

**CRIA OCCIDENTE
CADENA MIEL**

EFECTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS *BEAUVERIA BASSIANA*, *METARHIZIUM ANISOPLIDAE* Y COMBINACIÓN, PARA CONTROL DE *VARROA DESTRUCTOR* EN ABEJA EUROPEA, EN SAN PABLO, SAN MARCOS, GUATEMALA.

Investigador Principal
Investigadora Asociada
Auxiliar de investigación

Ing. Agr. Pablo Osmani López Xicará
Inga. Agr. María Helda Leticia Chay Santizo
Astrid Beatriz Camposeco López

QUETZALTENANGO, MAYO DE 2019.

Este proyecto fue ejecutado gracias al apoyo financiero del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés). El contenido de esta publicación es responsabilidad de sus autores y de las instituciones a las que pertenecen. La mención de empresas o productos comerciales no implican la aprobación o preferencia sobre otros de naturaleza similar que no se mencionan.

SIGLAS Y ACRÓNIMOS

ANDEVA	Análisis de Varianza
AGEXPORT	Asociación Guatemalteca de Exportadores
CATIE	Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza
COPIASURO R.L	Cooperativa de Apicultores del Sur Occidente
CUNOC	Centro Universitario de Occidente
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FIA	Fondo para la Innovación Agraria
IICA	Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura
CRIA	Programa Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria
INIA	Instituto de Investigaciones Agropecuarias
INSIVUMEH	Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología
TRM	Tasa de Retorno Marginal
TAMIR	Tasa Mínima de Retorno
USAC	Universidad de San Carlos de Guatemala
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
REGAPI	Registro Guatemalteco Apícola
DGC	Di Rienzo, Guzmán y Casanoves
UFC	Unidades Formadoras de Colonias del hongo evaluado
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
cm	Centímetros
CM	Cuadrado medio
CV	Coefficiente de variación
F.V	Factor de variación
GI	Grados de libertad
l	Litros
ml	Mililitro
SC	Suma de cuadrados
°	Grados
° C	Grados centígrados
%	Porcentaje

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
1. MARCO CONTEXTUAL	3
1.1 Antecedentes del problema	3
1.2 Planteamiento del problema	3
1.3 Justificación del estudio	4
CAPÍTULO II	
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1 Producción de miel	6
2.2 Datos importantes de la abeja	6
2.3 Sanidad	6
2.4 Enfermedades parasitarias	7
2.7.1. Varroasis	7
2.7.2. Características morfológicas del ácaro	7
2.7.3. Ciclo de vida de Varroa	9
2.7.4. Sintomatología	11
2.7.5. Formas de diseminación del ácaro	11
2.7.6. Diagnóstico de varroasis	11
2.5 Tratamiento para el control de <i>Varroa destructor</i>	15
1.7.1. Alternativas de control	15
1.7.2. Control químico para varroasis en abejas	15
1.7.3. Control biológico para varroasis en abejas	15
CAPÍTULO III	
3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	19
3.1 Objetivos	19
3.1.1. Objetivo General	19
3.1.2. Objetivos Específicos	19
CAPÍTULO IV	
4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	20
4.1 Hipótesis nula	20
4.2 Hipótesis alternativa	20
CAPÍTULO V	
5. MARCO METODOLÓGICO	21
5.1 Contexto espacial y temporal	21
5.1.1. Localización del área de estudio	21

5.1.2.	Condiciones climáticas y zonas de vida	21
5.1.3.	Descripción de apiario	21
5.1.4.	Temporalidad	22
5.2	Diseño experimental	22
5.3	Descripción de tratamientos	22
5.4	Unidad experimental	23
5.5	Distribución de tratamientos en campo	24
5.6	Modelo estadístico	24
5.7	VARIABLES DEPENDIENTES	25
5.7.1.	Prueba de asimilación o toxicidad de los tratamientos sobre <i>A. mellifera</i>	25
5.7.2.	Porcentaje de infestación inicial del ácaro	25
5.7.3.	Número de ácaros muertos por día	25
5.7.4.	Porcentaje de efectividad de los tratamientos	26
5.7.5.	Análisis económico por presupuestos parciales	26
5.8	VARIABLE INDEPENDIENTE	26
5.8.1.	Hongos entomopatógenos y dosificaciones	26
5.9	Técnicas de análisis de datos	27
5.10	Manejo del experimento	27
5.10.1.	Prueba de asimilación de tratamientos	27
5.10.2.	Muestreo del porcentaje de infestación de <i>V. destructor</i>	28
5.10.3.	Implementación de prueba de piso sanitaria en colmenas	29
5.10.4.	Rotulación del área experimental	29
5.10.5.	Aplicación de tratamientos	30
5.10.6.	Cambio y obtención de prueba de piso sanitario	30
5.10.7.	Limpieza de colmenas e incorporación de alimento	30
5.10.8.	Conteo y registro del ácaro <i>V. destructor</i>	31

CAPÍTULO VI

6.	ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	32
6.1.	Análisis de los niveles de infestación inicial y final del ácaro <i>V. destructor</i>	32
6.1.1.	Infestación inicial del ácaro <i>V. destructor</i> en colmenas	32
6.1.2.	Incidencia Final del ácaro <i>V. destructor</i> en colmenas	34
6.1.3.	Determinación del porcentaje de reducción de <i>V. destructor</i> en colmenas	36
6.1.4.	Determinación del porcentaje de efectividad de los tratamientos	39
6.1.5.	Determinación del nivel de parasitismo mediante la prueba de piso sanitaria	44
6.1.6.	Análisis económico, mediante presupuestos parciales	51
6.1.6.1.	Identificación de los costos relevantes	51
6.1.6.2.	Identificación de los costos que varían	51
6.1.6.3.	Estimación del precio de campo del producto	52
6.1.6.4.	Estimación de los rendimientos ajustados	52
6.1.6.5.	Obtención de los beneficios brutos y beneficios netos	53
6.1.6.6.	Análisis de dominancia	53
6.1.6.7.	Cálculo de tasa de retorno marginal (TRM)	55
6.1.6.8.	Cálculo de la tasa mínima de retorno (TAMIR)	55

6.1.6.9.	Selección del tratamiento más rentable	56
6.1.6.10.	Análisis de residuo	56
<i>CAPÍTULO VII</i>		
7.	<i>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</i>	57
<i>CAPÍTULO VIII</i>		
8.	<i>CRONOGRAMA</i>	59
<i>CAPÍTULO IX</i>		
9.	<i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	60
<i>CAPÍTULO X</i>		
10.	<i>ANEXO</i>	62

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Distribución de dosis y tratamientos por colmena _____	23
Cuadro 2. Porcentaje Inicial del ácaro V. destructor en colmenas _____	32
Cuadro 3. Porcentaje Final del ácaro V. destructor en colmenas _____	34
Cuadro 4. Porcentaje de reducción de los niveles de infestación _____	36
Cuadro 5. Porcentaje de efectividad de los tratamientos _____	39
Cuadro 6. Determinación del % efectividad de los tratamientos _____	41
Cuadro 7. ANDEVA del % de efectividad de los tratamientos _____	42
Cuadro 8. Prueba de medias DGC para los hongos del % de efectividad de los tratamientos _____	42
Cuadro 9. Prueba de medias DGC para las dosis del % de efectividad de los tratamientos _____	43
Cuadro 10. Prueba de medias DGC para la interacción entre hongos y dosis del % de efectividad de los tratamientos _____	43
Cuadro 11. Número de ácaros muertos por día en un intervalo de 8 días después de la aplicación de tratamientos _____	45
Cuadro 12. Número de ácaros muertos por día en un intervalo de 15 días después de la aplicación de tratamientos _____	45
Cuadro 13. Mortandad de ácaros por día _____	47
Cuadro 14. ANDEVA de mortandad de ácaros por día _____	48
Cuadro 15. Prueba de medias mediante DGC para los hongos entomopatógenos sobre la mortandad de ácaros por día _____	48
Cuadro 16. Prueba de medias mediante DGC para dosis sobre la mortandad de ácaros por día _____	49
Cuadro 17. Prueba de medias mediante DGC para la interacción entre hongos y dosis sobre la mortandad de ácaros por día _____	50
Cuadro 18. Cotos que Varían _____	51
Cuadro 19. Rendimientos ajustados _____	52
Cuadro 20. Beneficios netos y beneficios brutos _____	53
Cuadro 21. Análisis de dominancia _____	54
Cuadro 21. Tasa de retorno marginal (TRM) _____	55
Cuadro 22. Análisis de residuos. _____	56
Cuadro 23. Desarrollo de actividades, de la investigación. Fuente: Elaboración propia. _____	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vista dorsal y ventral de una hembra de V. destructor.....	8
Figura 2. Macho y hembra en acoplamiento	9
Figura 3. Ciclo biológico del ácaro en su etapa adulta.	9
Figura 4. Sincronización del ciclo de desarrollo de Varroa con el ciclo de la abeja.....	10
Figura 5. Medidas caja apícola	23
Figura 6. Croquis del ensayo	24
Figura 7. Niveles de infestación de varroasis fase inicial, final y reducción	38
Figura 8. Efectividad de tratamientos según sus intervalos de días después de aplicación	46
Figura 9. Localización del área de investigación.....	62
Figura 10. Se prepararon frascos de boca ancha con tapa, llenándolos $\frac{3}{4}$ partes con agua destilada	63
Figura 11. Captura de abejas para determinación del % de infestación	63
Figura 12. Identificación de la abeja reina dentro de la colmena	64
Figura 13. Identificación de muestras.....	64
Figura 14. Tamizado de muestras para conteo de ácaros.....	65
Figura 15. Conteo y registro de abejas y ácaros.	65
Figura 16. Conteo y registro de abejas y ácaros.	66
Figura 17. Vista de la trampa tipo bastidor con malla	66
Figura 18. Vista de trampa implementada en la colmena.....	67
Figura 19. Vista regla móvil detrás de la piquera.....	67
Figura 20. Preparación de las dosificaciones en las rociadoras	68
Figura 21. Aplicación de tratamientos.....	68
Figura 22. Recorte de cartulinas y aplicación de vaselina	69
Figura 23. Cambio y obtención de prueba de piso sanitario	69
Figura 24. Tercera parte de muestras colectadas en el ensayo	70
Figura 25. Limpieza de colmenas.....	70
Figura 26. Incorporación de alimento.....	71
Figura 27. Conteo y registro del ácaro V. destructor.....	71
Figura 28. Conteo y registro del ácaro V. destructor.....	72
Figura 29. Tercera parte de Ácaros V. destructor contabilizados.....	72
Figura 30. Tercera parte de Ácaros V. destructor contabilizados.....	73
Figura 31. Actores Locales De La Aldea San Pablo del departamento de San Marcos	74
Figura 32. Actores Locales De La Aldea San Pablo del departamento de San Marcos	74

**EFFECTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS *BEAUVERIA BASSIANA*,
METARHIZIUM ANISOPLIDAE Y COMBINACIÓN, PARA CONTROL DE *VARROA*
DESTRUCTOR EN ABEJA EUROPEA, EN SAN PABLO, SAN MARCOS,
GUATEMALA.**

RESUMEN

El ensayo se realizó en la Aldea Nueva Independencia, del municipio de San Pablo y departamento de San Marcos. Una de las cadenas productivas más importantes que producen en esta área es la miel, es un producto alimenticio producido por abejas (*Apis mellifera*), un problema fitosanitario de esta cadena lo representa un ácaro llamado *Varroa destructor* ectoparásito de *Apis mellifera*, el cual es el principal vector de la enfermedad llamada Varroasis que afecta a las abejas desde la fase pupal y adulta.

La investigación parte como respuesta de la problemática identificada durante el Diagnóstico de la Cadena de Miel desarrollado por el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) a finales del año 2016 y principios de 2017, en el que a través de la consulta con los actores locales se identificó y priorizo como problemática la presencia de *Varroa destructor* como una plaga que afecta a la producción apícola del sur occidente.

Partiendo de lo anterior durante la investigación, la evaluación se enfocó en la búsqueda del tratamiento que cause mayor efecto en cuanto a la mortandad de *V. destructor* sobre *A. mellifera*, como la disminución del porcentaje de infestación inicial, mayor efecto en el porcentaje de efectividad para el control del ectoparásito en colmenas evaluadas y el beneficio económico que representa.

Como producto de la investigación se seleccionó el hongo entomopatógeno, dosis e interacción adecuada para el control de *V. destructor* a partir de las variables de respuesta como: porcentaje de infestación; inicial, final y reducción, número de ácaros muertos por día, porcentaje de efectividad y beneficio económico.

Para el análisis objetivo de los resultados obtenidos, se utilizó el criterio de selección, en la priorización del tratamiento que presentó la mayor capacidad para controlar *V. destructor* proveniente de la comparación de medias por el criterio de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) identificando el mejor tratamiento.

Los resultados obtenidos indicaron altos niveles de infestación de *V. destructor* sobre *A. mellifera* con un promedio de enfermedad en el apiario de 11.26 %, según estudios realizados en otros países, el grado de daño causado por la varroasis, depende del grado de infestación de las colonias afectadas. El efecto negativo sobre la productividad, comienza cuando la población de ácaros alcanza 10 % por lo fue necesaria la aplicación de tratamientos para su control. Logrando evidenciar la funcionalidad de estos como controladores del agente mediante la reducción del porcentaje inicial a 6.55 % dentro del apiario, logrando disminuir el 4.71 %.

La efectividad de tratamientos por medio de la prueba de piso sanitaria identificó diferencias significativas siendo esta para los hongos entomopatógenos, y altamente significativas para las dosis e interacción hongos/dosis; situando al hongo *Metarhizium*

anisoplidae, como un mejor repelente contra la plaga, considerando su media de 8.97 ácaros muertos por día, así mismo situando a la dosis 0.25 ml con una media de 6.77 ácaros muertos por día y para su interacción al tratamiento: *Metarhizium anisoplidea* con una dosis de 0.25 ml estimando su capacidad para propiciar la mortandad de *V. destructor* sobre *A. mellífera* con una media de 14.53 del cual se obtienen mejores resultados.

También el porcentaje de efectividad para reducción del agente evidencia que el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisoplidae* presenta efecto acaricida para control de *V. destructor*, ya que se obtiene un porcentaje de efectividad de 60.33 % de igual forma para la dosis 0.25 ml se obtiene un 51.50 % de efectividad y referente a sus interacciones Hongos/Dosis. La interacción con mayor porcentaje de efectividad fue la del tratamiento de *Metarhizium anisoplidae* con una dosis de 0.25 obteniendo un 88 % de efectividad, el cual ofrece ser una buena alternativa para control.

El análisis económico en base a presupuestos parciales, identificó que el tratamiento combinación con una dosis de 0.25 es más rentable, considerando el rendimiento de miel obtenido por el apicultor y su porcentaje de efectividad para control del ácaro que alcanza un 59 %. Cuyos resultados favorecen la economía del apicultor, así como la vigorosidad de las abejas y producción de miel al no ser parasitados por los ácaros, evitando con ello la vulnerabilidad de mortandad de las abejas.

SUMMARY

The trial was conducted in the Nueva Independencia Village, in the municipality of San Pablo and department of San Marcos. One of the most important productive chains that produce in this area is honey, it is a food product produced by bees (*Apis mellifera*), a phytosanitary problem of this chain is represented by a mite called *Varroa destructor* ectoparasite of *Apis mellifera*, which is the main vector of the disease called Varroasis that affects bees from the pupal and adult phase.

The research starts in response to the problem identified during the Diagnosis of the Honey Chain developed by the Tropical Agricultural Research and Higher Education Center (CATIE) at the end of 2016 and the beginning of 2017, in which, through consultation with the local actors identified and prioritized as problematic the presence of *Varroa destructor* as a plague that affects bee production in the south west.

Based on the above during the investigation, the evaluation focused on the search for the treatment that causes the greatest effect in terms of mortality of *V. destructor* on *A. mellifera*, as the decrease in the percentage of initial infestation, greater effect on the percentage of effectiveness for the control of the ectoparasite in beehives evaluated and the economic benefit that it represents.

As a product of the investigation, the entomopathogenic fungus, dose and interaction suitable for the control of *V. destructor* was selected from the response variables as: percentage of infestation; initial, final and reduction, number of dead mites per day, percentage of effectiveness and economic benefit.

For the objective analysis of the results obtained, the selection criterion was used, in the prioritization of the treatment that presented the greatest capacity to control *V. destructor* from the comparison of means by the criterion of Di Rienzo, Guzmán and Casanoves (DGC) identifying the best treatment.

The obtained results indicated high levels of *V. destructor* infestation on *A. mellifera* with an average disease in the apiary of 11.26%, according to studies carried out in other countries, the degree of damage caused by varroa, depends on the degree of infestation of the affected colonies. The negative effect on productivity begins when the mite population reaches 10%, so it was necessary to apply treatments to control it. Achieving evidence of the functionality of these as controllers of the agent by reducing the initial percentage to 6.55% in the apiary, achieving a decrease of 4.71%.

The effectiveness of treatments by means of the sanitary floor test identified significant differences being this one for the entomopathogenic fungi, and highly significant for the dose and interaction fungi / dose; placing the fungus *Metarhizium anisopliae*, as a best repellent against the pest, considering its average of 8.97 dead mites per day, likewise

placing the dose 0.25 ml with an average of 6.77 dead mites per day and for its interaction to the treatment: *Metarhizium anisopliae* with a dose of 0.25 ml estimating its capacity to promote mortality of *V. destructor* on *A. mellifera* with an average of 14.53 of which better results are obtained.

Also, the percentage of effectiveness for reduction of the agent shows that the use of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* presents a miticidal effect for *V. destructor* control, since a percentage of effectiveness of 60.33% is obtained in the same way for the 0.25 ml dose. 51.50% effectiveness and referring to their interactions Fungi / Dosage. The interaction with greater percentage of effectiveness was that of the treatment of *Metarhizium anisopliae* with a dose of 0.25, obtaining 88% of effectiveness, which offers to be a good alternative for control.

The economic analysis based on partial budgets, identified that the combination treatment with a dose of 0.25 is more profitable, considering the honey yield obtained by the beekeeper and its percentage of effectiveness for mite control that reaches 59%. Whose results favor the economy of the beekeeper, as well as the vigorousness of the bees and production of honey when not being parasitized by mites, thus avoiding the vulnerability of the bees' mortality.

INTRODUCCIÓN

La *Varroa destructor* es un ácaro ectoparásito y agente causal del mayor problema sanitario en abejas *Varroosis*, enfermedad proveniente de Asia, ha evolucionado a nivel mundial, afectando mayormente a las abejas de la especie *Apis mellifera*, introduciéndoles cantidad de virus que provoca parálisis aguda o alas deformes y síndromes de despoblamiento, dejando en colapso a las colmenas productoras; lo anterior principalmente perjudica la producción de miel, entre otros beneficios que brindan los laboriosos insectos, destacando la polinización. Si bien es cierto esta enfermedad no puede ser erradicada en su totalidad, debe ser controlada sistémicamente y con niveles bajos de infestación.

Ante tal enfermedad, el control que se ha manipulado en la apicultura es de diversa índole, siendo predominantes: productos orgánicos, técnicas de mejoramiento genético y resistencia, y el más utilizado el sistémico o químico. Sus desventajas son: residuos del producto en la miel y sus derivados, resistencia paulatina a los tratamiento y mayor costo en aplicación, por lo que fluctúan los beneficios. Partiendo de lo anterior se brinda una alternativa sostenible, por medio del control biológico, para satisfacer las necesidades de los productores y consumidores.

Los hongos entomopatógenos *Bauberia bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y combinación de ellos, aplicados en este estudio son considerados organismos con alto valor ecológico y beneficio económico, al desempeñar funciones de regulación sobre el ácaro, siendo esta una opción viable para la elaboración de bioplaguicidas, que se enfoquen al cuidado del medio ambiente.

Por tal motivo, el estudio brinda información técnica que beneficia a los productores de la cadena de miel como consecuencia de la escasez de información local sobre métodos de control biológico, dando auge en cuanto a la generación de resultados obtenidos con el apoyo financiero del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) a través del Programa de Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria (CRIA) y el Centro Universitario de Occidente (CUNOC) de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), propiciando el alcance de objetivos del proyecto y objetivos del programa, aportando los resultados para el desarrollo agropecuario del sector apícola.

Por medio de la evaluación del efecto de los hongos entomopatógenos consistentes en: *B. bassiana*, *M. anisopliae* y la combinación de ambas, en concentraciones de Unidades Formadoras de Colonias del hongo evaluado (UFC) = 1.0×10^9 cantidades de esporas por centímetro cúbico y analizando las respectivas dosis 0.50, 0.25 y 0.75. Empleándose en un diseño de bloques al azar, con arreglo de parcelas divididas con 12 tratamientos y 4

repeticiones, debido a las condiciones y el nivel de factores a evaluar que estuvieron dados por el factor A los hongos entomopatógenos y el factor B las dosis.

Las variables evaluadas de los tratamientos estuvieron dadas por: el efecto de la prueba de asimilación o toxicidad de los tratamientos sobre las abejas, porcentaje de infestación inicial, final y reducción; efecto según el número de ácaros muertos por día, efecto en el porcentaje de efectividad y beneficio económico.

A través de los resultados obtenidos se identificó el mejor tratamiento, siendo este el hongo entomopatógeno *M. anisoplidae* con una dosis de 0.25 del cual se obtiene mejores resultados como controlador de *V. destructor* sobre *A. mellífera*. Y siendo el tratamiento más rentable el de combinación con una dosis de 0.25.

Constituyendo dichos resultados una herramienta que fortalecerá al sector apícola de la región, mediante información relevante contenida en la presente que permitirá a las instituciones involucradas hacer la oportuna replicación de este método y posteriormente hacer la validación y transferencia de tecnología a quien desee adoptar dicha tecnología.

CAPÍTULO I

1. MARCO CONTEXTUAL

1.1 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

Se reconoce que el 70 % de los alimentos del mundo, son polinizados por las abejas y polinizan más de 25.000 especies de plantas con flores. Sin estos insectos la actividad apícola y agrícola prácticamente desaparecería, dejando a muchas familias sin una fuente de ingresos (Valega, 2013). Sin embargo, la labor de las abejas es afectada por innumerables causas, provocadas por insectos, como hormigas y escarabajos, hasta bacterias y parásitos, siendo de mayor incidencia la varroasis.

La parasitosis varroasis o varroatosis, es producida por el ácaro *V. destructor*, que afecta a las tres castas de abejas, con singular preferencia en larvas de zánganos, ya que son más ricos en nutrientes, fue descubierta en Asia en la abeja *Apis cerana*, esta especie posee la capacidad de convivir en equilibrio, debido a sus hábitos de limpieza; sin embargo en la década de 1960 se identificó la infestación en colonias de *A. mellifera*, llegando en 1992 a Latinoamérica, causando pérdidas y convirtiéndose en el principal problema sanitario en apicultura.

A lo largo del siglo XX, *V. destructor* se ha extendido por todo el mundo y ha provocado la mortandad masiva de colmenas y por ende la disminución de producción y personas dedicadas a la apicultura. (CentralAmerica Data, 2017). Ante la problemática se han presentado diversos tratamientos, incluyendo: técnicas de manejo, controles con productos químicos, orgánicos y biológicos, algunos evaluados y con resultados aceptables en diferentes países incluyendo México, Chile, Nicaragua y recientemente en Guatemala.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades en las abejas adultas se clasifican en parasitarias, bacterianas y virales, siendo la varroasis una enfermedad parasitaria, vector de virus, es la mayor amenaza biológica, que afecta en diferentes estadios, provocando síntomas y signos que perjudican el

ciclo de vida de la abeja, como malformación corporal, reducción de peso, reducción de longevidad y muerte.

Considerando que es una enfermedad casi imposible de erradicar, la incidencia del parásito en las colmenas no debería ser mayor del 5 %, porque el crecimiento de los ácaros es exponencial, y en la fase reproductiva se duplica cada 21 días, sin control, arriesgando la vida de las colonias, por ello, se debe mantener un porcentaje bajo de infestación de varroa, empleando los métodos de control.

En Guatemala la cadena productiva de miel representa un ingreso para las familias productoras, en los departamentos de Huehuetenango, San Marcos y Quetzaltenango, el precio de miel por quintal en el mercado local oscila entre Q900 y Q1.100; siendo una alternativa de superación ante la crisis económica, es menester realizar evaluaciones en favor a disminuir las enfermedades causadas por parásitos.

1.3 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

En Guatemala la apicultura es sedentaria y poco dinámica, con nula o escasa información e investigación de la cadena productiva de miel, incluyendo los eslabones: proveedores de insumos, productores, acopiadores, transformadores y los canales de comercialización, inclusive datos sobre manejo y control de enfermedades son minoritarios. La importancia de la labor de las abejas es además de producir miel y derivados, un indicador de equilibrio ambiental y colabora con la agricultura, al polinizar los diferentes cultivos, por ello, es menester considerar el adecuado y correcto manejo de las abejas.

Según datos de la Asociación Guatemalteca de Exportadores (AGEXPORT), durante el año 2012 se exportó a la Unión Europea 1.413 toneladas de miel, principalmente en Alemania y España, con alta demanda en los países del Reino Unido y Bélgica. La merma de producción oscila en un 75 %. Anteriormente se obtenía 80 libras por colmena y decreció a 20 libras, otra de las causas es la caída en el precio internacional de hasta 55 %, con precios por tonelada métrica de miel de \$4.000 y \$4.200 durante 2015, hasta un rango de \$2.000 a \$2.400 durante el año 2016 (CentralAmerica Data, 2017).

Una de las muchas y principales causas de disminución en producción de miel y demás derivados de la colmena, es la parasitosis varroasis, esta a su vez ha sido manejada con diversos métodos, destacando: el uso de productos orgánicos, con la dificultad de tener resultados lentos; con técnicas de manejo para resistencia y mejora genética la cual es tardía y costosa; asimismo el uso de productos químicos, siendo el método más empleado, con la desventaja de propiciar el aumento de infestación del ácaro, a causa de la resistencia de las abejas a los productos, que en su mayoría suelen ser de elevado costo por el aumento paulatino de dosis e intervalos de aplicación, aunado, causa efectos adversos al control, como toxicidad en seres vivos, animales, plantas y el ser humano; asimismo el riesgo de contaminar los productos de la colmena, provocando daños cuantiosos y perjudiciales a la economía de los apicultores.

También se estima el uso de productos biológicos que han sido evaluados con anterioridad, en países que representan mayor actividad apícola. El uso de hongos entomopatógenos constituye una aceptable alternativa de control, ante los mencionados métodos. Son organismos con gran potencial, empleados como biocontroladores que actúan por contacto, analizados y cultivados en el laboratorio para mejorar la dosis y concentraciones, por medio de técnicas de producción a bajo costo; teniendo el valor agregado de no contaminar el medio ambiente y los que interactúan: hombre, plantas y animales superiores. El interés del estudio en San Pablo, San Marcos se centraliza en la evaluación y desarrollo de cepas de hongos entomopatógenos *B. bassiana*, *M. anisopliidae* y la combinación de ambas, que reúnen características determinantes para el control de *V. destructor* causante de Varroasis, específicamente logrando un control sistémico con la dosis y concentración adecuada que no interfiera en costos de producción.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 PRODUCCIÓN DE MIEL

En Guatemala la producción de miel es uno de los principales productos exportables a nivel mundial, apreciada en países de la Unión Europea, Alemania, Reino Unido y España, asimismo Estados Unidos, Inglaterra, Japón, Austria, Italia, Holanda, Suiza y Bélgica; por lo menos el 80 % de la miel es exportada y un 20 % es para consumo en el país, se tiene un estimado de 3 a 4 millones de dólares, por venta nacional, sin embargo, no constituye representatividad en la economía. El precio a pequeña escala varía desde Q30.00, Q60.00 a Q100.00, según factores de lugar, calidad y tipo de miel (Arevalo, 2017).

“Según la base de datos del Registro Guatemalteco Apícola (REGAPI), existen por lo menos un total de 1,465 apicultores registrados, que mantienen la producción en diferentes partes del país” (MAGA, 2015). “Los departamentos involucrados en producción son: San Marcos, Quetzaltenango, Retalhuleu, Suchitepéquez y Huehuetenango” (Arevalo, 2017).

2.2 DATOS IMPORTANTES DE LA ABEJA

Es importante conocer las características de las castas en la colmena, la abeja reina es la única hembra fértil, posee alas pequeñas y angostas, el cuerpo es más largo y delgado que el zángano, que colabora en la elaboración de miel, repartiendo alimento entre las obreras; estas son hembras infértiles y de menor tamaño.

2.3 SANIDAD

Las colonias de abejas son desarrolladas, los miembros son interdependientes, es decir, ninguno de ellos puede sobrevivir aislado, sino dentro del conjunto, siendo unidades biológicas básicas, capaz de regular su temperatura a través de mecanismos que requiere de un gasto energético. Según lo anterior, la colmena saludable es la que tiene una adecuada condición corporal, cantidad adecuada de abejas por marco, alto nivel de cría y reservas (miel y polen), y ausencia de enfermedades.

2.4 ENFERMEDADES PARASITARIAS

Existen enfermedades que son producidas por agentes etiológicos, siendo uno de los principales, los ácaros de *V. destructor* (José Vaquero, 2010).

2.7.1. Varroasis

El parásito causal de la enfermedad es *V. destructor*, ácaro diminuto, observable a simple vista, e identificado en su fase forética al momento de inspeccionar la colmena; principalmente se encuentra en zánganos y obreras, diferenciándose entre sí por las características de hembras y machos, desglosadas en las características morfológicas.

Además de ser ectoparásito obligado, es un parásito forético, se desliza de una colmena a la otra siendo transportado por las mismas abejas, se alimenta succionando la hemolinfa, en las placas abdominales, también se localiza entre la cabeza y el tórax, el curso de invasión y destrucción es lento, provocando el colapso de la colonia en un plazo de 3 a 4 años en un clima templado [...] El desarrollo de la *varroasis* pasa inadvertido desde el punto vista clínico durante un periodo de uno a tres años, posteriormente aumenta el número de parásitos, se debilitan las colonias y su productividad disminuye. Finalmente, la infestación es intensa y hay un alto riesgo de desaparición de las colonias si no se les aplica ningún tratamiento (Barrios Rivera, 2012).

2.7.2. Características morfológicas del ácaro

Según Barrios Rivera, las características que presentan difieren según su sexo, dentro de las cuales se encuentran las siguientes:

Hembra (figura 1):

- Las hembras son más anchas que largas, es decir 800 - 1,500 μm de longitud por 1,300 – 1,900 μm de anchura.
- Forma del cuerpo es elipsoidal de color castaño claro a oscuro.
- Presenta numerosos pelos rígidos para desplazarse y sujetarse al hospedero, su escudo dorsal cubre todo el cuerpo (idiosoma), con los bordes encorvados hacia la parte ventral.

- El aparato bucal (gnatosoma) está adaptado para picar y chupar, formado por 2 piezas móviles o quelíceros.
- Presentan órganos sensitivos en el primer par de patas, que hacen el papel de antenas y permiten la fijación sobre las abejas.
- Se orientan a las abejas adultas debido al olor, vibraciones y sonidos.

Macho (figura 2):

- Largo aproximado de 750 μm a 900 μm y un ancho de 700-900 μm , más pequeño que la hembra.
- Color blanco amarillento.
- Menor consistencia, traslúcido, piriforme y muy poco esclerotizado.
- Se localiza en el interior de las celdas de cría, no se alimenta y vive pocos días.
- No son capaces de sobrevivir fuera de la cría operculada.
- No pueden alimentarse por sí mismos porque el aparato bucal es usado exclusivamente para transferir esperma al tracto genital de la hembra.

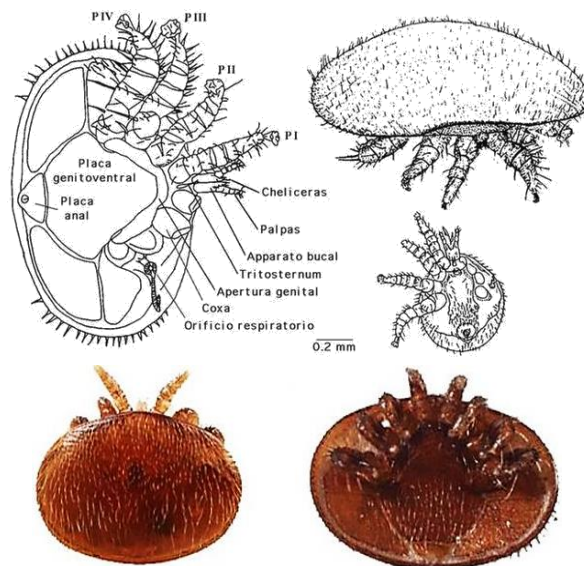


Figura 1. Vista dorsal y ventral de una hembra de *V. destructor*. Fuente: (Formato G., 2017)



Figura 2. Macho y hembra en acoplamiento. Fuente: (Formato G., 2017)

2.7.3. Ciclo de vida de Varroa

El ciclo biológico del ácaro en su etapa adulta se divide en dos fases: forética (del griego *fores*, cargar), y reproductiva. En la forética el ácaro, parasita sobre el cuerpo de la abeja y en la reproductiva los ácaros se introducen al interior de las celdas con cría operculada (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 2011).

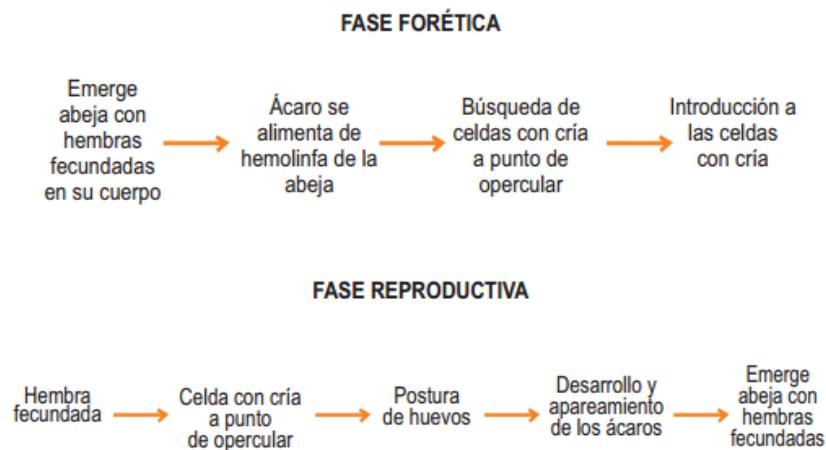


Figura 3. Ciclo biológico del ácaro en su etapa adulta.
Fuente: (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 2011)

En la etapa forética la hembra del ácaro *Varroa* vive sobre la abeja adulta, obrera, la etapa reproductiva del ácaro se lleva a cabo dentro de la celda operculada de la obrera o del zángano coincidiendo con las etapas pupales de la metamorfosis de la abeja melífera.

Los machos adultos del ácaro no pueden vivir fuera de la celda operculada. Para reproducirse, la hembra se introduce en las celdillas que contienen las crías de abeja alrededor de 24 y 48 horas antes del sellado de las celdillas. Una vez la celda ha sido operculada, comienza a alimentarse, perforando con su aparato bucal la piel de la larva, y 2 días después pone el primer huevo, cada un día y medio pondrá otro más, siendo al final de 3 a 7 huevos.

Los huevos demoran 2 días en eclosionar y del primero generalmente nacerá un macho, que en 3 a 4 días se convierte en adulto, de los siguientes huevos nacerán hembras, que en 5 a 6 días se transforman en adultos, seguidamente se lleva a cabo el apareamiento dentro de la misma celdilla y una vez que la abeja nace y rompe el opérculo, las hembras de Varroa salen con ella. El macho muere de inanición, pues no es capaz de alimentarse. La abeja puede llegar a salir con 4 Varroas fecundadas. Al alimentarse de las abejas adultas, el ácaro busca las partes más blandas para perforar, siendo estos lugares los intersegmentos de los primeros segmentos de abdomen, la base de las alas, áreas entre la cabeza, el tórax y el abdomen, hasta que el parásito ocupe una celdilla para reiniciar el ciclo (Montenegro, 2016).

A continuación, se presenta la sincronización del ciclo de *A. mellifera* con el ectoparásito *V. destructor*, desde la cría hasta la emergencia adulta de las abejas, produciendo sintomatologías que dificultan el incremento de las abejas y por ende la producción de miel.

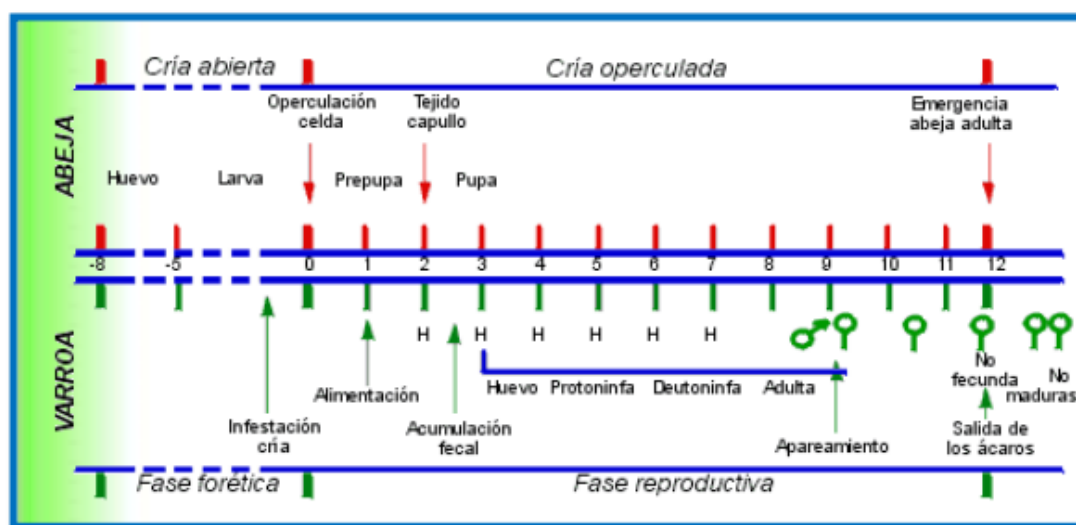


Figura 4. Sincronización del ciclo de desarrollo de *Varroa* con el ciclo de la abeja. Fuente: (Vandame, 2000).

2.7.4. Sintomatología

En las colonias de abejas infestadas, los primeros síntomas clínicos de la varroasis comienzan a observarse durante el final de la temporada, algunos son:

- Disminución de crías
- Reducción del peso al nacer (-10 a 22 %).
- Malformación corporal.
- Reducción tamaño glándulas hipofaríngeas.
- Reducción proteína hemolinfa (-27 a 50 %).
- Introducción y activación de virus y bacterias.
- Alteraciones anatómicas y fisiológicas de zánganos y el número decrece.
- Reducción de longevidad de abejas adultas.
- Menor tolerancia agroquímicos debido a la reducción de peso.
- Inmunodepresión de abejas y colonias.

Sólo en la etapa letal de las colonias aparecen los síntomas clínicos, tales como la atrofia de las alas y el acortamiento del abdomen. Esto se debe a una elevada sensibilidad a virus que deforman las alas y provocan parálisis aguda, así como a la infección de heridas y pérdida de hemolinfa, afectando la generación de anticuerpos, vulnerando a las abejas al ataque de virus, bacterias y hongos.

2.7.5. Formas de diseminación del ácaro

La diseminación de varroasis entre colmenas o apiarios se produce principalmente por el contacto directo entre individuos sanos con individuos parasitados, incluyendo las conductas propias de las abejas como la deriva, actividad de las abejas al salir a pecorear y regresan a la colmena equivocada, los zánganos que entran libremente a cualquier colmena, el pillaje o ataque y robo de miel entre colmenas (Montenegro, 2016).

2.7.6. Diagnóstico de varroasis

Para el diagnóstico de varroasis en abejas, se considera la época del año, la fuerza y cantidad de la cría, zona de la colmena a inspeccionar; siendo ideal un cuadro de cría en el

que estén naciendo la mayor cantidad de abejas, determinando de forma cuantitativa la presencia del parásito y nivel de infestación.

Al realizar el diagnóstico, se debe muestrear al azar, el 10 % de colmenas, con un mínimo de 5 colmenas si el apiario es de 50 colmenas o menos. A continuación, se detallan 3 de los métodos más utilizados para el diagnóstico de varroasis.

a) Prueba de David de Jong o del agua jabonosa

Técnica sencilla y económica, para diagnosticar la presencia del ácaro *Varroa* en abejas adultas, obteniendo un diagnóstico acertado del nivel de infestación, sobre todo en ausencia de crías, su aplicación se detalla a continuación:

- Preparar un envase o recipiente con doble tamiz, el primero donde queden atrapadas las abejas y el segundo donde queden retenidos los ácaros de *Varroa*, se puede utilizar colador de cocina para el tamiz más grande.
- En un frasco boca ancha con tapa, llenar $\frac{3}{4}$ partes con agua destilada y una cucharada de detergente para lavar loza o alcohol al 70 %, si las muestras serán enviadas al laboratorio, se debe llenar con alcohol al 70 %.
- Se abre la cámara de crías, y se obtiene un número de 200 abejas aproximadamente., deslizando el frasco desde arriba hacia abajo, para que las abejas caigan, se obtiene la muestra de ambos lados en 3 marcos distintos que posean cría. Es importante identificar el marco donde está la Reina y dejarlo aparte, para que ella no caiga en el frasco que se va a analizar.
- Rotular el envase con fecha de diagnóstico, número de colmena y lugar del apiario.
- Agitar el frasco vigorosamente durante un período de 30 segundos.
- Se vacía el frasco en el envase de doble tamiz preparado. Lavar con agua destilada, para que los ácaros se suelten de las abejas y caigan hacia el tamiz más fino.
- Recuperar las abejas y repetir el procedimiento 2 veces más.
- En un paño blanco, se vacía el contenido, para contar ácaros de varroa que han caído.
- Luego se cuenta la cantidad de abejas muertas.

Según Montenegro. el cálculo de nivel de infestación, se obtiene en la siguiente fórmula:

$$I = \left(\frac{N^{\circ} \text{ de Varroa}}{N^{\circ} \text{ de abejas}} \right) 100 = \% \text{ infestación}$$

b) Método del piso sanitario

Método utilizado para estimar el nivel de parasitismo en la colmena y para determinar la eficiencia de un producto. Consiste en un piso móvil de madera cubierto por una malla metálica que permite el paso de los ácaros caídos, pero no el de las abejas. Puede variar en lugar del piso en cartulina o bandeja de plástico o lata, siempre provista de malla, que impida la limpieza por parte de las abejas.

Utilizando piso, cartulina y otro material se debe untar una sustancia adhesiva como vaselina o aceite vegetal hidrogenado para que se adhirieran los ácaros caídos y después recolectarlos para el conteo (si se utiliza para pruebas de eficiencia de producto no se debe colocar sustancia adhesiva). Al retirar el piso y contar los ácaros muertos en forma natural obtenemos una aproximación del parásito de esa colonia (SENASA, 2005).

Montenegro indica que a las 24 horas se retira y contabilizan los ácaros presentes, el siguiente conteo de ácaros se puede realizar a los 7 días después, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Varroas muertas por día} = \frac{N^{\circ} \text{ de Varroas encontrada}}{\text{Días de evaluación}}$$

Ejemplo: si se encuentran 21 ácaros de *Varroas*, en un período de 7 días, el cálculo queda de la siguiente forma:

$$\text{Varroas muertas por día} = 21 \div 7 = 3 \text{ Varroas muertas por día.}$$

Seguidamente se determina la reducción de infestación aplicando la siguiente fórmula:

$$E = \left(\frac{\text{Infestación Inicial} - \text{Infestación Final}}{\text{Infestación Inicial}} \right) 100 = \% \text{ Efectividad}$$

Fuente: (SENASA, 2005)

c) Diagnóstico en la cría

Este método permite calcular la carga de ácaros de *Varroa* en la cría. Sin embargo, no es fácil de realizar y requiere sacrificar a las crías. La evaluación consiste en buscar ácaros en celdas de cría operculada, preferentemente de zánganos y si no hubiera, en crías de obreras, su aplicación se detalla a continuación:

- Sacar un marco con cría operculada, preferentemente de zánganos.
- Despejar totalmente de abejas.
- Con una pinza, peine o aguja de disección, abrir las celdas y buscar la presencia de ácaros, ya sea en el cuerpo de la pupa o en la celda.
- Desopercular y revisar al menos 50 celdillas.
- Anotar el número de las celdas donde se encontró *Varroa*.
- Si no es posible realizar el ensayo en campo, cortar un pedazo de marco de unos 10 * 10 cm y llevarlo a un lugar para realizar el conteo.

El nivel de infestación se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de infestación (\%)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de celdas con Varroa}}{\text{N}^\circ \text{ de celdas desoperculadas}} \times 100$$

Fuente: (SENASA, 2005)

Considerar la tasa de infestación de:

- 5 % o menos, infestación baja y no requiere tratamiento.
- 5 a 10 %, infestación media, no requiere tratamiento, se puede aplicar control.
- Más de 10 %, infestación alta, requiere tratamiento.

Ejemplo: Si se contaron 12 celdas con ácaro *Varroa* y se desopercularon 63 celdas:

$$\text{Tasa de infestación (\%)} = \frac{10}{63} \times 100$$

Fuente: (SENASA, 2005)

Se obtiene 15.9 % de infestación, considerada muy alta y requiere tratamiento. La tasa de infestación se debe calcular para todo el apiario (Montenegro, 2016).

2.5 TRATAMIENTO PARA EL CONTROL DE *VARROA DESTRUCTOR*

2.5.1. Alternativas de control

Se ha empleado productos orgánicos naturales como ácidos fórmico, láctico y oxálico, aceites esenciales como el timol y el mentol, aplicando de medidas biotécnicas: fomentando la cría de zánganos para atraer de manera natural a los ácaros y eliminarlos juntamente con la cría (Chacin Z., y otros, 2013).

2.5.2. Control químico para varroasis en abejas

En la actualidad, las colonias infestadas con ácaro *Varroa*, son tratadas con productos químicos, que han permitido control, el mismo es momentáneo y no elimina en su totalidad la parasitosis, además, su uso ocasiona inconvenientes, destacando:

- Resistencia del ácaro, a productos químicos.
- Contaminación de la miel y demás productos, generando amenazas de intoxicación y cierre de mercados para venta.
- Son tóxicos, tanto para las abejas, como para el hombre, e incluso algunos pueden ser cancerígenos.
- Incrementa costos de elaboración en miel y subproductos apícolas, debido al alto precio de acaricidas, así como al tiempo y mano de obra que se invierten en la aplicación (Imagen Veterinaria, 2004).

2.5.3. Control biológico para varroasis en abejas

Los hongos entomopatógenos tienen un gran potencial como agentes controladores, constituyendo un grupo con más de 750 especies, diseminados en el medio ambiente y provocando infecciones fungosas a poblaciones de artrópodos, entre los géneros más importantes están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*,

Hirsutella, Hymenostilbe, Paecilomyces y Verticillium, para la FAO¹, los géneros de importancia son Metarhizium, Beauveria, Paecilomyces, Verticillium, Rhizopus y Fusarium (Motta, 2011).

El uso de agentes de control biológico en los últimos años ha inducido el interés, debido a la preocupación por contar con nuevas formas de control de plagas no contaminantes y amigables con los recursos naturales, sociales y económicos. Investigaciones realizadas en España presentan resultados obtenidos aplicando dos concentraciones de conidios de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae*, sobre abejas parasitadas, mantenidas en colmenas de observación, propiciando investigaciones que identifiquen la dosis y forma de aplicación más efectiva para luchar contra el parásito sin afectar a las abejas (Díaz, y otros, 2014).

En Chile, desde el año 2005, el Centro Tecnológico de Control Biológico del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), ubicado en el Centro Regional de Investigación Quilamapu, Chillán en conjunto con la Universidad Austral de Chile y con el apoyo del Fondo para la Innovación Agraria (FIA), han desarrollado el proyecto *Desarrollo de un acaricida biológico para el manejo no contaminante de V. destructor en colmenares comerciales*, cuyo objetivo es establecer una estrategia de manejo de varroasis mediante la elaboración y uso de un bioacaricida en base a hongos entomopatógenos chilenos (Gerding, y otros, 2014).

Hasta el momento los resultados obtenidos han permitido seleccionar un aislamiento del hongo *M. anisopliae* denominado Qu-M845, que en ensayos de laboratorio ha logrado un control del 98 % de ácaros. Asimismo, en evaluaciones de terreno este aislamiento ha logrado un control de 67 % en *Varroa*, cuando se aplicaron las esporas sobre y entre los panales de las colmenas en otoño. En aplicaciones en primavera este aislamiento incrementó la caída de *Varroa* en un 50 % en comparación a colmenas en las cuales no se aplicaron estas esporas.

¹ La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, ONUAA, o más conocida como FAO (por sus siglas en inglés: Food and Agriculture Organization).

2.5.3.1. *Beauveria bassiana*

Es un hongo filamentoso de la clase *Hyphomycete*, división *Deuteromycetes*, es un organismo eucariótico, heterótrofo que posee células quitinizadas y parasita otros insectos, gracias a sus mecanismos físicos y químicos de infección.

a) Morfología

Se caracteriza por presentar un micelio blanco, conformada por hifas septadas de 2,5 a 25 μm de diámetro, de donde se forman conidióforos simples sencillos, irregularmente agrupados o en grupos verticilados, con apariencia de jarrón (más ancho en el centro que en los extremos), en algunas especies hinchados en la base y adelgazándose hacia la porción que sostiene la conidia, originados de forma simpodial o acrópeta, dando una apariencia en zigzag al raquis, las conidias son hialinas, redondeadas a ovoides y unicelulares, globosas a subglobosas ($2-3 \times 2-2.5 \mu\text{m}$) y las estructuras conidióforas forman densos grupos.

En la reproducción, no se ha determinado la fase sexual, limitándose al estado vegetativo; reportan que existe recombinación parasexual, consiste en la formación de un heterocarión (célula con dos o más núcleos genéticamente diferentes), donde se produce la fusión de dos núcleos haploides diferentes para formar un núcleo diploide heterocigoto; luego se produce una recombinación mitótica, reduciendo la información genética por el núcleo al nivel original del haploide, este proceso genera variaciones genéticas, debido a cruces intercromosómicos, pero se ve limitado por incompatibilidad vegetativa.

b) Ciclo de vida

Vive de manera parasítica y saprofitica, en presencia o ausencia de insectos huésped, en el suelo se encuentra en materia orgánica, su morfología micelial genera una red amplia y filamentosa originada a partir de un conidio; en presencia de un insecto huésped, el conidio germina y una vez dentro del insecto, pasa a formar una red de hifas y colonizada es similar a la de levadura (blastóspora).

2.5.3.2. *Metarhizium anisopliae*

Es un hongo imperfecto, cosmopolita, pertenece a la clase *Deuteromycetes*, orden *Moniliales*, familia *Moniliaceae*, puede crecer bien como parásito de insectos o como saprófito, tiene un amplio rango de insectos huésped, ataca a más de 300 especies de insectos de diversos órdenes (ortópteros, hemípteros, dípteros, lepidópteros, dermápteros, himenópteros y coleópteros), principalmente es un parásito de coleópteros en la naturaleza.

a) **Morfología**

Su reproducción es asexual, esporas sostenidas sobre filamentos (conidios), el hongo germina cuando está en contacto físico con insectos. El conidióforo es ramificado, las esporas son alargadas y se forman en cadenas originadas en fialides; la conidia más joven es de la base del conidióforo, crecen unidas formando una masa prismática de cadenas de esporas, las conidias son blancas cuando son jóvenes, conforme madura se torna verde oscuro, el tamaño de la conidia permite diferenciar las especies del género.

b) **Modo de acción**

Obstruye el paso de aire a través de los dos conductos traqueales de las larvas, comienza por la penetración de la cutícula, o directamente por los tubos de los conidios, las estacas de infección, producidas por estructuras de tipo botón (apresorio) se desarrollan en el extremo de los tubos cortos de los gérmenes; el desarrollo tiene lugar en el hemocelo, usualmente como cuerpos hifales tipo levadura, el insecto muere por toxinas seguidas por la invasión de los órganos por el micelio. El insecto puede permanecer como esclerotium si el microclima es seco, en condiciones húmedas y cálidas las conidioforas pueden extenderse a través de la cutícula para cubrir al insecto con conidios.

CAPÍTULO III

3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 OBJETIVOS

3.1.1. Objetivo General

Evaluar los efectos de las cepas de hongos entomopatógenos y dosis para el control de varroasis en *A. mellifera*.

3.1.2. Objetivos Específicos

- a. Diagnosticar el porcentaje de infestación del ácaro *V. destructor* en colmenas de abejas *A. mellifera*.
- b. Establecer qué hongo entomopatógeno y dosis tiene efecto en el porcentaje de efectividad para control de *V. destructor*, ectoparásito de *A. mellifera*.
- c. Identificar si alguna de las dosis y tratamientos de hongos entomopatógenos a evaluar en *A. mellifera*, son rentables mediante presupuestos parciales.

CAPÍTULO IV

4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1 HIPÓTESIS NULA

1. **H₀**. Ninguno de los hongos entomopatógenos brindará mayor efecto acaricida y porcentaje de efectividad para el control del ácaro *V. destructor*, ectoparásito de *A. mellífera*.
2. **H₀**. Ninguna dosis mostrará algún efecto sobre la mortandad de *V. destructor*, ectoparásito de *A. mellífera*.
3. **H₀**. Ningún efecto se observará entre la interacción hongos/dosis sobre la mortandad del ectoparásito *V. destructor* y porcentaje de efectividad para su control.
4. **H₀**. Ningún tratamiento para control biológico del ácaro *V. destructor*, será rentable para los productores de miel.

4.2 HIPÓTESIS ALTERNATIVA

1. **H_A**. Al menos un hongo entomopatógeno tendrá mayor efecto acaricida y porcentaje de efectividad para el control de *V. destructor* sobre *A. mellífera*.
2. **H_A**. Al menos una de las dosis a evaluar tendrá efecto sobre la mortandad del ectoparásito *V. destructor* sobre *A. mellífera*.
3. **H_A**. La interacción hongos/dosis mostrará algún efecto sobre la mortandad del ectoparásito *V. destructor* y porcentaje de efectividad para su control.
4. **H_A**. Por lo menos la aplicación de un tratamiento para control biológico del ácaro *V. destructor*, será rentable para los productores de miel.

CAPÍTULO V

5. MARCO METODOLÓGICO

5.1 CONTEXTO ESPACIAL Y TEMPORAL

5.1.1. Localización del área de estudio

La evaluación se ejecutó en el Sur Occidente de Guatemala, específicamente en la aldea Nueva Independencia del municipio de San Pablo y departamento de San Marcos, en la región denominada Boca Costa (ver figura 9 de los anexos). Se localiza geográficamente en las coordenadas:

- Latitud 14°47'22.2" Norte
- Longitud 91°11'06.4" Oeste

Se encuentra ubicada a 48 kilómetros de la cabecera departamental y 297 kilómetros de ciudad capital de Guatemala por la carretera internacional del Pacífico.

5.1.2. Condiciones climáticas y zonas de vida

El municipio de San Pablo presenta clima templado, con registro promedio anual de temperatura máxima de 27.7 °C y una mínima de 15.8 °C, vientos de 24.32 km/h, humedad relativa de 83 %, las precipitaciones registradas según isoyetas y registros del Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología (INSIVUMEH) son de 4,221 mm anual, debido a la ubicación; las zonas de vida según Holdrige son: Bosque Muy Húmedo Montano Subtropical (bmh-M), Bosque Muy Húmedo Montando bajo Subtropical (bmh-MB) y Bosque muy Húmedo Sub Tropical Cálido Sur (bmh-Sur).

5.1.3. Descripción de apiario

En el municipio existen varios apiarios: comunidad agraria El Porvenir, finca Buena Vista, finca El Edén, finca Berlín, finca La Puerta, caserío Piedra Parada y caserío El Carmen.

En la aldea Nueva Independencia, específicamente en cruce de la calle que conduce hacia aldea Nuevo San Carlos, se estableció hace 5 años el apiario Lopez, conformada por 60 colmenas, con cajas de 2 niveles, en ella laboran 2 apicultores, de la producción se obtiene 1,636 kilogramos de miel/año, entre otros productos como propóleo, el producto que se comercializa en la cooperativa COPIASURO R.L, a precio de Q15.5/kg, considerando lo anterior es un lugar propicio para el establecimiento del ensayo experimental, integrando la capacidad de los trabajadores y aprovechando el conocimiento adquirido durante su labor.

5.1.4. Temporalidad

La temporalidad de la investigación se estimó en un período de 8 meses, incluyendo fase de gabinete inicial, fase de pruebas, fase de campo y fase de gabinete final.

5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

El establecimiento de la investigación considero el uso del diseño experimental de bloques al azar, con arreglo de parcelas divididas, evaluando dos factores: factor A (hongos entomopatógenos) y factor B (dosis) con un total de 12 tratamientos provenientes de la factorial A de 2 hongos y 1 combinación de ambos, más el testigo (sin control, simplemente con agua); por factor B de 3 dosis; factor A = 4 por 3 del Factor B, con cuatro repeticiones por cada uno, obteniendo un total de 48 unidades experimentales.

El arreglo de parcelas divididas es útil cuando existen factores grandes y pequeños, según dificultad de factores, considerando lo anterior en la presente investigación se distribuyeron los hongos en las parcelas grandes, y las dosis en las parcelas pequeñas. Conformando un ensayo experimental de 12 tratamientos y 4 repeticiones.

5.3 DESCRIPCIÓN DE TRATAMIENTOS

Los tratamientos aplicados tuvieron una concentración al 1 %, con UFC= 1.0×10^9 cantidades de esporas por centímetro cúbico.

Cuadro 1. Distribución de dosis y tratamientos por colmena

Tratamiento	Código	Hongo Biológico	Dosis HEP/litro	Litros aplicar/colmena
T ₁	A01	<i>Beauveria Basianna</i>	0.50 ml/lt	0.1lt
T ₂	A02	<i>Beauveria Basianna</i>	0.25 ml/lt	0.1lt
T ₃	A03	<i>Beauveria Basianna</i>	0.75 ml/lt	0.1lt
T ₄	B01	<i>Metarhizium Anisopliae</i>	0.50 ml/lt	0.1lt
T ₅	B02	<i>Metarhizium Anisopliae</i>	0.25 ml/lt	0.1lt
T ₆	B03	<i>Metarhizium Anisopliae</i>	0.75 ml/lt	0.1lt
T ₇	C01	Combinación A+B	0.50 ml/lt	0.1lt
T ₈	C02	Combinación A+B	0.25 ml/lt	0.1lt
T ₉	C03	Combinación A+B	0.75 ml/lt	0.1lt
*T ₁₀	D01	Testigo/Sin control	0.50 ml/lt	0.1lt
*T ₁₁	D02	Testigo/Sin control	0.25 ml/lt	0.1lt
*T ₁₂	D03	Testigo/Sin control	0.75 ml/lt	0.1lt

*Como comparador de tratamientos en el testigo absoluto solo se utilizó agua desmineralizada.

Fuente: Investigadores Cadena Miel 2017.

5.4 UNIDAD EXPERIMENTAL

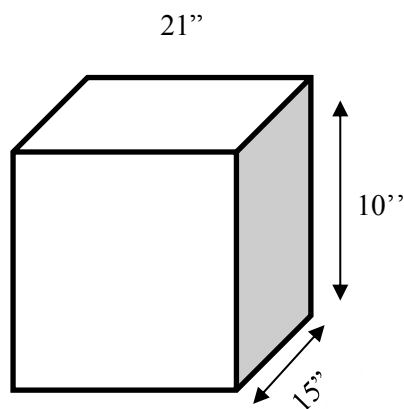


Figura 5. Medidas caja apícola. Fuente: Elaboración propia.

5.5 DISTRIBUCIÓN DE TRATAMIENTOS EN CAMPO

I	A	A	A	B	B	B	C	C	C	D	D	D
	01	02	03	01	02	03	01	02	03	01	02	03
II	B	B	B	C	C	C	D	D	D	A	A	A
	01	03	02	02	01	03	01	02	03	02	01	03
III	D	D	D	C	C	C	A	A	A	B	B	B
	01	02	03	03	01	02	01	03	01	02	03	01
IV	C	C	C	B	B	B	D	D	D	A	A	A
	02	03	01	01	02	03	02	03	01	03	01	02

Figura 6. Croquis del ensayo. Fuente: Elaboración propia.

5.6 MODELO ESTADÍSTICO

Modelo matemático: $Y_{ijk} = \mu + R_i + A_j + E_{ij} + B_k + AB_{jk} + E_{ijk}$

Donde:

- Y_{ijk}** Valor observado de las variables de respuesta en la ijk -ésima unidad experimental.
- μ** Efecto de la media general.
- R_i** Efecto del i -ésimo bloque (repetición).
- A_j** Efecto del j -ésimo del factor A (hongos biológicos).
- E_{ij}** Efecto de la interacción del i -ésimo nivel del factor A con el j -ésimo bloque, que es utilizado como residuo de parcelas grandes.
- B_k** Efecto del k -ésimo factor B (dosis).
- AB_{jk}** Efecto debido a la interacción del i -ésimo nivel del factor A con el k -ésimo nivel del factor B.
- E_{ijk}** Error experimental asociado a la ijk -ésima unidad experimental.

5.7 VARIABLES DEPENDIENTES

5.7.1. Prueba de asimilación o toxicidad de los tratamientos sobre *A. mellifera*

Las pruebas de toxicidad o asimilación de los hongos entomopatógenos sobre *A. mellifera* constituye el estudio de efectos negativos o positivos que presenten los mismos sobre los organismos vivos a los cuales se pretende que tengan contacto con el producto a aplicar por lo que las pruebas de toxicidad o asimilación de los tratamientos son una buena herramienta para realizar la gestión ambiental sobre *A. mellifera*.

- *Instrumentos metodológicos*
 - Monitoreo en un intervalo de tiempo de 72 horas al haber aplicado los tratamientos.

5.7.2. Porcentaje de infestación inicial del ácaro

Con la intención de conocer el estado actual de presencia de ácaros se realizó la medición del porcentaje de infestación inicial, pre tratamiento, mediante el diagnóstico de las 48 colmenas sometidas a estudio.

- *Instrumentos metodológicos*
 - Prueba de David de Jong o del agua jabonosa
 - Aplicación de la fórmula

$$I = \left(\frac{\text{No.de Varra}}{\text{No.de Abejas}} \right) 100 = \% \text{ Infestación}$$

5.7.3. Número de ácaros muertos por día

La efectividad de los productos será medible al estimar la población de la varroa existente en la colmena, contabilizando las que se desprenden por efecto de los hongos entomopatógenos y dosis.

- *Instrumentos metodológicos:*
 - Método de piso sanitario
 - Aplicación de la fórmula

$$V. destructor muertos por día = \left(\frac{\text{No. de V. destructor encontrados}}{\text{No. Dias de evaluación}} \right)$$

5.7.4. Porcentaje de efectividad de los tratamientos

Se comparó con la infestación inicial-final por medio de la estimación del porcentaje de reducción de infestación, post tratamiento, considerando las mismas colmenas de estudio.

- *Instrumentos metodológicos:*
 - Prueba de David de Jong o del agua jabonosa
 - Aplicación de la fórmula

$$E = \left(\frac{\text{Infestación Inicial} - \text{Infestación Final}}{\text{Infestación Inicial}} \right) 100 = \% \text{ Efectividad}$$

5.7.5. Análisis económico por presupuestos parciales

Como criterio de decisión basado en rentabilidad, se realizó un análisis económico para determinar el tratamiento que mejores resultados presente. Si los tratamientos tienen medias de reducción en su infestación de varroa que son significativamente diferentes, muestran diferencias de costos, y en general presentan una relación directa entre costos y beneficios, es decir, en la medida que aumentan los costos aumentan los beneficios, el enfoque empleado fue el de presupuesto parciales, porque con este enfoque solamente se toman en consideración los costos asociados con la decisión de usar o no un tratamiento, estos son los costos que permiten diferenciar un tratamiento del otro (Reyes, 2001).

- *Instrumento metodológico*
 - Metodología de presupuestos parciales

5.8 VARIABLE INDEPENDIENTE

5.8.1. Hongos entomopatógenos y dosificaciones

Cuatro tratamientos del factor A con tres dosis del factor B para la determinación del grado de efectividad para control de varroasis sobre las abejas.

5.9 TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE DATOS

Siendo la estadística una herramienta que permite conocer las respuestas a lo que se investiga, acorde a los datos obtenidos durante el proceso, algunos resultados son presentados en cuadros y figuras, facilitando la interpretación de los mismos.

Los datos del porcentaje de infestación del ácaro *V. destructor* sirvieron para la determinación de efectividad de los tratamientos, número de ácaros muertos por día permitió determinar el efecto acaricida de los tratamientos los cuales se analizaron mediante el análisis estadístico de varianza (ANDEVA), por medio de la regla de decisión de p-valor menor a 0.05, que demuestra diferencias significativas entre los mismos, al encontrar significancia se realizará la comparación de medias utilizando la prueba DGC (Di Rienzo, Guzmán y Casanoves), siendo una técnica multivariada del análisis de conglomerados sobre la matriz de distancia entre medias muestrales de cada tratamiento con el fin de encontrar el o los mejores tratamientos, a través del software estadístico Infostat (Versión libre).

Como criterio de decisión basado en rentabilidad, se realizó un análisis de presupuestos parciales considerando los costos variables entre las dosis de los tratamientos determinando con ello si es una alternativa rentable para los productores de miel. (Reyes, 2001).

5.10 MANEJO DEL EXPERIMENTO

5.10.1. Prueba de asimilación de tratamientos

Consistiendo en la aplicación de los hongos entomopatógenos sobre colmenas de *A. mellifera* realizando las pruebas a 9 colmenas del apiario, provenientes de la factorial 3 Hongos y 3 Dosis. Realizando las pruebas iniciales con las dosis 1.50, 1 y 0.50 ml durante un intervalo de tiempo de 24, 48, y 72 horas para estimar la asimilación de los hongos.

Durante el monitoreo se visualizó la pérdida de dos abajas reinas en las colmenas con el hongo *Beauveria bassiana* con las dosis de 1.50 y 1, tomando como criterio el descarte de esas dosis y la aceptación de la dosis de 0.50 ml. La aceptabilidad para *Metarhizum*

anisoplidae y combinación fue positiva debido a que presentaron una buena asimilación con las dosis iniciales.

Considerando el criterio de los apicultores locales observaron el comportamiento de las abejas y se decidió a tomar como base la dosis 0.50, en donde se hizo necesaria aumentar y disminuir la dosificación dando como resultado las siguientes dosis: 0.50, 0.25 y 0.75 evaluando la aceptabilidad de los tratamientos sobre *A. mellifera* observando una asimilación homogénea de los hongos respecto a las dosis permitiendo con ello ser establecidas y aplicadas en las unidades experimentales durante el ensayo.

5.10.2. Muestreo del porcentaje de infestación de *V. destructor*

El diagnóstico es una herramienta fundamental para la toma de decisiones de realizar o no un control de la plaga para dicho muestreo se hizo uso de la prueba jabonosa David de Jong o del agua jabonosa Técnica sencilla y económica, para diagnosticar la presencia de ácaros de *Varroa* en abejas adultas, obteniendo un diagnóstico acertado del nivel de infestación estimándolos en 48 unidades experimentales al azar para no influir en datos finales de la investigación, sobre todo en ausencia de crías, su aplicación se detalla a continuación:

- Se prepararon frascos de boca ancha con tapa, llenándolos $\frac{3}{4}$ partes con agua destilada y unas gotas de jabón para lavar manos (ver figura 10 de los anexos).
- Se abre la cámara de crías y se obtiene un número de 200 abejas aproximadamente, deslizando el frasco desde arriba hacia debajo de igual forma se efectuó con ayuda de un cepillo para que las abejas caigan, obteniendo la muestra de ambos lados en 3 marcos distintos que posean cría (ver figura 11 de los anexos).
- Un punto de referencia fue identificar el marco donde estaba la Reina y dejarlo aparte, esto se hizo con ayuda de apicultores con experiencia para que ella no cayera en el frasco que se analizó (ver figura 12 de los anexos).
- Así mismo los frascos fueron rotulados con números y el mismo número en las colmenas según se iba muestreando (ver figura 13 de los anexos).

- Las muestras fueron llevadas fuera del apiario y trasladadas a Quetzaltenango, donde con ayuda de jornales de campo de la localidad se realizó el conteo de ácaros para sacar el porcentaje de infestación.
- Método de conteo: el procedimiento se efectuó agitando el frasco con abejas de manera que permitiera la separación de los ácaros por el efecto del jabón durante 30 segundos.
- Se vacía el frasco en un tamiz acompañada de un paño blanco para propiciar la retención de los ácaros y la visualización de los mismos de manera minuciosa y así obtener el diagnóstico de manera acertada (ver figura 14 de los anexos).
- El tamizado de muestras se hace previo al conteo y registro de abejas y ácaros (ver figuras 15 y 16 de los anexos). El mismo se registró de 48 frascos contenidas de las muestras sacadas del área experimental.
- Para realizar el cálculo de los niveles de infestación mediante la siguiente fórmula:

$$I = \left(\frac{\text{No. de varroas}}{\text{No. de abejas}} \right) * 100 = \% \text{ de infestación}$$

5.10.3. Implementación de prueba de piso sanitaria en colmenas

Con el objetivo de realizar un estudio de manera práctica y técnica se ideó una trampa con el proveedor, apicultor e investigadores del proyecto. Esta consistió en hacer un cuadro tipo bastidor provista de una malla metálica (ver figura 17 de los anexos), que permite el ingreso de los ácaros caídos por efecto de los tratamientos e imposibilite el contacto de la abeja evitando que ellas limpien o el mismo ácaro vuelva ser parásito, dicha trampa fue provista de una reglita móvil atrás de la piquera que permite meter y sacar la lámina de cartulina sin alterar a las abejas al momento de la obtención de muestras (ver figura 19 de los anexos).

5.10.4. Rotulación del área experimental

La identificación de las unidades experimentales permitió llevar un mejor control en la recolección de datos, se hace necesaria al momento de ingresar al apiario y tener determinado que hongo entomopatógeno es el que se estaba aplicando y que dosificación

tenía el mismo. Tomando en consideración que los investigadores involucrados no influyeran en el registro de datos relevantes. La identificación se realizó de manera al azar sin evidenciar que unidad es la que tenía mayor % de infestación del ácaro *V. destructor*, partiendo de esto se obtuvo la mayor representatividad de cómo fue el desempeño de cada uno de los tratamientos.

5.10.5. Aplicación de tratamientos

Considerando la importancia que constituye propiciar la sanidad de las abejas mediante el control oportuno de varroasis se procedió a efectuar la aplicación mediante la preparación de las dosificaciones con una jeringa que se utilizó para medir 0.50, 0.25 y 0.75 ml del hongo entomopatógeno, luego se disolvió en un litro de agua desmineralizada contenidas en las rociadoras que permitieron las aplicaciones por aspersion la cual fue debidamente calibrada y permitiera una aplicación homogénea sobre los marcos (ver figura 20 y 21 de los anexos).

5.10.6. Cambio y obtención de prueba de piso sanitario

Consistente en el recorte de láminas de cartulinas según las dimensiones del piso de la colmena para ser untadas con vaselina adherente natural sin color u olor (ver figura 22 de los anexos) e introducirlo entre la colmena; quitando la regla movable provista atrás de la piquera para facilitar la obtención (ver figura 23 de anexos) e incorporación de la prueba de piso, cuya funcionalidad es que los ácaros queden impregnados al momento de la caída por acción de los tratamientos o movimiento de las abejas misma al momento de caer entre el tamiz que permite que las abejas no tengan contacto con la vaselina. De esa manera se colectó la mayor cantidad de muestras según el intervalo que duró la evaluación, siendo representativa y permitió determinar la funcionalidad de los tratamientos (ver figura 24 de los anexos).

5.10.7. Limpieza de colmenas e incorporación de alimento

Una medida de control y sanidad de las abejas es mantener las colmenas y el área limpia por lo que se hace necesaria la limpieza de las misma en dos ocasiones ya que no se podían estar movilizando constantemente las colmenas para no alterar a las abejas, así mismo

debido a que se estuvo aplicando los tratamientos como antibiótico y había escasa floración alrededor se optó por suministrarle alimento entre la colmena para mantener su estabilidad y vigorosidad de las abejas (ver figuras 25 y 26 de los anexos).

5.10.8. Conteo y registro del ácaro *V. destructor*

Para la obtención de datos cuantificables sobre los niveles de parasitismo y con ello la eficiencia de los tratamientos según el número de ácaros encontrados en las muestras, labor realizada de manera minuciosa para contar con datos de manera precisa y minimizar algún sesgo, esto se realizó a los 8 y 15 días después de haber aplicado los tratamientos (ver figura 27 y 28 de los anexos).

CAPÍTULO VI

6. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

En la ejecución de la investigación se lograron obtener una serie de datos que corresponden a las variables de respuesta enfocados a determinación del efecto de los hongos entomopatógenos para el control de *V. destructor*, estos datos se tabularon, analizaron e interpretan a continuación.

6.1. ANÁLISIS DE LOS NIVELES DE INFESTACIÓN INICIAL Y FINAL DEL ÁCARO *V. DESTRUCTOR*

6.1.1. Infestación inicial del ácaro *V. destructor* en colmenas

Para lo cual se realizó un diagnóstico a 48 colmenas al azar, mediante la prueba de David de Jong o del agua jabonosa, diagnóstico que representa una herramienta esencial para la estimación de los niveles iniciales de infestación del ectoparásito *V. destructor* en colmenas que fueron sometidas a estudio, enumerando cada una de las colmenas al momento de la recolección de muestras permitiendo con ello obtener un comparador de la acción de los tratamientos después de su aplicación, al ser contrastado con el diagnóstico final.

Cuadro 2. Porcentaje Inicial del ácaro *V. destructor* en colmenas

No. Colmena	Hongo	Repetición	Dosis	Cantidad de abejas	Cantidad de Varroa	% de infestación Inicial
10	Beauveria	101	0.5	256	22	8.59
5	Beauveria	102	0.25	235	36	15.32
6	Beauveria	103	0.75	168	7	4.17
14	Metarhizum	104	0.5	482	16	3.32
9	Metarhizum	105	0.25	230	18	7.83
4	Metarhizum	106	0.75	296	7	2.36
7	Combinación	107	0.5	172	24	13.95
17	Combinación	108	0.25	222	42	18.92
18	Combinación	109	0.75	165	42	25.45
41	Testigo	110	0.5	157	23	14.65
45	Testigo	111	0.25	125	44	35.20

8	Testigo	112	0.75	132	8	6.06
28	Beauveria	201	0.5	198	42	21.21
27	Beauveria	202	0.25	163	14	8.59
29	Beauveria	203	0.75	228	22	9.65
1	Metarhizum	204	0.5	185	14	7.57
2	Metarhizum	205	0.25	145	13	8.97
3	Metarhizum	206	0.75	200	13	6.50
11	Combinación	207	0.5	167	23	13.77
19	Combinación	208	0.25	169	56	33.14
12	Combinación	209	0.75	175	21	12.00
42	Testigo	210	0.5	46	6	13.04
43	Testigo	211	0.25	115	16	13.91
30	Testigo	212	0.75	159	18	11.32
35	Beauveria	301	0.5	198	33	16.67
22	Beauveria	302	0.25	200	13	6.50
26	Beauveria	303	0.75	248	21	8.47
21	Metarhizum	304	0.5	155	26	16.77
34	Metarhizum	305	0.25	196	19	9.69
37	Metarhizum	306	0.75	175	21	12.00
31	Combinación	307	0.5	206	23	11.17
25	Combinación	308	0.25	201	11	5.47
32	Combinación	309	0.75	188	13	6.91
44	Testigo	310	0.5	187	10	5.35
47	Testigo	311	0.25	199	18	9.05
23	Testigo	312	0.75	185	21	11.35
36	Beauveria	401	0.5	214	13	6.07
40	Beauveria	402	0.25	235	21	8.94
24	Beauveria	403	0.75	240	17	7.08
13	Metarhizum	404	0.5	341	35	10.26
39	Metarhizum	405	0.25	191	19	9.95
20	Metarhizum	406	0.75	269	8	2.97
15	Combinación	407	0.5	236	16	6.78
38	Combinación	408	0.25	196	23	11.73
16	Combinación	409	0.75	172	19	11.05

46	Testigo	410	0.5	227	26	11.45
48	Testigo	411	0.25	230	19	8.26
33	Testigo	412	0.75	201	22	10.95
Promedio del nivel de infestación Inicial de <i>V. destructor</i> en colmenas						11.26
San Pablo San Marcos.						

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 2 representa los niveles de varroasis inicial sobre *A. mellifera*, identificados del diagnóstico de la prueba de David de Jong, estimando el porcentaje inicial de infestación mediante la siguiente fórmula:

$$I = \left(\frac{\text{No. de Varra}}{\text{No. de Abejas}} \right) 100 = \% \text{ Infestación}$$

El cual evidencia altos niveles de parasitismo en las colmenas 45, 18 y 19; y porcentajes bajos en las colmenas 14, 20 y 4 respectivamente.

6.1.2. Incidencia Final del ácaro *V. destructor* en colmenas

Cuadro 3. Porcentaje Final del ácaro *V. destructor* en colmenas

No. Colmena	Hongo	Repetición	Dosis	Cantidad de abejas	Cantidad de Varroa	% de infestación Final
10	Beauveria	101	0.5	144	10	6.94
5	Beauveria	102	0.25	103	13	12.62
6	Beauveria	103	0.75	143	5	3.50
14	Metarhizum	104	0.5	253	5	1.98
9	Metarhizum	105	0.25	96	1	1.04
4	Metarhizum	106	0.75	111	1	0.90
7	Combinación	107	0.5	208	19	9.13
17	Combinación	108	0.25	237	23	9.70
18	Combinación	109	0.75	237	37	15.61
41	Testigo	110	0.5	124	10	8.06
45	Testigo	111	0.25	150	23	15.33

8	Testigo	112	0.75	201	8	3.98
28	Beauveria	201	0.5	236	37	15.68
27	Beauveria	202	0.25	183	11	6.01
29	Beauveria	203	0.75	238	16	6.72
1	Metarhizum	204	0.5	201	8	3.98
2	Metarhizum	205	0.25	151	2	1.32
3	Metarhizum	206	0.75	177	7	3.95
11	Combinación	207	0.5	163	14	8.59
19	Combinación	208	0.25	178	24	13.48
12	Combinación	209	0.75	167	12	7.19
42	Testigo	210	0.5	216	19	8.80
43	Testigo	211	0.25	212	17	8.02
30	Testigo	212	0.75	141	11	7.80
35	Beauveria	301	0.5	187	22	11.76
22	Beauveria	302	0.25	213	11	5.16
26	Beauveria	303	0.75	196	12	6.12
21	Metarhizum	304	0.5	185	16	8.65
34	Metarhizum	305	0.25	178	1	0.56
37	Metarhizum	306	0.75	198	14	7.07
31	Combinación	307	0.5	193	14	7.25
25	Combinación	308	0.25	312	6	1.92
32	Combinación	309	0.75	275	14	5.09
44	Testigo	310	0.5	187	7	3.74
47	Testigo	311	0.25	206	16	7.77
23	Testigo	312	0.75	165	14	8.48
36	Beauveria	402	0.5	159	7	4.40
40	Beauveria	401	0.25	200	15	7.50
24	Beauveria	403	0.75	178	9	5.06
13	Metarhizum	404	0.5	323	17	5.26
39	Metarhizum	405	0.25	218	3	1.38
20	Metarhizum	406	0.75	372	6	1.61
15	Combinación	407	0.5	209	8	3.83
38	Combinación	408	0.25	253	11	4.35
16	Combinación	409	0.75	217	18	8.29

46	Testigo	410	0.5	183	11	6.01
48	Testigo	411	0.25	198	10	5.05
33	Testigo	412	0.75	206	16	7.77
Promedio del nivel de infestación Final de <i>V. destructor</i> en colmenas San Pablo San Marcos.						6.55

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 3 estima el porcentaje de infestación final de *V. destructor* el cual evidencia altos niveles de parasitismo en las colmenas 18, 45 y 19; y porcentajes bajos en las colmenas 34, 9 y 2. Pudiendo observar una variación de los niveles según el número de colmenas inicial y final y la funcionalidad de tratamientos.

6.1.3. Determinación del porcentaje de reducción de *V. destructor* en colmenas

La determinación de reducción nos permite observar y comparar la funcionalidad de cada tratamiento según su capacidad para reducir el porcentaje de infestación inicial del cual se sustrae el nivel de infestación final. Obteniendo con ello los siguientes datos según su porcentaje de reducción:

Cuadro 4. Porcentaje de reducción de los niveles de infestación

No. Colmena	Hongo	Dosis	% De Infestación Inicial	% De Infestación Final	%INICIAL - %FINAL (% DE REDUCCIÓN)
10	Beauveria	0.50	8.59	6.94	1.65
5	Beauveria	0.25	15.32	12.62	2.70
6	Beauveria	0.75	4.17	3.50	0.67
14	Metarhizum	0.50	3.32	1.98	1.34
9	Metarhizum	0.25	7.83	1.04	6.78
4	Metarhizum	0.75	2.36	0.90	1.46
7	Combinación	0.50	13.95	9.13	4.82
17	Combinación	0.25	18.92	9.70	9.21
18	Combinación	0.75	25.45	15.61	9.84
41	Testigo	0.50	14.65	8.06	6.59
45	Testigo	0.25	35.20	15.33	19.87

8	Testigo	0.75	6.06	3.98	2.08
28	Beauveria	0.50	21.21	15.68	5.53
27	Beauveria	0.25	8.59	6.01	2.58
29	Beauveria	0.75	9.65	6.72	2.93
1	Metarhizum	0.50	7.57	3.98	3.59
2	Metarhizum	0.25	8.97	1.32	7.64
3	Metarhizum	0.75	6.50	3.95	2.55
11	Combinación	0.50	13.77	8.59	5.18
19	Combinación	0.25	33.14	13.48	19.65
12	Combinación	0.75	12.00	7.19	4.81
42	Testigo	0.50	13.04	8.80	4.25
43	Testigo	0.25	13.91	8.02	5.89
30	Testigo	0.75	11.32	7.80	3.52
35	Beauveria	0.50	16.67	11.76	4.90
22	Beauveria	0.25	6.50	5.16	1.34
26	Beauveria	0.75	8.47	6.12	2.35
21	Metarhizum	0.50	16.77	8.65	8.13
34	Metarhizum	0.25	9.69	0.56	9.13
37	Metarhizum	0.75	12.00	7.07	4.93
31	Combinación	0.50	11.17	7.25	3.91
25	Combinación	0.25	5.47	1.92	3.55
32	Combinación	0.75	6.91	5.09	1.82
44	Testigo	0.50	5.35	3.74	1.60
47	Testigo	0.25	9.05	7.77	1.28
23	Testigo	0.75	11.35	8.48	2.87
36	Beauveria	0.50	6.07	4.40	1.67
40	Beauveria	0.25	8.94	7.50	1.44
24	Beauveria	0.75	7.08	5.06	2.03
13	Metarhizum	0.50	10.26	5.26	5.00
39	Metarhizum	0.25	9.95	1.38	8.57
20	Metarhizum	0.75	2.97	1.61	1.36
15	Combinación	0.50	6.78	3.83	2.95
38	Combinación	0.25	11.73	4.35	7.39
16	Combinación	0.75	11.05	8.29	2.75

46	Testigo	0.50	11.45	6.01	5.44
48	Testigo	0.25	8.26	5.05	3.21
33	Testigo	0.75	10.95	7.77	3.18
Promedio % de reducción de <i>V. destructor</i> en colmenas San Pablo San Marcos.					4.71

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 4 evidencia la funcionalidad de los tratamientos para reducir los niveles de parasitismos en las colmenas, obteniendo como resultado que para el tratamiento testigo con una dosis de 0.25 redujo un 19.87 % en la colmena 45, para el tratamiento combinación con una dosis de 0.25 redujo un 19.65 % en la colmena 19 y para el tratamiento combinación con una dosis de 0.75 redujo un 9.84 % en la colmena 18 siendo estas los tres porcentajes más altos para reducir los porcentajes de infestación.

Asimismo, se describen los tratamientos con menor porcentaje de reducción tales como el tratamiento de *Beauveria* con una dosis de 0.75 que redujo 0.67 % en la colmena 6, tratamiento Testigo con una dosis de 0.25 que redujo 1.28 % en la colmena 47 y el tratamiento *Metarhizium* con una dosis de 0.50 reduciendo 1.34 % de infestación en la colmena 14. Dichos datos representan una gran variabilidad por la cual se representa gráficamente donde se visualiza los niveles de infestación según sus medias.

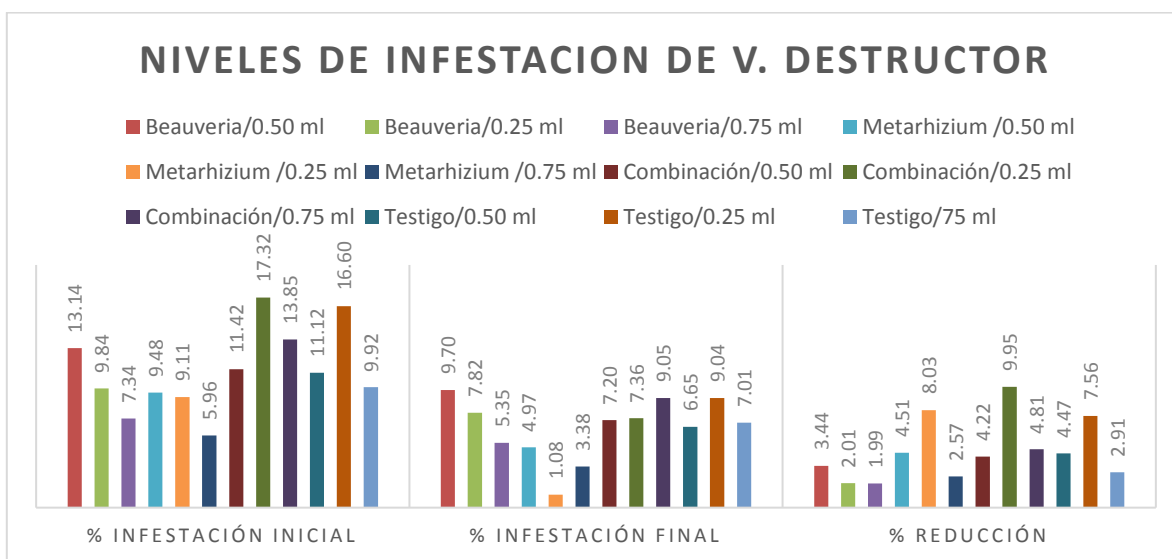


Figura 7. Niveles de infestación de varroasis fase inicial, final y reducción. Fuente: Elaboración propia.

En la figura 7 se puede visualizar la diferencia entre los niveles de infestación de *V. destructor* identificados a partir de los diagnósticos de la prueba jabonosa en campo de David de Jong, para poder determinar el porcentaje de efectividad de cada tratamiento y si estos representan diferencias estadísticamente significativas entre ellos según los factores A (hongos entomopatógenos) y B (dosis).

6.1.4. Determinación del porcentaje de efectividad de los tratamientos

Consistente en la comparación de los niveles de infestación iniciales y finales de *V. destructor*, obtenidas anteriormente como fuente de verificación del efecto que manifestaron los tratamientos con relación a su reducción para determinar el porcentaje de efectividad mediante la siguiente fórmula:

$$E = \left(\frac{\text{Infestación Inicial} - \text{Infestación Final}}{\text{Infestación Inicial}} \right) 100 = \% \text{ Efectividad}$$

Fuente: (SENASA, 2005)

Cuadro 5. Porcentaje de efectividad de los tratamientos

No. Colmena	Hongo	Dosis	% de infestación Inicial	% de infestación Final	%INICIAL (-) %FINAL	% Reducción (÷) % Inicial (*) 100 = % Efectividad
10	Beauveria	0.5	8.59	6.94	1.65	19 %
5	Beauveria	0.25	15.32	12.62	2.70	18 %
6	Beauveria	0.75	4.17	3.50	0.67	16 %
14	Metarhizum	0.5	3.32	1.98	1.34	40 %
9	Metarhizum	0.25	7.83	1.04	6.78	87 %
4	Metarhizum	0.75	2.36	0.90	1.46	62 %
7	Combinación	0.5	13.95	9.13	4.82	35 %
17	Combinación	0.25	18.92	9.70	9.21	49 %
18	Combinación	0.75	25.45	15.61	9.84	39 %
41	Testigo	0.5	14.65	8.06	6.59	45 %
45	Testigo	0.25	35.20	15.33	19.87	56 %
8	Testigo	0.75	6.06	3.98	2.08	34 %
28	Beauveria	0.5	21.21	15.68	5.53	26 %
27	Beauveria	0.25	8.59	6.01	2.58	30 %
29	Beauveria	0.75	9.65	6.72	2.93	30 %
1	Metarhizum	0.5	7.57	3.98	3.59	47 %
2	Metarhizum	0.25	8.97	1.32	7.64	85 %
3	Metarhizum	0.75	6.50	3.95	2.55	39 %

11	Combinación	0.5	13.77	8.59	5.18	38 %
19	Combinación	0.25	33.14	13.48	19.65	59 %
12	Combinación	0.75	12.00	7.19	4.81	40 %
42	Testigo	0.5	13.04	8.80	4.25	33 %
43	Testigo	0.25	13.91	8.02	5.89	42 %
30	Testigo	0.75	11.32	7.80	3.52	31 %
35	Beauveria	0.5	16.67	11.76	4.90	29 %
22	Beauveria	0.25	6.50	5.16	1.34	21 %
26	Beauveria	0.75	8.47	6.12	2.35	28 %
21	Metarhizum	0.5	16.77	8.65	8.13	48 %
34	Metarhizum	0.25	9.69	0.56	9.13	94 %
37	Metarhizum	0.75	12.00	7.07	4.93	41 %
31	Combinación	0.5	11.17	7.25	3.91	35 %
25	Combinación	0.25	5.47	1.92	3.55	65 %
32	Combinación	0.75	6.91	5.09	1.82	26 %
44	Testigo	0.5	5.35	3.74	1.60	30 %
47	Testigo	0.25	9.05	7.77	1.28	14 %
23	Testigo	0.75	11.35	8.48	2.87	25 %
36	Beauveria	0.5	6.07	4.40	1.67	28 %
40	Beauveria	0.25	8.94	7.50	1.44	16 %
24	Beauveria	0.75	7.08	5.06	2.03	29 %
13	Metarhizum	0.5	10.26	5.26	5.00	49 %
39	Metarhizum	0.25	9.95	1.38	8.57	86 %
20	Metarhizum	0.75	2.97	1.61	1.36	46 %
15	Combinación	0.5	6.78	3.83	2.95	44 %
38	Combinación	0.25	11.73	4.35	7.39	63 %
16	Combinación	0.75	11.05	8.29	2.75	25 %
46	Testigo	0.5	11.45	6.01	5.44	48 %
48	Testigo	0.25	8.26	5.05	3.21	39 %
33	Testigo	0.75	10.95	7.77	3.18	29 %

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 6. Determinación del % efectividad de los tratamientos

TRATAMIENTO	BLOQUES				TOTAL	MEDIA
	I	II	III	IV		
Beauveria/0.50 ml	19	26	29	28	102	26
Beauveria/0.25 ml	18	30	21	16	84	21
Beauveria/0.75 ml	16	30	28	29	103	26
Metarhizium /0.50 ml	40	47	48	49	185	46
Metarhizium /0.25 ml	87	85	94	86	352	88
Metarhizium /0.75 ml	62	39	41	46	188	47
Combinación/0.50 ml	35	38	35	44	151	38
Combinación/0.25 ml	49	59	65	63	236	59
Combinación/0.75 ml	39	40	26	25	130	33
Testigo/0.50 ml	45	33	30	48	155	39
Testigo/0.25 ml	56	42	14	39	152	38
Testigo/75 ml	34	31	25	29	120	30

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 6 describe los registros de efectividad por cada tratamiento siendo evidente que el tratamiento *Metarhizium* con una dosis de 25 ml presenta mayor porcentaje de efectividad para el control de *V. destructor* siendo este 88 % según sus medias, seguido del tratamiento combinación con una dosis de 25 ml presentando la misma tendencia en cuanto a la dosis que presentó 59 % de efectividad, y el tratamiento con menor porcentaje de efectividad fue *Beauveria* con una dosis de 25 ml obteniendo un porcentaje de 21 %.

Para determinar la significancia del efecto de los diferentes tratamientos para el control del ácaro *V. destructor* sobre *A. mellífera*, se hizo necesario el análisis de varianza a los datos del cuadro 6, obteniendo los siguientes resultados:

Cuadro 7. ANDEVA del % de efectividad de los tratamientos

	F.V.	SC	gl	CM	FC	p-valor	FT 5%	FT 1%	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
Modelo		15777.3	23	685.97	13.02				
Bloques		124.92	3	41.64	0.4	0.7566	3.01	4.72	NS
Hongos		8302.92	3	2767.64	26.57	<0.0001	3.01	4.72	**
Bloques*Hongos		937.42	9	104.16	1.98	0.0883	2.30	3.25	NS
Dosis		2843.17	2	1421.58	26.98	<0.0001	3.40	5.61	**
Hongos*Dosis		3568.83	6	594.81	11.29	<0.0001	2.51	3.67	**
Error		1264.67	24	52.69					
Total		17041.9	47						
Coeficiente de variación = 17.80									

NS = No significativo. * = Diferencia significativa. ** = Diferencia altamente significativa.

Fuente: Elaboración propia.

El análisis de varianza del cuadro 7, desarrollado para la variable porcentaje de efectividad para control de *V. destructor*, demostró que existe diferencias altamente significativas entre los hongos entomopatógenos evaluados, y diferencias altamente significativas para dosis, como para su interacción entre hongos por dosis por lo que se decide aceptar la tercera hipótesis alternativa.

El coeficiente de variación (C.V.) de 17.80 % muestra que el ensayo presentó bajo error experimental en la variable analizada.

Se procedió a realizar prueba de DGC al 0.05 de significancia, para determinar cuál o cuáles de los tratamientos tuvieron diferencia significativa, en el cuadro siguiente:

Cuadro 8. Prueba de medias DGC para los hongos del % de efectividad de los tratamientos

Hongos	Medias	Grupos
Metarhizium	60.33	A
Combinación	43.17	B
Testigo	35.50	B
Beauveria	24.17	C

Error: 104.1574 gl: 9

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 8 corresponde al análisis de comparación de medias por el criterio de DGC identificando al hongo que mejor resultado ofreció estadísticamente en lo que se refiere al porcentaje de efectividad siendo: 60.33 % para el hongo *Metarhizium*, con lo cual se acepta la primera hipótesis alternativa ya que fue el tratamiento que mayor porcentaje de efectividad presentó comparado a los otros hongos entomopatógenos.

Cuadro 9. Prueba de medias DGC para las dosis del % de efectividad de los tratamientos

Dosis	Medias	Grupos
0.25	51.50	A
0.50	37.13	B
0.75	33.75	B

Error: 52.6944 gl: 24

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 9 corresponde al análisis de comparación de medias de las dosis empleadas por criterio de DGC al 0.05 de significancia, separando estadísticamente dos grupos según su efecto en el porcentaje de efectividad para control de *V. destructor* sobre *A. mellifera* determinado con ello que la dosis de 0.25 es la que presenta mayor porcentaje de efectividad siendo este de 51.50 %.

Cuadro 10. Prueba de medias DGC para la interacción entre hongos y dosis del % de efectividad de los tratamientos

Hongos	Dosis	Medias	Grupos
Metarhizium	0.25	88	A
Combinación	0.25	59	B
Metarhizium	0.75	47	C
Metarhizium	0.50	46	C
Testigo	0.50	39	C
Combinación	0.50	38	C
Testigo	0.25	37	C
Combinación	0.75	32.5	D
Testigo	0.75	29.75	D
Beauveria	0.75	25.75	D
Beauveria	0.50	25.5	D
Beauveria	0.25	21.25	D

Error: 52.6944 gl: 24

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 10 muestra la comparación de pruebas de medias por criterio DGC según el porcentaje de efectividad para las interacciones (hongos entomopatógenos por dosis), demostrando que para la interacción del hongo *Metarhizium* con una dosis de 0.25 se obtiene un mayor porcentaje de efectividad siendo este de 88 % el cual propicia el control eficaz de *V. destructor*, seguido de la combinación que no es más que la mezcla del hongo *Metarhizium* y *Beauveria*, que según su interacción presenta una mejor efectividad con una dosis de 0.25 ya que manifiesta un 59 % de efectividad para el control de *V. destructor* sobre *A. mellifera*.

Por último, el tratamiento que presenta un porcentaje alto de control es hongo entomopatógeno *Metarhizium* con una dosis de 0.75 que demuestra un 47 % de efectividad. Esto quiere decir que el tratamiento ideal para control de *V. destructor* según su interacción es *Metarhizium* con una dosis de 25 ml. Por lo que se decide aceptar la tercera hipótesis alternativa ya que es evidente el efecto de la interacción sobre el porcentaje de efectividad de los tratamientos.

6.1.5. Determinación del nivel de parasitismo mediante la prueba de piso sanitaria

Método utilizado para estimar el nivel de parasitismo en la colmena y para determinar la eficiencia de un producto. Consiste en un piso móvil de madera cubierto por una malla metálica que permite el paso de los ácaros caídos por acción de los tratamientos, pero no el de las abejas para poder estimar la capacidad de mortandad de ácaros según el periodo de acción que fueron registrados siendo estos a los 8 y 15 días después de haber aplicado los tratamientos, dejando una lámina de cartulina untada con un adherente en este caso vaselina para que los ácaros quedaran impregnados y facilitara la recolección como el conteo de cada muestra obtenida y poder estimar su efectividad dada a continuación:

Cuadro 11. Número de ácaros muertos por día en un intervalo de 8 días después de la aplicación de tratamientos

TRATAMIENTO	BLOQUES				TOTAL	MEDIA
	I	II	III	IV		
Beauveria/0.50 ml	1.75	2.00	1.50	1.00	6.25	1.56
Beauveria/0.25 ml	1.13	1.35	2.25	2.65	7.38	1.84
Beauveria/0.75 ml	3.25	2.88	2.50	3.12	11.75	2.94
Metarhizium /0.50 ml	6.25	8.63	5.13	4.38	24.38	6.09
Metarhizium /0.25 ml	9.38	11.63	8.25	9.00	38.25	9.56
Metarhizium /0.75 ml	3.38	4.38	3.50	2.13	13.38	3.34
Combinación/0.50 ml	2.13	3.00	2.00	2.50	9.63	2.41
Combinación/0.25 ml	3.00	4.88	4.13	4.65	16.65	4.16
Combinación/0.75 ml	1.25	2.63	3.88	2.13	9.88	2.47
Testigo/0.50 ml	0.83	1.50	1.88	6.67	10.88	2.72
Testigo/0.25 ml	1.50	1.46	2.29	3.00	8.25	2.06
Testigo/75 ml	1.25	2.00	2.00	2.00	7.25	1.81

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 12. Número de ácaros muertos por día en un intervalo de 15 días después de la aplicación de tratamientos

TRATAMIENTO	BLOQUES				TOTAL	MEDIA
	I	II	III	IV		
Beauveria/0.50 ml	0.75	0.63	0.81	0.79	2.98	0.74
Beauveria/0.25 ml	0.88	0.25	0.81	0.50	2.44	0.61
Beauveria/0.75 ml	2.88	2.38	2.38	2.00	9.63	2.41
Metarhizium /0.50 ml	1.38	0.83	1.50	2.48	6.19	1.55
Metarhizium /0.25 ml	5.40	5.67	3.88	4.92	19.85	4.96
Metarhizium /0.75 ml	1.63	1.96	1.13	0.90	5.60	1.40
Combinación/0.50 ml	1.15	1.00	1.67	0.83	4.65	1.16
Combinación/0.25 ml	1.35	1.63	2.88	2.13	7.98	2.00
Combinación/0.75 ml	1.75	1.67	1.50	2.00	6.92	1.73
Testigo/0.50 ml	1.63	2.00	2.50	2.83	8.96	2.24
Testigo/0.25 ml	0.75	1.33	2.50	2.90	7.48	1.87
Testigo/75 ml	1.48	0.69	2.19	2.83	7.19	1.80

Fuente: Investigadores Cadena Miel, 2019.

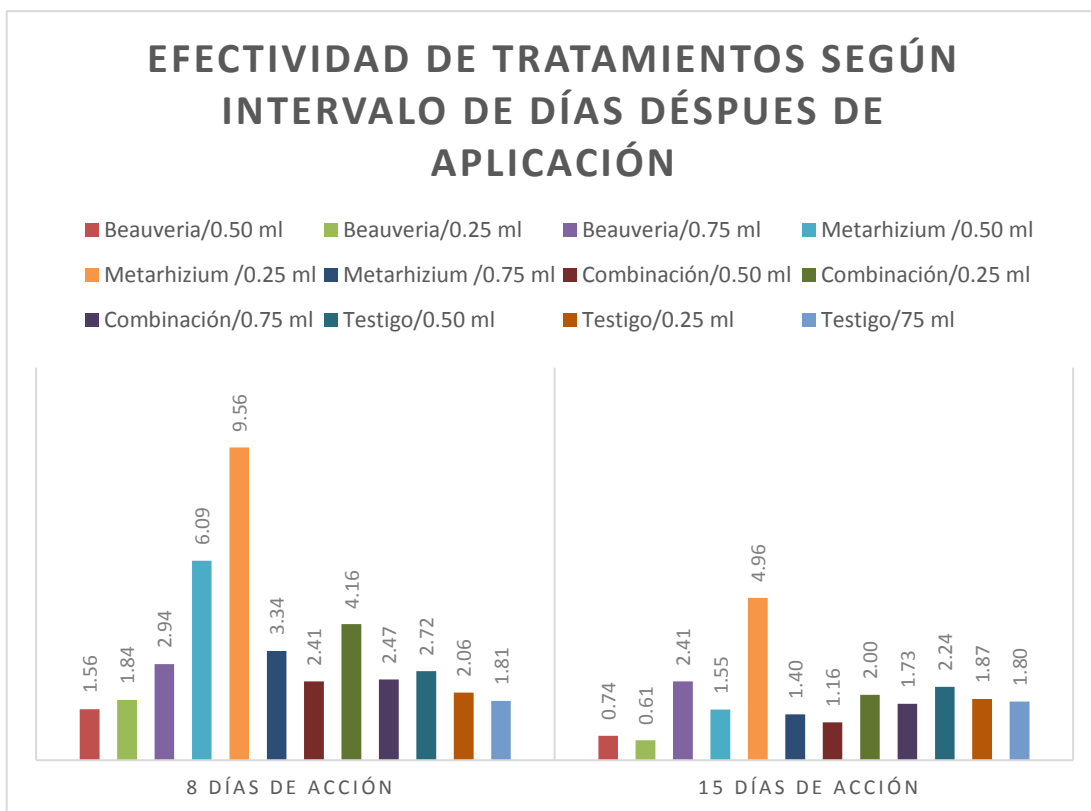


Figura 8. Efectividad de tratamientos según sus intervalos de días después de aplicación. Fuente: Elaboración propia.

En la figura 8 se visualiza la comparación según los indicadores de efectividad de acuerdo al número de ácaros muertos por día, estimando con ello que se logra una mayor efectividad de los tratamientos en un intervalo de 8 días comparado al efecto de los tratamientos según su acción de 15 días para propiciar la mortandad de *V. destructor* sobre las *A. mellífera*.

6.1.5.1. Determinación de la efectividad de los tratamientos para propiciar la mortandad de *V. destructor* sobre *A. mellífera*

La efectividad de los tratamientos para propiciar la mortandad del ácaro *V. destructor* fue determinada mediante las sumatoria de los registros según su intervalo de acción en días de aplicación registrados durante la evaluación que se analizan e interpretan a continuación:

Cuadro 13. Mortandad de ácaros por día

TRATAMIENTO	BLOQUES				TOTAL	MEDIA
	I	II	III	IV		
Beauveria/0.50 ml	2.50	2.63	2.31	1.79	9.23	2.31
Beauveria/0.25 ml	2.00	1.60	3.06	3.15	9.81	2.45
Beauveria/0.75 ml	6.13	5.25	4.88	5.12	21.37	5.34
Metarhizium /0.50 ml	7.63	9.46	6.63	6.85	30.56	7.64
Metarhizium /0.25 ml	14.77	17.29	12.13	13.92	58.10	14.53
Metarhizium /0.75 ml	5.00	6.33	4.63	3.02	18.98	4.74
Combinación/0.50 ml	3.27	4.00	3.67	3.33	14.27	3.57
Combinación/0.25 ml	4.35	6.50	7.00	6.77	24.63	6.16
Combinación/0.75 ml	3.00	4.29	5.38	4.13	16.79	4.20
Testigo/0.50 ml	2.46	3.50	4.38	9.50	19.83	4.96
Testigo/0.25 ml	2.25	2.79	4.79	5.90	15.73	3.93
Testigo/75 ml	2.73	2.69	4.19	4.83	14.44	3.61

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 13 presenta los resultados de promedios de ácaros muertos por día obtenidos de la prueba de piso sanitaria, situando de esta manera según las medias al tratamiento: *Metarhizium* /0.25 ml como un mejor acaricida para *V. destructor* con una media de 14.53 ácaros muertos por día, seguido del tratamiento: *Metarhizium* /0.50 ml con una media de 7.64 y situando al más bajo al tratamiento *Beauveria*/0.50 ml con una media de 2.31 ácaros muertos por día, por lo que para una mejor interpretación del efecto de los tratamientos para controlar a *V. destructor* sobre *A. mellífera*, mediante la determinación de diferencias significativas efectuando el análisis de varianza a los datos del cuadro 13, obteniendo los siguientes resultados.

Cuadro 14. ANDEVA de mortandad de ácaros por día

	F.V.	SC	GI	CM	FC	p-valor	FT 5%	FT 1%	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
Modelo		529.79	23	23.03	30.78				
Bloques		7.19	3	2.4	0.42	0.7437	3.01	4.72	NS
Hongos		227.15	3	75.72	13.25	0.0012	3.01	4.72	*
Bloques*Hongos		51.44	9	5.72	7.64	<0.0001	2.30	3.25	**
Dosis		52.72	2	26.36	35.22	<0.0001	3.40	5.61	**
Hongos*Dosis		191.29	6	31.88	42.63	<0.0001	2.51	3.67	**
Error		17.96	24	0.75					
Total		547.75	47						
CV		16.36							

NS = No significativo. * = Diferencia significativa. ** = Diferencia altamente significativa

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 14 se observa los datos obtenidos del análisis de varianza de los ácaros muertos por día donde el p-valor entre los hongos entomopatógenos fue de 0.0012 habiendo una diferencia significativa y para las dosis e interacción entre hongos por dosis altas significancias en donde el p-valor es de 0.0001, así mismo se presentó un coeficiente de variación (C.V) de 16.36 que indica el grado de dispersión entre tratamientos.

Con referencia a lo anterior, se comprobó las diferencias significativas (DMS), con el criterio de DGC al 0.05 de significancia formando grupos correspondientes para los hongos entomopatógenos según las medias de ácaros muertos por día.

Cuadro 15. Prueba de medias mediante DGC para los hongos entomopatógenos sobre la mortandad de ácaros por día

Hongos	Medias	Grupos
Metarhizium	8.97	A
Combinación	4.64	B
Testigo	4.17	B
Beauveria	3.37	B

Error: 5.7159 gl: 9

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados de cuadro 15, demostraron estadísticamente que, si existen comportamientos diferentes, en lo que se refiere a la capacidad que tienen los hongos para propiciar la mortandad de *V. destructor*, sobre *A. mellifera*. Determinando que el hongo entomopatógeno *Metarhizium* propicia la mortandad y el control del ácaro con una media de 8.97 ácaros muertos por día. Por lo que se acepta la primera hipótesis alternativa ya que los tratamientos referentes a los hongos entomopatógenos presentaron efecto acaricida para el control de *V. destructor*.

Cuadro 16. Prueba de medias mediante DGC para dosis sobre la mortandad de ácaros por día

Dosis	Medias	Grupos
0.25	6.77	A
0.50	4.62	B
0.75	4.48	B

Error: 0.7485 gl: 24

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 16 corresponde al análisis de comparación de medias para las dosis por criterio de DGC al 0.05 de significancia, separando estadísticamente dos grupos según su efecto en la mortandad del ectoparásito *V. destructor* sobre *A. mellifera* determinado con ello que la dosis de 0.25 es la que presenta mayor efecto en la mortandad de ácaros muertos por día siendo este de 6.77 por lo cual se acepta la segunda hipótesis alternativa.

Cuadro 17. Prueba de medias mediante DGC para la interacción entre hongos y dosis sobre la mortandad de ácaros por día

Hongos	Dosis	Medias	Grupos	
Metarhizium	0.25	14.53	A	
Metarhizium	0.50	7.64		B
Combinación	0.25	6.16		C
Beauveria	0.75	5.35		C
Testigo	0.50	4.96		C
Metarhizium	0.75	4.75		C
Combinación	0.75	4.2		D
Testigo	0.25	3.93		D
Testigo	0.75	3.61		D
Combinación	0.50	3.57		D
Beauveria	0.25	2.45		E
Beauveria	0.50	2.31		E

Error: 0.7485 gl: 24

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 17 muestra la comparación de la prueba de medias por criterio DGC según el número de ácaros muertos por día para las interacciones (Hongos entomopatógenos por Dosis), el cual demostró que para la interacción del hongo *Metarhizium* con una dosis de 0.25 se obtiene mayor cantidad de ácaros muertos por día siendo este de 14.53 el cual propicia el control eficaz de *V. destructor*, seguido de *Metarhizium*, con una dosis de 0.50, obteniendo un 7.64 de ácaros muertos por día sobre *A. mellifera*. Así mismo para la interacción de la combinación con una dosis de 0.25 demostró una capacidad para propiciar la mortandad de *V. destructor* de 6.16, posteriormente se visualiza los grupos C, D y E según su interacción entre hongos por dosis y su respuesta acaricida como controlador de *V. destructor*. En tal sentido se acepta la tercera hipótesis alternativa debido al efecto de las interacciones para la mortandad de ácaros por día.

6.1.6. Análisis económico, mediante presupuestos parciales

6.1.6.1. Identificación de los costos relevantes

No es más que identificar los costos relevantes del cual se tomaron en base a la variación existente entre las dosis, e insumos, la cual varía según la dosis aplicada de cada tratamiento y el número de jornales según su rendimiento obtenido proyectado a una cuerda.

6.1.6.2. Identificación de los costos que varían

Esto se logró multiplicando los precios de campo de los insumos relevantes por sus niveles de uso en cada tratamiento proyectando esto a 6 aplicaciones de los tratamientos y luego sumando un total. Nos permitieron identificar el total de los costos que varían.

Cuadro 18. Cotos que Varían

Tratamientos	Costo Q. de ml de los hongos entomopatógenos para control de ácaros	Costo Q. Litro de Agua desmineralizada para disolver hongos entomopatógenos	Costo Q. de Trampas para ácaros	Total Costos Que Varían Q.
Beauveria/0.50 ml	1.03	21.66	289.00	311.69
Beauveria/0.25 ml	0.52	21.66	289.00	311.18
Beauveria/0.75 ml	1.54	21.66	289.00	312.20
Metarhizium /0.50 ml	1.03	21.66	289.00	311.69
Metarhizium /0.25 ml	0.52	21.66	289.00	311.18
Metarhizium /0.75 ml	1.54	21.66	289.00	312.20
Combinación/0.50 ml	1.22	21.66	289.00	311.88
Combinación/0.25 ml	0.61	21.66	289.00	311.27
Combinación/0.75 ml	1.83	21.66	289.00	312.49
Testigo/0.50 ml	0.01	21.66	289.00	310.67
Testigo/0.25 ml	0.00	21.66	289.00	310.66
Testigo/75 ml	0.02	21.66	289.00	310.68

*: Proyectado a seis aplicaciones.

Fuente: Elaboración propia.

6.1.6.3. Estimación del precio de campo del producto

El precio de campo de la miel por libra en grandes y pequeños volúmenes en la región es de Q6.00. Según datos proporcionados por el apicultor que está asociado a la cooperativa COPIASURO RL, la cual exporta la miel.

6.1.6.4. Estimación de los rendimientos ajustados

Previo a la estimación de los rendimientos ajustados se realiza los rendimientos experimentales corregidos, que resultan de promediar los grupos de medias, determinados con la prueba DGC. A los que se les aplica la tasa de ajuste al 15 %, considerando que el análisis económico de presupuestos parciales recomienda hacer un ajuste de 5 al 30 %, con la finalidad de acercarse a los obtenibles por el agricultor en este caso apicultor.

Cuadro 19. Rendimientos ajustados

Trataniento	Arreglo	Rendimiento (Lbs)	
		Experimental Corregido	Rendimiento (Lbs) Ajustado al 15%
T1	Beauveria/0.50	260	221
T2	Beauveria/0.25	216	183.6
T3	Beauveria/0.75	256	217.6
T4	Metarhizium/0.50	272	231.2
T5	Metarhizium/0.25	216	183.6
T6	Metarhizium /0.75	208	176.8
T7	Combitación/0.50	240	204
T8	Combinación/0.25	272	231.2
T9	Combinación/0.75	248	210.8
T10	Testigo/0.50	212	180.2
T11	Testigo/0.25	224	190.4
T12	Testigo/0.75	248	210.8

Fuente: Elaboración propia.

6.1.6.5. Obtención de los beneficios brutos y beneficios netos

Multiplicando el rendimiento ajustado por el precio de campo del producto, se obtuvo el beneficio bruto y luego sustrayendo de este último los costos que varían, se obtuvo el beneficio neto para cada uno de los tratamientos como se observa en el cuadro:

Cuadro 20. Beneficios netos y beneficios brutos

Tratamientos	Rendimientos ajustados	Beneficio Bruto	Costos que varían	Beneficio Neto
Beauveria/0.50	221	1,326.00	311.69	1,014.31
Beauveria/0.25	183.6	1,101.60	311.18	790.42
Beauveria/0.75	217.6	1,305.60	312.20	993.40
Metarhizium/0.50	231.2	1,387.20	311.69	1,075.51
Metarhizium/0.25	183.6	1,101.60	311.18	790.42
Metarhizium /0.75	176.8	1,060.80	312.20	748.60
Combitación/0.50	204	1,224.00	311.88	912.12
Combinación/0.25	231.2	1,387.20	311.27	1,075.93
Combinación/0.75	210.8	1,264.80	312.49	952.31
Testigo/0.50	180.2	1,081.20	310.67	770.53
Testigo/0.25	190.4	1,142.40	310.66	831.74
Testigo/0.75	210.8	1,264.80	310.68	954.12

Fuente: Elaboración propia.

6.1.6.6. Análisis de dominancia

En este análisis de dominancia se organizaron de forma ascendente los datos de costos que varían con los respectivos beneficios netos, de esta forma se determinaron los tratamientos dominados y no dominados.

Cuadro 21. Análisis de dominancia

Tratamientos	Arreglo	Costos que varían	Beneficio neto	Observación de cambios	Conclusión de observación.
T11	Testigo /0.25	310.66	831.74		No dominado
T10	Testigo /0.50	310.67	770.53	T11-T10	Dominado
T12	Testigo /0.75	310.68	954.12	T11-T12	No dominado
T2	Beauveria/0.25	311.18	790.42	T12-T2	Dominado
T5	Metarhizium/0.25	311.18	790.42	T12-T5	Dominado
T8	Combinación/0.25	311.27	1,075.93	T12-T8	No dominado
T1	Metarhizium/0.50	311.69	1,014.31	T8-T1	Dominado
T4	Beauveria/0.50	311.69	1,075.51	T8-T4	Dominado
T7	Combinación/0.50	311.88	912.12	T8-T7	Dominado
T3	Beauveria/0.75	312.20	993.40	T8-T3	Dominado
T6	Metarhizium/0.75	312.20	748.60	T8-T6	Dominado
T9	Combinación/0.75	312.49	952.31	T8-T9	Dominado

Fuente: Elaboración propia.

En la determinación de la dominancia, el primer tratamiento es no dominado por definición. En seguida se observa si al pasar de T11 a T10 aumentan los beneficios, en este caso no ocurre, entonces, T10 es dominado. Luego se observa si al pasar de T11 a T12 aumentan los beneficios, en este caso aumentan, entonces T12 es no dominado. Como T12 fue no dominado, ahora se observa si al cambiar T12 como referencia del cambio de T12 a T2 aumentan los beneficios, como esto no ocurre, T2 es dominado. Se sigue empleando T12 como referencia y se observa si al pasar de T12 a T5 incrementan los beneficios como esto no ocurre T5 de dominado, enseguida se observa si al pasar de T12 a T8 aumentan los beneficios como esto si ocurre, T8 es no dominado, ahora se empleando T8 como referencia y se observa si al pasar de T8 a T1 aumentan los beneficios, como tampoco esto no ocurre, T1 es dominado. Luego se observa si al pasar de T8 a T4, aumentan los beneficios, como esto no ocurre, T4 de considera dominado. Se sigue empleando T8 como referencia, y se observa si al cambiar de T8 a T7se incrementan los beneficios, y como esto no ocurre, T7 es dominado. Esto se repite para cada uno de los restantes (T3, T6, y T9), y como en ninguno de estos casos, el beneficio incrementa estos tratamientos se consideran dominados.

6.1.6.7. Cálculo de tasa de retorno marginal (TRM)

En los tratamientos no dominados se calcularon los incrementos en los costos que varían y beneficios netos derivados del cambio de un tratamiento de costo variable menor a un costo mayor, para luego calcular la TRM. La tasa calculada puede ser interpretada como el porcentaje de retorno al capital invertido.

Cuadro 22. Tasa de retorno marginal (TRM)

Tratamientos	Arreglo	BN	CV	Δ BN	Δ CV	TRM (%)
T11	Testigo /0.25	831.74	310.66			
T12	Testigo /0.75	954.12	310.68	122.38	0.02	611900
T8	Combinación/0.25	1,075.93	311.27	121.81	0.59	20646

Fuente: Elaboración propia.

El Cuadro evidencia el cálculo de tasa de retorno marginal. El propósito de este Análisis es el de revelar la manera en que los beneficios netos de una inversión aumentan conforme la cantidad invertida crece. La tasa de retorno marginal puede ser interpretada como el porcentaje de retorno al capital invertido después de que el capital ha sido recuperado.

Hasta este momento, todavía no se sabe cuál es el tratamiento más rentable, solamente se tienen las tasas de retorno marginal.

6.1.6.8. Cálculo de la tasa mínima de retorno (TAMIR)

Las tasas de interés en el mercado financiero informal que en el Altiplano Central de Guatemala aproximadamente se adquieren un 60%, lo cual al sumarse con el 40 % de retorno mínimo exigido a la agricultura, da una TAMIR de 100%.

6.1.6.9. Selección del tratamiento más rentable

Selección del tratamiento más rentable: Usando el criterio de optimalidad, “el tratamiento más rentable es el último para el cual se cumple la condición, $TMR \geq TAMIR$ ”, Ya que para el tratamiento T8 es el más rentable y constituye la recomendación para los apicultores.

6.1.6.10. Análisis de residuo

Se conoce como residuo, al remanente que queda del beneficio neto después de sustraer el costo de oportunidad del capital de trabajo empleado para financiar las prácticas evaluadas, por lo cual se corrobora que T8 es el tratamiento más rentable.

Cuadro 23. Análisis de residuos.

Tratamientos	Arreglo	Costos que varían	Beneficio neto	Costo de oportunidad	Residuo
T11	Testigo /0.25	310.66	831.74	310.66	521.08
T12	Testigo /0.75	310.68	954.12	310.68	643.44
T8	Combinación/0.25	311.27	1,075.93	311.27	764.66

Fuente: Elaboración propia.

En base al Cuadro, acerca del análisis de residuos, se concluye que el uso de T8 correspondiente a Combinación/0.25 es el más rentable ya que se obtienen más beneficios para el apicultor; considerando el rendimiento además cabe mencionar el porcentaje de efectividad para el control de V. destructor que fue el segundo tratamiento que demuestra un aceptable porcentaje de efectividad de 59%. Por lo que se acepta la cuarta hipótesis alternativa que hace mención que por lo menos la aplicación de un tratamiento para control biológico del ácaro Varroa destructor, será rentable para los productores de miel.

CAPÍTULO VII

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1. Conclusiones

1. Se diagnosticó niveles altos de infestación de *V. destructor* sobre *A. mellífera* mediante el uso de la prueba jabonosa David de Jong o del agua jabonosa estableciendo un promedio de parasitismo en el apiario de 11.6 % lo cual representa efecto negativo sobre la abeja y la productividad a lo que amerita efectuar el ensayo con los hongos entomopatógenos y dosis establecidas.
2. Se estableció que el hongo entomopatógeno que presentó mayor efecto en el porcentaje de efectividad fue: *Metarhizium anisopliaea* representando un 60.33 % de efectividad y para las dosis evaluadas siendo la mejor 0.25 de la cual obtiene un 51.50 % de efectividad para el control de *V. destructor* ectoparásito de *A. mellífera*.
3. Se identificó la dosis y hongo referente a su rentabilidad siendo este el hongo entomopatógeno combinación con una dosis de 0.25.
4. Se acepta la hipótesis alternativa que al menos un hongo entomopatógeno tendrá mayor efecto acaricida y porcentaje de efectividad para el control de *V. destructor* sobre *A. mellífera* como se expresa en la conclusión número 2.
5. Se acepta la hipótesis alternativa que al menos una de las dosis a evaluar tendrá efecto sobre la mortandad del ectoparásito *Varroa destructor* sobre *A. mellífera* siendo esta la dosis 0.25 con una media de 6.77 ácaros muertos por día la cual supero a las otras dosis.
6. Se acepta la hipótesis alternativa sobre la interacción hongos/dosis mostrará algún efecto sobre la mortandad del ectoparásito *Varroa destructor* y porcentaje de efectividad para su control. Mostrando mayor mortandad de ácaros mediante la interacción del hongo *Metarhizium* con una dosis de 0.25 del cual se obtiene 14.53 ácaros muertos por día y mayor efecto en su porcentaje de efectividad siendo la misma interacción *Metarhizium*/0.25

considerando un porcentaje de efectividad de 88 % que fue superior a los demás tratamientos.

7. El análisis de presupuestos parciales puso en evidencia en que al menos la aplicación de un tratamiento para control biológico del ácaro *V. destructor*, será rentable para los productores de miel ya que el análisis de dominancia destacó al tratamiento 8 combinación con una dosis de 0.25 al representar mayores ganancias, reflejado en el análisis de residuos.

7.2. Recomendaciones

1. Se recomienda suministrar alimento en caso de escasez floral en el área para propiciar la vigorosidad de las colmenas al momento de la aplicación del antibiótico sobre los marcos de *A. mellífera*.
2. Se recomienda la utilización del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliaea* con una dosis de 0.25ml ya que presentó porcentajes altos de efectividad para control de *V. destructor* sobre *A. mellífera*.
3. Se recomienda que previo a la validación y transferencia de tecnología se realice una replicación para ver el comportamiento del tratamiento *Metarhizium anisopliaea* con una dosis de 0.25ml, comparado con el tratamiento Combinación con una dosis de 0.25ml y un testigo en este caso ácido oxálico u tratamiento del apicultor de la localidad donde se genere la tecnología.

CAPÍTULO VIII

8. CRONOGRAMA

ACTIVIDADES	Año 2018																Año 2019																				
	Agosto				Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre				Enero				Febrero				Marzo				Abril				
	Semanas																																				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Fase de laboratorio																																					
Prueba de toxicidad de los tratamientos																																					
Fase de campo																																					
Rotulado del área de ensayo y unidades experimentales																																					
Capacitación a jornales de la metodología																																					
Diagnóstico del porcentaje de infestación de <i>Varroa destructor</i> .																																					
Aplicación de los tratamientos																																					
Conteo de Ácaros (piso sanitario)																																					
Diagnóstico porcentaje de reducción de <i>Varroa destructor</i> .																																					
Fase de Gabinete																																					
Tabulación de datos																																					
Análisis de resultados																																					
Elaboración de informe final																																					

Cuadro 24. Desarrollo de actividades, de la investigación. Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO IX

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arevalo, Luis. 2017. Apicultura en Guatemala poco impulsada pese a ser de las mejores de la región. *La Hora*. 28 de marzo de 2017, pág. 1.

Barrios Rivera, Donald Veracruz. 2012. *Relación entre la generación genética (F1, F2) de abejas reina (Apis mellifera, Apidae), su resistencia al ataque del ácaro (Varroa destructor, Acarina Oud.) y su efecto sobre la producción de miel, en Copiasuro, R. L., Catarina, San Marcos, Guatemala, C.A. Coatepeque, Quetzaltenango, Guatemala : URL, 2012.*

CentralAmerica Data. 2017. Miel en Guatemala. [En línea] 13 de enero de 2017. [Citado el: 07 de 09 de 2017.] <https://www.centralamericadata.com>.

Chacin Z., C. y Liliana D., F. y Carolina R., L. 2013. Innovaciencia. *Evaluación del efecto de Beauveria bassiana en el control biológico de Varroa destructor, parasito de la abeja melífera (Apis mellifera) en la finca Felisa en el municipio de los Patios, Norte de Santander.* [En línea] 2013. [Citado el: 07 de 07 de 2017.] <http://revistas.udes.edu.co>.

Díaz, A., Gil, S. y Flores, J., y Quesada, E. 2014. Sumario VII Congreso apícola hispánico. [En línea] 2014. [Citado el: 03 de 07 de 2017.] <http://www.apiculturagalega.es>.

Evaluacion del efecto de Beauveria bassiana en el control biológico de Varroa destructor, parasito de la abeja melífera (Apis mellifera) en la finca Felisa en el municipio de los Patios, Norte de Santander. **UDES.** Colombia : Universidad de Santander.

Formato G., Menegotto A., Jannoni-Sebastianini R. 2017. Teca FAO. *Teca FAO.org.* [En línea] FAO, 2017. [Citado el: 2017 de Marzo de 29.] <http://teca.fao.org/es/read/8694>.

Gerding y Marcos, Marta Rodríguez y. 2014. Proyecto FIA. [En línea] 2014. [Citado el: 01 de 09 de 2017.] <http://agronomia.utralca.cl>.

Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. **Ordoñez, Pablo Andrés Motta Delgado y Betselene Murcia. 2011.** Taubaté, Brasil : UNITAU, 2011. ISSN: 1980-993X.

Imagen Veterinaria. **UNAM. 2004.** 22, México : Secretaría de Comunicación Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 2004, Vol. 4. ISSN 1405-9002.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 2011. *Prevención de Varroosis y Suplementación. Manual de Capacitación.* México : INIFAP, 2011. ISBN: 978-607-425-555-3.

José Vaquero, Pedro Vargas y Danilo Plata. 2010. *Guía Técnica de Sanidad Apícola.* [ed.] Esther Galeano y Marco Vásquez. Nicaragua : s.n., 2010.

MAGA. 2015. Portal Web MAGA. [En línea] MAGA, 2015. [Citado el: 2017 de Marzo de 28.] http://visar.maga.gob.gt/?page_id=5731.

Manual Apícola: PROGRAMA DE CAPACITACIÓN APÍCOLA PARA LOS PEQUEÑOS PRODUCTORES.
Montenegro, Gloria. 2016. 2016.

Montenegro, Gloria. 2016. *Manual Apícola.* Chile : INDAP, 2016.

Motta, P. y Murcia, B. 2011. Bióloga. [En línea] 2011. [Citado el: 01 de 09 de 2017.] <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.187>.

Reyes, Mamerto. 2001. *Análisis Económicos de Experimentos Agrícolas con Presupuestos Parciales.* Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos. Guatemala : Centro de Información Agrosocioeconómica , 2001. pág. 32.

SENASA. 2005. *Enfermedades de las Abejas.* Buenos Aires, Argentina : SENASA, 2005.

Valega, Orlando. 2013. Apicervices. [En línea] 2013. [Citado el: 02 de 10 de 2017.] <http://www.apiservices.biz>.

Vandame, Rémi. 2000. Oocities. *Oocities.org.* [En línea] Noviembre de 2000. [Citado el: 2017 de marzo de 30.] <http://www.oocities.org/sitioapicola/organica/remy/remyvandame.html>.

CAPÍTULO X

10.ANEXO

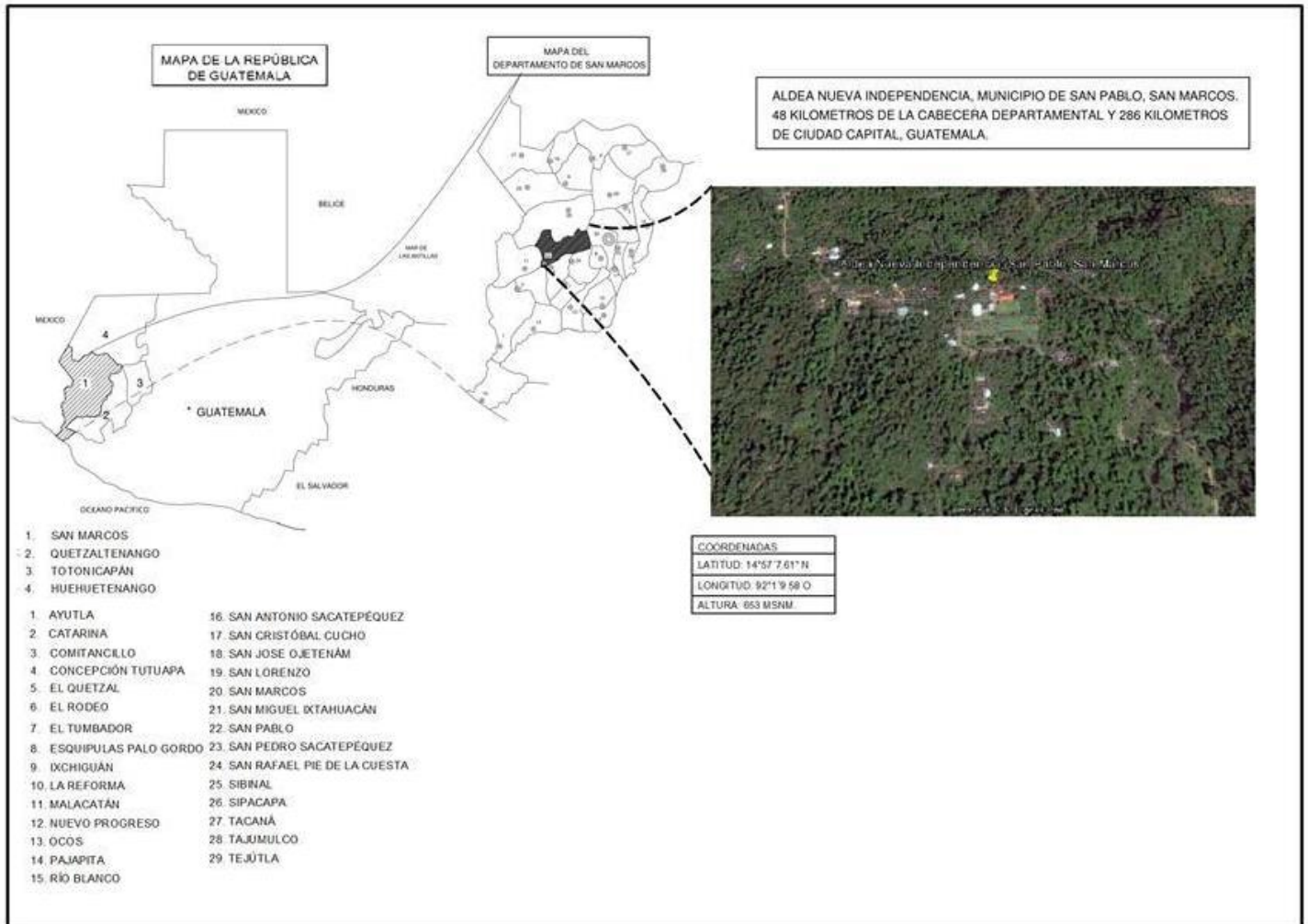


Figura 9. Localización del área de investigación



Figura 10. Se prepararon frascos de boca ancha con tapa, llenándolos $\frac{3}{4}$ partes con agua destilada



Figura 11. Captura de abejas para determinación del % de infestación.



Figura 12. Identificación de la abeja reina dentro de la colmena.



Figura 13. Identificación de muestras.



Figura 14. Tamizado de muestras para conteo de ácaros.



Figura 15. Conteo y registro de abejas y ácaros.



Figura 16. Conteo y registro de abejas y ácaros.



Figura 17. Vista de la trampa tipo bastidor con malla



Figura 18. Vista de trampa implementada en la colmena.



Figura 19. Vista regla móvil detrás de la piquera.



Figura 20. Preparación de las dosificaciones en las rociadoras.



Figura 21. Aplicación de tratamientos.



Figura 22. Recorte de cartulinas y aplicación de vaselina



Figura 23. Cambio y obtención de prueba de piso sanitario



Figura 24. Tercera parte de muestras colectadas en el ensayo.



Figura 25. Limpieza de colmenas.



Figura 26. Incorporación de alimento.



Figura 27. Conteo y registro del ácaro V. destructor



Figura 28. Conteo y registro del ácaro V. destructor



Figura 29. Tercera parte de Ácaros V. destructor contabilizados.



Figura 30. Tercera parte de Ácaros *V. destructor* contabilizados.



Figura 31. Actores Locales De La Aldea San Pablo del departamento de San Marcos.



Figura 32. Actores Locales De La Aldea San Pablo del departamento de San Marcos.