

Eficacia del humo de frutos de *Guazuma ulmifolia* (Sterculiaceae) y vapores de timol para el control de *Varroa destructor* infestando abejas africanizadas

William de Jesús May-Itzá ^a

Luis Abdelmir Medina Medina ^{a*}

^a Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Apicultura, Yucatán, México.

* Autor de correspondencia: mmedina@correo.uady.mx

Resumen:

Se evaluó la eficacia del humo de los frutos secos de *Guazuma ulmifolia* y los vapores de timol en el control del ácaro *Varroa destructor* infestando colonias de abejas africanizadas (*Apis mellifera*) de Yucatán. Se utilizaron tres tratamientos: Grupo 1 (G1), las colonias de abejas recibieron 5 a 8 bocanadas de humo de los frutos secos de *G. ulmifolia* dos veces por semana, durante un período de tres semanas; Grupo 2 (G2), las colonias recibieron 4-8 g de cristales de timol con tres aplicaciones cada siete días, y Grupo 3 (G3 o grupo control) las colonias no recibieron ningún tratamiento durante las tres semanas del experimento. Se colectaron 200 a 300 abejas adultas de cada colonia previo a la aplicación de los tratamientos (día 0) y a los 7, 14 y 21 días después de las aplicaciones, con la finalidad de determinar los niveles de infestación y eficacia de los tratamientos. Los resultados indican que los niveles de infestación de *V. destructor* en las abejas adultas disminuyeron al final del experimento (21 días) y fueron estadísticamente diferentes para los tres tratamientos, siendo menor para G2. La eficacia al final de los tratamientos fue de 41 y 69 %, para G1 y G2, respectivamente. Estos resultados corroboran que la aplicación de cristales de timol es una alternativa para el control del ácaro *V. destructor* en Yucatán, y que la aplicación del humo de los frutos secos de *G. ulmifolia* reduce los niveles de infestación de este parásito en comparación con las colonias que no recibieron ningún tipo de tratamiento (G3).

Palabras clave: *Guazuma ulmifolia*, Timol, Control alternativo, *Varroa destructor*, Abejas africanizadas, *Apis mellifera*.

Recibido: 14/03/2018

Aceptado: 08/08/2018

El ácaro *Varroa destructor*⁽¹⁾, continúa siendo uno de los principales problemas sanitarios a los que se enfrenta la actividad apícola a nivel mundial, representando una seria amenaza para esta actividad, al afectar el desarrollo, sobrevivencia y productividad de las colonias de *Apis mellifera* destinadas a la producción de miel^(2,3) y a la polinización de cultivos agrícolas⁽⁴⁾.

V. destructor es un parásito externo que afecta a las pupas y abejas adultas causando una reducción del peso corporal de las obreras al momento de su emergencia y de su longevidad durante su etapa adulta⁽⁵⁾. Colonias de abejas que presentan altos niveles de infestación por esta parasitosis presentan también un incremento en la incidencia de enfermedades causadas por virus, principalmente el virus de las alas deformes, el cual es transmitido por las hembras de *V. destructor* durante su proceso de alimentación en las pupas y abejas adultas, ocasionando que las colonias infestadas disminuyan su población y producción de miel y cuando la población de ácaros se incrementa exponencialmente, se registra mortalidad de las colonias de abejas^(2,6). En Europa y Estados Unidos de América, *V. destructor* continúa ocasionando pérdidas en las colonias manejadas y es considerado uno de los factores asociados al colapso y mortalidad masiva de las colonias de abejas, fenómeno conocido como el desorden del colapso de las colonias^(2,7), lo que ha impactado negativamente los servicios de polinización que las abejas melíferas brindan a los diversos cultivos agrícolas⁽⁸⁾.

En México, se ha observado que cuando las colonias infestadas por *V. destructor* no reciben algún tipo de tratamiento o método de control, los niveles de infestación se incrementan ocasionando una reducción en la producción de miel⁽⁹⁾ y su asociación con otras enfermedades ocasiona el colapso y mortalidad de las colonias de abejas⁽¹⁰⁾.

Con la finalidad de evitar los efectos negativos que este parásito ocasiona a las colonias de abejas, los apicultores han recurrido al uso de diversos métodos de control incluyendo la aplicación de productos químicos autorizados y elaborados a base de piretroides⁽³⁾, así como la aplicación de productos no autorizados como el uso de polvos, ungüentos y tabletas elaborados artesanalmente, y que no están autorizados para su aplicación en las abejas y que son elaborados con acaricidas como el amitraz, bromopropilato y coumafos, los cuales

incrementan los riesgos de contaminar la miel y otros productos obtenidos de las colonias de abejas⁽¹¹⁾ incrementando también el riesgo de su rechazo en el mercado internacional.

Debido a esta problemática, diversos productos de origen vegetal como el timol obtenido de la planta *Thymus vulgaris* (Lamiaceae)^(12,13) y el mentol obtenido principalmente de las especies *Mentha arvensis* y *Mentha piperita* (Lamiaceae)^(14,15), así como los ácidos orgánicos como el fórmico y oxálico^(12,16), han sido utilizados en el control alternativo de *V. destructor*, los cuales presentan diversas ventajas como una eficacia aceptable en presencia de cría, fácil aplicación, menor riesgo de contaminar la miel, cera, polen y otros productos obtenidos de las colonias bajo tratamiento, además de una reducida probabilidad de que las varroas generen resistencia hacia estos productos alternativos⁽³⁾ en comparación con los acaricidas comerciales elaborados principalmente a base de piretroides⁽¹⁷⁾.

Actualmente, los apicultores yucatecos de las comunidades rurales han reportado el uso de diversos productos de origen vegetal para controlar las infestaciones del ácaro *V. destructor*, señalando resultados aceptables para algunas regiones de Yucatán. Información reciente recibida de apicultores yucatecos a través de la Secretaría de Desarrollo Rural del Gobierno del estado de Yucatán (SEDER - Yucatán), señalan que para controlar esta parasitosis en sus colonias de abejas utilizan los frutos secos del árbol de *Guazuma ulmifolia* (*pixoy* en maya; Sterculiaceae) como combustible en el ahumador apícola y la aplicación el humo de este fruto ha sido suficiente para controlar las infestaciones por varroa en sus colonias de abejas, ya que mencionan no haber utilizado otros productos comerciales o métodos de control. Sin embargo, esta información requiere ser evaluada en colonias experimentales con protocolos de investigación que avalen los resultados señalados por los apicultores yucatecos, con la finalidad de que la información generada pueda contribuir al control alternativo del ácaro *V. destructor* en las colonias de abejas a través de un fruto disponible en las comunidades rurales de Yucatán. En este contexto, se evaluó la eficacia de los frutos secos de *G. ulmifolia*, utilizados como combustible en el ahumador apícola, así como también se evaluó la eficacia de los cristales de timol obtenido de la planta *T. vulgaris*, que también es ampliamente utilizado en la región como control alternativo del ácaro *V. destructor* infestando colonias de abejas africanizadas (*Apis mellifera*) bajo condiciones de la apicultura campesina en Yucatán. El estudio se realizó en un apiario experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, donde las colonias de abejas son manejadas bajo condiciones similares a las realizadas por apicultores de la región dedicados a la producción de miel.

El apiario experimental está ubicado en la localidad de Xmatkuil a 15.5 km de la ciudad de Mérida, Yucatán (20° 52' N, 89° 36' O), presentando un tipo de clima cálido sub-húmedo con lluvias en verano (Awo), con una precipitación pluvial promedio anual de 985 mm, temperatura promedio anual de 26.8 °C y humedad relativa promedio anual del 78 %⁽¹⁸⁾. En esta región, las floraciones más importantes como fuentes de néctar y polen para las colonias

de abejas, lo constituyen el tajonal (*Viguiera dentata*) que florece entre los meses de enero a febrero y el Tzitzilché (*Gymnopodium floribundum*) que florece durante los meses de febrero a mayo⁽¹⁹⁾. Bajo estas condiciones, las colonias de abejas presentan áreas de cría durante todo el año, con un mayor pico entre los meses de febrero a mayo⁽²⁰⁾.

Las colonias de abejas del apiario experimental son mantenidas en colmenas tipo Langstroth y para este estudio se utilizaron colonias que se encontraban alojadas en una caja (solo cámara de cría) o en dos cajas (cámara de cría y un alza), las cuales fueron distribuidas de manera similar entre los tratamientos. Todas las colonias contaban con reinas africanizadas fecundadas naturalmente, estaban fuertemente pobladas con abejas adultas cubriendo al menos 8 de los 10 panales presentes en la cámara de cría y contenían un número similar de panales con cría en diferentes etapas (huevos, larvas y pupas), miel y polen. Adicionalmente, todas las colonias se encontraban infestadas naturalmente con el ácaro *V. destructor* sin recibir ningún tipo de tratamiento o método de control por al menos seis años previos al presente estudio.

Antes de iniciar las evaluaciones, se realizó un diagnóstico preliminar para determinar los niveles de infestación del ácaro *V. destructor* en las abejas adultas en todas las colonias del apiario, con la finalidad de que los grupos experimentales presenten niveles de infestación similares al inicio de las evaluaciones.

La evaluación de los productos alternativos para el control de *V. destructor*, se realizó durante un período de tres semanas, y las colonias de abejas se dividieron en tres grupos experimentales, los cuales fueron:

Grupo 1 (G1): con 12 colonias de abejas (10 colonias con cámara de cría y un alza y 2 colonias solo cámara de cría) que recibieron bocanadas de humo de los frutos secos de *G. ulmifolia*, utilizando este fruto como combustible en el ahumador apícola, y se aplicaron de 5 a 8 bocanadas de humo en cada colonia dos veces por semana durante un período de tres semanas. Al momento de su aplicación, los frutos secos de *G. ulmifolia* fueron colocados en el ahumador apícola a una cantidad acorde con la capacidad del mismo (220 g de frutos secos) y las colonias se abrieron aplicando el humo en la piquera o entrada de la colonia y entre los panales de la cámara de cría (colonias simples) o en la última alza (colonias dobles) variando de 5 a 8 bocanadas de humo de acuerdo a la respuesta defensiva de las abejas de manera similar a lo realizado en una revisión rutinaria de las colonias de abejas, y posteriormente la colmena fue cerrada nuevamente.

Grupo 2 (G2): con un total de 10 colonias de abejas (9 colonias con cámara de cría y un alza y 1 colonia solo cámara de cría) que recibieron de 4 g (colonias con cámara de cría) a 8 g (colonias con cámara de cría y un alza) de cristales de timol (pureza del 96.8 %), con tres aplicaciones con intervalos de siete días, de manera similar a lo realizado por Vicario y

Medina⁽¹⁶⁾. Para su aplicación, los cristales de timol se colocaron en tapas desechables de plástico (250 ml) protegidas por una malla de alambre para evitar que las abejas retiren los cristales de timol de la colonia, lo que reduciría su eficacia. Finalmente, las tapas de plástico con los cristales de timol se introdujeron en la entrada de la colmena (piquera) con la ayuda de un alambre que permitía introducirla o retirarla fácilmente.

Grupo 3 (G3): con 12 colonias de abejas (10 colonias con cámara de cría y un alza y 2 colonias solo cámara de cría) a las cuales no se les aplicó ningún tipo de tratamiento o método de control durante el mismo período de evaluación de la eficacia de los frutos secos de *G. ulmifolia* y los cristales de timol, y este grupo se consideró como grupo control o testigo.

Para determinar la eficacia de los frutos secos de *G. ulmifolia* y de los cristales de timol en el control del ácaro *V. destructor*, se colectaron muestras de abejas adultas (200-300 abejas) de los panales de cría en cada una de las colonias experimentales. Las muestras de abejas adultas se colectaron de cada colonia experimental antes de la aplicación de los tratamientos (día 0) y a los 7, 14 y 21 días después de la aplicación de cada tratamiento. Las muestras de abejas adultas (y los ácaros que las infestan), se conservaron en frascos con alcohol al 80%, identificando las muestras de acuerdo a la fecha, número de colonia y grupo experimental al que pertenecía.

En el laboratorio, las muestras de abejas adultas se colocaron en recipientes de plástico invertidos y se agregó alcohol etílico al 80% (250 ml) hasta cubrir completamente a las abejas. Seguidamente, las muestras se sometieron a una agitación mecánica a 180 rpm durante 30 min y al finalizar la agitación, el alcohol se filtró a través de una tela de color blanco, en el cual quedaron retenidos los ácaros para su registro. Con esta metodología se logra desprender la totalidad de los ácaros del cuerpo de las abejas y se determinó el nivel de infestación (%) en las abejas adultas (% IAA) de cada grupo experimental de acuerdo a lo descrito por De Jong *et al*⁽²¹⁾:

$$\% \text{ IAA} = (\text{no. de ácaros} / \text{no. de abejas}) \times 100$$

La eficacia de los frutos secos de *G. ulmifolia* y de los cristales de timol, se determinó al final de las tres aplicaciones (21 días) en base a los niveles de infestación del ácaro en las abejas adultas de acuerdo a la fórmula sugerida por Floris *et al*⁽²²⁾:

$$E = 1 - (A \times D / B \times C) \times 100.$$

Donde E= Eficacia del tratamiento; A= nivel de infestación del ácaro en el grupo control (G3) antes (día 0) de la aplicación del tratamiento (G1 o G2); B= nivel de infestación del ácaro en el grupo control (G3) después (día 21) de la aplicación del tratamiento (G1 o G2); C= nivel de infestación del ácaro en el grupo bajo tratamiento (G1 o G2) antes de iniciar su

aplicación (día 0); D= nivel de infestación del ácaro en el grupo bajo tratamiento (G1 o G2) después de la aplicación del tratamiento (días 7, 14 o 21).

Los niveles de infestación del ácaro *V. destructor* posterior a la aplicación de cada tratamiento (G1 y G2) así como del grupo control (G3), se compararon estadísticamente a través de un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y la prueba de comparación múltiple de Tukey al 95%, utilizando el programa Statgraphics Centurion versión XV⁽²³⁾, y los datos expresados en porcentaje (% infestación) fueron transformados a arcoseno (transformación angular)⁽²⁴⁾. Los resultados indicaron que antes de iniciar las evaluaciones (día 0), los niveles de infestación del ácaro *V. destructor* en las abejas adultas fueron similares y no significativos ($F= 0.00$; g.l. 2,31; $P= 0.99$) para los tres grupos experimentales siendo de 13.5 ± 5.8 %, 13.3 ± 3.2 % y 13.4 ± 3.9 % para los grupos G1, G2 y G3, respectivamente (Cuadro 1), lo que señala una distribución similar de los niveles de infestación en las colonias experimentales para los tres grupos.

Cuadro 1: Niveles de infestación de *V. destructor* en abejas adultas (%) para los tres grupos experimentales previo (día 0) y posterior (días 7, 14 y 21) a la aplicación de los tratamientos

| | Grupo 1 (pixoy) | Grupo 2 (timol) | Grupo 3 (control) |
|--------|---------------------|--------------------|----------------------|
| Día 0 | 13.5 ± 5.8^a | 13.3 ± 3.2^a | 13.4 ± 3.9^a |
| Día 7 | 8.8 ± 2.8^a | 10.9 ± 3.8^a | 12.7 ± 5.5^a |
| Día 14 | $7.7 \pm 2.9^{a,b}$ | 6.4 ± 3.3^a | 12.0 ± 6.3^b |
| Día 21 | 5.2 ± 2.4^a | 2.8 ± 1.4^b | 8.8 ± 3.8^c |

a,b Literales diferentes entre columnas, indican diferencias significativas al nivel del 5%.

A los siete días de la primera aplicación del humo de los frutos secos y de los cristales de timol, los niveles de infestación descendieron para 8.8 ± 2.8 % y 10.9 ± 3.8 % para G1 y G2, respectivamente, mientras que para G3 los niveles fueron del 12.7 ± 5.5 %, sin diferencias significativas entre los tres tratamientos ($F= 2.57$; g.l. 2,31; $P= 0.09$). Para la tercera y última aplicación (21 días) del humo de los frutos secos de *G. ulmifolia* y de los cristales de timol, los niveles de infestación de *V. destructor* descendieron a 5.2 ± 2.4 %, 2.8 ± 1.4 % y 8.8 ± 3.8 % para los grupos G1, G2 y G3, respectivamente, los cuales fueron significativamente diferentes entre los tres tratamientos ($F= 13.73$; g.l. 2,31; $P=0.0001$).

Durante la primera semana de aplicación de los tratamientos, la eficacia fue de 32 y 14 % para los grupos G1 y G2, respectivamente, y para la segunda semana de aplicación la eficacia se incrementó a 36 % para el humo de *G. ulmifolia* y 47 % para los cristales de timol (Cuadro 2). Al final de las tres aplicaciones (21 días), la eficacia de ambos tratamientos fue del 41 y 69 % para G1 y G2, respectivamente.

Cuadro 2: Eficacia estimada (%) de la aplicación del humo de los frutos secos de pixoy (*G. ulmifolia*) y de los cristales de timol (*T. vulgaris*) en el control de *V. destructor* posterior a la aplicación de cada tratamiento

| Tratamiento | Día 7 | Día 14 | Día 21 (final) |
|-------------|-------|--------|----------------|
| Pixoy (G1) | 32 | 36 | 41 |
| Timol (G2) | 14 | 47 | 69 |

Se puede observar que el humo de los frutos secos de *G. ulmifolia* presentó una eficacia media en el control de la varroosis y redujo significativamente los niveles de infestación al final de las tres aplicaciones en comparación con las colonias del grupo control (G3) que no recibieron ningún tipo de tratamiento (Cuadro 1). De manera similar, en el grupo de colonias que recibieron cristales de timol para controlar los niveles de infestación de *V. destructor*, la infestación se redujo significativamente en comparación con G1 y G3, con un nivel de infestación de 2.8 % en las abejas adultas y una eficacia final del 69 % (Cuadros 1 y 2).

Estos resultados señalan que la aplicación frecuente del humo de *G. ulmifolia*, puede contribuir a disminuir los niveles de infestación del ácaro *V. destructor* en las colonias de abejas melíferas cuando se utiliza de manera rutinaria en el apiario como combustible para generar humo durante el manejo de las colonias. Por otro lado, la eficacia del humo de los frutos secos de *G. ulmifolia* aun cuando presentó una eficacia media del 41 % en el control de *V. destructor*, ésta fue superior a la eficacia registrada con otros productos orgánicos comerciales como el Hive-Clean® elaborado con ácidos orgánicos (fórmico, cítrico y oxálico), extracto de propóleos, aceites esenciales y jarabe de azúcar, el cual ha sido evaluado bajo condiciones tropicales y con abejas africanizadas⁽²⁵⁾, presentando una baja eficacia (16.7 %) en comparación con la reportada para el mismo producto (91.6 %) bajo condiciones de clima templado (Polonia) y con abejas de origen europeo⁽²⁶⁾. Adicionalmente, se observó que la aplicación del humo de *G. ulmifolia* en las colonias no tuvo efecto negativo en la mortalidad de abejas adultas o sus crías o en la repelencia de las abejas adultas.

Los resultados demuestran también que en las colonias de abejas africanizadas que recibieron cristales de timol para el control de esta parasitosis, los niveles de infestación del ácaro

disminuyeron desde la primera hasta la última semana de su aplicación y la eficacia final obtenida (69 %) fue la mayor para los tres grupos experimentales. Este resultado es similar a lo reportado en otros estudios donde se ha comparado la eficacia de los cristales de timol, timol en gel⁽¹³⁾ y ácido fórmico⁽¹⁶⁾, señalando que este aceite esencial es una opción válida para el control alternativo de *V. destructor* en colonias de abejas africanizadas (*Apis mellifera*) bajo condiciones ambientales de Yucatán.

El grupo testigo o control, también presentó una reducción de los niveles de infestación del ácaro durante el período experimental (reducción de 13.4 a 8.8 %); sin embargo, esta reducción en los niveles de infestación fue menor a lo registrado en los tratamientos G1 y G2. Una disminución natural de los niveles de infestación de varroa en las abejas adultas sin la aplicación de productos o métodos de control, puede ser resultado de la dinámica poblacional del ácaro en las colonias de abejas conocido como “efecto de dilución” del parásito, que se observa cuando se incrementa la fortaleza de la población de abejas por la disponibilidad de recursos alimenticios en épocas de floración, aumentando el número de abejas de la colonia, por lo que la población de ácaros se diluye entre los individuos de la colonia resultando en un menor nivel de infestación en las abejas adultas⁽²⁷⁾.

El control del ácaro *V. destructor* por medio de productos de origen vegetal es más recomendable en comparación con los acaricidas convencionales a base de piretroides u otros productos químicos como el coumafos que se utilizan en la elaboración artesanal de tablitas y ungüentos, los cuales presentan el riesgo de dejar residuos en la miel⁽²⁸⁾ además de que los ácaros generan resistencia hacia estos productos químicos⁽²⁹⁾.

En este sentido, diversos aceites esenciales extraídos de diferentes plantas han sido evaluados como potenciales insecticidas que pueden ser utilizadas en el control alternativo de ciertos parásitos⁽³⁰⁾. Para *G. ulmifolia*, no existen reportes de su uso como acaricida en abejas, sin embargo, se ha demostrado que los extractos alcohólicos de las hojas de esta planta presentan una toxicidad en larvas del mosquito *Aedes aegypti* causando una mortalidad del 35 %⁽³¹⁾. Adicionalmente, se ha reportado⁽³²⁾ la presencia de ciertos compuestos fitoquímicos en esta especie vegetal que tienen una actividad potencial en el control de diversos insectos y ácaros que afectan a guajolotes domésticos (*Meleagris gallopavo*). En este contexto, la experiencia señalada por los productores apícolas de Yucatán, sugieren que el uso continuo de los frutos secos de esta planta como material de combustible en el ahumador ha sido suficiente para controlar la varroosis en sus colonias de abejas de manera similar a lo registrado en el presente trabajo, considerando también que los apicultores no han utilizado ningún otro producto para controlar esta parasitosis.

Se puede concluir que el humo de los frutos secos de *G. ulmifolia* representa al igual que los cristales de timol, una alternativa para el control del ácaro *V. destructor* en colonias de abejas africanizadas de Yucatán. Para ello, se recomienda utilizar los frutos secos de este árbol como

combustible en el ahumador y de acuerdo a la experiencia de los apicultores yucatecos, estos frutos deben ser colectados cuando se vayan secando naturalmente desde el árbol y se utilizan como combustible durante las revisiones de rutina que se realizan en las colonias de abejas. Es importante señalar que el humo no resultó irritante para las abejas ni para el apicultor, no dejó aroma en los panales y tampoco afectó la postura de la reina, lo cual representa una ventaja de este fruto como material de combustible para el ahumador apícola.

Agradecimientos

El proyecto fue financiado por la Secretaria de Desarrollo Rural (SEDER) del Estado de Yucatán. Los autores agradecen el apoyo logístico del Ing. Máximo Francisco Paredes Rodríguez (SEDER) y el apoyo técnico de campo y laboratorio de la M en C. Ligia B. Martín Sosa.

Literatura citada:

1. Anderson DL, Trueman JWH. *Varroa jacobsoni* (Acari:Varroidae) is more than one species. *Exp Appl Acarol* 2000;24:165-189.
2. Genersch E, von der Ohe W, Kaatz H, Schroeder A, Otten C, Buchler R, *et al.* The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie* 2010;41(3):332–352.
3. Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. Biology and control of *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol* 2010;103:S96–S119.
4. Glenny W, Cavigli I, Daughenbaugh KF, Radford R, Kegley SE, Flenniken ML. Honey bee (*Apis mellifera*) colony health and pathogen composition in migratory beekeeping operations involved in California almond pollination. *PLoS ONE* 2017;12(8):e0182814.
5. Bowen-Walker PL, Gunn A. The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. *Entomol Exp Appl* 2001;101(3):207-217.
6. Di Prisco G, Annoscia D, Margiotta M, Ferrara R, Varricchio P, Zanni E, Nazzi F, Pennacchio F. A mutualistic symbiosis between a parasitic mite and a pathogenic virus undermines honey bee immunity and health. *Proc Natl Acad Sci* 2016;113:3203-3208.
7. McMenamin AJ, Genersch E. Honey bee colony losses and associated viruses. *Curr Opin Insect Sci* 2015;8:121–129.
8. Furst MA, McMahon DP, Osborne JL, Paxton RJ, Brown MJF. Disease associations between honeybees and bumblebees as a threat to wild pollinators. *Nature* 2014;506:364–366.

9. Medina Flores, CA, Guzman-Novoa E., Arechiga-Flores CF, Aguilera-Soto JI, Gutierrez-Piña FJ. Efecto del nivel de infestación de *Varroa destructor* sobre la producción de miel de colonias de *Apis mellifera* en el altiplano semiárido de México. Rev Mex Cienc Pecu 2011;2(3):313-317.
10. Medina LM, Vicario ME. The presence of *Varroa jacobsoni* mite and *Ascosphaera apis* fungi in collapsing and normal honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Yucatan, Mexico. Am Bee J 1999;139:794-796.
11. Bogdanov S. Contaminants of bee products. Apidologie 2006;37(1):1-18.
12. Espinosa-Montaña L, Guzmán-Novoa E. Eficacia de dos acaricidas naturales, ácido fórmico y timol, para el control del ácaro *Varroa destructor* de las abejas (*Apis mellifera* L.) en Villa Guerrero, Estado de México, México. Vet Mex 2007;38(1):9-19.
13. May-Itzá W de J, Medina LM, Marrufo OJC. Eficacia de un gel a base de thymol en el control del ácaro *Varroa destructor* que infesta colonias de abejas *Apis mellifera*, bajo condiciones tropicales en Yucatán, México. Vet Mex 2007;38(1):1-8.
14. Imdorf A, Charriere JD, Maquelin C, Kilchenmann V, Bachofen B. Alternative *Varroa* control. Am Bee J 1996;136(3):189-193.
15. Islam N, Amjad M, Ehsan-ul-Haq, Stephen E, Naz F. Management of *Varroa destructor* by essential oils and formic acid in *Apis mellifera* Linn. colonies. J Entomol Zool Stud 2016;4(6):97-104.
16. Vicario E, Medina LM. Uso del ácido fórmico y timol en el control del ácaro *Varroa jacobsoni* en Yucatán, México. Resultados preliminares [resumen]. XIII Seminario Americano de Apicultura. Morelia, Mich. 1999:35-38.
17. Milani, N. Management of the resistance of *Varroa* mites to acaricides. En: Delaplane KS, Webster T. editores. Mites of the honey bee. Hamilton, USA. Dadant and Sons; 2001:241-250.
18. Orellana LR, Espadas MC, Nava MF. Climas. En: Durán R, Méndez M. editores. Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatán. Yucatán, México: CONABIO-SEDUMA; 2010:10-11.
19. Alfaro BRG, Ortiz DJJ, Gonzalez AJA. Plantas melíferas: melisopalinología. En: Durán R, Méndez M. editores. Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatán. Yucatán, México: CONABIO-SEDUMA; 2010:346-348.
20. Echazarreta CM, Paxton R. Comparative colony development of Africanized and European honey bees (*Apis mellifera*) in lowland neotropical Yucatan. Mexico. J Apic Res 1997;36:89-103.
21. De Jong D, De Roma A, Goncalves L. Comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honey bees. Apidologie 1982;13(3):297-306.

22. Floris I, Cabras A, Garau VL, Minelli EV, Satta A, Troullier J. Persistence and effectiveness of pyrethroids in plastic strips against *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and mite resistance in a Mediterranean Area. *J Econ Entomol* 2001;94:806-810.
23. Statgraphics® Centurion XV User Manual. Warrenton Vir, USA: Statpoint Tech. Inc. 2006.
24. Zar JH. Biostatistical analysis. 3rd ed. New Jersey, USA: Prentice-Hall Int.; 1996.
25. Rodríguez-Dehaibes SR, Pardo SV, Luna-Olivares G, Villanueva-Jimenez JA. Two commercial formulations of natural compounds for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) control on Africanized bees under tropical climatic conditions. *J Apic Res* 2017;56(1):58-62.
26. Howis M, Nowakowski P. *Varroa destructor* removal efficiency using BeeVital Hive Clean preparation. *J Apic Sci* 2009; 53: 15–20.
27. Martin, S. *Varroa jacobsoni*: monitoring and forecasting mite populations within honey bee colonies in Britain. London, UK: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 1998.
28. Wallner K, Fries I. Control of the mite *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Pestic Outlook* 2003;14(2):80-84.
29. Kanga LHB, Adamczyk J, Marshall K, Cox R. Monitoring for resistance to organophosphorus and pyrethroid insecticides in varroa mite populations. *J Econ Entomol* 2010;103:1797-1802.
30. Zoubiri S, Baaliouamer A. Potentiality of plants as source of insecticide principles. *J Saudi Chem Soc* 2014;18:925-938.
31. de Mendonça FAC, da Silva KFS, dos Santos KK, Junior KALR, Sant'Ana AEG. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia* 2005;76:629-636.
32. López-Garrido SJ, Jerez-Salas MP, García-López JC, Jiménez-Galicia MM, Ávila-Serrano NY, Sánchez-Bernal EI, Arroyo-Ledezma J, Camacho-Escobar MA. Uso de extractos de árboles para controlar exoparásitos de guajolotes (*Meleagris gallopavo*) *Acta Universitaria* 2016;26(6):15-23.