

## NOTA TÉCNICA

### Efecto del ácido oxálico, ácido fórmico y coumaphos sobre *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) en colonias de abejas

Javier A. Vásquez-Castro<sup>1</sup> Mélica Narrea-Cango<sup>2</sup>  
Julio C. Bracho-Pérez<sup>2</sup>

*Varroa destructor* (Anderson & Trueman, 2000) es la plaga más importante de la abeja doméstica *Apis mellifera* L. en muchas regiones del mundo (ANDERSON & TRUEMAN 2000). Este acaro es un ectoparásito obligatorio que se alimenta de hemolinfa de larvas, pupas y adultos de la abeja, ocasionando el debilitamiento y muerte de la colonia (BÜCHLER 1994). *Varroa destructor* es una especie recientemente descrita, previamente mal identificada como *Varroa jacobsoni* (Oudemans) (ANDERSON & TRUEMAN 2000).

En el Perú, los daños ocasionados por este acaro son importantes, llegando a perderse en el año de 1985 cerca de 10.000 colonias de abejas, lo que representó una disminución de 20 % de la producción nacional de miel (DÁVILA *et al.* 1988). Para controlar esta plaga, algunos acaricidas organosintéticos fueron desarrollados por varias compañías químicas. Sin embargo, el uso intensivo de estos productos ocasionó problemas de resistencia del parásito (MILANI 1999) y contaminación de productos apícolas con residuos de acaricidas (WALLNER 1999). En los últimos años, algunos ácidos orgánicos, tales como el oxálico (IMDORF *et al.* 1997, GREGORC & PLANING 2002, NANETTI *et al.* 2003, GREGORC & POKLUKAR 2003) y el fórmico (BRACEY & FISHER 1989, CLARK 1994, FELDLAUFER *et al.* 1997, CALDERONE 2000) han sido bastante estudiados con el objetivo de determinar su potencial como agentes de control del acaro varroa. A pesar de la importancia de *V. destructor* en nuestro país, pocos estudios se han hecho con relación al control de este acaro, por tal motivo se realizó la presente investigación con el objetivo de estudiar la eficacia del ácido oxálico, ácido fórmico y coumaphos en su control.

El presente estudio se realizó en las instalaciones del apiario de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), Lima, Perú, durante julio y agosto 2000. La temperatura y humedad relativa registradas durante el experimento fueron en promedio 16 °C y 93 %, respectivamente. Fueron seleccionadas 12 colonias de *A. mellifera* infestadas con *V. destructor*. Las colmenas utilizadas fueron del tipo estándar americana, constituidas por un alza y 10 panales con abundante cría operculada y reserva alimenticia, además de varios millares de obreras y una reina joven. Todas las colonias fueron alimentadas con solución azucarada y complemento de miel y polen durante la estación otoñal, a fin de uniformizar el vigor de las mismas. Es importante señalar que el uso de acaricidas organosintéticos en el apiario de la UNALM es poco frecuente. Los ácaros fueron recolectados en lámina de cartulina plastificada, que fue embadurnada con vaselina inodora para fijarlos a la superficie de colecta. Sobre la lámina fue colocada una malla plástica, evitando así que las abejas retirasen las varroas colectadas. Este dispositivo fue colocado sobre el piso de cada colmena, y su manipulación para efecto de las evaluaciones fue realizada desde la piquera, a fin de perturbar lo menos posible la colonia. Después de realizada cada evaluación, se procedió a limpiar y embadurnar la superficie de colecta antes de introducirla a la colmena.

Cada colonia recibió uno de los cuatro tratamientos estudiados: 1) ácido oxálico; 2) ácido fórmico (Apicenter Varroa); 3) coumaphos (Perizin®); y 4) sin aplicación (testigo). Fue disuelto 1,25 g de ácido oxálico en 25 ml de solución azucarada (dos partes de azúcar por una de agua). Esta solución acaricida fue aplicada sobre los cabezales de los marcos de la colmena, realizándose un total de tres aplicaciones con intervalo de cuatro días. El ácido fórmico fue experimentalmente formulado como gel y embalado en envases de polietileno por la empresa Apicenter SRLtda. Un envase conteniendo 230 g de producto formulado fue colocado sobre los cabezales de los marcos. Para permitir la liberación de vapores del ácido fórmico, se realizó un corte en forma de "X" sobre el embalaje del producto, el mismo que permaneció al interior de la colmena durante los 15 días que duró el tratamiento. El coumaphos fue utilizado a una concentración de 2 % de producto comercial, para lo cual se diluyó 1 ml de Perizin® en 50 ml de solución azucarada. Esta solución acaricida fue aplicada sobre los cabezales de los marcos, realizándose un total de dos aplicaciones con intervalo de siete días. El testigo no recibió aplicación alguna.

<sup>1</sup> Departamento de Entomología y Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Agraria La Molina. Apartado 456, Lima-100, Perú. E-mail: jaque@lamolina.edu.pe; mnarrea@hotmail.com

<sup>2</sup> Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria La Molina. Apartado 456, Lima-100, Perú. E-mail: jbracho@lamolina.edu.pe

Con la finalidad de calcular la población total de varroas en cada colmena, al décimo quinto día se procedió dos tiras conteniendo flualinato (Apistan®), que permanecieron al interior de la colmena por 15 días. La evaluación de los tratamientos consistió en contar el número de varroas muertas sobre la superficie de colecta. El conteo fue diario durante la primera quincena y cada cinco días durante la segunda quincena del experimento. La mortalidad fue calculada dividiendo el número total de ácaros recolectados durante el tiempo que duraron los tratamientos (23 julio a 7 agosto) entre el número total de ácaros recolectados durante todo el experimento (23 julio a 22 agosto). El diseño experimental utilizado fue completamente randomizado (DCR), con cuatro tratamientos y tres repeticiones. Debido a la alta mortalidad de ácaros en el tratamiento testigo, los porcentajes de mortalidad original fueron corregidos a través de la fórmula de ABBOTT (1925) y tales valores transformados a  $\text{are sen } \sqrt{\text{TX}/100}$  a fin de ser sometidos al análisis de variancia (Test F). Los promedios de los tratamientos fueron comparados a través del Test de Tukey ( $P < 0,05$ ) para lo cual se utilizó el programa estadístico SANEST®.

El efecto de tratamientos sobre la mortalidad del acaro fue significativo ( $F = 18,62$ ;  $g1 = 2, 6$ ;  $P < 0,05$ ). El ácido fórmico fue el tratamiento más eficaz, controlando 64,62 % de los ácaros; el ácido oxálico ocupó el segundo lugar con 36,87 % de eficacia y el coumaphos el tercer lugar con 16,08 % de control, aunque sin diferir estadísticamente del ácido oxálico (Tabla 1). La mortalidad natural registrada en el testigo fue 26,11 %. El ácido fórmico presentó el mayor efecto acaricida durante los seis primeros días de tratamiento; después, la eficacia disminuyó gradualmente (Figura 1). Esto se debió principalmente al comportamiento de las abejas de sellar con propóleo las aberturas del envase, con lo que impidieron la liberación normal del ácido fórmico. Esto hace suponer que las abejas rechazan el ácido orgánico, por lo que resulta de gran importancia determinar el efecto del ácido fórmico sobre las abejas, además de experimentar otros tipos de embalaje más eficaces en la liberación de vapores. Problema similar reportaron CALDERONE & NASR (1999) cuando las abejas sellaron con propóleo 30 % de los orificios de liberación del ácido fórmico; sin embargo, los autores consideran que este comportamiento puede variar con el tiempo y con el genotipo de abeja. Otros factores que impidieron la mayor eficacia de este producto fueron las condiciones ambientales propias de la estación invernal. La temperatura relativamente baja y la humedad ambiental elevada impidieron una adecuada volatilización y dispersión del ácido fórmico; en

ese sentido se observó una relación inversa entre la humedad relativa y la mortalidad de ácaros durante los quince días que duró el tratamiento (Figura 1), es decir, que a mayor humedad relativa la eficacia del producto disminuyó. Con relación a las condiciones ambientales, BRACEY & FISCHER (1989) obtuvieron alta eficacia del ácido fórmico a temperaturas entre 28 y 40 °C, mientras Calderone & Nasr (1999) registraron mediana eficacia a la temperatura promedio de 12 °C. Además de estos inconvenientes, las colonias tratadas presentaron una alta población de cría operculada; sin embargo, la eficacia del ácido fórmico fue aceptable, por lo que sospechamos que los vapores del ácido ingresaron a muchas de las celdas operculadas, controlando a los ácaros localizados en su interior. Esta hipótesis se fundamenta en los trabajos de FRÍES (1991), CALIS *et al.* (1998) y EGUARAS *et al.* (2001,2003), quienes observaron alta mortalidad de ácaros al interior de las celdas operculadas de colonias tratadas con ácido fórmico.

El ácido oxálico fue medianamente eficaz en el control de *V. destructor*. Creemos que esto se debió principalmente a dos factores, primero el rechazo de las abejas a la solución acaricida, siendo apenas consumida parcialmente, afectando así la eficacia del producto que por ser de acción sistémica necesita ser ingerido por la abeja para causar la muerte de parásito; y en segundo lugar la alta población de cría operculada durante el tratamiento, lo que posibilitó la sobrevivencia de los ácaros localizados al interior de las celdas. En ese sentido, GREGORC & PLANIC (2002) registraron eficacias de 25 y 97 % en colonias con y sin cría operculada, respectivamente. La alta población de estados inmaduros de abeja no es común en la estación invernal, ocurriendo en este caso particular por el constante suministro de solución azucarada y complemento de miel y polen, lo que estimuló la oviposición de la reina. Con base en estas observaciones, sugerimos aplicar el ácido oxálico en colonias con poca cantidad de cría operculada, además de experimentar otras formas de aplicación a fin de estimular el consumo de este producto por las abejas.

El coumaphos resultó ser ineficaz en el control del parásito. Este producto, al igual que el ácido oxálico, es de acción sistémica, por lo que uno de los motivos de tal ineficacia fue la alta población de cría operculada durante el tratamiento. A diferencia del ácido oxálico, el coumaphos fue totalmente consumido por las abejas, lo que hace sospechar la ocurrencia de un problema de resistencia del parásito a este acaricida. La resistencia al coumaphos ya fue detectada en diferentes poblaciones de varroa en Europa (MILANI & DELLA VEDOVA 1996) y

Estados Unidos (ELZEN & WESTERVELT 2002), por lo que resulta importante realizar estudios de resistencia de *V. destructor* al coumaphos, con el objetivo de establecer un programa de manejo de la resistencia, a fin de retardar o revertir este problema, según sea el caso.

Un resultado interesante • fue la alta mortalidad natural registrada en el tratamiento testigo. Creemos que una de las causas de esta mortalidad fue el "acicalamiento", un mecanismo de defensa de la colonia por el que las operarias localizan los parásitos sobre las abejas adultas, mordidiéndolos y eliminándolos. Este mecanismo de defensa fue observado inicialmente en *Apis cerana* Fabr. (PENG *et al.* 1987) y posteriormente en diferentes razas de *A. mellifera* (BÜCHLER 1994, HARBO & HOOPINGARNER 1997, FLORES *et al.* 1998, CORREA-MARQUES *et al.* 2002). La mortalidad natural sumada a la producida por los tratamientos químicos proporcionó niveles de control elevados. Sin embargo, esta observación es insuficiente para concluir que exista tolerancia de nuestras colonias a la varroa, ya que no se evaluó el porcentaje de ácaros lesionados. En ese sentido, considerando que las abejas de raza africana y las criollas africanizadas son altamente tolerantes a *V. destructor* (BOOT *et al.* 1995, MORETTO & LEÓNIDAS 2003) y que muchas de las colonias de abejas en nuestro país tienen algún grado de africanización (PÉREZ *et al.* 2002), resulta entonces importante estudiar la tolerancia de colonias a este parásito. Finalmente, consideramos que el éxito en el control de *Varroa destructor* dependerá del adecuado manejo de las colonias de abejas y de la integración de las diferentes tácticas de control dentro de un contexto de manejo integrado de plagas.

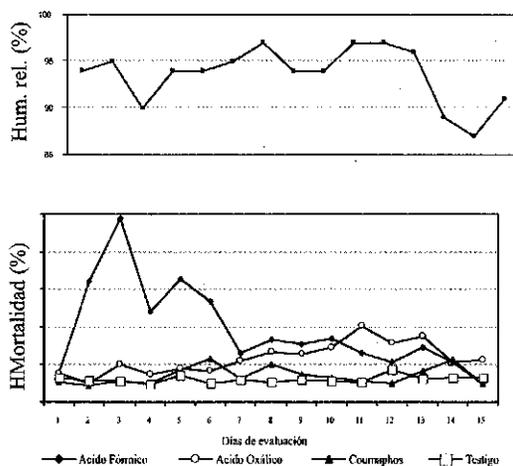


FIGURA 1.- Mortalidad diaria de *Varroa destructor* y humedad relativa ambiental.

TABLA 1.- Eficacia del ácido fórmico, ácido oxálico y coumaphos en el control de *Varroa destructor*.

Tratamiento	Eficacia (%) <sup>1</sup>
Acido fórmico	64,62a <sup>2</sup>
Acido oxálico	36,87b
Coumaphos	16,08b
DMS (Tukey)	26,49
CV (%)	24,94

<sup>1</sup> Valores seguidos de la misma letra no difieren entre sí por el Test de Tukey (P<0,05).

<sup>2</sup> Promedios transformados en arco seno  $\sqrt{TX/100}$ , donde X es el número de ácaros.

*Agradecimientos.- Agradecemos el apoyo logístico del Ing. AMADEO CABALLERoy del Técnico CARLOS LAPA.*

#### Literatura

- Abbott WS. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. econ. Ent.* 18: 265-267.
- Anderson D, Trueman JWH. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp. appl. Acarology* 24:165-189.
- Boot J, Baalen M, Sabelis MW. 1995. Why do varroa mites invade worker brood cells of the honey bee despite lower reproductive success? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 36: 283-289.
- Bracey S, Fischer F. 1989. Initial results of the field treatment of honey bee colonies infested with *Varroa jacobsoni* using formic acid in hot climates. *Amer. Bee J.* 129: 735-737.
- Büchler R. 1994. *Varroa* tolerance in honey bees occurrence, characters and breeding. *Bee World* 75: 54-70.
- Calderone NW. 2000. Effective fall treatment of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) with a new formulation of formic acid in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the Northeastern United States. *J. econ. Ent.* 93: 1065-1075.
- \_\_\_\_\_, Nasr M. 1999. Evaluation of a formic acid formulation for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in a temperate climate. *Ibid.* 92: 526-533.
- Calis J, Beetsma J, Boot JW, van den Eijnde J, de Ruijter A, van der Steen JJM. 1998. Control of varroa by combining trapping in honey bee worker brood with formic acid treatment of the capped brood outside the colony: putting knowledge on brood cell invasion into practice. *J. apic. Res.* 37:205-215.
- Clark A. 1994. Control of varroa mites in British Columbia with either formic acid or apistan. *Amer. Bee J.* 134: 829.
- Correa-Marques MH, de Jong D, Rosenkranz P, Goncalves LS. 2002. *Varroa*-tolerant Italian honey bees introduced from Brazil were not

- more efficient in defending themselves against the mite *Varroa destructor* than camiola bees in Germany. *Genet. molec. Res.* 1(2): 153-158.
- Dávila M, Ortiz VI, Martínez PP, Risco M. 1988. Ensayo sobre control de *Varroa jacobsoni* en colmenas de Lima. *Rev. per. Ent.* 30: 74-76.
- Eguaras M, del Hoyo M, Palacio MA, Ruffinengo S, Bedascarrasbure EL. 2001. A new product with formic acid for *Varroa jacobsoni* Oud. control in Argentina. *I. Efficacy. J. vet. Med.* 48:11-14.
- Eguaras M, Palacio MA, Faverin C, Basualdo M, del Hoyo ML, Velis G, Bedascarrasbure E. 2003. Efficacy of formic acid in gel for varroa control in *Apis mellifera* L.: importance of the dispenser position inside the hive. *Vet. Parasit.* 111: 241-245.
- Elzen PJ, Westervelt D. 2002. Detection of coumaphos resistance in *Varroa destructor* in Florida. *Amer. Bee J.* 142: 291-292.
- Feldlaufer MF, Pettis JS, Kochansky P, Shimanuki H. 1997. A gel formulation of formic acid for the control of parasitic mites of honey bees. *Ibid.* 137: 661-663.
- Flores JM, Ruiz JA, Ruz JM, Puerta F, Campano F, Padilla F, Bustos M. 1998. El grooming en *Apis mellifera* ibérica frente a *Varroa jacobsoni* Oud. *Arch. Zoot.* 47: 213-218.
- Fries I. 1991. Treatment of sealed honey bee brood with formic acid for control of *Varroa jacobsoni*. *Amer. Bee J.* 131:313-314.
- Gregorc A, Planing I. 2002. The control of *Varroa destructor* using oxalic acid. *Vet. J.* 163:306-310.
- , Poklukar J. 2003. Rotenone and oxalic acid as alternative acaricidal for *Varroa destructor* in honeybee colonies. *Vet. Parasit.* 111(4): 351-360.
- Harbo JR, Hoopingarner RA. 1997. Honey bees (Hymenoptera: Apidae) in the United States that express resistance to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *J. econ. Ent.* 90 (4): 893-898.
- Indorf A, Charrière JD, Bachofen B. 1997. Efficiency of the *Varroa jacobsoni* control methods by means of oxalic acid. *Apiacta* 32:89-91.
- Milani N. 1999. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie* 30:229-234.
- , Della Vedova G. 1996. Deterrunación of the LC50 in the mite *Varroa jacobsoni* of the active substances in Perizin® and Cekafix®. *Ibid.* 26:67-72.
- Moretto G, Leónidas JM. 2003. Infestation and distribution of the mite *Varroa destructor* in colonies of Africanized bees. *Braz. J. Biol.* 63 (1): 83-86.
- Nanetri A, Büchler R, Charrière JD, Fries I, Helland S, Indorf A, Korpela S, Kristiansen P. 2003. Oxalic acid treatments for varroa control. *Apiacta* 38:81-87.
- Peng YS, Fang Y, Xu S, Ge L. 1987. The resistance mechanism of the Asia honey bee *Apis cerana* Fabr. to an ectoparasite mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. *J. Inv. Pathol.* 19: 54-60.
- Pérez EE, May WJ, Quezada JJG. 2002. Thirty years after: a survey on the distribution and expansion of Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Perú. *J. apic. Res.* 41(3/4): 69-73.
- Skinner JA, Parkman JP, Studer MD. 2001. Evaluation of honey bee miticides, including temporal and thermal effects on formic acid gel vapours, in the central south-eastern USA. *Ibid.* 40(3/4): 81-89.
- Wallner K. 1999. Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie* 30: 235-248.