



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**EVALUACIÓN DE ACEITES ESENCIALES de *Eupatorium buniifolium* (“Chirca”)
y *Schinus molle* (“Anacahuita”) PARA EL CONTROL DE VARROA
DESTRUCTOR EN ABEJAS MELÍFERAS A NIVEL DE CAMPO**

por

**Gimena BARBOZA
Agustín PESCE**

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Medicina Veterinaria

Modalidad: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2025**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de Mesa: Ana Edmilia Olhagaray
Dra. Ernestina Olhagaray

Segundo Miembro (Tutor): ~~Pablo Juri~~
Dr. Pablo Juri

Tercer Miembro: ~~Yamandú Mendoza~~
Ing. Agr. Yamandú Mendoza

Cuarto Miembro (Co- tutor): ~~Enrique Nogueira~~
Dr. Enrique Nogueira

Quinto Miembro (Co- tutor): ~~Agustín Pérez~~
Ing. Agr. Agustín Pérez

Fecha: 16/07/2025



Autores:

Br. Barboza Gimena



Br. Pesce Agustin

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	5
RESUMEN.....	6
SUMMARY.....	7
ANTECEDENTES	8
HIPÓTESIS	18
OBJETIVOS	18
Objetivo general:	18
Objetivos específicos:	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
Materiales utilizados:.....	19
Obtención y preparación de aceites.....	20
Procedimiento experimental en las colmenas.....	23
Muestreo de abejas adultas para estimación de varroa forética.....	24
Estimación de población de abejas adultas.....	26
Shock de acaricidas.....	26
Análisis de eficacia.....	27
Análisis de estadísticos.....	28
RESULTADOS.....	2
9	
DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIÓN	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

- Tabla 1. Niveles de organización social en las abejas..
- Figura 1. Señales de una abeja reina.
- Figura 2. Diferencias anatómicas entre abeja obrera, reina y zángano
- Figura 3. Etapas evolutivas del ciclo biológico de una abeja.
- Figura 4. Programación normal de la abeja.
- Figura 5. Diferencias morfológicas del ácaro *V. Destructor*.
- Figura 6. Ecología de *Varroa destructor*.
- Figura 7. Colmenas de abejas melíferas.
- Figura 8. Diagrama de flujo.
- Figura 9. Procedimiento para la obtención de los aceites esenciales.
- Figura 10. Preparación y colocación de la matriz con aceite esencial.
- Figura 11. Reemplazo de hojas con vaselina.
- Figura 12. Proceso de muestreo y estimación de varroa forética
- Figura 13. Estimación de la población de abejas adultas mediante el método de “street counts”
- Figura 14. Plancha con vaselina recolectada luego del shock acaricida.
- Figura 15. Conteo de ácaros sobre planchas con vaselina.
- Figura 16. Población abejas adultas.
- Figura 17. Análisis de varroa
- Figura 18. Eficacia total de los tratamientos.

RESUMEN

La varroasis, provocada por el ácaro *Varroa destructor*, representa uno de los principales problemas sanitarios que afectan a las abejas melíferas (*Apis mellifera*) a nivel mundial. Para su control, se recurre habitualmente al uso de acaricidas sintéticos, lo que ha generado consecuencias negativas como la aparición de resistencias, mortalidad de abejas y presencia de residuos en los productos de la colmena. Frente a esta problemática, surge el interés por explorar alternativas orgánicas como los aceites esenciales. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia acaricida de los aceites esenciales de *Eupatorium bunifolium* (chirca) y *Schinus molle* (anacahuita) en condiciones de campo. El estudio se llevó a cabo mediante un ensayo experimental en 48 colmenas previamente estandarizadas, distribuidas aleatoriamente en cuatro grupos de 12 colmenas cada uno: un grupo tratado con flumetrina (control positivo), otro con aceite esencial de chirca, uno con aceite esencial de anacahuita y un grupo sin tratamiento (control negativo). Los tratamientos fueron aplicados mediante tiras de cartón impregnadas, durante un período de 42 días. Se evaluó la población de abejas, la infestación por varroa y la eficacia acaricida antes y después del ensayo. Los resultados mostraron que la flumetrina eliminó más del 90 % de los ácaros, mientras que el aceite de anacahuita, el de chirca y el control negativo estuvieron en el entorno al 60 %. En conclusión, no se observaron diferencias significativas para el control de *Varroa destructor* entre los aceites esenciales y el control negativo en el ensayo realizado a campo.

SUMMARY

Varroosis, caused by the mite *Varroa destructor*, is one of the most significant health threats affecting honey bees (*Apis mellifera*) worldwide. Synthetic acaricides are commonly used for its control, but their repeated application has led to issues such as resistance, bee mortality, and residues in hive products. In response to this problem, interest has grown in exploring organic alternatives, such as essential oils. The objective of this study was to evaluate the acaricidal efficacy of the essential oils of *Eupatorium buniifolium* (chirca) and *Schinus molle* (anacahuita) under field conditions. An experimental trial was conducted using 48 previously standardized hives, randomly assigned to four groups of 12 hives each: one group treated with flumethrin (positive control), one with chirca essential oil, another with anacahuita essential oil, and a negative control group without treatment. Treatments were applied using cardboard strips placed inside the hives over a period of 42 days.

The bee population, varroa infestation, and acaricidal efficacy were evaluated before and after the trial. The results showed that flumethrin eliminated more than 90% of the mites, while anacahuita oil, chirca oil, and the negative control were around 60%. In conclusion, no significant differences were observed in the control of *Varroa destructor* between the essential oils and the negative control in the field trial.

ANTECEDENTES

La apicultura es por definición, el arte de la cría o cultivo de abejas, con el objetivo de obtener los productos que ellas recolectan y elaboran, con el fin de satisfacer las necesidades alimenticias, farmacéuticas, cosméticas e industriales de las sociedades (Polaino, C. 2006). La práctica de recolección de miel comenzó hace miles de años, donde se llevaba a cabo mediante la destrucción física de la colmena, la cual se fue perfeccionando a través de la domesticación de las abejas y la creación de apiarios diseñados por el hombre.

Hoy en día el tipo de colmena más utilizado en Uruguay es el creado por Lorenzo Langstroth a mediados del siglo XIX, el cual cuenta con cuadros móviles donde se permite inspeccionar el interior de la colonia y por ende su salud, además este diseño de cuadros movilistas, permite recolectar la miel sin tener que dañar la colmena.

Los insectos se clasifican según su nivel de organización social; en solitarios, presociales y eusociales. Para esta clasificación se tienen en cuenta la presencia o ausencia de 3 requisitos sociales (Tabla 1):

1. El cuidado cooperativo de la cría, en el cual varios miembros de la misma especie cuidan crías que no son de su descendencia.
2. Generaciones superpuestas, donde varias generaciones realizan las tareas laborales dentro de la colonia.
3. División de tareas, solo uno o unos pocos individuos se reproducen, mientras el resto busca alimento, cuidan la colonia, etc.

Las abejas solitarias no cuentan con ninguno de los 3 requisitos anteriormente mencionados, las presociales representan un estado intermedio en la evolución del comportamiento social, mostrando una cooperación y organización limitada en comparación con las abejas eusociales. En esta última categoría se ubica la abeja *Apis mellifera* la cual cumple con los 3 requisitos.

Niveles de organización social en las abejas.
1. Solitarias (0/3): La hembra construye y provee el nido, pone los huevos sobre el polen recolectado y abandona el nido antes de que nazca la descendencia.
2. Presocial (0/3, 1/3, 2/3): Son las abejas que exhiben uno o más de los tres criterios de sociedad, sin cumplir con la totalidad de ellos.
3. Eusociales (3/3): Múltiples individuos de una misma generación comparten nido, cooperan en el cuidado de la cría y presentan división reproductiva y del trabajo.

Tabla 1. Niveles de organización social en las abejas.

Fuente: Modificado de: Ritter, W. (2014).

Dentro de las colonias de abejas melíferas existen 3 tipos de individuos, las abejas obreras (Figura 2. A.), la abeja reina (Figura 2. B.) y los zánganos (Figura 2. C.). Con respecto a la abeja reina, es única dentro de la colonia y es la hembra fértil, este individuo realiza ovipostura y es anatómicamente diferente al resto de las otras abejas que viven en la colonia. La reina es más grande que las obreras, presentando un abdomen alargado. Su vida puede extenderse de 3 a 5 años y durante la misma, pone miles de huevos diariamente. La reina emite feromonas que ayudan a mantener la cohesión social de la colmena y a regular el comportamiento de las obreras (Figura 1).

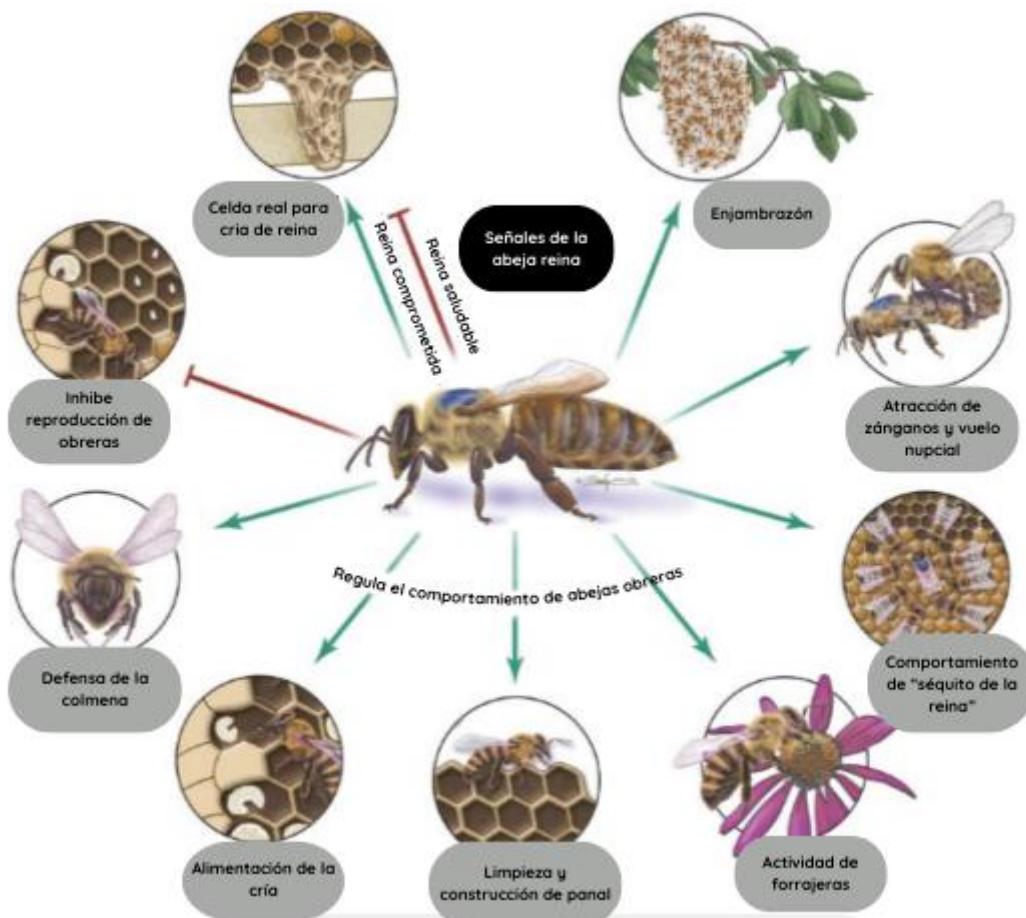


Figura 1. Señales de una abeja reina.

Fuente: Kane y Faux (2021).

Las obreras constituyen la mayor población dentro de la colmena, son hembras infériles y realizan diversas actividades como la recolección de alimentos, defensa de la colonia, cuidado de la cría, producción de jalea real y de cera, entre otras diversas tareas que realizan.

Los zánganos son los machos de la colonia, son más grandes y robustos que las obreras, su única función conocida es la reproducción y generalmente mueren luego de aparearse con una reina o son expulsados de la colonia al final de la temporada

reproductiva (FAO, 2021). En estos tipos de colonias eusociales existen generaciones superpuestas, donde coexisten al menos dos generaciones de obreras maduras al mismo tiempo, contribuyendo a un mejor funcionamiento de la colmena (Ritter, 2014).

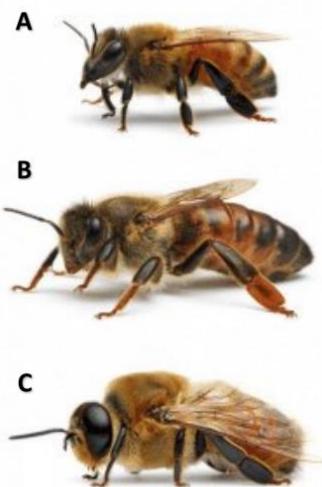


Figura 2. Diferencias anatómicas entre los tipos de abejas. A. Abeja obrera, B. Abeja reina y C. zángano.
Fuente: EcoColmena (s.f.).

Las abejas son insectos holometábolos cumpliendo una metamorfosis completa durante su desarrollo, el cual consta de cuatro etapas distintas: huevo, larva, pupa y adulto (Figura 3).

Los huevos pueden ser fecundados y ser diploides, de los cuales emergen reinas y obreras, o no fecundados y haploides que darán origen a zánganos. Independientemente del tipo de huevo, el periodo de incubación será de tres días, posterior a esto eclosionan las larvas.

Los tres primeros días, las larvas se alimentan a base de jalea real, luego las obreras y zánganos consumen una papilla a base de miel, polen y agua. Solamente las larvas destinadas a ser reinas continúan su alimentación con jalea real. La duración de la fase larvaria será de 5,5 días para abejas reinas, 6 días para abejas obreras y 6,5 días para zánganos. Según Huang *et al.* (2009), la jalea real es una sustancia altamente nutritiva secretada por las glándulas hipofaríngeas de las abejas obreras, compuesta principalmente por agua, proteínas, azúcares, lípidos, vitaminas y minerales.

Los estadios de huevo y larva, ocurren dentro de una celda abierta sin opercular y la alimentación de las mismas será llevada a cabo por una abeja obrera denominada “nodriza”. Luego de haber finalizado la etapa larval comienza la pre-pupa en la cual la larva forma un capullo y las abejas nodrizas sellan la celda con un opérculo (capa de cera) para que se continúe con el ciclo. En la etapa de pupa las abejas realizan una metamorfosis completa, proceso que dura entre 6 y 7 días en las reinas, 12 días en las obreras y 15 en los zánganos, en este estadío es donde se desarrollan las

estructuras adultas de la abeja (Figura 4). Una vez completada la metamorfosis, las abejas emergen como imágnes o adultas. Posteriormente el rol que va a cumplir cada abeja obrera va a definirse según la edad y necesidades de la colmena (FAO, 2021).

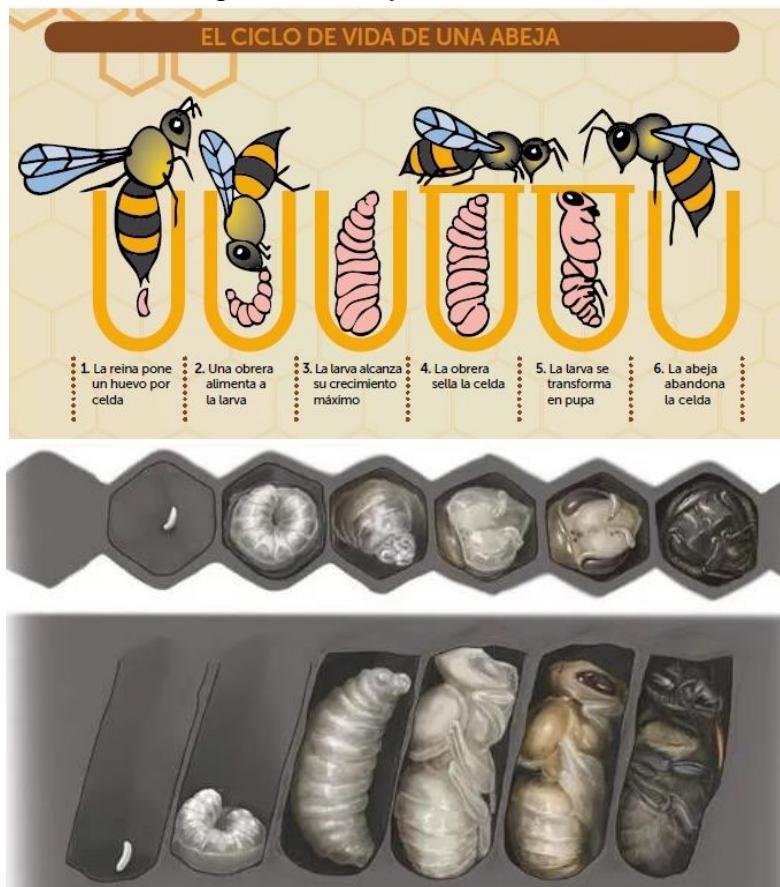


Figura 3. Etapas evolutivas del ciclo biológico de una abeja.

Fuente: EcoColmena (s.f.).

Según la programación normal de las abejas obreras, las abejas jóvenes se encuentran comprendidas entre las adultas recién eclosionadas hasta aquellas que tienen sus primeras tres semanas de vida. Durante este período, las obreras cumplen tareas dentro de la colmena, como alimentar y cuidar las larvas, mantener la temperatura y humedad adecuada para el funcionamiento de la colonia, elaboración de panales con cera, entre otras. El rol de recolectora lo asumen las abejas más viejas las cuales tienen entre tres y seis semanas de vida, comienzan a salir de la colmena para recolectar agua, néctar y polen, siendo esencial para la producción de miel y la alimentación de la colonia. La diferenciación entre el nacimiento de una abeja obrera y una reina es únicamente por el tipo de alimentación y el ambiente donde se desarrollen las larvas, ya que genéticamente, cualquier obrera podría desarrollarse como reina (FAO, 2021). Según Kane y Faux (2021) el desarrollo completo de una abeja reina toma unos 16 días y el proceso de selección puede ocurrir en diferentes circunstancias; por la muerte, envejecimiento, enfermedad o enjambrazón de la reina actual, en cualquiera de estos casos, las abejas obreras comienzan a producir varias celdas para la producción de una nueva reina, dichas celdas son más grandes que las

de obreras y verticales. Las obreras comienzan a criar varias reinas simultáneamente las cuales al ir emergiendo lucharán entre sí, siendo la que sobreviva la que asuma el control de la colonia. La nueva reina se aparea con varios zánganos en uno o varios vuelos nupciales y regresará a la colmena para comenzar a poner sus huevos y asegurar así la continuidad de la colonia.

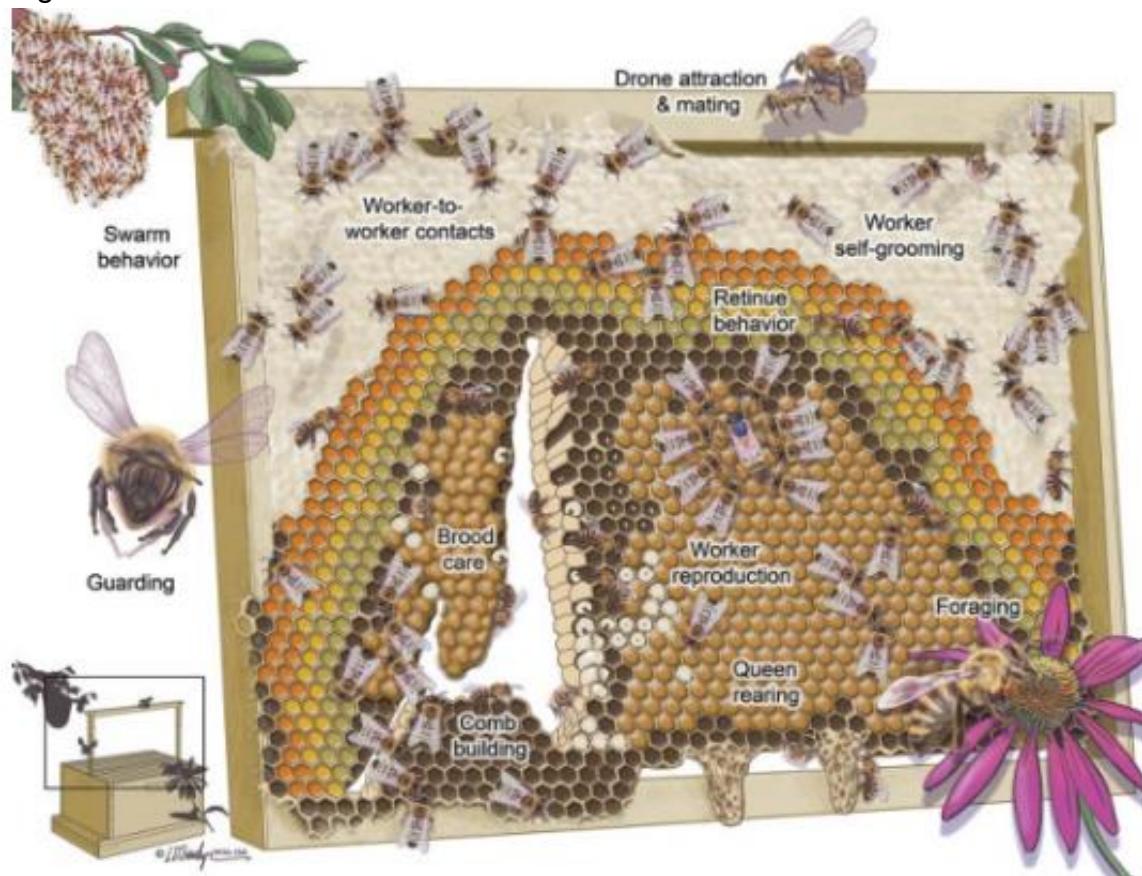


Figura 4. Programación normal de las abejas

Fuente: Kane y Faux (2021).

Las abejas como cualquier otro animal, padecen gran variedad de enfermedades, causadas por bacterias, virus, hongos, parásitos y otros factores tanto bióticos como abióticos. Hoy en día, la mayor causa de muerte de las abejas es el ácaro *Varroa destructor* (Kane & Faux, 2021).

La Varroa destructor es un ácaro ectoparásito que representa una de las principales amenazas para la apicultura a nivel mundial. Se creía que este parásito se alimentaba de la hemolinfa de las abejas adultas y de las larvas, debilitando así las colonias y facilitando la transmisión de otros patógenos (Rosenkranz *et al.*, 2010). Actualmente está demostrado que *Varroa destructor* se alimenta de los cuerpos grasos de las abejas (Ramsey *et al.*, 2019). Este se distribuyen de manera diferente según la etapa del desarrollo de la abeja, localizándose en todo el hemocel en las larvas y pupas y en la superficie dorsal y ventral del metasoma en las abejas adultas. Es un órgano rico en nutrientes, por lo que actúa como reserva energética, pero también participa en la regulación hormonal, respuesta inmune y especialmente en la detoxificación frente a

diferentes tóxicos. Según Le Conte, Ellis y Ritter (2010), el ácaro presenta varias características morfológicas y anatómicas que hacen fácil su identificación, hecho fundamental para el desarrollo de estrategias de manejo y control en la apicultura. Los géneros de Varroa se diferencian morfológicamente (Figura 5), siendo los machos más pequeños, alrededor de 0,8 mm de longitud, además de tener el cuerpo más alargado y estrecho en comparación con las hembras y suelen ser de un color blanquecino. Las hembras adultas miden de 1,1 a 1,7 mm de longitud, presentan un cuerpo más ovalado y aplanado con el abdomen más ancho y redondeado, tienen un color rojizo a marrón oscuro. Ambos sexos tienen cuatro pares de patas y respiran a través de estigmas, que son aberturas en su exoesqueleto que permite el intercambio de gases. Las hembras pueden vivir varios meses, mientras que los machos viven únicamente unos pocos días dentro de las celdas en la fase reproductiva del ciclo y mueren luego del apareamiento.



Figura 3. Fila superior de izquierda a derecha: protoninfá, deutoninfá y adulto; fila inferior de izquierda a derecha: hembra joven, hembra adulta y macho adulto.

Fuente: Rosenkranz et al., 2010.

Figura 5. Diferencias morfológicas del ácaro *V. Destructor*

Fuente: Rosenkranz et al (2010)

El Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (2011) explica el ciclo biológico del ácaro *V. destructor*, el cual presenta en su etapa adulta dos fases: la forética (o de dispersión) y la reproductiva (Figura 6). En la fase forética el ácaro se encuentra sobre el cuerpo de la abeja y en la reproductiva se introduce en el interior de las celdas con larvas previo a ser operculadas.

En la fase forética el ácaro se adhiere a las abejas adultas para su transporte y dispersión, siendo esencial para la supervivencia del mismo, ya que le permite moverse entre diferentes colonias de abejas y acceder a nuevas fuentes de cría. En dicha fase además, el ácaro encuentra un refugio temporal en el cuerpo de la abeja, evitando la competencia y los depredadores, buscando y obteniendo nuevas

oportunidades para reproducirse (Nazzi & Le Conte, 2016). *V. destructor* no cuenta con una fase de vida libre, su ciclo de vida está completamente ligado a su hospedador, lo que significa que depende del mismo para su movilidad y reproducción (Rosenkranz *et al.*, 2010).

La fase reproductiva del ácaro comienza con la invasión de las celdas, este se posiciona entre la larva y la pared de la celda evitando la detección y eliminación por parte de las abejas (Rosenkranz *et al.*, 2010). Después del sellado de la celda, la hembra pone su primer huevo. Este huevo, es no fertilizado y debido al sistema de determinación sexual haplo-diploide del ácaro, se desarrollará un macho. Posteriormente, el ácaro hembra pone varios huevos fertilizados, donde se desarrollarán en hembras (Rosenkranz *et al.*, 2010). Según Nazzi y Le Conte (2016), "los huevos del *Varroa* eclosionan aproximadamente entre 3 y 4 días después de ser depositados en las celdas de cría" (Rosenkranz *et al.*, 2010, p. 421). Finalmente ocurre el apareamiento y las crías del ácaro pasan por varias etapas de desarrollo: larva, protoninfa y deutoninfa, antes de convertirse en adultos. El apareamiento tiene lugar dentro de la celda sellada, donde el macho, que emerge primero a partir de los huevos, busca a las hembras que emergen posteriormente (Nazzi & Le Conte, 2016). El ciclo de vida se reinicia una vez que las crías del ácaro se desarrollaron completamente y emergen de las celdas junto con la abeja adulta, permitiendo la dispersión de los ácaros (Rosenkranz *et al.*, 2010).

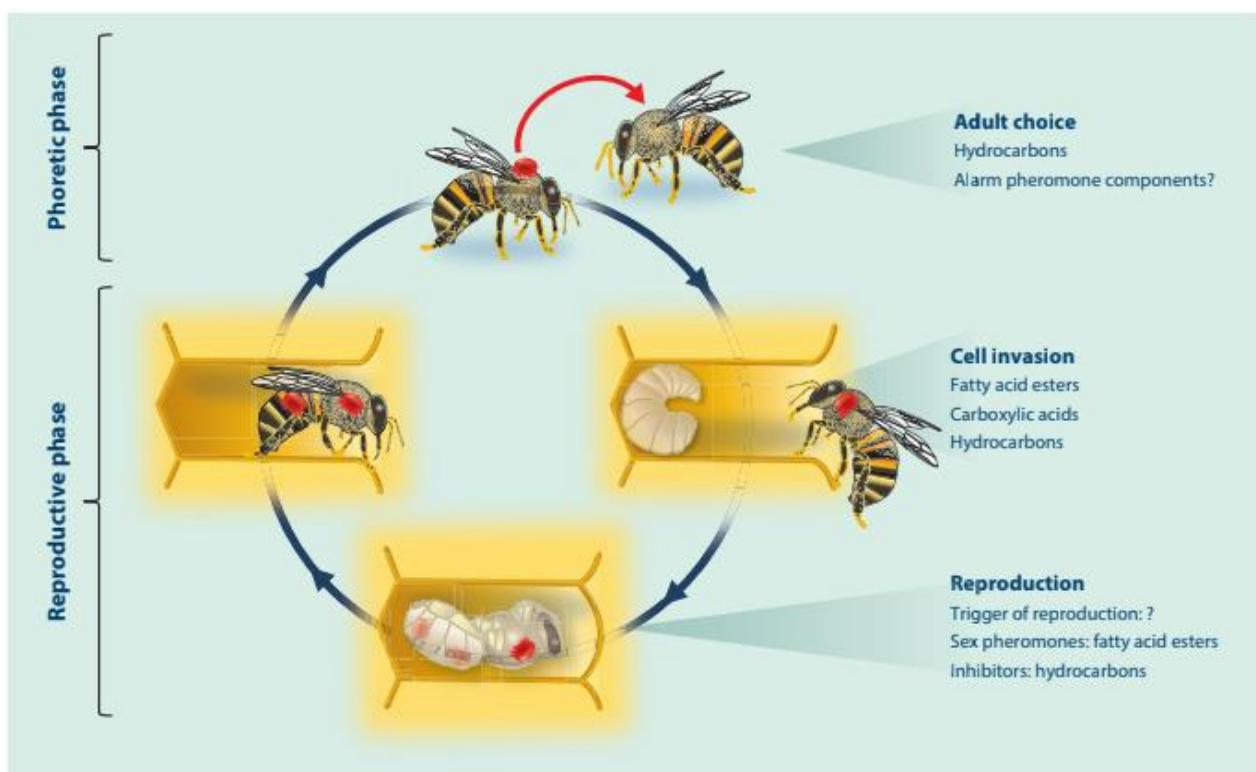


Figura 6. Ecología de *Varroa destructor*

Fuente: Nazzi, F., & Le Conte, Y. (2016).

El parasitismo por el ácaro *V. destructor* genera un gran número de efectos negativos sobre las abejas y sus colonias, ya que se verán afectados procesos esenciales para

el desarrollo de las mismas, disminuyendo su longevidad y correcta metamorfosis, además de ser vectores de enfermedades virales y bacterianas. (Ramsey *et al.*, 2018). Para lograr el control del ácaro *Varroa destructor* se han utilizado acaricidas sintéticos de manera generalizada, llevando al desarrollo de poblaciones resistentes en colmenas de todo el mundo (Mitton *et al.*, 2021). En su estudio, Boonmee *et al.* (2024) demostraron que el ácaro *V. destructor* está desarrollando resistencia a los tratamientos acaricidas como es por ejemplo el amitraz, dicha resistencia está dada por la exposición continua a los productos químicos, llevando a una selección natural de ácaros menos susceptibles a estos tratamientos, obligando a los apicultores a usar dosis más altas del producto. Además de la resistencia, Imdorf, Bogdanov, Kilchenmann y Berger (2006), plantean que el uso de acaricidas químicos también conlleva a otros problemas en las colonias, como es la toxicidad directa sobre las abejas, generando mortalidad, disminución de la longevidad y afectando su comportamiento y productividad. Los autores también destacan la contaminación de los productos apícolas, permaneciendo residuos químicos en cera, miel y otros productos, generando un riesgo para la salud humana y afectando la comercialización. Es por todo esto que, se busca cada vez más una transición hacia el uso de acaricidas orgánicos y naturales, considerándose una estrategia más sostenible y segura para la salud de las abejas, los humanos y el impacto ambiental. Los tratamientos orgánicos constituyen una herramienta sostenible a mediano y largo plazo para controlar las poblaciones del ácaro, ya que estos productos (timol, ácido oxálico, ácido fórmico y otros aceites y ácidos) presentan bajo riesgo de residuos y acumulación en productos de las colmenas y baja probabilidad de producir resistencia luego de tratamientos repetidos. En estos productos orgánicos se han constatado algunos problemas de eficacia, dificultad de aplicación y/o costos operativos, por lo que aún no han logrado sustituir a los productos sintéticos (Rosenkranz *et al.*, 2010). Es por esto que se exploran diferentes alternativas como lo son los aceites esenciales de diferentes plantas para lograr controlar la infestación del ácaro de manera más sostenible y efectiva.

Imdorf, Bogdanov, Kilchenmann y Berger (2006) realizaron un estudio experimental en el que pusieron a prueba 150 aceites esenciales en condiciones de laboratorio, dicho estudio se centró en pruebas dosis-efecto, permitiendo evaluar la eficacia de los aceites esenciales y sus componentes en el control de *V. destructor* y la toxicidad en las abejas *Apis mellifera*. Solo los aceites de tomillo (*Thymus vulgaris*), salvia (*Salvia officinalis*) y orégano (*Origanum vulgare*) mostraron una eficacia suficiente. El aceite de tomillo mostró una potencia acaricida de 80 % a concentraciones superiores a 500 $\mu\text{g/l}$ de aire, la eficacia del aceite de salvia también fue de un 80 % pero a concentraciones de 300 $\mu\text{g/l}$ de aire. En cuanto al aceite esencial de orégano, si bien tuvo los mismos porcentajes que los tratamientos previamente nombrados, los autores sugieren realizar pruebas adicionales para evaluar la toxicidad en las abejas antes de su aplicación a campo ya que la exposición a altas concentraciones puede generar mortalidad en las mismas, siendo este un factor limitante en su uso. Boonmee *et al.* (2024) evaluaron aceites esenciales de citronella (*Cymbopogon* sp.,), canela

(*Cinnamomum* sp.,), cardamomo (*Elettaria cardamomum*) y clavo (*Syzygium aromaticum*), mostrando una alta actividad acaricida en condiciones de laboratorio, sin embargo en condiciones de colmena no fueron consistentes. El aceite de clavo fue el que mayor porcentaje acaricida tuvo con un 38,10 % de eficacia, seguido por el aceite de cardamomo con un 30,10 %. Con respecto a los aceites de canela y citronella no se obtuvieron porcentajes específicos de eficacia acaricida. Los autores afirman que si bien se observó una tendencia a disminuir la población de *V. destructor* en las colonias tratadas, no fue tan significativa como en el entorno de laboratorio, sugiriendo que los factores ambientales como viento, lluvia, calor y humedad afectan la volatilidad y estabilidad de los aceites esenciales, por ejemplo las altas temperaturas aumentan la evaporación de los compuestos activos reduciendo su eficacia, mientras que las lluvias pueden diluirlos disminuyendo sus concentraciones, resultando en una menor eficacia en el control del ácaro en condiciones de campo (Boonmee *et al.*, 2024).

Un antecedente relevante para esta investigación es el estudio desarrollado por Umpiérrez *et al.* (2013), en el cual se evaluó la eficacia acaricida del aceite esencial de *Eupatorium bunnifoliun* y *Schinus molle* contra *V. destructor*. Este trabajo incluyó ensayos *in vivo* e *in vitro*, observándose una alta eficacia en laboratorio y baja a nivel de campo. Sus hallazgos y planteamientos fueron tomados como referencia para la formulación del problema y el diseño metodológico.

Como resultados esperamos que esta tesis pueda determinar la eficacia acaricida a campo de los aceites esenciales de chirca y anacahuita. Esperamos que la utilización de los aceites esenciales disminuya los niveles de infestación con *V. destructor* obteniéndose eficacias que ajustando dosis puedan ser similares a los productos comerciales.

HIPÓTESIS

Los aceites esenciales de *Eupatorium buniifolium* (Chirca) y *Schinus molle* (Anacahuita) son eficaces para el control de *Varroa destructor* en colmenas de abejas *Apis mellifera* en condiciones de campo.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar la eficacia acaricida de aceites esenciales de chirca y anacahuita para el control de *V. destructor* en abejas en condiciones de campo.

Objetivos específicos:

1. Evaluar la eficacia acaricida para el control de *V. destructor* del aceite esencial de *Eupatorium buniifolium* (Chirca)
2. Evaluar la eficacia acaricida para el control de *V. destructor* del aceite esencial de *Schinus molle* (Anacahuita)

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales utilizados:

- 48 Colonias de abejas melíferas italianas (*Apis mellifera ligustrica*).
- 48 Pisos técnicos.
- 624 Hojas de $\frac{1}{4}$ W, 180 gramos.
- 60 Kg de vaselina sólida.
- 96 mL de aceite esencial de chirca.
- 96 mL de aceite esencial de anacahuita.
- 96 tiras de cartón como vehículo de los aceites esenciales.
- 48 tiras de cartón sin producto como control negativo
- Acaricidas comerciales de síntesis, basados en flumetrina y amitraz.
- Equipos para el manejo de abejas.



FIGURA 7. Colmenas de abejas.
Fuente: Propia.

Obtención y preparación de aceites:

Los aceites de chirca y anacahuita fueron obtenidos exógenamente mediante destilación al vapor utilizando un alambique conectado a un contenedor de materia vegetal. En la Figura 8 se muestra el diagrama de flujo que se llevó adelante para obtener el aceite esencial y en la Figura 9 se muestran fotos del procedimiento llevado adelante desde la materia prima hasta el aceite esencial. Los aceites obtenidos se almacenaron en un freezer a -18°C hasta su utilización. Antes de su aplicación en las colmenas, fueron preparados siguiendo el mismo método utilizado que para los acaricidas comerciales basados en timol. Esta preparación fue realizada por el laboratorio de Ecología Química de la Facultad de Química (Udelar) para asegurar su concentración y distribución homogénea (Figura 10 A).

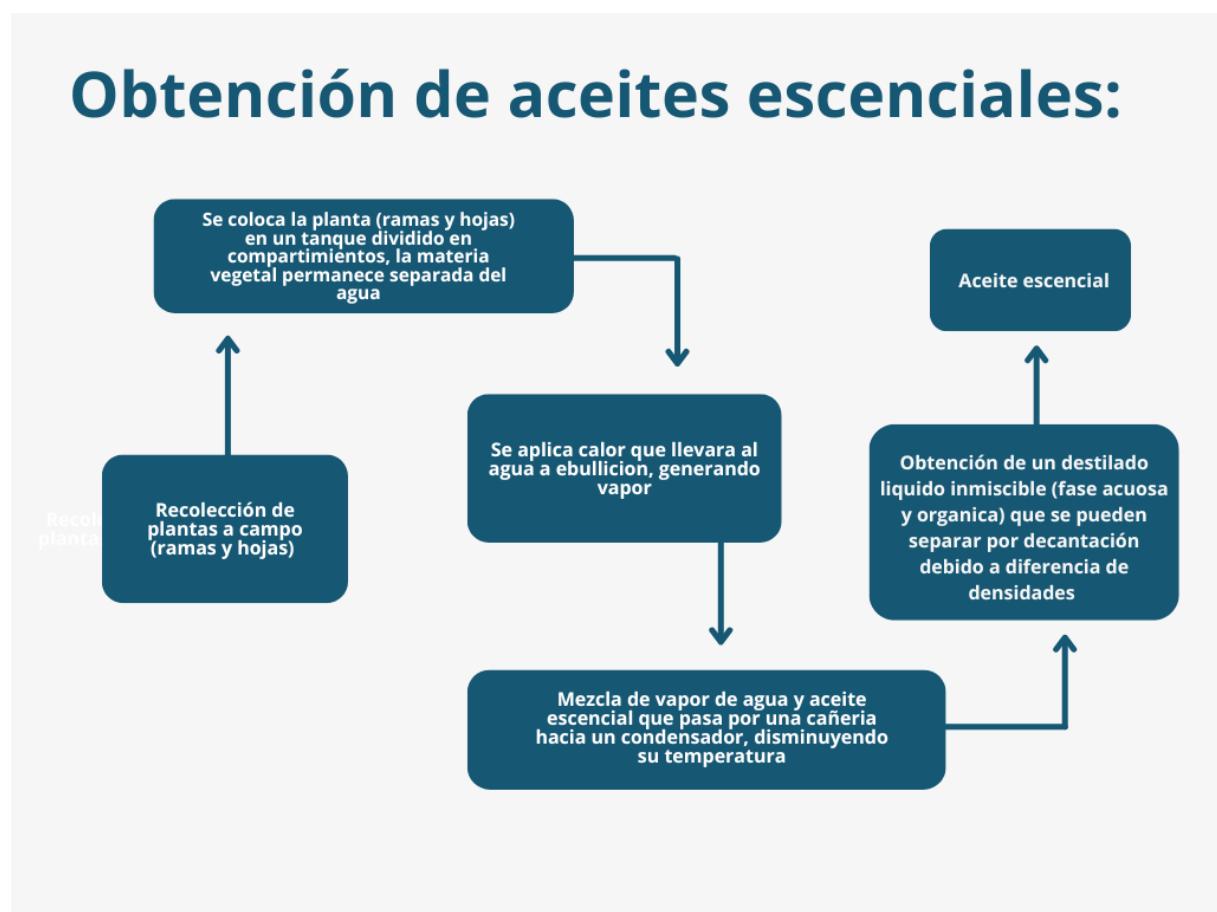


Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de obtención de aceites esenciales.

Fuente: Propia

FIGURA 9. Procedimiento para la obtención de los aceites esenciales.

	
<p>A. Recolección a campo del material vegetal.</p>	<p>B. Colocación de materia prima en tanque para proceso de destilado.</p>



C. Recipiente colector del proceso de destilación.

D. Aceite esencial.

Fuente: Fotografías de autoría propia

FIGURA 10. Preparación y colocación de la matriz con aceite esencial.



Fuente: Fotografías de autoría propia

Procedimiento experimental en las colmenas:

El trabajo se llevó a cabo en un apiario de 48 colmenas proporcionadas por la sección de apicultura de INIA La Estanzuela, Colonia. El periodo del trabajo fue en los meses de abril y mayo del 2022. Cuatro semanas antes del inicio del ensayo se llevó a cabo la estandarización de las colonias de abejas (Figura 7). Dicha estandarización se realizó según la cantidad de abejas adultas y de sus crías, con el objetivo de obtener grupos uniformes al momento de iniciar el estudio. Además se estimó el nivel de infestación por *V. destructor*, como porcentaje de ácaros foréticos. Se colocaron pisos técnicos con las hojas (“planchas”) untadas con vaselina para recolectar los ácaros caídos.

División en grupos y tratamientos: Las 48 colonias fueron divididas al azar en 4 grupos de 12 a los cuales se les aplicaron diferentes tratamientos:

- Grupo 1: Aceite esencial de chirca (8 g en 4 tiras de cartón)
- Grupo 2: Aceite esencial de anacahuita (8 g en 4 tiras de cartón)
- Grupo 3: Acaricida de síntesis comercial (tiras de flumetrina de acuerdo a las indicaciones de uso) (Control positivo)

- Grupo 4: Colmenas con matriz y tiras de cartón sin acaricidas (control negativo)

Los tratamientos se mantuvieron durante 42 días (6 semanas), durante los cuales se recolectaron las hojas con los ácaros caídos en los días 1, 3, 7, 15, 21, 33, 42 después de aplicados los tratamientos. En cada instancia, se reemplazaron las hojas con vaselina por otras nuevas (Figura 11) (Dietman *et al.*, 2013). El día 0 y el día 42 se realizó un muestreo de abejas adultas para la estimación de porcentaje de varroa forética y se estimó la población de abejas adultas.



FIGURA 11. Reemplazo de hojas con vaselina.

Fuente: Fotografías de autoría propia.

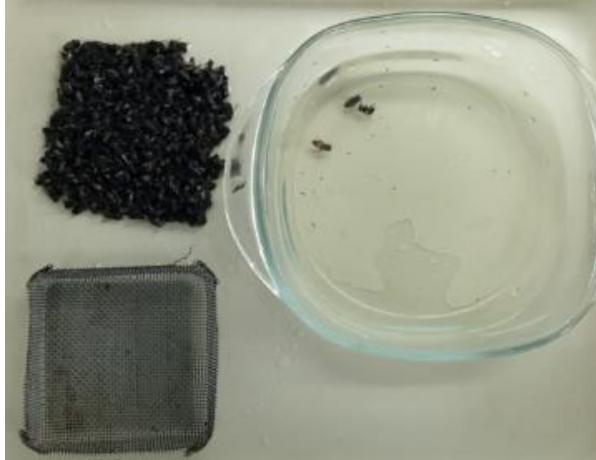
Muestreo de abejas adultas para estimación de varroa forética:

Según el protocolo propuesto por Dietemann *et al.* (2013), las abejas adultas se recolectan directamente del cuadro de cría, utilizando un recipiente con capacidad conocida, en el que se estima entran aproximadamente 200 abejas (considerando que 300 abejas ocupan un volumen de 100 mL de agua) (Figura 12. A.). Las muestras se colocan en bolsas plásticas debidamente identificadas con el número de colmena correspondiente, y se sellan, en este caso, utilizando grapas (Figura 12. B.). Una vez en el laboratorio, el contenido de cada una de las bolsas se transfiere a un recipiente con agua tibia jabonosa, el cual se agita durante 20 segundos con el fin de desprender los ácaros *V. destructor* del cuerpo de las abejas. Luego, el contenido se vierte sobre

un tamiz con aberturas de 3–4 mm para separar las abejas. Debajo de este se ubica un segundo tamiz con apertura menor a 0,5 mm, que permite retener los ácaros (Figura 12. C.). Tanto las abejas como los ácaros se enjuagan cuidadosamente con agua para facilitar su recuperación. Finalmente, se procede a contar los ácaros recolectados en el segundo tamiz.

Para estimar el porcentaje de *Varroa* forética, se divide la cantidad de ácaros encontrados entre el número de abejas en la muestra, y se multiplica por 100, obteniendo así el número de ácaros por cada 100 abejas.

Figura 12. Proceso de muestreo y estimación de varroa forética

	
A. Muestreo de abejas.	B. Abejas dentro de bolsas identificadas por número de colmena.
	C. Recipiente con agua caliente y tamiz para obtener Varroa.

Fuente: Fotografías de autoría propia.

Estimación de población de abejas adultas:

Para estimar la población de abejas adultas en una colmena, uno de los métodos comúnmente utilizados es el denominado *street counts*, descrito en *The BEEBOOK*. Se trata de un procedimiento de carácter visual y subjetivo que consiste en observar el interior de la colmena una vez retirado el techo, identificando el número de espacios o “calles” entre los cuadros que se encuentran ocupados por abejas. Se considera una “calle completa” aquella en la que al menos el 70 % del espacio visible está cubierto por abejas. La estimación de la población se obtiene contando la cantidad total de calles completas y multiplicando ese número por un coeficiente previamente establecido. En el caso de las colmenas utilizadas en Uruguay, debido a las dimensiones específicas de los marcos, dicho coeficiente es de 1250.



FIGURA 13. Estimación de la población de abejas adultas mediante el método de “street counts”

Fuente: S. Chabert (2021)

Shock de acaricidas:

Al finalizar el periodo de aplicación de los acaricidas evaluados (42 días), se aplicó un shock utilizando acaricidas sintéticos adicionales para desprender los ácaros restantes (flumetrina y amitraz en cantidad y dosis recomendada por el fabricante). Durante este proceso, también se colocaron nuevas hojas con vaselina para recoger los ácaros caídos en este periodo (Figura 13).



FIGURA 14. Hoja con vaselina recolectada luego del shock acaricida.

Fuente: Fotografías de autoría propia.

Análisis de eficacia:

En el laboratorio, se extrajeron y contaron los ácaros de las hojas (Figura 14) y se determinó la eficacia de los acaricidas utilizando la fórmula:

$$E (\%) = (vm \times 100) / (vm + vs)$$

Donde vm representa las varroas caídas durante el tratamiento y vs a las varroas sobrevivientes (las cuales caen con el shock acaricida).



FIGURA 15. Conteo de ácaros sobre hojas con vaselina.

Fuente: Fotografías de autoría propia.

Análisis de estadísticos:

Se realizaron mediante el programa “R”. Para el análisis general de la cantidad de abejas adultas en las colonias debido a que son normales y homogéneas se utilizó test Levene y ANOVA, la comparación grupo a grupo fue realizada por Scheffé. En el caso del análisis de eficacia de los tratamientos al no tener distribución normal ni homogeneidad de varianza, se aplicó Kruskal Wallis. Para las varroas se normalizó la distribución con Log_{10} entonces se trabajaron los datos como si fueran normales y homogéneos por lo que se utilizó ANOVA.

RESULTADOS

En el gráfico de barras se observa en color verde la población de abejas adultas antes de la aplicación de los tratamientos y en color azul, la población posterior a los mismos. Al comienzo del ensayo los grupos de colmenas presentaban poblaciones homogéneas de abejas adultas, con valores que oscilan entre 20.000 y 34.000 individuos, y medianas comprendidas entre 24.000 y 28.000. No se observaron diferencias significativas entre los grupos antes del tratamiento.

Los análisis de comparaciones por pares posteriores al tratamiento revelaron una reducción en la cantidad de abejas adultas en todos los grupos, siendo esta disminución significativamente mayor en los grupos de control negativo, aceite de anacahuita y aceite de chirca, en comparación con el control positivo.

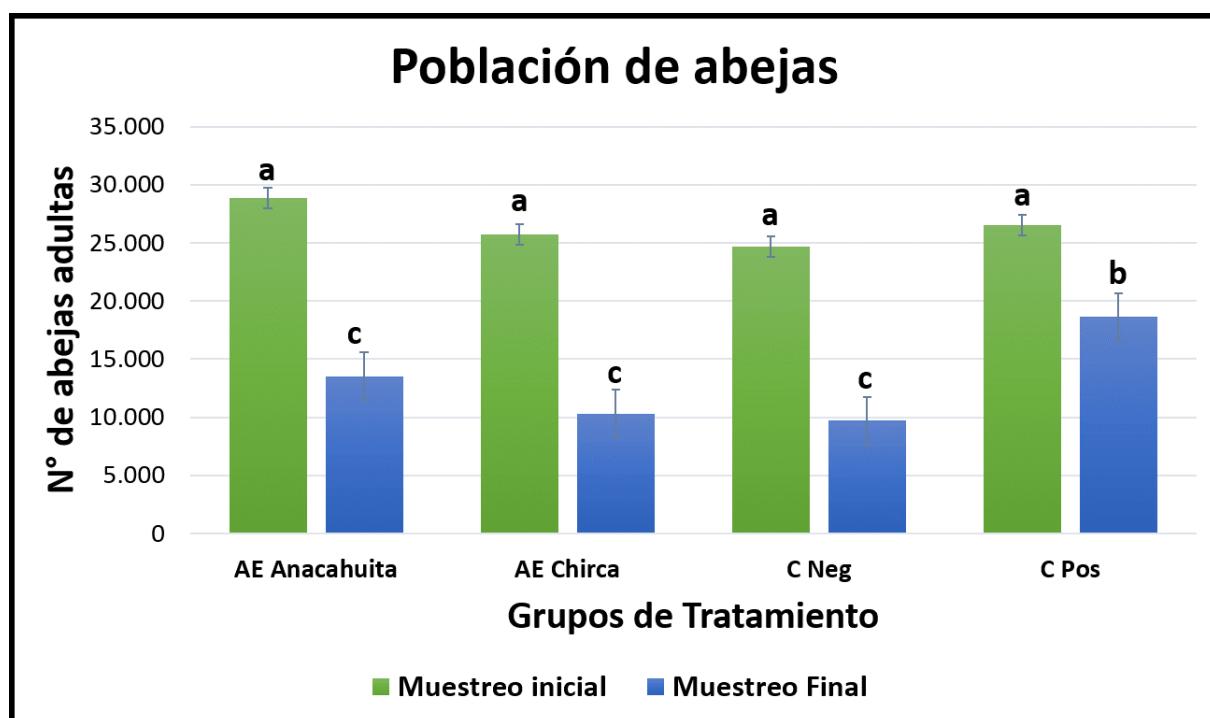


FIGURA 16. Población de abejas adultas previo y post aplicación de tratamientos

Según los resultados de los test estadísticos, las colonias de abejas no presentaban diferencias significativas entre los grupos previo al tratamiento, ya que los niveles de infestación por *V. destructor* eran similares a los tratamientos acaricidas.

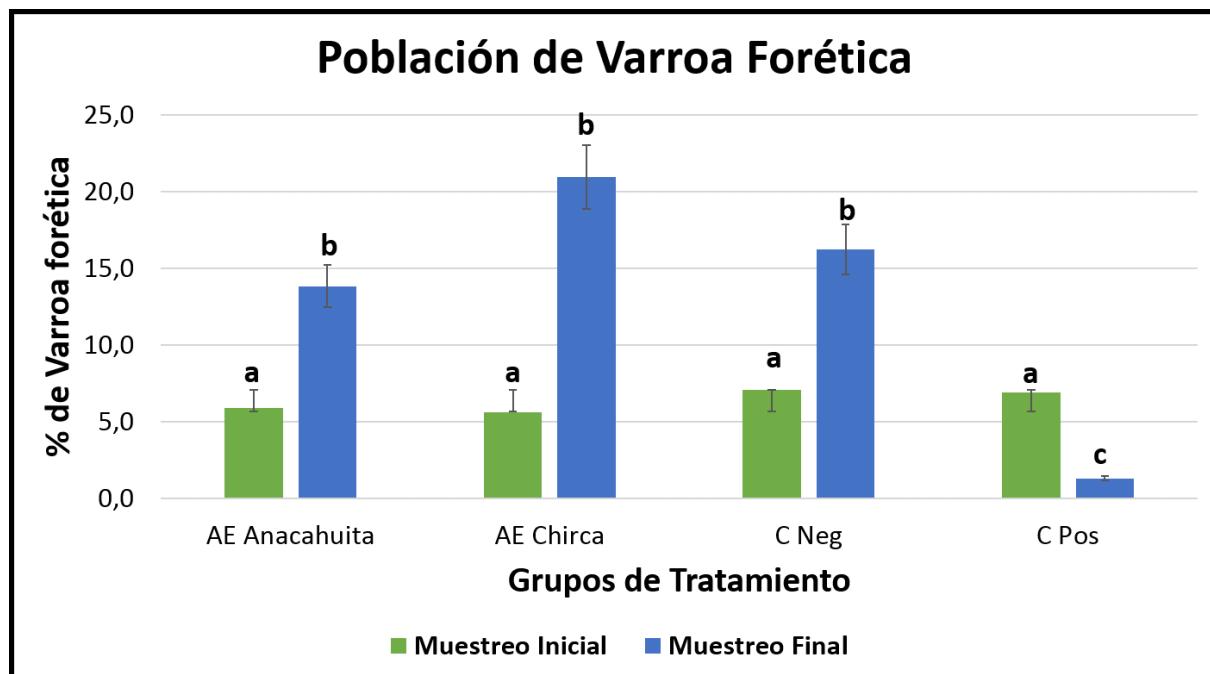


FIGURA 17. Análisis de Varroa

Tras la aplicación de los diferentes tratamientos, los niveles de infestación en las colmenas variaron considerablemente entre grupos. En las colmenas tratadas con flumetrina (control positivo), el nivel de infestación fue inferior al 2%, lo que implicó una reducción casi total de la población de ácaros. En contraste, en los demás grupos, se observó un aumento en la población de ácaros foréticos en comparación con el inicio del estudio. Las colmenas tratadas con aceite esencial de Anacahuita mostraron un incremento de aproximadamente un 7% en la población de ácaros, mientras que aquellas tratadas con aceite esencial de Chirca experimentaron un aumento del 11%. Al comparar estos dos tratamientos con las colmenas del grupo de control negativo, que tuvieron un aumento del 10% en la población de ácaros, se sugiere que la eficacia de los aceites esenciales fue limitada.

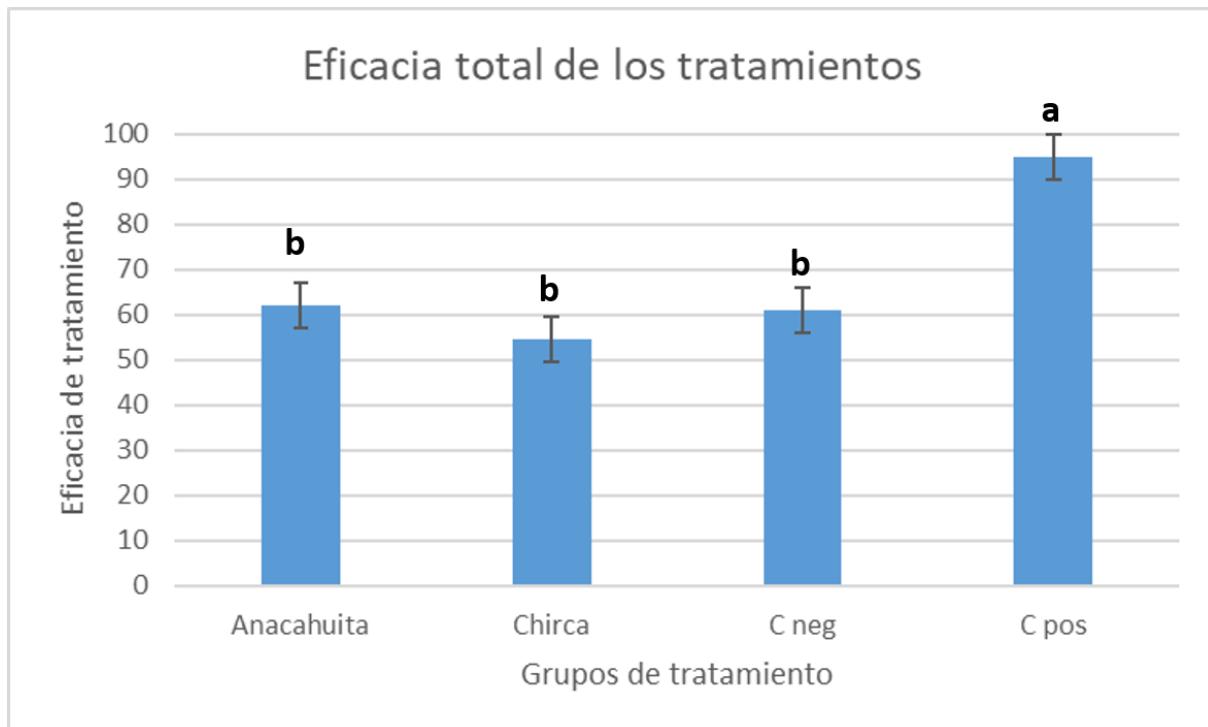


FIGURA 18. Eficacia total de los tratamientos.

En la figura 18 se observa la eficacia acumulada en el periodo del ensayo (del 18/03 al 26/04) para todos los tratamientos. La flumetrina consiguió eliminar más del 90% de los ácaros.

Se observa que Anacahuita alcanzó un 60% de eficacia acumulada al final del período, mientras que Chirca logró un 55%, siendo estas diferencias no significativas respecto al control negativo.

DISCUSIÓN

La presente discusión se fundamenta en parte en los resultados obtenidos por Umpiérrez *et al.* (2013), donde para la obtención del aceite esencial de *E. buniifolium* se utilizaron distintos tejidos de la planta para comparar su eficacia acaricida (hojas, ramas, flores). A nivel de laboratorio se observó que el mejor efecto acaricida se obtuvo del aceite esencial proveniente de las ramas de *E. buniifolium*; aunque su uso a gran escala está limitado por su bajo rendimiento en la destilación. Las hojas, aunque ligeramente menos eficaces, demostraron ser suficientemente activas contra Varroa y más accesibles para estudios posteriores. En dicho estudio, también se realizó una prueba a campo en un periodo de 21 días utilizando el aceite esencial de hojas en una emulsión acuosa con TWEEN® 20 al 2 %, aplicado sobre ladrillos de espuma floral colocados sobre los cuadros, con dos aplicaciones (4,3 g y 8,6 g por colmena). A pesar de los buenos resultados *in vitro*, la efectividad a campo fue notablemente menor, alcanzando sólo un 32 % de eficacia, frente al 93 % del ácido oxálico y el 97 % del amitraz, aunque con una muy baja toxicidad para las abejas. Nuestra investigación utilizó la combinación de hojas y ramas para intentar potenciar la actividad del aceite esencial, si bien nuestro ensayo tuvo una duración total de 42 días, al analizar los datos correspondientes al día 19, los resultados de caída de Varroa fueron comparables con los obtenidos por Umpiérrez en estudios a nivel de campo. En nuestro caso, se alcanzó una eficacia total del 55 % al finalizar el período experimental; sin embargo, al observar específicamente los valores registrados en el día 19 para establecer una comparación intermedia, se evidencia que la eficacia observada en ambos estudios es similar. En cuanto al tratamiento con anacahuita, cabe destacar que presentó una eficacia levemente superior en comparación con el aceite de chirca y con el control negativo.

En cuanto a nuestro ensayo, tras la aplicación de los tratamientos, se observó una reducción generalizada en la población de abejas adultas en todas las colmenas. Si bien las pérdidas fueron cuantitativamente distintas, el análisis estadístico post-tratamiento no reveló diferencias significativas entre los grupos tratados con aceites esenciales y el control negativo, lo que sugiere que la reducción de la población no puede atribuirse exclusivamente al efecto de los productos aplicados. Según Rueppell *et al.* (2007), la reducción en la población de abejas adultas durante el otoño se debe principalmente a una adaptación estacional, en la cual hay menos cría y recursos disponibles, además de una mayor mortalidad natural. Estos resultados indican que los aceites esenciales evaluados no generaron un impacto significativamente mayor sobre la población de abejas adultas en comparación con el grupo no tratado. Se observó una reducción en la población de abejas adultas después de los tratamientos y esta fue:

1. Similar entre ambos aceites esenciales.
2. No significativamente diferente del control negativo.

3. Significativamente menor que el control positivo.

En las colmenas tratadas con flumetrina (control positivo) se observó una mayor cantidad de cría y de abejas adultas, fenómeno que está explicado por una elevada eficacia acaricida del producto, lo que lleva a un mejor desarrollo de la colonia.

En cuanto a la eficacia acaricida de los aceites evaluados:

- El aceite esencial de Chirca alcanzó una eficacia acaricida cercana al 55% ubicándose incluso por debajo del control negativo, aunque estadísticamente no representa una diferencia significativa.
- Anacahuita alcanzó una eficacia acaricida del 60% estando por encima del control negativo pero bastante por debajo del control positivo demostrando un nivel de eficacia moderado. Como ventaja creemos que es importante destacar que se obtuvo un menor número de varroas post tratamiento, al compararlo con el control negativo y con el aceite esencial de chirca.
- Para aumentar la eficacia de los aceites esenciales estudiados, se plantea la posibilidad de realizar futuros ensayos con algunas modificaciones, tales como el incremento en las concentraciones utilizadas y el cambio de la matriz del producto para optimizar su acción acaricida. En este sentido, el uso de geles de agar como vehículo para la aplicación de aceites esenciales podría representar una estrategia experimental prometedora, ya que permitiría una liberación controlada del compuesto y un contacto prolongado con los ácaros o con las muestras biológicas, facilitando así el estudio de su efecto tóxico o repelente en condiciones controladas. Tal como señalan Giacomelli *et al.* (2015), el gel a base de timol, conocido comercialmente como Apiguard®, ha sido eficaz para el control de *Varroa destructor* en colmenas, al aplicarse sobre los cuadros de cría en bandejas que contienen el producto. Basándose en este modelo, resulta pertinente proponer nuevas investigaciones que evalúen la eficacia de estos aceites esenciales utilizando sistemas similares de liberación en gel, lo que podría ampliar las alternativas naturales para el manejo integrado de esta parasitosis.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que aunque en estos aceites no se encontraron diferencias significativas respecto al control negativo, los aceites esenciales pueden ser una alternativa promisoria para el desarrollo de tratamientos naturales y sustentables para el control de poblaciones de *Varroa destructor*. El uso combinado de hojas y ramas en la destilación del aceite de Chirca tuvo como objetivo mejorar su rendimiento y eficacia, sin lograr los resultados esperados en términos de control del ácaro. No obstante, el bajo impacto negativo de ambos aceites sobre la población adulta de abejas es un hallazgo relevante, ya que refuerza la importancia de seguir explorando alternativas fitoterapéuticas que sean respetuosas con la salud de la colonia. Estos hallazgos abren nuevas líneas de investigación orientadas a optimizar la eficacia de los aceites esenciales, ya sea mediante el aumento de concentraciones, la mejora en las matrices vehiculares del producto o la combinación con otros compuestos naturales con actividad acaricida comprobada. Además, se destaca la necesidad de incorporar estas alternativas dentro de un enfoque de control integrado del ácaro, que contemple estrategias combinadas de manejo y tratamientos, como rotación de principios activos y monitoreo constante, para evitar la aparición de resistencias y asegurar un control sostenible de la varroasis. Dado que se trata de un estudio de tipo farmacológico, consideramos que no debe limitarse a los primeros resultados obtenidos, sino que se debe profundizar a través de evaluaciones sucesivas, tanto en laboratorio como a campo, con el objetivo de validar y mejorar estas herramientas terapéuticas. Solo mediante un enfoque sistemático y continuo será posible desarrollar tratamientos alternativos viables, seguros y eficaces para la sanidad apícola.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boonmee, T., Sinpoo, C., Wongthaveethong, L., Disayathanoowat, T., Suanpoot, P., Pettis, J. S., & Chaimanee, V. (2024). Properties of essential oils absorbed on the surface of cardboard pieces after using atmospheric-pressure plasma treatments to develop long-lasting Varroa miticides in honeybees (*Apis mellifera*). *PLOS ONE*, 29(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0297980>
- Chabert, S., Requier, F., Chadoeuf, J., Guilbaud, L., Morison, N., & Vaissière, B. E. (2021). Rapid measurement of the adult worker population size in honey bees. *Ecological Indicators*, 122, 107313. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107313>
- Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S. J., Anderson, D. L., Locke, B., Delaplane, K. S., Wauquiez, Q., Tannahill, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P., & Ellis, J. D. (2013). Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1–54. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.09>
- EcoColmena. (s.f.). *Ciclo de vida de las abejas*. <https://www.ecocolmena.org/ciclo-de-vida-de-las-abejas/>
- FAO. (2021). *Libro apicultura FAO*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Giacomelli, A., Pietropaoli, M., Carvetti, A., Iacoponi, F., & Formato, G. (2015). Combination of thymol treatment (Apiguard®) and caging the queen technique to fight Varroa destructor. *Apidologie*, 37, 452–461.
- Huang, Z. Y., Duan, J., Wu, Y., & Zhang, Z. (2009). Royal jelly: A review of its biological properties and potential applications. *Journal of Apicultural Research*, 48(1), 1–10.
- Imdorf, A., Bogdanov, S., Kilchenmann, V., & Berger, T. (2006). Toxic effects of essential oils and some of their components on *Varroa destructor* Oud and *Apis mellifera* L under laboratory conditions. *ALP Science*. Swiss Federal Research Station for Animal Production and Dairy Products (ALP).
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. (2011). *Prevención de varroosis y suplementación: Manual de capacitación*. INIFAP.
- Kane, T. R., & Faux, C. M. (Eds.). (2021). *Honey bee medicine for the veterinary practitioner*. A2 Bee Vet.
- Le Conte, Y., Ellis, M., & Ritter, W. (2010). Varroa mites and honey bee health: Can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie*, 41(3), 353–363.

- Mitton, G. A., Quintana, S., Mendoza, Y., Egularas, M., Maggi, M. D., & Ruffinengo, S. R. (2021). L925V mutation in voltage-gated sodium channel of *Varroa destructor* populations from Argentina and Uruguay, with different degree of susceptibility to pyrethroids. *International Journal of Acarology*, 47(5), 374–380. <https://doi.org/10.1080/01647954.2021.1914158>
- Nazzi, F., & Le Conte, Y. (2016). Ecology of *Varroa destructor*. *Annual Review of Entomology*, 61, 417–432. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023731>
- Polaino, C. (2006). *Manual práctico del apicultor*. Cultural S.
- Ritter, W. (Ed.). (2014). Bee health and veterinarians. World Organisation for Animal Health (OIE).
- Ritter, W. (Ed.). (2014). Bee health and veterinarians. World Organisation for Animal Health (OIE).
- Rueppell, O., Bachelier, C., Fontrk, M. K., & Page, R. E. Jr. (2007). Regulation of life history determines lifespan of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Experimental Gerontology*, 42, 1020–1032. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.06.002>
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., & Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Suppl. 1), S96–S119. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>
- Umpiérrez, M. L., Santos, E., Mendoza, Y., Altesor, P., & Rossini, C. (2013). Essential oil from *Eupatorium buniifolium* leaves as potential varroacide. *Parasitology Research*, 112(9), 3265–3270. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3517-x>