energética para el productor apícola.

INTRODUCCIÓN

Formosa es una provincia que exhibe su desarrollo productivo basada en varias actividades agropecuarias, siendo las más importantes la ganadería, la agricultura y la actividad forestal. Según los informes del Programa para el Desarrollo Apícola de la Provincia de Formosa, existe a su vez un fuerte desarrollo de sistemas productivos más diversificados o mixtos, allí es donde la apicultura cumple un rol de actividad complementaria. Contrario a otras actividades, la apicultura se desarrolla en espacios de abundancia de bosques nativos, considerando a la colonia de abejas y sus productos un recurso no maderable del bosque. La actividad era desarrollada de manera extractiva por las comunidades de pueblos originarios y criollos, los que alcanzados por la modernización y conservación introducen las colmenas Langstroth para el uso y explotación racional de las colonias encontradas en el bosque. Durante muchos años la actividad apícola de Formosa, potenciada por su riqueza natural logra rindes productivos que promediaban mínimas de 40 kg, hasta valores extremos de 80 kg por colmena, con cuidados mínimos no profesionalizados. En los últimos años desde el 2009 a la fecha, la provincia de Formosa registra pérdidas de colmenas que van desde un 30 a un 40% producidas por formación de enjambres, fuga y muerte de las colonias. Diversos estudios se realizaron y continúan, desde la evidencia de la problemática, con el afán de identificar estrategias para mitigar o atenuar el impacto en los sistemas productivos apícolas, reconociendo la importancia de sistematizar y respaldar la información con metodología científica. De los ensayos realizados podemos citar trabajos referidos a la identificación genética que aportan a la caracterización molecular de colonias de Apis mellifera de Argentina y su mezcla genotípica asociada a ecorregiones apícolas donde, se identifican y comparan los tipos moleculares (Agra et al., 2011, 2018); así mismo Merke et al. (2014), presenta resultados referidos a estudios de presencia de abejas más tolerantes a varroa reconociendo la zona Norte de Argentina como uno de los nodos de tolerancia natural asociada al ecotipo de abeja. Por su parte Cabrera et al. (2013) estudió el potencial de especies vegetales apícolas en el Bosque Nativo Formoseño con reconocimiento de las mismas in situ y a través de trazas de polen en miel;

estudio que fuera ampliado en el libro de Flora melífera y mieles de la zona de la provincia de Formosa (Cabrera et al., 2019). Así mismo la caracterización de los sistemas apícolas del Pilcomayo y el reconocimiento de modelos apícolas resilientes y adaptados para la región del Gran Chaco Americano (Aignasse, 2017) brindan información referida al manejo productivo y tipos de colmenas utilizadas asociadas a las características ambientales. Finalmente, la contribución de Molinari et al. (2017), focaliza el estudio en agentes patógenos que pueden afectar a las colonias de abejas melíferas, a través del estudio de la prevalencia de virus de abejas melíferas en regiones templadas y subtropicales de Argentina y su relación con el ambiente y manejo de Varroa destructor como determinante de pérdidas de colonias en regiones de clima templado y subtropical (Molineri et al., 2018). Con los antecedentes expuestos se consideró fundamental continuar avanzando en estudios complementarios que contribuyan al manejo de las colmenas para realizar las recomendaciones técnicas a los productores apícolas que estén interesados en trabajar la apicultura de manera racional y profesional. El objetivo del trabajo fue evaluar diferentes estrategias de invernada y tratamientos orgánicos en colonias de Apis mellifera de clima subtropical en el Este de la provincia de Formosa, para poder brindar recomendaciones a los productores apícolas que pretendan ajustar los sistemas y así atenuar la pérdida de colmenas sin afectar la calidad intrínseca propia de la miel.

MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

El ensayo se realizó en la provincia de Formosa, ubicada en la zona Nordeste de la República Argentina, es una extensa llanura ampliamente irrigada y dominada por clima subtropical que aumenta su aridez en sentido Este-Oeste. Formaciones típicas del Chaco Húmedo y Seco caracterizan el territorio y lo convierten en un ambiente que presenta una riqueza florística dada su variedad y cantidad. Ocupa integramente el área del gran chaco central y define con sus características de sabana parque el gran ecosistema de la llanura chaqueña, conformado también por el Chaco Boreal (Paraguay) y el Chaco Austral (Argentina) (Placci, 1995). Formosa se extiende entre los paralelos 22° y 27° de latitud sur y los meridianos 57° y 63° de longitud oeste de Greenwich. Es atravesada en su zona norte por el Trópico de Capricornio, que la ubica en la región subtropical del país. La provincia limita al Norte y al Este con la República del Paraguay, al Oeste con la provincia de Salta y al Sur con la provincia del Chaco. Hacia el Este, las lluvias son uniformes durante todo el año, llegando a orillas del río Paraguay a superar los 1200 mm anuales. La zona húmeda, está ubicada en la región Este de la provincia de Formosa donde los bosques están constituidos por numerosas especies donde podemos diferenciar tres estratos fundamentales: estrato arbóreo (con especies principales y secundarias), estrato arbustivo y estrato herbáceo. A su vez se pueden clasificar a los bosques de acuerdo a la altura de los árboles dominantes, en Bosques Altos y Bosques Bajos. El apiario fue emplazado en un bosque característico de la región húmeda con alternancia de árboles de porte alto y mediano, además de contar con abundante cantidad de herbáceas y variedades de palmeras. Las floraciones que van creciendo de intensidad desde el mes de agosto hasta el mes de abril. El establecimiento, Don Luís se encuentra ubicado sobre Ruta Nacional Nº 11 a 20 km de la ciudad Capital (Figura 1).

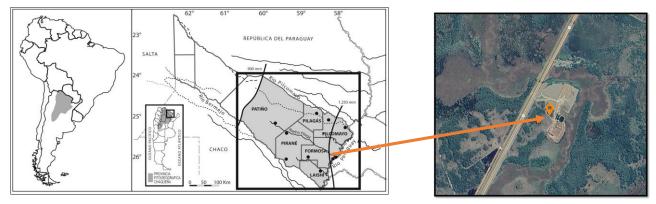


Figura 1. Ubicación y geolocalización del Apiario del ensayo. Establecimiento Don Luís, Formosa, Argentina (*Location and geolocation of the trial apiary*. *Establishment Don Luís*, *Formosa*, *Argentina*).

Su actividad principal es la ganadería por lo que la presencia de reservas de agua y caminos internos sobre elevados permitió la contención de agua a lo largo del ciclo del ensayo.

Colmenas experimentales

Se utilizaron para el ensayo 46 colmenas estándar tipo Langstroth. Las mismas fueron seleccionadas atendiendo a la premisa de homogeneidad. Se seleccionaron y utilizaron colmenas categorías I, más de siete cuadros cubiertos con abejas y II, entre siete y cinco cuadros cubiertos por abejas. No se utilizaron para la evaluación colmenas tipo III con menos de cinco cuadros con abejas, debido a su alta probabilidad de mortalidad invernal (Figura 2). El proceso de adaptación de las colmenas, adecuación del equipamiento y ajustes metodológicos para el ensayo, se realizó durante 6 a 8 meses. Una vez seleccionadas las colmenas fueron distribuidas al azar en el bosque para que se vayan adecuando y trazando las rutas de vuelo antes del inicio del ensayo y disminuir cualquier factor que pueda alterar o modificar a las colonias.



Figura 2. Categorización de colmenas. Referencia: CAT: Categoría. Fuente INTA PROAPI (*Categorization of hives. Reference: CAT: Category. INTA PROAPI source*).

Trampas de piquera

Son dispositivos de forma rectangular, confeccionadas para evaluar mortandad de abejas por posible toxicidad de los productos acaricidas. En su parte superior tiene una rejilla excluidora cortada y adaptada para la salida y entrada de las abejas con modificaciones específicas para el tamaño de los zánganos. El resto de la estructura, cubierta de una malla de alambre que sujeta con grampas a las maderas, en sus laterales dos extensiones que hacen de sujeción de la trampa a ambos lados de la piquera de las colmenas. Se emplearon tres trampas por cada tratamiento para cada estrategia de invernada distribuidas al azar. Se instalaron en total 24 trampas sobre el total de 46 colmenas evaluadas en el ensayo (Figura 3).





Figura 3. Trampas de piquera para medir efectos de toxicidad en las abejas. Se observan las trampas antes de instalar en las colmenas del ensayo y ya instaladas en uno de los tratamientos (*Spike traps to measure toxicity effects on bees. The traps are observed before installing in the test hives and already installed in one of the treatments*).

Pisos técnicos

Conformados por dos estructuras; una base que se coloca contigua a la cámara de cría, que contiene un tejido de alambre fijo e impide el paso de las abejas y permite la remoción de los ácaros muertos. Asimismo, la malla impide la reinfección de las abejas ya que los ácaros removidos pasan a un fondo móvil (Figura 4). Para el ensayo el material utilizado para el fondo móvil es de chapa galvanizada, que facilitó una rápida obtención de la muestra a campo a través de una espátula por arrastre para ser retiradas en una bolsa de polietileno del tamaño de los pisos y evitar perder material. Las muestras obtenidas a campo fueron rotuladas con el número

de colmenas, fecha de obtención de la muestra y tratamiento, para su posterior traslado al laboratorio donde fue realizado el conteo de los ácaros caídos por el efecto de los tratamientos y el control. Solo se contabilizaron las hembras adultas, es decir, los ácaros de color marrón rojizo (Cagnolo, 2011). Los pisos fueron colocados en la totalidad de las colmenas.



Figura 4. Pisos técnicos para obtención de muestras de "varroa" por acción de los tratamientos acaricidas (*Technical floors for obtaining samples of "varroa" by action of acaricide treatmentsk*).

Alimentadores

Los alimentadores que se utilizaron fueron tipo Doolitle, de chapadur con una capacidad de 2,5 litros de jarabe, de abertura superior para carga del líquido y del tamaño de un cuadro estándar. La selección se realizó tomando de referencias las recomendaciones de Figini & Palacio (2009). Algunas de las características destacadas son, que evite el derrame del jarabe para disminuir la posibilidad de pillaje, fácil de usar y cargar, cómodos para guardar y transportar, que no dañen a las abejas y con capacidad acorde a las necesidades de uso.

Fueron distribuidos en 23 colmenas que no contenían alzas melarias, reemplazando un cuadro estándar por un alimentador. Quedando conformada la cámara de cría con 9 cuadros y un alimentador para la administración del jarabe. Finalizada la primera inspección de colmenas para observar la cantidad de reservas de miel, se determinó la cantidad de jarabe a utilizar para ayudar al ingreso natural de néctar y acelerar el bloqueo de la cámara de cría. La incorporación del alimento a las colmenas deber realizarse en los días cálidos del otoño, ya que es muy difícil que las colmenas incorporen el jarabe desde los alimentadores cuando está formado el bolo invernal (Vidal & Bedascarrasbure, 2009). Se administró para tal fin, tres vueltas de jarabe de azúcar a alimentador lleno con una concentración 2:1, es decir a una concentración de 66 % de sacarosa por cada parte de agua. Se administraron en total 8 litros por colmena, que representan 6,5 kilos de azúcar por colmena solo para la invernada, además de los cuadros de miel (3) que ya venían acopiando (Figura 5).



Figura 5. Alimentador de chapadur utilizado para el ensayo. Capacidad de 2,5 litros. Administración del jarabe durante el ensayo para bloqueo de cámara de cría (*Chapadur feeder used for the test. 2.5 liter capacity. Administration of the syrup during the rearing chamber blocking test).*

Acaricidas orgánicos

Los acaricidas orgánicos que se utilizaron para la evaluación fueron el Ácido oxálico (AO)y timol (T). Ácido Oxálico (AO). Es un ácido orgánico saturado, de cadena normal, y muy fuerte. La fórmula molecular del ácido oxálico es C2H2O4. Entre unas de sus características se puede mencionar su sabor amargo, sólido cristalino e incoloro. sublima a 150°C y de densidad = 1,653 g/cm3. Es parcialmente soluble en agua, etanol y

otros disolventes. El ácido oxálico cristaliza en forma de pirámides rómbicas, es blanco, inodoro, higroscópico, y forma fácilmente di hidrato; ésta forma cristales que contienen 71,42 % ácido oxálico anhidro, y 28,58 % de HO, y es la forma comúnmente comercializada. (Mariani, *et al.*,2002; Pomagualli Chafla, 2017).

Con respecto a su mecanismo de acción, es un buen acaricida frente a *Varroa destructor*. Este poder acaricida se atribuye a la sensibilidad del ácaro al pH ácido, de modo que la acción tóxica se cree que es debida al contactar el ácaro con la solución que contiene el ácido (MSPSI, 2012).

Uno de los recaudos a considerar para la utilización del principio activo es que la temperatura ambiental sea muy baja (menor a 20°C) o muy alta (mayor a 35°C) ya que en ambos casos no se logrará el efecto deseado y es probable que hasta se pueda perjudicar la colmena⁷. Para este ensayo se utilizó el acaricida provistos por el Laboratorio Apilab S.R.L en sus presentaciones comerciales, Oxavar® que contiene 94,9 g. ácido oxálico cada 100 gr de agentes de formulación (Figura 6).

Los tratamientos se aplicaron según recomendaciones del marbete, tanto para el T1 como para el T2. Las diluciones se realizaron vertiendo el contenido del sobre en un bidón de 5 litros de agua destilada para el T1 y en jarabe de sacarosa 5 litros (1:1) para el T2. En ambos casos se observó que se diluyan de manera correcta para su posterior aplicación a dosis de 5 ml sobre el cabezal (de cada cuadro cubierto de abejas de la cámara de cría) 3 aplicaciones a intervalos de 7 días.



Figura 6. Preparación de los tratamientos con ácido oxálico en sus distintas diluciones, agua destilada y jarabe de sacarosa (*Preparation of treatments with oxalic acid in its different dilutions, distilled water and sucrose syrup*).

El timol, (2-isopropil-5-metilfenol), es un antioxidante fenólico de origen vegetal (Figura 10). Utilizado para la apicultura orgánica ya que proviene del grupo de los aceites esenciales. Se encuentra de forma natural en muchas plantas, sobre todo de la familia de las labiadas: como el tomillo, (*Thymus vulgaris*) o el orégano (*Origanum majorana*). Los aceites esenciales se han utilizado ampliamente para aplicaciones bactericidas, viricidas, fungicidas, antiparasitarias, insecticidas, medicinales y cosméticas (Bakkali *et al.*,2008).

Respecto a su mecanismo de acción llega al ácaro por inhalación o difusión lesionando estructuras en diferentes órganos o sistemas (el sistema nervioso del ácaro puede ser lesionado). Por volatilización, el timol satura el aire en la colmena (MSPSI, 2011).

Entre los aceites esenciales, el timol es uno de los más utilizados para el control de la varroosis, con eficacias que varía entre 66% a 98%, dependiendo del método de aplicación, dosis, concentración, tipo de colmena y condiciones ambientales (Imdorf *et al.*,2003; Baggio *et al.*,2004; Bulacio Cagnolo, 2011). Marinelli *et al.*, (2001) aseguraron que las condiciones de temperatura que se deben dar para obtener una liberación óptima del timol están entre 15 y 35 °C. Temperaturas superiores a 35 °C puede ocasionar intoxicación dentro de la colonia o potenciar la fuga de las abejas, por ello y teniendo en cuenta la gran amplitud de temperaturas de la zona este de Formosa, se tomó la decisión de trabajar a mitad de dosis de la recomendada en el marbete del producto. Para tal fin se utilizó la marca comercial NaturalVar® de laboratorios Apilab.

Alimentación energética

En el ensayo la sacarosa (azúcar comercial tipo A), se utilizó como componente principal para la alimentación energética (jarabe de sacarosa o azúcar) y como vehículo para la administración de uno de los tratamientos.

En el caso de las abejas el alimento energético por excelencia es la miel, obtenida de la recolección de diversos néctares. Las abejas obtienen la mayor parte de la energía que utilizan del néctar o excreciones de insectos que se alimentan de las plantas. El néctar floral es una secreción acuosa que contiene entre 5 a 80 % de azúcares y pequeñas cantidades de otros componentes (minerales, ácidos orgánicos, vitaminas, lípidos, pigmentos y sustancias aromáticas). La sacarosa, glucosa y fructosa son los azúcares más frecuentes en el néctar. Existen evidencias que las abejas prefieren néctares con predominio de sacarosa (Palacios, 2009); de aquí la utilización de este producto como alternativa de alimentación energética.

Momento de Evaluación

Los ensayos se realizaron en dos ciclos productivos correspondientes al otoño año 1 y año 2, contando con un período previo 6 a 8 meses para traslado, instalación de las colmenas, selección, estabilización del apiario y ajuste de técnicas de muestreo.

Para el inicio de los mismos se consideró el momento en que se realizó el bajado a cámara de cría o el manejo de otoño. Los tratamientos propuestos para el ensayo fueron aplicados antes que nazca los últimos dos ciclos de cría, de esta manera se sanearon las abejas que ingresaron a la invernada. En la provincia de Formosa estas características se observaron en las últimas semanas de marzo y abril, factor determinado por las particulares de temperatura y lluvias de la región Este.

Además de poder determinar el efecto de los tratamientos sobre el ácaro se realizaron muestreos específicos para determinar los posibles efectos nocivos de estos compuestos en relación a la sobrevida de las abejas.

Tratamientos

Para los tratamientos (Tabla I) se utilizó la combinación de los acaricidas orgánicos (AO-T) junto al tipo de invernada, la cual está determinada por la estrategia de alimentación energética utilizada para la sobrevivencia de las colmenas al período invernal. La Invernada Sendero Tecnológico (IST), conformada por colmenas con alimentador y jarabe de azúcar en concentración 2:1 y la invernada tradicional (IT), colmenas con 5 a 6 cuadros de miel en cámara de cría y 6 cuadros de alzas melarias.

Para poder cumplir con los objetivos propuestos se consideró un apiario con 46 colmenas, con dos estrategias de invernada, 23 colmenas con IT y 23 colmenas con IST, donde los tratamientos fueron combinados con el siguiente diseño (Figura 7 y 8).

Tabla I. Presentación del diseño experimental (*Presentation of the experimental design*).

	` `	3 1	0 /	
Tratamientos	T1	T2	Т3	T4
Estrategia de alimentación	AO y agua	AO y jarabe de	⅓ dosis de	Testigo
	destilada	azúcar	timol	
E1:IST	6 colmenas	6 colmenas	6 colmenas	5 colmenas
E2: IT	6 colmenas	6 colmenas	6 colmenas	5 colmenas
	12	12	12	10

Aplicación de estrategias de alimentación

Estrategia 1: Jarabe de azúcar proporción 2:1. El jarabe se preparó con agua potable caliente a 80° C y una vez retirada del fuego se incorporó el azúcar mezclando bien los componentes hasta formar una solución Se distribuyó en 23 colmenas con alimentadores puestos dentro de la cámara de cría a razón de 2,5 litros hasta completar con seis cuadros de reserva realizando el denominado bloqueo de cámara de cría.

Estrategia 2: Invernada tradicional. Se realizaron en 23 colmenas un monitoreo de cuadros con miel en cámara de cría y alza melaria con 5 a 6 cuadros de miel en cámara y 6 cuadros de miel en el alza melaria de media. Los monitoreos se realizaron al inicio de los ensayos y con los intervalos mencionados en las variables en estudio.



Figura 7. Identificación de los tratamientos. 1- Inverna tradicional T 1 (AO+agua destilada). 2 Invernada Sendero tecnológico T 2 (AO+ Jarabe de sacarosa) (*Identification of the treatments. 1- Traditional winter T 1* (AO + distilled water). 2 Greenhouse Technological path T 2 (AO + sucrose syrup)).



Figura 8. Identificación de los tratamientos. 1- Invernada tradicional T 3 (Timol a ½ dosis). 2 Invernada Tradicional T 4 (testigos). (*Identification of the treatments. 1- Traditional winter T 3 (Thymol ½ dose). 2 Traditional Winter T 4 (witnesses*).

Aplicación de los tratamientos

Aplicación del AO: se suministró por asperjado con jeringa automática, tres aplicaciones cada siete días (día 0-7-14). Cada aplicación consistió en dosis de 5 ml sobre los cabezales de cada uno de los cuadros cubiertos de abejas, teniendo en cuenta la variante del excipiente para diluir para el T1 y T2.

Aplicación T: Cada tableta de vermiculita contiene 16,06 g de timol aplicado cada 15 días (día 0 y día 15), logrando dos dosis de 8,03 g repartidas en dos tabletas de vermiculita, embebidas cada una en 4,015 g de timol, colocadas sobre los cabezales de los marcos de las cámaras de cría en las diagonales de los mismos. Luego al día 15 se retiraron las tabletas y se colocaron dos nuevas en las diagonales opuestas. Cumplidos los 30 días desde el inicio del tratamiento se retiraron los restos de las tabletas.

Finalizadas las aplicaciones de los acaricidas, se evaluó la eficacia de cada tratamiento, para ello se realizó un shock químico o tratamiento control con Flumevar® (según indicaciones del laboratorio) en la totalidad de las colmenas (incluyendo el T4) y se contabilizaron la cantidad de ácaros remanentes en cada colonia. Los conteos se realizaron a las 24 y 72 horas de colocado el producto y luego cada 10 días aproximadamente, dependiendo de la cantidad de ácaros caídos.

Para obtener las eficacias acaricidas se utiliza de referencia el trabajo realizado por Abbott (1925).

% Eficacia =
$$\Sigma$$
 act * 100 / Σ act + Σ acsh

- Σ Act= sumatoria de ácaros caídos durante el tratamiento.
- Σ Acsh= sumatoria de ácaros caídos durante el shock químico.

La adición de las dos sumatorias, en el término inferior, es igual a la cantidad de ácaros totales que tenga la colmena.

Tabla II. Aspectos a evaluar y variables de estudio (Aspects to be evaluated and study variables)	Tabla II. Ast	pectos a evaluar	y variables de estudi	o (Aspects to b	pe evaluated and	study variable.).
--	---------------	------------------	-----------------------	-----------------	------------------	-----------------	----

Aspecto a evaluar	Variable		
	ácaros caídos en piso. (ACP)		
Para estimar la eficacia de acaricidas orgánicos (AO-T)	prevalencia de <i>Varroa destructor</i> en abejas adultas. (PVF)		
	prevalencia parasitaria (V. destructor) en la cría. (VC)		
Para valorar y cuantificar producción de miel	Producción de miel para cosecha (MC)		
con las estrategias de alimentación energética	variación en las reservas de miel (CCM)		
Para determinar los efectos adversos sobre la	Abejas en trampas de piquera (ATP)		
población de abejas de cada uno de los	población por colmena (CCA)		
tratamientos	área de cría operculada (CCC)		

Análisis estadístico

Se verificó la prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas de los datos, las variables que no cumplieron con los supuestos fueron transformadas a log. Se realizó un análisis de tipo descriptivo que nos permitió observar el comportamiento de las variables. A través del mismo se obtuvieron las medias y desvió estándar de las variables estudiadas. Luego se realizó un Análisis de la Varianza (ANOVA), para determinar las interacciones posibles. En los casos donde se detectaron diferencias significativas se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan, con un α =5% de confiabilidad según la significancia dada por el ANOVA. El programa utilizado para todos los análisis fue Infostat 2016.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la variable (ACP) presentó eficacias con diferencias significativas con un valor de p <0,0001 y el año 1 y p =0,0003, para año 2. Al analizar los valores medios en la prueba Duncan se observó, que al año 1 los T2 y T1 fueron más eficaces y para año 2 de ensayo las mayores eficacias se presentaron para el T2 y T3 alcanzando valores apenas superiores al 80%. Tres Autores en referencia al uso de AO –T1 coinciden con valores de eficacias mayores (>94%) a los presentados en este ensayo (Higes *et al.*,1999; Bulacio Cagnolo, 2011; Maggi *et al.*, 2016).

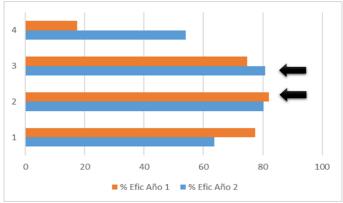


Gráfico 1. Ácaros caídos en piso (% eficacia)- Año 1-2 comparación de eficacias medias (*Mites fallen on the floor* (% efficacy) - Year 1-2 comparison of mean efficiencies).

Respecto al AO- T2, tres autores coinciden con los % de eficacias donde no superan el 90%, como Maggi *et al.*, 2017; Rademacher & Hartz, 2006; Fhürer & López,2018. En referencia al AO –T1 y T2 Vandame, R., 2000, obtuvo eficacias por debajo del 58 %, menores a las obtenidas en este ensayo. Para el T3, otros investigadores obtuvieron eficacias mayores (96,9%) a las presentadas en el ensayo (Del Hoyo *et al.*, 2004; Bulacio Cagnolo, 2006; Espinoza Montaño & Guzmán Novoa, 2007; Loucif-Ayad *et al.*, 2010; Calderón *et al.*, 2014). Otros tres trabajos obtuvieron eficacias iguales o en el mismo rango, (Flores *et al.*, 2000 con 81,

2%; Del Hoyo *et al.*, 2004; Bulacio Cagnolo, 2011 con porcentajes del 81% y 82%), y Giacomelli *et al.* (2015), obtuvieron eficacias del 76,10 %, pero utilizando dosis completas del producto, infiriendo que las eficacias de este ensayo a mita de dosis fueron considerablemente mejores

En el Gráfico 2 se realiza el análisis de (PVF), donde todos los tratamientos fueron evidentes a través de los valores medidos pre y postaplicación, siendo más notorio en las colmenas IST. El T2 destaca como el de mayor valor de eficacia, medido a través de su prevalencia pre y postratamiento. Si bien no hubo diferencias significativas entre tratamientos ni invernadas, la eficacia del T2 es de 88,28%, valor destacado por otros autores, presentados en la discusión.

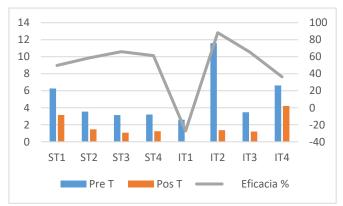


Gráfico 2. Prevalencia de Varroa Forética-Eficacias (Prevalence of Varroa Forética-Efficacies).

En el Gráfico 3, para el año 2 se evidencian diferencias entre las medias pre y postaplicación del grupo testigo y colmenas tratadas, arrojando una diferencia significativa entre invernadas pre tratamientos (p= 0,0093), donde la prevalencia media de VF es más elevada en la IST.

Entre tratamientos se observa diferencias significativas pos aplicación (p valor = 0,0028), donde el T4* presentó los valores más elevados de PVF, coincidente con las eficacias más bajas. Se observa en el eje Y: izquierda los valores de las prevalencias, derecha valores de las eficacias en % y en eje de las X los tratamientos aplicados. El T2 (IST) con un % elevado de eficacia (85, 58), siendo el T3(IT) T3 (IST), segundo (75,27) y tercero (72,73). en eficacias respectivamente.

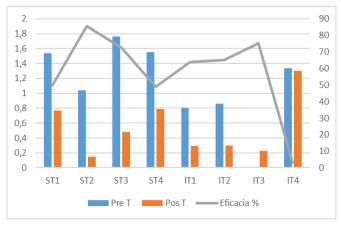


Gráfico 3. Prevalencia Varroa Forética año 2 (Prevalence of Varroa Forética year 2).

En referencia al AO –T2, los autores Guardia López *et al.*, (2005) 90%; Marcangeli *et al.* (2003 y 2004) 93%; Aguirre *et al.*, (2005) 96,25 %; Guerra y Rosero (2013) 67,99 %; Carreño & Salazar (2016), 92,87%; obtuvieron valores de eficacias mayores a las obtenidas en el trabajo. Sin embargo, Del Hoyo *et al.*, (2002) y Marcangeli *et al.*, (2003 y 2004) reportan eficacias 73%, mientras que Aguirre *et al.* (2005), y Moyón (2013) valores del 85%, coinciden con los % de eficacias de este ensayo y en los rangos presentados. Dos autores

presentan valor de eficacia apenas menor al del ensayo con el AO (Monroy et al., (2019) 84,45%, Reyes Sánchez (2016) 62,81 %).

Al comparar el T3 utilizado en este ensayo con otros autores (Bulacio & Rivero 2011, con % del 89% y Reyes Sánchez 2016 con % de 84,68%) obtuvieron eficacias mayores, mientras que Miranda (2002), 75,88 %; Guerra & Rosero (2013) 70,43%, obtuvieron valores similares a los hallados en el ensayo. Gregorc & Planinc (2012) 46,50, Moyón (2013) 62,80 %; May-Ytza & Medina Medina (2019) 69%; Monroy *et al.* (2019) 62,8% lograron eficacias menos menores a las obtenidas en el ensayo.

Para la variable (VC) se presentan (Gráfico 4) las variaciones de las eficacias en dos años y para cada tratamiento. Para el primer año postaplicación de los tratamientos se obtuvo diferencias significativas (p=0,0278) entre las invernadas, no presentando diferencias significativas entre tratamientos.

En referencia al AO –T2 este ensayo obtiene valores muy superiores en el año 1 de ensayo a los a los encontrados por Toalombo Vargas *et al.* (2018), 50,39 % en cambio la misma droga para el año 2 presentó una eficacia marcadamente menor comparando con el mismo autor con eficacias que no llegaron al 20 %. Fuchs (1985) afirmó que la inspección de las celdas de cría como única técnica que estime el nivel de infestación, no es confiable Calderone & Turcotte (1998) a diferencia de Fuchs, determinaron que los muestreos sobre la cría operculada es la mejor zona de muestreo para estimar prevalencia parasitaria. Bulacio Cagnolo (2011) lo recomienda como método complementario a PVF y ACP, mientras que Charrare e Imdorf (2002) hacen mención que los tratamientos aplicados (AO) tienen una menor incidencia en presencia de cría operculada, pero puede ejercer su acción en celdas con cría abierta y sobre los ácaros que salen de las celdas.

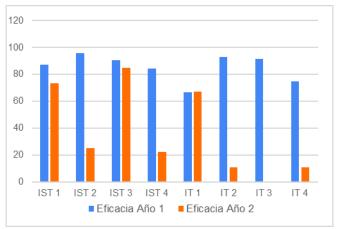


Gráfico 4. Eficacia acaricida para Varroa en Cría año 1 y 2 (*Acaricidal efficacy for Varroa in Breeding yeas 1 y 2*).

Para la variable de (CCM) muestra diferencia significativa con un p valor de <0,0001 pre tratamiento y pos tratamiento con un p valor de 0,0522 y al test de Duncan se evidencia la diferencia entre invernadas.

Los valores post tratamientos arrojan diferencias significativas entre tratamientos e invernadas con un p valor <0,0001, con evidencias de letras diferentes al test de Duncan. Se observó el comportamiento de las colonias respecto al acopio de miel para reserva, donde los % de incrementos favorecidos para la IST, y T3 y 2 se destacan en sus diferencias de acopio respecto al grupo testigo y T1.

el Gráfico 5 se hace referencia a la miel de reserva durante el ensayo. En referencia a los resultados obtenidos con el AO Reyes Sánchez (2016), coinciden con valores de acopio para la variable CCM. Otros tres autores obtuvieron valores de acopio menor al del ensayo Murilhas (2002) Aguirre *et al.*, (2005) Bulacio Cagnolo (2011). Respecto al T 3 Reyes Sánchez (2016) destaca el acopio (14,75%), por sobre el resto de los T con valores similares a los de este ensayo. (IST-13,04%). En referencia al T 4, 3,50 % en el testigo alude a la falta de un factor de control de la "varroa" valor que asemeja a los grupos testigos de este ensayo (IT4 1,96 % e IST4 6,65 %). Los productos ensayados ejercieron un efecto favorable en la acumulación de reserva en las colonias, dada la salud de las abejas (población vigorosa y con capacidad de acopio).

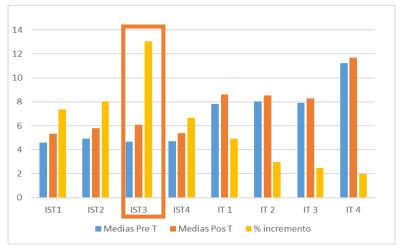


Gráfico 5. Reservas de miel (CCM)-segundo año de ensayo (*Honey reserves (CCM) -second year of trial*).

Para la variable (MC) no se lograron diferencias significativas, pero si se evidencia un incremento de miel en cosecha promedio de dos años de ensayos de las colmenas tratadas en comparación con colmenas no tratadas. Los mencionados efectos se pueden observar en el Gráfico 6.

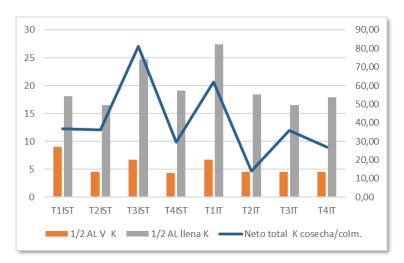


Gráfico 6. Miel de cosecha. Referencias: T/I: tratamiento e invernada. AV: peso de la media alza vacía. A. LL: peso de la media alza llena y Neto t. Kg Cos. /colm.: kilos netos. (*Harvest honey. References: T/I: treatment and wintering. AV: weight of the empty half lift. A. LL: weight of the full half rise and Net t. Kg Cos. / colm .: net kilos).*

En comparación con otros trabajos se estableció una coincidencia a través de la medición de la variable de cosecha colmenas tratadas y no tratadas. Arechavaleta-Velasco & Guzmán-Novoa (2000; 2001), encontraron que colonias tratadas con un acaricida contra V. destructor produjeron significativamente más miel que colonias no tratadas. Medina-Flores *et al.* (2011), referencia a un estudio realizado en México donde, abejas africanizadas han demostrado el efecto negativo de la Varrosis para la producción de miel. En este ensayo con abejas de ecotipo local con alto % de africanización, al ser tratadas respondieron de manera positiva al acopio de miel para cosecha, diferenciándose del grupo testigo. Estos resultados representan diferencia muy elevadas respecto a los rindes promedios reportados por productores en la provincia de Formosa (mínimos de 12 a 15 kilos a máximos de 24 a 30 kilos).

Para la variable ATP (Gráfico 7), al año 1 presenta diferencias significativas entre invernadas y para el año 2 entre tratamientos (p= 0,0247) e Invernadas (p= 0,0179). Al comparar el T 1, Marcangeli & García (2004), obtuvieron toxicidad similar en abejas adultas, Silva (2006), sostiene que el AO provoca una notable disminución de la población de abejas. Canovas (2006), señala que este ácido presenta cierta toxicidad a corto, mediano y largo plazo. Aguirre *et al.* (2005), utilizó AO buenas eficacias acaricidas sin efectos adversos sobre las abejas en Ref al T1 y T2 Akyol & Yeninar (2007), no encontraron mortalidad de abejas adultas. Respecto al T3 Bulacio Cagnolo (2011), Silva (2006), Eguaras *et al.* (2004) obtuvieron que el T3 asemeja a la mortalidad natural de las abejas. Díaz Monroy *et al.* (2019) baja mortandad y buena eficacia. May-Itzá *et al.* (2007) que, con aplicación con las dos bandejas, (síntoma similar en colmenas del ensayo de Formosa, que tenían porcentajes de "varroa" superiores al 25 y 45% aglomeración de abejas a la entrada y hacia los costados de la piquera sin fuga o pérdidas en la población de abejas de la colonia

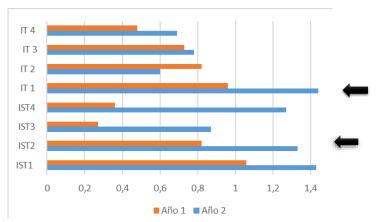


Gráfico 7. Abejas muertas (ATP) post tratamiento año 1 y 2 (*Dead bees (ATP) post treatment year 1 and 2*).

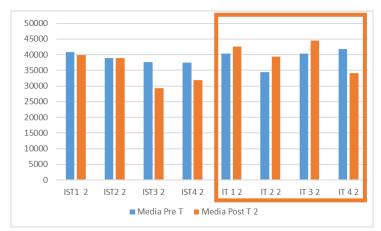


Gráfico 8. Cuadros con abejas pre y pos T- Años 1 y 2 (*Graph 8*. *Frame with bees before and after T- Years 1 and 2*).

La variable (CCA) al segundo año de ensayo manifestó diferencias significativas entre tratamientos antes de la aplicación de los mismos (p= 0,0283) y diferencias entre invernadas (p= 0,0116) post tratamientos. Bulacio Cagnolo (2011) coinciden con los valores del ensayo, Ibacache (2006) concuerda con los resultados del año 2 de este ensayo para el T2 IST. Moyón (2013), determinó en pruebas con AO obtuvo un incremento en las poblaciones de abejas, similar a los valores obtenidos en este ensayo. en Ref al T3 Eguaras *et al.*, (2004) y Canovas (2006) indican manifestaciones de agitamiento en colmenas tratadas con timol. Al igual que Bolois (2012), no encontró diferencias significativas. en Ref al T3 Moyón (2013) encuentra efectos negativos sobre el incremento de la población al igual que en este ensayo entre invernadas.

Moyón (2013) encuentra efectos incremento de la población similar para la IT3 pre T:40333,3 pos T:44458,33. Reyes Sánchez (2016) logró diferencias numéricas y estadísticas con el T3.

Al analizar la variable CCC se observó diferencia significativa entre tratamientos previo (p= de 0,0520) y posterior (p= 0,0291) a la aplicación de los tratamientos. El comportamiento en la disminución de la cría se asemeja a las colmenas del T4 para las dos estrategias de invernada. Al segundo año de ensayo pre T presentó diferencias significativas para el tipo de invernada (p = <0,0001) y entre tratamientos posterior a la aplicación de los mismos (p=0,0291). En referencia al T1 Ibacache (2003), no encontró efecto negativo sobre las crías. Aguirre *et al.*, (2005) encontró una disminución en el número de panales de cría a diferencia de Mercau (2016), que obtuvo incrementos de cría (11,5 ccc) con la aplicación de los Trat T1 y T2 en comparación con este ensayo T1 5ccc y T2 7,5 ccc. Con el T3 Reyes Sánchez (2016) sugiere que los productos ensayados no ejercen efecto negativo sobre formas biológicas en la colmena promueve mayor desarrollo de las crías sobre todo el timol.

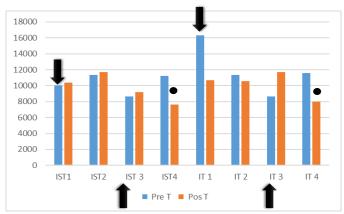


Gráfico 9. Cuadros con cría pre y pos T- Año 1 (Frame with breeding before and after T- Years 1).

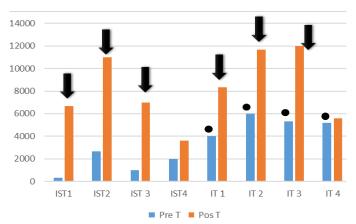


Gráfico 10. Cuadros con cría pre y pos T- Año 1 (Frame with breeding before and after T- Years 1).

CONCLUSIONES

La acción de los tratamientos ensayados, lograron efectos acaricidas comprobados, con acción eficaz en las dos estrategias de alimentación, evidenciadas estadísticamente con las colmenas del grupo testigo.

No se evidenciaron efectos adversos en dos de los tres tratamientos ensayados sobre la población de abejas adultas y cría, exceptuando el tratamiento de ácido oxálico diluido en agua destilada que mostró ser tóxico para las abejas adultas.

El acopio de miel para cosecha y de reservas, fue más eficiente en colmenas tratadas con moléculas orgánicas que en colmenas no tratadas con altas prevalencias de VC y VF. Los valores de acopio de miel de cosecha fueron para el T3 IST, considerablemente superiores a la media de producción anual de la provincia de Formosa, destacando que los demás tratamientos demostraron aumentos de acopio respecto a las colmenas no tratadas, poniendo en evidencia la importancia del control y sanidad ante el ácaro "varroa"

Finalmente, se puede concluir que, bajo condiciones de estudio a campo ensayadas en el Este de la provincia de Formosa, región subtropical de Argentina, se observa que las moléculas acaricidas orgánicas son una muy buena alternativa en el control del ácaro *Varroa destructor* en los ecotipos de *Apis mellifera* local.

AGRADECIMIENTOS

A los productores apícolas de Formosa y de la región del Gran Chaco que me enseñaron una forma diferente de relacionarme con el ambiente, la abeja y la actividad apícola, al equipo del INTA PROAPI y a los docentes de la maestría de producción animal subtropical de la UNNE. Corrientes, Argentina. A las instituciones, Instituto Universitario de Formosa, por brindar apoyo económico; al Ministerio de la Producción y Ambiente de Formosa, por apoyarme en los ensayos del presente trabajo y tomarlo como una herramienta para el desarrollo Apícola de la Provincia.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol, 18(2), 265-267.
- Archivos del Programa para el desarrollo apícola de la Provincia de Formosa. Consultada en marzo 2017. www.formosa.gob.ar
- Arechavaleta Velasco, M.E y Guzmán Novoa E. 2000. Producción miel de colonias de abejas (Apis mellifera L.) tratadas y no tratadas con fluvalinato contra Varroa jacobsoni Oudemans en Valle de Bravo, Estado de México. Vet Mex 2000;31 (4);381-384. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200711242011000300006
- Agra, M.N.; Aignasse, A.; Camacho, M.B.; Conte, C.; Lanzavecchia, Silvia Beatriz; Corva, P.M.; Cladera, J.L y Palacio, M.A. 2011. Caracterización molecular de colonias de Apis mellifera de Argentina Congreso Argentino de Producción Animal. 34. Joint Meeting ASAS-AAPA. 1. 2011 10 04-07, 4-7 de octubre de 2011. Mar del Plata, Buenos Aires. AR. Serie: Revista argentina de producción animal. v. 31, supl.1.
- Agra, M.N.; Conte, C.A; Corva, P.M.; Cladera J. L.; Lanzavecchia, S.B. y Palacio, M.A. 2018. Caracterización molecular de colonias de Apis mellifera de Argentina: mezcla genotípica asociada a regiones eco climáticas y actividades apícolas. Disponible en: https://doi.org/10.1111/eea.12719
- Arechavaleta Velasco, M.E y Guzmán Novoa, E. 2001. Efecto relativo de cuatro características que frenan el crecimiento poblacional del ácaro Varroa destructor en colonias de abejas melíferas (Apis mellifera), Apidologie, vol. 32, no. 2, págs. 157-174, 2001. Disponible en https://www.apidologie.org/articles/apido/abs/2001/02/velasco/velasco.html
- Aguirre, J; Romero, F; Cepeda, A; Chan, S; Demedio, J y Sanabria, J. 2005. Evaluaciones de la eficacia varroicida del ácido oxálico por goteo en colmenas de Baja California Sur, México, y La Habana, Cuba. La Habana, Cu. Consultado. 2016. Disponible en http://www.actaf.co.cu/revistas/apiciencia/2009-1/6.pdf
- Arculeo, P. 2000. Ácido oxálico. Experiencia realizada en el sur de Italia. Vida apícola. pp. 102, 44-48.
- Aspectos florales de la provincia de Formosa https://formosa.gob.ar/miprovincia/aspectosgenerales/flora
- Baggio, A. y Mutinelli, F. 2003. Integrated Varroa control: Oxavar and oxalic acid. European Working Group. Pag web http://:www.admin.apis.ch
- Baggio, A.; Arculeo, P.; Nanetti, A.; Marineli, E. y Mutinelli, F. 2004. Field trials with different thymo-based products for the control of varroosis. Am Bee J; 144:395-400.
- Bakkali, F. Averbeck, S. Averbeck, D. y Idaomar, M. 2008. Efectos biológicos de los aceites esenciales: una revisión. Toxicología alimentaria y química, 46 (2), 446-475.
- Brasesco, C.; Gende, L.; Negri, P.; Szawarski, N.; Iglesias, A.; Eguaras, M., Ruffinengo, S. y Maggi, M. 2017. Evaluación del efecto acaricida in vitro y la acción conjunta de una mezcla binaria entre compuestos de aceites esenciales (timol, felandreno, eucaliptol, cinamaldehído, mirceno, carvacrol) sobre el destructor de varroa del ácaro ectoparásito (Acari: Varroidae), Journal of Apicultural Science, 61 (2), 203-215. doi: https://doi.org/10.1515/jas-2017-0008.
- Bulacio Cagnolo, N.2011. Manejo Integrado de Varroa destructor (Acari: Varroidae) en colonias de Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) en el centro oeste de la provincia de Santa Fe. Tesis Doctoral. Páginas 305.
- Bulacio Cagnolo, N.V. y Rivero, R. 2011. Evaluación del ácido fórmico y el timol para el control de la varroosis en un apiario con manejo sanitario orgánico. Ciencias Veterinarias. 10(2): 25-32.
- Bulacio Cagnolo, N.V.; Basualdo, M. y Eguaras, M. 2010. Actividad varroicida del timol en colonias de Apis mellifera L. de la provincia de Santa Fe. InVet. 12(1): 85-90.

- Canovas, J. 2006. Varroa (Varroa Jacobsoni). Situación actual y métodos de control. Zaragoza, ES. Consultado 2018. Disponible en http://www.agroecologia.net
- Carreño, R. y Salazar, S. 2016. Control del ectoparásito Varroa destructor (Varroidae) En Apis mellifera. Santander, CO. Consultado 2016. Disponible en http://sye.univalle.edu.co/index.php/rciencias/article/view/2816
- Calderón, R.A.; Ramirez, M.; Ramirez, F. y Villalobos, E. 2014. Efectividad del ácido fórmico y el timol en el control del ácaro Varroa destructor en colmenas de abejas africanizadas. Agron. Costarricense. vol.38, n.1, pp.175-188. ISSN 0377-9424.
- Charriére, J y Imdorf, A. 2002. Oxalic acid treatment by trickling against Varroa destructor: recommendations for use in central Europe and under temperate climate conditions. Journal Bee World Volume 83, 2002 Issue 2.
- Del Hoyo, M.; Mariano, F.; Vidondo P.; Basualdo, M. y Bedascarrasbure, E. 2002. The therapeutic efficay of a new formulation (Oxavar) for the treatment of Varroasis en honeybees. Proceeding of XXXVII International Apicultural Congress Apimondia. Durban, South Africa.
- Del Hoyo, M; Toledo, M; Vidondo, P. 2004. Eficacia acaricida y mortalidad de abejas, del producto Naturalvar. Buenos Aires, AR. Consultado 2017. Disponible en http://www.apilab.com/Ensayos/Amivar%20BT-09-EFIC-01-2008-10-06.pdf
- Delaplane, K. S.; Van Der Steen, J. y Guzman-Novoa, E. 2013. Standard methods for estimating strength parameters of Apis mellifera colonies. Journal of Apicultural Research, 52(1), 1-12.
- Descripción agroecológica de la provincia de Formosa https://formosa.gob.ar/produccion/mapa/descripcionagroecologica
- Díaz Monroy, B., Moyón Moyón, J., y Baquero-Tapia, M. F. 2019. Evaluación de tres alternativas para el control de varroasis (Varroa destructor) en apiarios ecuatorianos. Ciencia y Agricultura, 16(1), 63-78. DOI: https://doi.org/10.19053/01228420.v16.n1.2019.8832.
- EcuRed. (2013). Acedera. 2019, de Ecu Red-Enciclopedia cubana Sitio web: https://www.ecured.cu/Acedera
- Eguaras, M.; Cora, D.; Ruffinengo, S.; Faverin, C. y Palacio, A. 2004. Efectividad del timol en el control de Varroa destructor en condiciones de laboratorio y en colonias de Apis mellifera. Natura Neotropicalis; 34 y 35:27-32.
- Espinoza Montaño, L y Guzmán Novoa. 2007. Eficacia de dos acaricidas naturales, ácido fórmico y timol, para el control del acaro Varroa destructor de las abejas (Apis mellifera L.) en Villa Guerrero, Estado de México. Vet.Méx. 38(1): 9-19.
- FAO http://www.fao.org/sustainable-development-goals/indicators/es/
- Fhürer Martínez, C. y López, G. 2018. El uso de acaricidas orgánicos como estrategia para el control de Varroa destructor (Acari: Varroidae) (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
- Figini, E.; Palacios María Alejandra. 2009. Alimentación estratégica. Curso de actualización en sanidad apícola (5-6). http://foro-de-apicultura-hispanoamericano. 175.n7.nabble.com/file/n8/SENASA_POLEN.pdf: SENASA.
- Flores, J. M; Ruiz, J. A.; Cunha, S. R. et al., 2000. Situación actual y perspectivas de los tratamientos en el control de Varroa jacobsoni Oud. en Andalucía- Vida Apícola Nº 104.
- Fuchs, S. 1990. Preferencia por células de cría de zánganos por Varroa jacobsoni Oud en colonias de Apis mellifera carnica. Apidologie, 21 (3), 193-199.
- Giacomelli, A.; Pietropaoli, M.; Carvelli, A.; Iacoponi, F. y Formato, G. 2015. Combination of thymol treatment (Apiguard®) and caging the queen technique to fight Varroa destructor. Apidologie. 2015: 1-11
- Gregorc, A y Planinc, I. 2012. Use of thymol formulations, amitraz, and oxalic acid for the control of the varroa mite in honey bee (Apis mellifera carnica) colonies. Journal of Apicultural Sciencie. 56 (2): 61-70
- Guardia Lopéz, A.; Maly, L. y Roussy, L. 2005. Análisis de la eficacia del ácido oxálico para el control de Varroa destructor (Acari: Varroidae) en colmenas de Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae). Dos épocas diferentes: fin de alta y fin de baja temporada. 1er. Congreso de Apicultura del Mercosur. 24 al 26 de junio. Punta del Este. Uruguay
- Guerra, A. y Rosero, H. 2013. Evaluación de cinco tratamientos para el control del ácaro "Varroa destructor" en abejas (Apis mellífera) (en línea). Quito, EC. Consultado 2016. Disponible en http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/3129/1/T-UCE0014-39.pdf
- Higes, M.; Sanz, A.; Llorente, J.; Suárez, M. y Pérez, J. 1998. Influencia del método de aplicación en la eficacia acaricida del ácido oxálico frente a Varroa jacobsoni. Castilla La Mancha. pp. 592-595.
- Higes, M.; Aránzazu Mbeana, M.; Suárez Jesús Llorente. 1999. Negative long term effects on bee colonies treated with oxalic acid against Varroa jacobsoni Oud. Apidologie 30: 289-292
- Ibacache, A. 2003. Evaluación de cuatro tratamientos alternativos en el control de Varroa, destructor Anderson y Trueman en Apis mellifera L. en la zona de Valparaíso. Valparaíso, Chile. Consultado 2018. Disponible en www.researchgate.net/

- Imdorf, A.; Charriere, J.D.; Kilchenmann, V.; Bogdanov, S. y Fluir, P. 2003. Alternative strategy in central Europe for the control of Varroa destructor in honey bee colonies. Apiacta., 38:258-285.
- Informe de estudio Epidemiológico de las provincias de Santa Fe, Entre Ríos y Formosa. INTA-Rafaela. Archivos del Programa para el desarrollo apícola de la Provincia de Formosa.
- Laboratorio apilab. 2019. http://www.apilab.com/apilab/Productos/Apilab_Oxavar.html
- Loucif-Ayad, W.; Aribi, N.; Smagghe, G. y Soltani, N. 2010. Eficacia comparativa de algunos acaricidas utilizados para el control de Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae) en Argelia. Entomología africana, 18 (2), 259-266.
- Maggi, M.; Tourn, E.; Negri, P.; Szawarski, N.; Marconi, A.; Galle, L.; Medici, S.; Ruffinengo, S.; Brasesco, C.; De Feudis, L.; Quintana, S.; Sammataro, D. y M. Eguaras. 2016. Una nueva formulación de ácido oxálico para el control de Varroa destructor aplicado en colonias de Apis mellifera en presencia de cría. Apidologie 47, 596–605 (https://doi.org/10.1007/s13592-015-0405-7
- Maggi, M.D; Damiani, N.; Ruffinengo, S.R.; Brasesco, M.C.; Szawarski, N.; Mitton, G.; ... y Eguaras, M.J. 2017. La susceptibilidad de Varroa destructor frente al ácido oxálico: un caso de estudio. Toro. Insectología, 70, 39-44.
- Mapa Climático de la Provincia de Formosa. Consultado en abril 2016 https://www.gifex.com/detail/2019-02-0115796/ Mapa climático de la Provincia de Formosa.html
- Marcangeli, J. y García, M. d C. 2004. Effect of Apis mellifera honeybees brood amount on Oxavar acaricide efficacy against the mite Varroa destructor. Rev. de la Sociedad Entomológica Argentina 63: 35- 38
- Marcangeli, J.; García, M. d C.; Cano, G.; Distefano, L.; Martin, M. L. y Quiroga, A.; Raschia, F. y Vega, F. 2003. Eficacia del Oxavar® para el Control del Ácaro Varroa destructor (Varroidae) en Colmenas de Apis mellifera (Apidae). Rev. Soc. Entomol. Argent. v.62 n.3-4.
- Mariani, F.; Rodríguez, G., Martínez, E.; Del Hoyo, M.; Bedascarrasbure, E. y Schmit, E. 2002. Ácido oxálico en el control de Varroa destructor en Argentina. Vida Apícola, 113, 25-31.
- Marinelli, E.; Depace, F.M.; Ricci, L.; Persano Oddo, L. 2001. Impiego di diversi formule a base di timolo per il trattamento estivo antivarroa in un ambiente mediterraneo. L'Ape nostra amica 23 (5): 6 10.
- May-Itzá, W.; Medina, L. y Marrufo, J. 2007. Eficacia de un gel a base de timol en el control del ácaro Varroa destructor que infesta colonias de abejas Apis mellifera, bajo condiciones tropicales en Yucatán, México. Veterinaria México, 38(1): 1-8.
- Medina Flores, C.A.; Guzmán Novoa, E.; Aréchiga Flores, C.F.; Aguilera Soto, J. I. y Gutiérrez Piña, F. J. 2011. Efecto del nivel de infestación de Varroa destructor sobre la producción de miel de colonias de Apis mellifera en el altiplano semiárido de México. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 2(3), 313-317. Disponible en:

 http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242011000300006&lng=es&tlng=es.
- Milani, N. 2001. Activity of oxalic and citric acid on the mite Varroa destructor in laboratory assays. Apidologie 32: 127-138
- Ministerio De Sanidad, Política Social e Igualdad (MSPSI). 2011. Resumen de la la característica del producto Thymovar. Madrid, Es. Consultado 2018. Disponible en http: https://sinaem4.aemps.es
- Ministerio De Sanidad, Política Social e Igualdad (MSPSI).2012. Resumen de las características del producto Ecoxal. Madrid, Es. Consultado 2018. Disponible en http: file:///D:/Downloads/Ecoxal%2011-2012.pdf
- Miranda, E. 2002. Apilifevar y Apiguard: Evaluación de dos tratamientos contra la varroasis y la acariosis de las abejas. La Habana, Cu. Consultado 2017. Disponible en http://apimondiafoundation.org/foundation/files/141s.pdf
- Monroy, B. L. D.; Moyón, J. M. y Tapia, M. F. B. 2019. Evaluación de tres alternativas para el control de varroasis (Varroa destructor) en apiarios ecuatorianos. Revista Ciencia y Agricultura, 16(1), 63-78.
- Moyón, J. 2013. Evaluación de tres alternativas para el control de Varroasis Varroa destructor en tres apiarios de la provincia de Chimborazo. Tesis Ing. Zoo. Riobamba, EC, ESPOCH. 64-70 p
- Mula, L. 2018. El timol y su potencial curativo https://www.deplantasmedicinales.net/el-timol-y-el-tomillo/
- Murilhas, A. M. 2002. Varroa destructor infestation impact on Apis mellifera cárnica capped worker brood production, bee population and honey storage in a Mediterranean climate. Apidologie 33, 271-281
- Nanetti, A. 2007. Uso de ácido oxálico y otros productos de origen natural para el control de varroa, pros y contras. Agro sur, vol.35, no.1, p.48-50. ISSN 0304-8802.
- Palacios, M.A. 2009. Alimentación natural. Curso de actualización en sanidad apícola (12). http://forodeapiculturahispanoamericano.175.n7.nabble.com/file/n8/SENASA_POLEN.pdf: SENASA.
- Placci, L. G. 1995. Estructura y comportamiento fenológico en relación a un gradiente hídrico en bosques del este de Formosa (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata (UNLP)).

- Pomagualli Chafla, C. J. 2017. Acaricidas sintéticos y naturales para el control de varroa destructor en colmenas Apis mellifera (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador).
- Químicafacil.net. 2019. El compuesto de la Semana Sacarosa. 2019, de QúimicaFácil.Net Sitio web: https://quimicafacil.net/compuesto-de-la-semana/sacarosa/
- Rademacher, E. y Hartz, M. 2006. Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies-a review. Apidologie, 37(1), 98-120.
- Registro Nacional de productores apícolas. Fuente: Ministerio de la Producción y Ambiente, Programa para el desarrollo Apícola de la Rily-erxxztg pds
- Reyes Sánchez, F. R. 2016. Efectividad de cuadro acaricidas en el control del ácaro (Varroa destructor) en abejas (Apis mellifera L.). http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2755
- Schmidt, S.; Neira, M. y Carrillo, R. 2008. Evaluación comparativa de los acaricidas bayvarol (flumetrina) y apilife var (timol, eucaliptol, mentol y alcanfor) en el control del acaro Varroa destructor Anderson & Trueman en época primaveral. (En línea) Valdivia, CL. AGRO SUR. 36(1): 8-14. Consultado 2018. Disponible en http://mingaonline.uach.cl
- SENASA. Consultada en octubre 2018.
 - https://www.argentina.gob.ar/senasa/program assanitarios/cadena animal/abejas/produccion-primaria/comision-nacional.
- Silva, M. A.F. 2006. Evaluación del ácido oxálico sobre Varroa destructor Anderson y Trueman (Acari: Mesostigmata), aplicado en otoño sobre colonias de Apis mellifera L. (Hym: Apidae). Valdivia, CL. 2015. Disponible en: http://cybertesis.uach.cl/
- Toalombo Vargas, P.A.; Díaz Berrones, H.; Benavides, J.C.; Villafuerte, L., Gavilánez, A A.; Trujillo Villacís; J.V., Fiallos Ortega L.R. y Pomagualli Chafla, C. J. 2018. Acaricidas sintéticos y naturales para el control de varroa en colmenas Apis mellifera. Memorias del V congreso sctei espoch. Riobamba-Ecuador pdf#page-90 Ed. Dirección de Publicaciones. consultado en 2019. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Cristian_Patino_Vidal/publication/330673953
- Ubicación de la Provincia de Formosa. Disponible en https://formosa.gob.ar/miprovincia/aspectosgenerales/ubicacion
- Vandame, R. 2000. Curso de capacitación sobre control alternativo de Varroa en apicultura. Colegio de La Frontera Sur. Proyecto "Abejas de Chiapas". Curso Universidad Austral de Chile, Valdivia
- Vásquez, J.; Narrea, M. y Bracho, J. 2006. Efecto del ácido fórmico, ácido oxálico y coumaphos sobre Varroa destructor (Acari: Varroidae) en colonias de abejas. Nota Técnica. Rev. Perú. Entomol. 45:149 152
- Vidal, M. y Bedascarrabure, E. 2009. Extraído de Boletín Apícola Nº 21 SAGPYA. Curso de actualización en sanidad apícola (7-10). Disponible: http://foro-de-apicultura-hispanoamericano.175.n7.nabble.com/file/n8/SENASA_POLEN.pdf: SENASA.