

RESIDUOS DE TAU FLUVALINATO (PIRETROIDE) EN LA CERA DE LA CÁMARA DE CRÍA Y SU EFECTO SOBRE LARVAS DE ABEJAS DE LA CASTA OBRERA (*Apis mellifera* L.)

TAU FLUVALINATE RESIDUES (PYRETHROID) IN THE WAX OF THE BROOD CHAMBER AND ITS EFFECT ON LARVAE OF WORKER CASTE BEES (*Apis mellifera* L.)

Miguel Neira C.^{1*}; Carolina Kauzlarich R.¹; Gonzalo Navarro D.²; Katherine Dörner C.³ y Nimia Manquién T.¹

Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

*Autor para correspondencia (mneira@uach.cl).

²Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

³Escuela de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

ABSTRACT

Key words: worker bees, larval development, brood chamber, fluvalinate.

Since the application of tau fluvalinate to control *Varroa destructor* Anderson & Trueman negatively affects larvae of *A. mellifera*, an study was carried out to measure the damage caused by the residual presence of the chemical in the beeswax of the breeding chamber in the development of working bees larvae. First, third and fifth instars larvae were studied using three treatments (concentrations of 8, 12 and 18 ppm of the chemical) and a control (0 ppm) in Langstroth hives waxes located at the Austral University of Chile facilities (Los Ríos region). Every fifth frame of the breeding chamber was replaced with a treated one. The parameters used for evaluation where weight, size, color, scent, mortality and the final concentration of fluvalinate in beeswax. It was determined that tau fluvalinate affects the normal larval development regarding weight and size in the three stages; in both cases the fifth stage was more affected with the concentration of 18 ppm, showing less than 17.8% of the normal

RESUMEN

Palabras clave: abejas obreras, desarrollo larval, cámara de cría, fluvalinato.

Ante la aplicación de tau fluvalinato para el control de *Varroa destructor* Anderson & Trueman, se planteó que el desarrollo larvario de las abejas de la casta obrera presenta daños por la presencia residual del químico en la cera de la cámara de cría. Para comprobar esta afirmación se estudió el desarrollo del primer, tercer y quinto estadio larval utilizando tres tratamientos (concentraciones de 8, 12 y 18 ppm del químico) y un control (0 ppm) en ceras de colmenas tipo Langstroth ubicadas en instalaciones de la Universidad Austral de Chile (región de Los Ríos). En cada una de ellas, el quinto marco de la cámara de cría fue extraído y reemplazado por un marco experimental. Los parámetros evaluados fueron peso, tamaño, color, aroma, mortalidad de larvas y concentración final de fluvalinato en las ceras. Se determinó que el tau fluvalinato afecta el normal desarrollo de las larvas en relación al peso y al tamaño de los tres estadios estudiados, siendo el quinto estadio a una concentración de 18 ppm el más

weight and less than 12.2% of the normal size. The color, odor and mortality of the larvae were not affected by the chemical in any of the concentrations used, therefore the LD₅₀ of this product, for working bees, is higher than 18 ppm.. The concentration of tau fluvalinate in the wax decreased in 93% which could be caused by the dilution of the product due to wax stretching.

afectado, con un 17,8% menos de peso y un 12,2% menos de tamaño. Las características de color, aroma y mortalidad de larvas no fueron afectadas por el plaguicida en ninguna de las concentraciones utilizadas, concluyéndose que el LD₅₀ de este producto para larvas de abejas obreras es mayor a 18 ppm. La concentración final de tau fluvalinato en la cera disminuyó un 93%, atribuible a la dilución del producto por el estiramiento de la cera.

INTRODUCCIÓN

Las abejas (*Apis mellifera* L.) son consideradas insectos sociales (Neira, 1999) de metamorfosis holometábola (huevo, larva, pupa, adulto) (Moritz, 1991), los cuales contribuyen en la conservación de especies amenazadas y en la diversidad biológica por su carácter polinizador (Simó y Pellicer, 2002). Son ellas el único productor de miel, sustancia que forman a partir de la transformación de partes vivas de las plantas (FAO-WHO, 2001). La miel es un producto altamente comercializable, alcanzando su comercio mundial el año 2007 un valor de 800 millones de dólares y un volumen aproximado de 1,5 millones de toneladas (TECNOLIMPIA, 2009; Barrera, 2010).

La colonia de abejas está formada por tres castas: una única reina, obreras y zánganos (Mantilla, 2006); una colmena tiene normalmente de 30.000 a 80.000 individuos; de los cuales el 95% son obreras, las cuales son hembras más pequeñas que la reina con aparatos reproductores atrofiados, siendo, por ello, infértiles (Lesser, 2001). Ellas cumplen importantes funciones dentro de la colmena, como son la producción de jalea real, cera y veneno, elementos muy valiosos, no sólo para ellas sino también para el hombre, labores de nodriza (alimentación y crianza de larvas), construcción de celdillas, ventilación y regulación de la temperatura de la colmena, aseo y vigilancia; luego de aproximadamente 20 días de servicio interno pasa a ser abeja pecoreadora (trabajo fuera de la colmena). La duración de su vida depende de la estación del año, en verano sólo alcanza 4 a 6 seis semanas

de vida, mientras que en invierno puede llegar a 6 meses (Lesser, 2004). El desarrollo de las abejas de la casta obrera comienza con la ovispostura del huevo fecundado por parte de la reina, esta etapa (huevo) dura 3 días, luego de los cuales una larva joven eclosiona, ésta es una criatura muy simple, tiene forma de "C", es pequeña sin patas ni alas y de color blanco perlado; esta larva pasa por cinco estadios en aproximadamente 8 días, mudando su cutícula después de cada etapa y creciendo hasta ocupar completamente la celdilla. En la quinta muda se encuentra de forma vertical, estado llamado prepupa; al final de esta etapa, las abejas obreras tapan con cera todas las celdillas (operculación) (Mantilla, 2006; Sondgrass, 2006). En el estado de pupa o ninfa, la segmentación de la cabeza, tórax y abdomen es más nítida, comenzando a tomar forma de abeja adulta (Moreno, 2006). El adulto o imago, al momento de nacer, roe el opérculo en forma circular y emerge, endureciéndose su exoesqueleto al momento de entra en contacto con el aire (Sondgrass, 2006).

La producción apícola se ha visto afectada por la presencia de varios parásitos que disminuyen su producción, siendo el más importante *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Anderson y Trueman, 2000), la cual es considerada la mayor y más problemática plaga de *A. mellifera* en el mundo (Sammataro *et al.*, 2000; Sammataro y Finley, 2004), provocando no sólo pérdidas directas de producción sino que también pérdidas indirectas en la polinización de cultivos (Ledoux *et al.*, 2000). Fernández y Coineau (2002) reconocen que dentro del amplio rango de daños que el ácaro produce se destaca la disminución del peso de las

abejas adultas; acortamiento de la duración de su vida (menor longevidad); transmisión de virus a las pupas; deformación de alas y abdomen (presumiblemente por infecciones virósas), la reducción del número de zánganos y disminución de su fertilidad. De Jong (1990) afirma que *Varroa* se alimenta y reproduce en la cría de la abeja, principalmente durante los estados de larva tardía y pupa. En Chile la varroosis se ha expandido con el tiempo y hoy se encuentra presente en todas las regiones de importancia agrícola (Lesser, 2001; Hinojosa y González, 2004); UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE (2003) afirma que para las regiones de Los Ríos y Los Lagos la presencia de *Varroa* en crías de abejas supera el 75 %, mientras que en adultos esta cifra llega al 63%.

La detección, diagnóstico y control de varroosis en forma oportuna es fundamental a la hora de afrontar una infestación (Neira, 1999); existiendo para esto métodos de diagnóstico efectivos y controles químicos y no químicos. En la década del 80 en Argentina y posteriormente en Chile, se comenzaron a masificar los controles químicos de liberación lenta que permitían que el principio activo actuara durante un mayor período de tiempo dentro de la colmena y alcanzara los ácaros que van emergiendo de las celdas de cría; el ejemplo más característico son los piretroides, como el tau fluvalinato, el cual posee un buen efecto acaricida cuando se aplica en tiras plásticas entre los cuadros de la cámara de cría (Colin *et al.*, 1997). El tau fluvalinato es un insecticida del follaje y acaricida, obtenido sintéticamente usando como modelo las piretrinas, que son aisladas a partir de las flores del crisantemo, siendo los piretroides altamente lipofílicos y clasificados como una molécula moderadamente dañina. Su modo de acción está basado en cambios de permeabilidad de los canales del sodio en las membranas de las células nerviosas, causando una despolarización e hiperexcitabilidad prolongada (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 1995). La sinapsis neuromuscular de los insectos es un blanco especialmente importante para los piretroides, como también para otros insecticidas. Los signos de intoxicación con piretroides en insectos se

desarrollan rápidamente entre 1-2 minutos y son; hiperexcitabilidad, convulsiones, ataxia y descoordinación. Los cuales pueden resultar en la caída, es decir, la pérdida de la postura normal y de la locomoción (Bacci, 2005).

El uso de tau fluvalinato, por su carácter lipofílico, tiene el riesgo de contaminar los diferentes productos de la colmena (Higes, 1996), presentándose muy fácilmente en la cera, no así en la miel; sin embargo, una vez que se encuentra en la miel permanece ahí por un largo tiempo; otro riesgo que conlleva el uso sistemático de acaricidas sintéticos es la aparición de resistencia a éstos por parte del ácaro (Lodesani *et al.*, 1995; Llorente, 1994). A pesar de lo anterior, el tau fluvalinato es el ingrediente activo más utilizado por apicultores chilenos (Soto, 2002).

Los residuos de tau fluvalinato en cera son elevados a nivel nacional y cada vez que se recicla la cera de la cámara de cría (donde se colocan las tablillas) el tau fluvalinato se concentra y puede significar niveles tan altos que sean incompatibles con la vida de la larva de las abejas en la colmena. Además su presencia puede traer graves consecuencias para el desarrollo de la apicultura chilena, ya que los mercados tienen cada vez mayores exigencias respecto a la calidad de los productos de la colmena; siendo la presencia de residuos un factor limitante para la comercialización (Vit, 2005).

En la figura 1 se presenta un estudio no publicado de la Universidad Austral de Chile (2005), donde se observa que las mayores concentraciones de tau fluvalinato en cera, en el año 2004, corresponden a las Regiones Metropolitana y Sexta, ambas con 1 ppm, pero, en el año 2005 las concentraciones disminuyeron considerablemente, siendo la más alta la VII Región con 0,38 ppm. Estos resultados constituyen la primera aproximación a la situación real de residuos en cera del país.

Debido a lo expuesto anteriormente el objetivo de este trabajo es determinar si existen daños en el desarrollo larvario de *Apis mellifera* L. de la casta obrera por efecto de residuos de tau fluvalinato presentes en la cera de la cámara de cría.

MATERIAL Y MÉTODO

La presente investigación se desarrolló en tres etapas. La primera constó de la selección y el enriquecimiento con tau fluvalinato de las ceras utilizadas en terreno; la segunda del ensayo de campo para determinar la relación entre ceras fortificadas con fluvalinato y el desarrollo larval y la tercera; realizada en laboratorio, donde se midieron los posibles efectos del fluvalinato sobre características de las larvas, realizándose a la vez un estudio cromatográfico a las ceras, con el fin de medir las concentraciones finales de fluvalinato en ellas.

Fortificación de ceras con fluvalinato

Al momento de trabajar con larvas de abejas y tomando en cuenta que el LD₅₀ de tau fluvalinato para una abeja adulta es de 20-200 ppm (Milani, 1995; Fernández y Coineau, 2002), las ceras fueron fortificadas a concentraciones de 8, 12 y 18 ppm de fluvalinato; para ello se pesaron 600 g de cera en cada nivel de concentración y se le añadieron 295 µL de tau fluvalinato en 25 mL de n-hexano; 585 µL de Tau-fluvalinato en 25 mL de n-hexano y 1170 µL de Tau-fluvalinato en 25 mL de n-hexano respectivamente.

Las ceras se calentaron a baño María a 65 °C para mantenerla en estado líquido y facilitar la fortificación, luego se les inyectaron los volúmenes descritos anteriormente, dejándose enfriar. Para comprobar las concentraciones de tau fluvalinato en las ceras se realizó una cromatografía gaseosa en cada una, cuyas condiciones operacionales fueron: i) un flujo de arrastre de 2,5 mL/min; ii) un flujo de wake up de 25 mL/min; iii) una temperatura del detector de 300°C y iv) una temperatura de inyector de 250°C. Este procedimiento fue llevado a cabo en el Laboratorio de Fitoquímica, perteneciente a la Universidad Austral de Chile.

Ensayo de campo y toma de muestras

El ensayo de campo se llevo a cabo en el apiario de la Estación Experimental Santa Rosa, perteneciente a la Universidad Austral de Chile, ubicado tres kilómetros al norte de la ciudad de Valdivia; región de Los Ríos. Nissen (1974) ubica geográficamente a la Estación Experimental entre los paralelos 39° 45' 30" y 39° 47' 30" Latitud Sur y los meridianos 73° 14' 55" y 73° 13' 5" Longitud Oeste. A su vez indica que la altura del terreno oscila entre los 5 y 45 m.s.n.m, siendo el promedio 12 m.s.n.m.

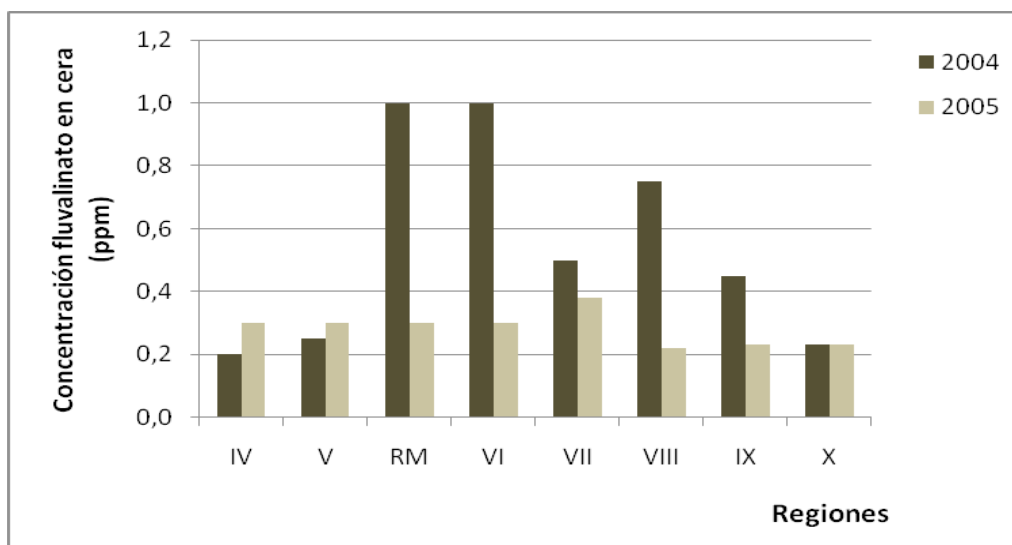


Figura 1. Concentraciones de tau fluvalinato en ceras entre las Regiones IV y X, temporadas 2004-2005. UACH (2005), no publicado.

Figure 1. Tau fluvalinate concentrations in beeswax between IV and X Regions, 2004-2005 seasons. UACH (2005); unpublished.

Este ensayo en terreno fue desarrollado durante el mes de Enero de 2007, abarcando en su totalidad 27 días y constó de la aplicación de 3 tratamientos (marcos fortificados con 8, 12 y 18 ppm de tau fluvalinato respectivamente) y un control (0 ppm del químico), con tres repeticiones cada uno, cada una de las cuales corresponde a una colmena; distribuidas al azar en el campo.

Introducción de los marcos experimentales. Cada una de las 12 colmenas del ensayo contiene una cámara, un piso, una entretapa, un techo y 10 marcos; de éstos, el quinto fue extraído y reemplazado por un marco experimental, el cual contenía cera estampada con las concentraciones de tau fluvalinato a estudiar.

El marco reemplazado fue el quinto ya que en las colmenas la cámara de cría se encuentra en el centro, pudiendo así tener oviposición de la reina. Para ello, fue necesario asegurarse que las reinas de cada colmena eran jóvenes (2500 – 3000 huevos al día). Las características que permiten distinguir a simple vista a una reina joven son: cuerpo cubierto de pelos y alas con bordes parejos (Lesser, 2001).

Mediciones y toma de muestras. Éstas se realizaron los días 1, 3 y 5 del desarrollo larval, entre las 12:00 y las 17:00 horas (evitando cambios bruscos de temperatura interior colmena – exterior. Para obtener las muestras, se recolectó, por cada marco experimental, un trozo de panal de 14 cm de largo por 4 cm de ancho, el cual se envolvió en papel absorbente

para ser trasladado a laboratorio en un bolso acondicionado con un acumulador térmico, con el fin de mantener la misma temperatura que se produce al interior de la colmena.

Análisis de laboratorio

El análisis de las muestras de terreno se realizó en el Laboratorio de Fitoquímica, perteneciente a la Universidad Austral de Chile. Los parámetros analizados sobre las larvas se detallan en el cuadro 1.

La medición de la mortalidad de larvas se realizó en el trozo de panal antes de ser cortado y llevado a laboratorio, con una aguja enmangada se pincharon al azar 10 larvas por cada lado de la cera, observando si se encontraban vivas o muertas; este valor fue corregido según la fórmula de Schneider-Orelli (Bakr, 2002).

Las variables cualitativas aroma y color fueron categorizadas según escalas nominales, el aroma se catalogó con valor 1 ácido, 3 sin olor y 5 dulce mientras que el color según la escala de la Royal Horticultural Society (RHS) (1966).

Para determinar la concentración de tau fluvalinato en la cera luego de terminado el ensayo se utilizó el método de extracción y purificación de fluvalinato a partir de cera basado en De Greef *et al.* (1994), el cual consiste en una extracción líquido-líquido en embudos de decantación, luego una dilución de la muestra en una columna de gel de silicato de magnesio florisil y posteriormente la evaporación hasta sequedad para su cuantificación final a través de cromatografía gaseosa.

Cuadro 1. Parámetros a medir en larvas de 1º, 3º y 5º estadio. Adaptado de Sondgrass (2006) y Garrido (2007).

Table 1. Parameters to be measured in 1º, 3º and 5º larvae stage. Adapted from Sondgrass (2006) y Garrido (2007).

Tipo de Variable	Parámetros	Normal día 1	Normal día 3	Normal día 5
Cuantitativa	Tamaño	2 mm	6 mm	10 mm
	Peso	0,0034 g	0,05 g	0,134 g
	Mortalidad	5 – 35%	5 – 35%	5 – 35%
Cualitativa	Color	Blanco perlado	Blanco perlado	Blanco perlado
	Aroma	Sin olor	Sin olor	Sin olor

Garrido, C (2007). Dra. Instituto de Apicultura Kirchhain. Comunicación personal.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se consideró un diseño en terreno totalmente al azar de tres tratamientos (distintas concentraciones de tau fluvalinato en cera) y un control, con tres repeticiones cada uno.

Se realizó un test de Shapiro-Wilks para comprobar la distribución normal de los resultados obtenidos y un análisis de varianza (ANDEVA) para determinar el efecto de los tratamientos aplicados; en el caso que se comprobara algún efecto significativo se aplicó un test de Tukey para determinar diferencias en las medias ($p < 0,05$). La diferencia entre las concentraciones iniciales y finales de tau fluvalinato de los tratamientos se analizaron con la prueba t de student. Se utilizó el programa computacional SPSS versión 12.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efectos del tau fluvalinato sobre el peso y tamaño de las larvas

Efectos sobre el peso de las larvas. Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 2, el cual muestra que para el primer estadio analizado no existen diferencias significativas en el peso de las larvas con las dosis de tau

fluvalinato aplicadas; el tratamiento control (0 ppm) presentó un promedio de 0,0343 g, el cual concuerda con Moreno (2006) y De Felipe y Vandame (2000) quienes catalogan pesos promedios normales de 0,034 y 0,035 g respectivamente para larvas de abejas obreras de primer estadio; la mayor diferencia obtenida fue entre el testigo y el tratamiento de 18 ppm de concentración, el cual bajó su peso en un 10%. En el tercer estadio se observan diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos (cuadro 2); estas diferencias significativas se presentan entre el tratamiento control y cada uno de los tres tratamientos restantes, además, existen diferencias entre el tratamiento 8 ppm con el de 18 ppm. El tratamiento control (0,05003 g) obtuvo valores promedios normales para larvas de tercer estadio, los cuales debieran ser de 0,055 g para Michaud *et al.* (2006) y de 0,05 g para Moreno (2006); siguiendo esta tendencia se puede afirmar que el tau fluvalinato en las concentraciones utilizadas en las ceras de la cámara de cría provoca efectos negativos en el peso de las larvas de tercer estadio. Esto concuerda con lo planteado por el SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO (2007), el cual explica que la acumulación de tau fluvalinato en la cera de abeja crea situaciones de toxicidad

Cuadro 2. Efecto de las concentraciones de tau fluvalinato sobre el peso (g) y el tamaño de las larvas de abeja en distintos estadios.

Table 2. Effect of tau fluvalinate concentrations on weight (g) and the size of bee larvae in different stages.

Peso promedio (g)	Conc. fluvalinato (ppm)			
	0	8	12	18
Estadios				
1°	0,0034 ± 0,0012 Ca	0,0033 ± 0,001 Ca	0,0032 ± 0,0008 Ca	0,003 ± 0,001 Ca
3°	0,05 ± 0,008 Ba	0,047 ± 0,007 Bb	0,0451 ± 0,008 Bbc	0,044 ± 0,007 Bc
5°	0,13 ± 0,020 Aa	0,122 ± 0,030 Ab	0,118 ± 0,010 Ac	0,107 ± 0,030 Ad
Tamaño promedio (mm)	Conc. fluvalinato (ppm)			
	0	8	12	18
Estadios				
1°	1,98 ± 0,15 Ca	1,90 ± 0,10 Cb	1,86 ± 0,09 Cb	1,85 ± 0,05 Cb
3°	6,10 ± 0,15 Ba	5,92 ± 0,03 Bb	5,83 ± 0,12 Bbc	5,78 ± 0,04 Bc
5°	10,7 ± 0,80 Aa	9,80 ± 0,20 Ab	9,50 ± 0,10 Ac	8,90 ± 0,30 Ad

*Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre estadios a una misma concentración ($p < 0,05$). Letras minúsculas indican diferencias significativas entre concentraciones de un mismo estadio larval ($p < 0,05$).

*Different capital letters indicate significant differences between stages at the same concentration ($p < 0,05$). Lowercase letters indicate significant differences between concentrations of the same larval stage ($p < 0,05$).

para larvas de primeros estadios, además de la contaminación de la miel almacenada en dichas celdillas.

Para el quinto estadio larval se observan diferencias significativas entre los pesos de las larvas bajo distintas concentraciones de tau fluvalinato, observándose una clara tendencia a la disminución a medida que aumenta la concentración del producto (cuadro 2), siendo la mayor diferencia la existente entre el tratamiento control (0 ppm) y el de 18 ppm, donde se observó una disminución del 17,8% del peso. Este resultado concuerda con lo observado en el tercer estadio, en el cual ya existía un efecto, aunque no tan evidente, del fluvalinato sobre el peso de la larva. El tratamiento control (0,1321 g) presenta valores concordantes al promedio de 0,134 g que establecen Moreno (2006) y De Felipe y Vandame (2000) para el peso de una larva de abeja en el quinto estadio u octavo día.

Efectos sobre el tamaño de las larvas.

Autores como Fernández y Coineau (2002) y Mantilla (2006) señalan que el tamaño normal de una larva obrera de primer estadio corresponde a 2 mm, siendo el tratamiento control el que obtuvo los resultados más cercano a lo normal, con un tamaño promedio de 1,976 mm (cuadro 2), no así los demás tratamientos, que obtuvieron tamaños significativamente menores, aunque iguales entre sí; esto lo anterior indica que concentraciones mayores o iguales a 8 ppm de tau fluvalinato en la cámara de cría afectan negativamente el tamaño de las larvas de primer estadio. El tamaño de larvas normal para el tercer estadio larval en abejas es de 6 mm (Montiel, 1978; Mantilla, 2006) lo cual coincide con el tratamiento control, el cual obtuvo una media de 6,097 mm (cuadro 2); las larvas de los otros tratamientos se vieron afectadas por la presencia de tau fluvalinato, presentando medias de tamaños menores al control, con una tendencia a seguir disminuyendo a medida que aumenta la concentración de este producto en la cera de la cámara de cría.

Para el quinto estadio larval Montiel (1978) y Mantilla (2006) señalan que el tamaño

promedio de una larva de abeja es de 10 mm, valor coincidente con el tratamiento control el cual presentó una longitud promedio de 10,32 mm.

En relación a los demás tratamientos, en el cuadro 2 se observan diferencias significativas entre todos los tratamientos, indicando que a mayor concentración de tau fluvalinato en la cera de la cámara de cría las larvas desarrollan tamaños menores, siendo el tratamiento que obtuvo el valor más bajo el de 18 ppm con un 12,2% menos que el control. Esto indica que el tau fluvalinato causa problemas en el tamaño de larvas de este estadio, provocando un crecimiento anormal de las larvas, obteniendo medidas menores a la normal. Lo anterior concuerda con los resultados observados en el tercer estadio, en los que el tamaño de las larvas disminuye a medida que el fluvalinato aumenta en la cera de la cámara de cría.

Mortalidad de larvas

Se ha determinado que la mortalidad natural de larvas entre los estadios 1 y 5 de abejas de la casta obrera puede variar entre un 5% y un 35% (Llorente, 2007)¹, siendo valores mayores resultado de factores externos a la vida normal de una colonia. En la figura 2 se observan los resultados de mortalidad corregida de las larvas para los tres estadios estudiados y bajo distintas concentraciones de tau fluvalinato; en ella se observan valores similares de mortalidad, sin una tendencia a la variación en el tiempo (paso de 1° a 5° estadio), manteniéndose siempre bajo los rangos definidos como normales para su etapa de desarrollo; a su vez se observa que la mortalidad en el tratamiento de 12 ppm en el tercer estadio presenta una mortalidad mayor al resto de los tratamientos, esto se atribuye a factores externos al ensayo, como irregularidades en la ventilación o humedad en las cámaras de cría. Según esto se deduce que el tau fluvalinato (en las concentraciones utilizadas) no influye en la mortalidad de las larvas de abeja entre el primer y el quinto estadio.

Para abejas adultas, en una colonia sana, la mortalidad rara vez excede el 15 % de la población, siendo las mayores causas documentadas el desprendimiento de abejas

¹ LLORENTE, J. (2007). Lic. en Veterinaria. Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación (España). Comunicación personal

desde el racimo (Graham, 1992), el hambre de las abejas durante el invierno (Herbert *et al.*, 1983) y las bajas temperaturas presentes en este período (Gould y Grant, 1988).

Efectos del tau fluvalinato sobre el color y aroma de las larvas

Según Sondgrass (2006) y Garrido (2007)² durante el primer, tercer y quinto estadio larval de las abejas (*Apis mellifera*) de la casta obrera se mantiene un color blanco perlado, no diferenciándose en ellas un olor en particular (sin olor). Estas características se mantuvieron para cada concentración de tau fluvalinato en la cera estudiada y en los tres estadios analizados con lo que se puede deducir que las concentraciones utilizadas de fluvalinato en la cera de la cámara de cría no causaron efectos adversos en el color ni en el aroma.

Concentración inicial y final de tau fluvalinato en ceras de la cámara de cría

Con el fin de evaluar la posible migración de tau fluvalinato desde las cámaras de crías se evaluó,

luego de finalizado el ensayo, la concentración de este elemento en las ceras; observándose diferencias altamente significativas entre la concentración inicial y final de tau fluvalinato para todas las concentraciones analizadas (cuadro 3) disminuyendo a un promedio del 7% de su concentración inicial; Wallner (1995) señala que la migración de tau fluvalinato desde la cera a la miel se produce desde 1 ppm de concentración.

Existen versiones dispares sobre la persistencia y degradación de los residuos de tau fluvalinato en las ceras, mientras Balayannis y Santas (1992) observaron en terreno disminuciones del 92% a 35°C (temperatura interna colmenas ensayo) y de 68% a 16°C; Wallner (1995) y Tsigouri *et al.* (2001) demostraron en ensayos de laboratorio que el tau fluvalinato es un producto estable por más de 8 meses dependiendo de su concentración inicial, pH y temperatura del medio. Tsigouri *et al.*, (2001) finalmente concluye que son necesarios más estudios para lograr esclarecer este aspecto, considerando otros factores al interior de la colmena como el

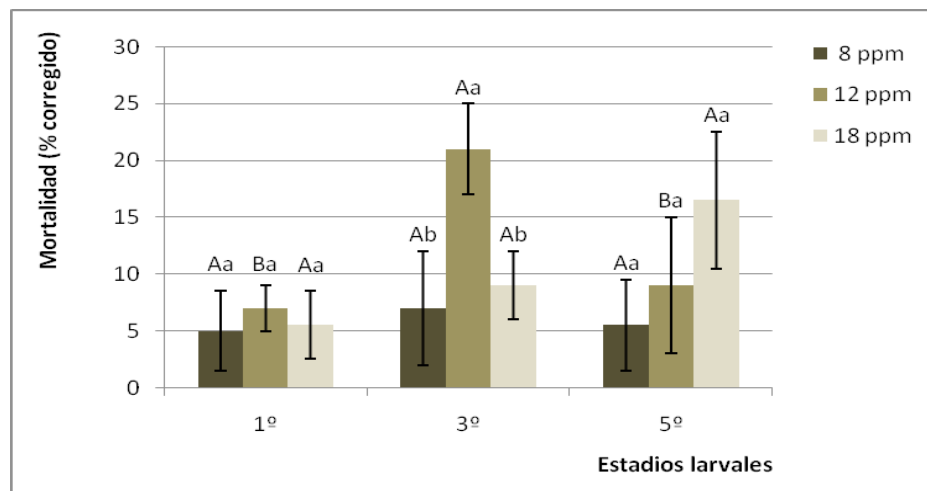


Figura 2. Mortalidad corregida de larvas en las distintas concentraciones de tau fluvalinato en cera de la cámara de cría.

*Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en distintos estadios larvales a igual concentración de tau fluvalinato ($p < 0.05$). Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas para las distintas concentraciones de fluvalinato en un mismo estadio larval ($p < 0.05$).

Figure 2. Corrected mortality of larvae in different concentrations of tau fluvalinate in wax from the brood chamber.

*Different capital letters indicate significant differences at different larvae stages in equal concentration of tau fluvalinate ($p < 0.05$). Different lowercase letters indicate significant differences for the different concentrations of fluvalinate in the same larval stage ($p < 0.05$).

²Garrido, C (2007). Dra. Instituto de Apicultura Kirchhain. Comunicación personal.

Cuadro 3. Concentraciones iniciales y finales de tau fluvalinato en las ceras de la cámara de cría.
Table 3. Initial and final tau fluvalinate concentrations in wax from the brood chamber.

Concentración cera estampada (ppm)	Disminución (%) por estiramiento	Concentración cera estirada (ppm)	Concentración término ensayo (ppm)	Concentración final fluvalinato en cera (%) (desde estiramiento)
8	66	2,6	0,260**	10,0
12	66	4,0	0,188**	4,7
18	66	6,0	0,360**	6,0

** Significativo al 0,001.

ambiente altamente lipofílico y la actividad de las abejas.

CONCLUSIONES

Los residuos de tau fluvalinato presentes en la cera de la cámara de cría causan daño en el desarrollo larvario de abejas (*Apis mellifera*) obreras, disminuyendo proporcionalmente el peso y el tamaño de las larvas a la concentración de tau fluvalinato en el medio; sin embargo, no tienen incidencia en el color, olor y mortalidad de las larvas analizadas, esto último implica que el LD₅₀ de este producto para larvas de abejas obreras es mayor a 18 ppm

La concentración de tau fluvalinato presente en la cera de la cámara de cría disminuyó en un 93% durante el ensayo, lo que se puede atribuir a dilución, migración o degradación del producto; son requeridos más estudios para sostener esta afirmación.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio fue financiado por el proyecto apícola Fondo SAG N° 64, denominado "Contribución a la sustentabilidad de la apicultura chilena, entre las regiones IV y X, a partir del monitoreo de residuos en miel y cera, para incrementar la inocuidad y competitividad de acuerdo a las exigencias de los mercados de destino".

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, D.; TRUEMAN, J. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24: 165-189.
- BACCI, M. 2005. Tratamientos y productos para el control de la varroa. Uso de piretroides. (On line). <http://www.sada.org.ar/Articulos/Tecnicos/tratamientos_y_productos.htm>. (20 jul. 2011).
- BAKR, E. 2002. Fórmula de corrección Schneider y Orelli. (On line). <<http://www.ehabsoft.com/ldpline/onlinecontrol.htm>> (18 Jul. 2011).
- BALAYANNIS, P.; SANTAS, L. 1992. Dissipation of malathion and fluvalinato residues from honey. *Journal of Apicultural Research* 3(2): 70-76.
- BARRERA, D. 2010. Comercio internacional de miel y abejas reinas de Chile. Gobierno de Chile. Oficina de Estudios y Políticas Públicas – ODEPA. 8 p.
- COLIN, M., VANDAME, R., JOURDAN, P.; DI PASQUALE, S. 1997. Fluvalinate resistance of *Varroa jacobsoni* (Acari:Varroidae) in Mediterranean apiaries of France. *Apidologie* 28: 375-384.
- DE FELIPE, M.; VANDAME, R. 2000. Curso de capacitación sobre control alternativo de varroa en la apicultura Edición 2.2. Tapachula, México. (On line) <http://www.beekeeping.com/articulos/control_varroa/curso2.htm> (3 abr. 2011).
- DE GREEF, M., DE WAEL, L.; VAN LAERE, O. 1994. The determination of the fluvalinate residues in the Belgian honey and beeswax. *Apiacta* 29: 83-87.
- DE JONG, D. 1990. Mites: Varroa and Other Parasites of brood. In: Morse, R.; Nowogrodski, R. (eds.) *Honey Bee Pest, Predators, and Diseases*. USA, Comstock. Cornell University Press. pp:

- 201-300.
- EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS, (EMA). 1995. Committee for veterinary medicinal products. Tau-fluvalinate. Revised summary report (On line). <<http://www.emea.eu.int/pdfs/vet/mrls/002195r1.pdf>> (17 Jul. 2011).
- FAO – WHO. 2001. *Codex Alimentarius*. Texto abreviado. Roma. Italia. 459 p.
- FERNANDEZ, N.; COINEAU, Y. 2002. Varroa. El verdugo de las abejas. Conocerla bien para combatirla mejor. Paris, Francia. Atlántica. 239 p.
- GOULD, J.; GRANT, C. 1988. The honey bee. New York, USA. Freeman and Company. 239 p.
- GRAHAM, J. 1992. The Hive and the Honey Bee. Michigan, USA. Bookcrafters Chelsea. 1324 p.
- HERBERT, E., SHIMANUKI, H.; ARGANER, R. 1983. Effect of feeding pollen substitutes to colonies of honey bees (Hymenoptera : Apidae) exposed to Carbaryl. *Entomological Society of America*. 12 (3): 758-762.
- HIGES, M. 1996. Tratamientos alternativos en la lucha contra la varroa. En: XV FERIA Apícola. Castilla- La Mancha, España. 130 p.
- HINOJOSA, A.; GONZÁLEZ, D. 2004. Prevalencia de parásitos de *Apis mellifera* L en colmenares del secano costero e interior de la VI Región, Chile. *Parasitología latinoamericana* 59 (3-4): 137-141.
- LEDoux, M.; PERNALL, S.; HIGO, H.; WINSTON, M. 2000. Development of a bioassay to test the orientation behaviour of the honey bee ectoparasite, *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* 39 (1-2): 47-54.
- LESSER, R. 2004. Manual de apicultura moderna. 4ª ed. Santiago, Chile. Universitaria. 143 p.
- LESSER, R. 2001. Manual de apicultura moderna. 3ª ed. Santiago, Chile. Universitaria. 213 p.
- LODESANI M., COLOMBO, M.; SPREAFICO, M. 1995. Ineffectiveness of Apistan® treatment against the mite *Varroa jacobsoni* Oud. In several districts of Lombardy (Italy). *Apidologie* 26(1): 67-72.
- LLORENTE, J. 1994. Tratamiento químico contra la *Varroa jacobsoni*. Perspectivas futuras en el control de la varroasis. En: XIII FERIA Apícola. Castilla- La Mancha. Pastrana, España. 130 p.
- MANTILLA, C. 2006. Castas y ciclos de vida de la abeja. (On line). <<http://virtual.unal.edu.co/cursos/sedes/medellin/b4040/lecciones/cap01/1-.html>> (25 Jul. 2011).
- MICHAUD, B.; SAINT, D.; DE BERDOULOU, C. 2006. Los otros productos de la colmena. (On line) <<http://www.lunedemiel.tm.fr/espagnol/05.htm>> (24 Jun. 2011).
- MILANI, N. 1995. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to pyrethroids: a laboratory assay. *Apidologie* 26: 415-429.
- MONTIEL, J. 1978. Varroosis en abejas. Dirección Nacional de Fiscalización y Comercialización Ganadera. Secretaria de Estado de Agricultura y Ganadería. Bs. As. Argentina. 30 p.
- MORENO, A. 2006. Manual control de enfermedades apícolas (descripción diagnóstico y tratamiento). Red Nacional Apícola. Chile. 54 p.
- MORITZ, R. 1991. Manual del apicultor aficionado. Editorial Martínez Roca S.A. Madrid, España. 139 p.
- NEIRA, M. 1999. Apicultura. In: Amtmann, C; Mujica, F y Vera, B. (eds). Pequeña agricultura en la región de Los Lagos, Chile. Valdivia, Universidad Austral de Chile. pp: 261-295.
- NISSEN, J. 1974. Estudio agroecológico del predio experimental Santa Rosa. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 47 p.
- ROYAL HORTICULTURAL SOCIETY (RHS). 1966. The colour chart. London, Inglaterra.
- SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO. 2007. Informe de venta de plaguicidas de uso agrícola en Chile. Año 2007. Servicio agrícola y ganadero, Gobierno de Chile. 110 p.
- SAMMATARO, D.; FINLEY, J. 2004. Observations of the ectoparasitic bee mite *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) cells infected with chalkbrood (*Ascosphaera apis*). *Journal of Apicultural Research* 43 (1): 28-30.
- SAMMATARO, D.; GERSON, U. y NEEDHAM, G. 2000. Parasitic Mites of Honey Bees: Life History, Implications and Impact. *Annual Review of Entomology* 45: 519-548.
- SIMÓ, E.; PELLICER, J. 2002. Las abejas de miel y la polinización. Universidad de Valencia (On line). <http://www.uv.es/metode/anuario2002/72_2002.html> (20 Jul. 2011).
- SONDGRASS, E. 2006. Anatomía de la abeja melífera. Informe técnico. (On line) <<http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/anatomia/inftotal.pdf>> (13 Jul. 2011).
- SOTO, V. 2002. Niveles de infestación del ácaro *Varroa destructor* Anderson & Trueman, (Acari: Varroidae) en abejas adultas y crías de obreras

- en 67 explotaciones apícolas de la IX Región de la Araucanía, Chile. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias agrarias. 101 p.
- TECNOLIMPIA. 2009. Manual de Mejores Técnicas Disponibles para el Sector Productor de la Miel. Consejo Nacional de Producción Limpia. Gobierno de Chile. Santiago, Chile. 194 p.
- TSIGOURI, A.; MENKISSOGLU - SPIROUDI, U.; THRASYVOULOU, A. 2001. Study of tau-fluvalinate persistence in honey. *Pest Management Science* 57: 467 – 471.
- UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE (UACH). 2003. Informe técnico final. Proyecto Apícola Fondo SAG n° 71. 14 p.
- UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE (UACH). 2005. Proyecto Apícola Fondo SAG n° 64. Informe técnico financiero período: 16 de marzo al 15 de julio 2005. Datos no publicados.
- VIT, P. 2005. Productos de la colmena secretados por las abejas: Cera, jalea real y veneno. Caracas, Venezuela. *Cielo* 34(2): 32-39.