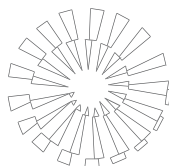


Eficacia de un gel a base de timol en el control del ácaro *Varroa destructor* que infesta colonias de abejas *Apis mellifera*, bajo condiciones tropicales en Yucatán, México



Effectiveness of a thymol based gel for the control of *Varroa destructor* mite that infests *Apis mellifera* honey bee colonies, under tropical conditions in Yucatan, Mexico

William de Jesús May-Itzá* Luis Abdelmir Medina Medina*
Jorge Carlos Marrufo Olivares *

Abstract

The effectiveness of a thymol based gel (12.5 g of thymol in 50 g of gel) for controlling *Varroa destructor* in commercial honey bee (*Apis mellifera*) colonies under tropical conditions was evaluated. Three groups of honey bee colonies were used, the first group received one tray containing thymol gel (G1), the second group received two trays with thymol gel (G2) and the third group (control) received no treatment (G3). The application of the gels was repeated twice with two weeks between treatments. In total G1 received 2 trays and G2 received 4 trays of thymol gels, thus the honey bee colonies and the mites were exposed to the thymol gels during 30 days. The mite infestation levels in adult bees and capped brood were registered before and after the application of the treatments in order to evaluate the effectiveness of the thymol based gels. The effectiveness of the treatments estimated for adult bees was 97% and 93% for G1 y G2, respectively, and in the capped brood the effectiveness was 94% and 95% for both groups respectively. The results show that the application of one thymol gel (G1) tray with a second application in a 15 day interval (total of two trays) can eliminate ≈95% of the mites in honey bee colonies under tropical conditions and thus can be used as an alternative method for the apiculturist of this region to control this parasite.

Key words: VARROA DESTRUCTOR, APIS MELLIFERA, VARROOSIS, THYMOL, EFFECTIVENESS, TROPIC, YUCATAN.

Resumen

Se evaluó la eficacia de un gel de timol (12.5 g de timol en 50 g de gel) en el control del ácaro *Varroa destructor*, que infesta colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) bajo condiciones de clima tropical. Se utilizaron tres grupos de colonias; al primero se le aplicó una bandeja con el gel (G1), al segundo grupo, dos bandejas (G2), y al tercer grupo (testigo) no se le administró ningún tratamiento (G3). Los tratamientos se repitieron a los quince días para cubrir un total de dos y cuatro bandejas para G1 y G2, y 30 días de exposición de las abejas y varroas a los geles. Los niveles de infestación del ácaro antes y después de la aplicación de los geles de timol fueron determinados en las abejas adultas y la cría de obreras, con la finalidad de evaluar la eficacia de los geles. La eficacia de los geles estimada en las abejas adultas fue de 97% y 93% para G1 y G2, respectivamente, mientras que en la cría de obreras, la eficacia fue de 94% y 95% para ambos grupos. Los resultados demuestran que la aplicación de una bandeja de gel (G1) con repetición a los 15 días (total: dos bandejas), permite eliminar ≈95% de las varroas presentes en las colonias de abejas melíferas bajo condiciones tropicales, ello representa una opción en el control alternativo de este parásito para los apicultores de estas regiones.

Palabras clave: VARROA DESTRUCTOR, APIS MELLIFERA, VARROOSIS, TIMOL, EFICACIA, TRÓPICO, YUCATÁN.

Recibido el 20 de abril de 2006 y aceptado el 3 de octubre de 2006.

*Departamento de Apicultura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Apartado Postal 4-116, CP 97100, Mérida, Yucatán, México, correo electrónico: mayitza@tunku.uady.mx

Introduction

Nowadays, the mite *Varroa destructor*¹ represents the main sanitary problem of beekeeping in the whole world, due to the negative impact that this parasite causes.²

The presence of high levels of mite infestation in (*Apis mellifera*) bees causes a reduction in honey production and high mortality in colonies after two to four years of infestation, when these receive no treatment or control method.³ For this reason, the beekeepers turn to the use of several chemical products for parasite control,⁴ including some not authorized such as powders, ointments and strips made with coumaphos and pyrethroids for agricultural use. The application of these products in the bee colonies has increased the risks of honey contamination in colonies under this treatment,⁵ compromising its marketing in the United States and European Union; besides, its continuous use causes resistance to them from the mites.⁶

Due to these problems, several organic substances like formic acids, oxalic, lactic and essential oils like thymol, camphor and eucalyptus, among others, have been used as an alternative control of *V. destructor*, since they are highly effective, of easy application, low risk of honey and wax contamination produced in the colonies under treatment; besides, due to its way of action (for instance, metabolic acidosis with formic acid), mites present no resistance to these alternative products.⁷ However, the effectiveness of such substances varies in accordance to the climatic conditions of each region,^{8,9} hence it is important to evaluate its effectiveness and secondary effects on the bee colonies before its recommendation to the beekeepers.

Among the essential oils, thymol is one of the most used for varroosis, with an effectiveness that varies between 66% to 98%, depending on the application method, dose, concentration, type of beehive, and environmental conditions.^{7,8}

Recently, thymol gel application has facilitated the application of this substance in the beehive; in Europe showed an 82.6% efficiency. Likewise, honey from the thymol treated colonies presents a residual value well below the allowed limit (50 mg/kg honey) reducing the chance of rejection in the international market.⁵

The aim of this research was to evaluate the effectiveness of a gel produced with thymol (12.5 g of thymol in 50 g of gel), for *V. destructor*, mite control, which infests honeybee (*A. mellifera*) colonies established in an Africanized region under tropical climate in Yucatan, Mexico.

Introducción

El ácaro *Varroa destructor*¹ representa en la actualidad el principal problema sanitario que enfrenta la apicultura en todo el mundo, debido al impacto negativo que este parásito ocasiona en las colonias infestadas.²

La presencia de altos niveles de infestación de este ácaro en las abejas *Apis mellifera* ocasiona una reducción en la producción de miel y alta mortalidad en las colonias después de dos a cuatro años de iniciada la infestación, cuando éstas no reciben ningún tipo de tratamiento o método de control.³ Por esta razón, los apicultores han recurrido al uso de diversos productos químicos para el control del parásito,⁴ incluyendo algunos no autorizados como los polvos, ungüentos y tablitas, elaborados a base de coumafós y piretroides de uso agrícola. La aplicación de estos productos en las colonias de abejas ha incrementado los riesgos de contaminación de la miel de las colonias bajo tratamiento,⁵ comprometiendo su comercialización en Estados Unidos y la Unión Europea, además de que su uso continuo ocasiona resistencia a ellos por parte de los ácaros.⁶

Debido a esta problemática, diversas sustancias orgánicas como los ácidos fórmico, oxálico, láctico, y aceites esenciales como el timol, alcanfor y eucaliptol, entre otros, han sido utilizados para el control alternativo de *V. destructor*, debido a que son muy eficaces, de fácil aplicación, bajo riesgo de contaminación de la miel y cera producida en las colonias bajo tratamiento; además, debido a su modo de acción (por ejemplo, acidosis metabólica con el ácido fórmico), los ácaros no presentan resistencia a estos productos alternativos.⁷ Sin embargo, la eficacia de tales sustancias varía de acuerdo con las condiciones climáticas de cada región,^{8,9} por lo que es importante evaluar su eficacia y efectos secundarios en las colonias de abejas antes de recomendar su uso a los apicultores.

Entre los aceites esenciales, el timol es uno de los más utilizados para el control de la varroosis, con una eficacia que varía entre 66% a 98%, dependiendo del método de aplicación, dosis, concentración, tipo de colmena y condiciones ambientales.^{7,8}

Recientemente, la aplicación de timol en gel ha facilitado la aplicación de esta sustancia en las colonias de abejas; en Europa presentó una eficacia de 82.6%. Asimismo, la miel de las colonias tratadas con timol presenta un nivel residual muy por debajo del límite permitido (50 mg/kg miel) reduciendo el riesgo de rechazo en el mercado internacional.⁵

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de un gel elaborado a base de timol (12.5 g de timol en 50 g de gel), para el control del ácaro *V. destructor*, que infesta colonias de abejas melíferas (*A. mellifera*) esta-

Material and methods

The evaluations of thymol gel effectiveness, applied on an aluminum tray of 9.5 cm of diameter and 0.8 mm thickness, which contained 12.5 g of thymol in 50 g of gel, were done in a experimental apiary in the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry of the Autonomous University of Yucatan, in Xmatkuil, at 15.5 km from Merida, Yucatan, Mexico (20° 58' N, 89° 37' W). This region presents a warm sub-humid climate type with rains in summer (Awo), with an annual pluvial precipitation average of 985 mm, with an annual average temperature of 26.8°C and an annual relative humidity average of 78%.¹⁰

Before the evaluations, a preliminary diagnose was done to determine the level of mite infestation of *V. destructor* in the adult bees of the experimental colonies, 15 colonies were selected which showed similar infestation. Bee colonies were established in Langstroth type hives with 10 combs in the brood chamber and nine in the honey super. All the colonies were found naturally infested with *V. destructor*, before this research was done, they had received no treatment or control method at all for at least two years.

Fifteen colonies were divided in three experimental groups: 1) group of colonies (n=5) who received two trays of thymol gel; the first tray was set at the beginning of the research (simple dose) and the second 15 days later (G1); 2) groups of colonies who received four trays of thymol gel; two trays were set at the beginning of the research (double dose) and another two, 15 days after (G2), and 3) group of colonies to whom no acaricide was applied during the same period of evaluation of the gels, considered as control group (G3).

The trays with thymol gel were placed over the headers of the brood chamber combs, and remained in the colony for a period of 15 days. Before and after each thymol tray application, samples of adult bees were recollected, these were conserved in alcohol at 80% (200-300 bees) and comb samples (8 × 8 cm) with capped worker brood (≈200 cells) which were conserved frozen (-5°C). In the laboratory, the adult bees were placed in inverted flasks with alcohol at 80% and were mechanically agitated (113 g) for 30 minutes, to eliminate mites from the bees and determine the levels of infestation (number of mites/bee number). To determine the levels of mite infestation in the capped worker brood (number of infested cells/analyzed cell number) 50 cells from each colony were opened to register the number of infested cells.¹¹

The effectiveness of the thymol gel trays in each colony was determined based on the levels of mite infestation in adult bees and capped brood, according to the following formula:¹²

blecidas en una región africanizada bajo condiciones de clima tropical en Yucatán, México.

Material y métodos

Las evaluaciones de la eficacia del gel de timol, aplicado en una bandeja de aluminio de 9.5 cm de diámetro y 0.8 mm de grosor, que contenía 12.5 g de timol en 50 g de gel, se realizaron en un apiario experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, en Xmatkuil, a 15.5 km de Mérida, Yucatán, México (20° 58' N, 89° 37' O). Esta región presenta un tipo de clima cálido-subhúmedo con lluvias en verano (Awo), con precipitación pluvial promedio anual de 985 mm, temperatura promedio anual de 26.8°C y humedad relativa promedio anual de 78%.¹⁰

Antes de las evaluaciones se realizó un diagnóstico preliminar para determinar los niveles de infestación del ácaro *V. destructor* en las abejas adultas de las colonias experimentales, y se seleccionaron 15 colonias que presentaron una infestación similar. Las colonias de abejas fueron establecidas en colmenas tipo Langstroth con diez panales en la cámara de cría y nueve panales en el alza. Todas las colonias se encontraban infestadas naturalmente con el ácaro *V. destructor*; hasta antes de iniciar este trabajo no habían recibido ningún tipo de tratamiento o método de control durante al menos dos años.

Las 15 colonias se dividieron en tres grupos experimentales: 1) grupo de colonias (n = 5) que recibieron dos bandejas del gel de timol; la primera bandeja se aplicó al inicio del estudio (dosis simple) y la segunda 15 días después (G1); 2) grupo de colonias que recibieron cuatro bandejas del gel de timol; dos bandejas se aplicaron al inicio del estudio (dosis doble) y otras dos, 15 días después (G2), y 3) grupo de colonias a las que no se les aplicó ningún acaricida durante el mismo periodo de evaluación de los geles, considerado como grupo testigo (G3).

Las bandejas con el gel de timol se colocaron sobre los cabezales de los panales de la cámara de cría, y permanecieron en la colonia por un periodo de 15 días. Antes y después de cada aplicación de las bandejas de timol, se recolectaron de cada colonia muestras de abejas adultas, éstas se conservaron en alcohol al 80% (200-300 abejas) y muestras de panal (8 × 8 cm) con cría operculada de obreras (≈200 celdas) que se conservaron en congelación (-5°C). En el laboratorio, las abejas adultas se colocaron en frascos invertidos con alcohol a 80% y se agitaron mecánicamente (113 g) durante 30 minutos, para eliminar a los ácaros de las abejas y determinar los niveles de infestación (número de ácaros/número abejas). Para determinar los niveles de infestación del ácaro en la cría operculada de

$$E = 1 - \frac{A \times D}{B \times C} \times 100$$

where:

E = Treatment effectiveness

A = Level of mite infestation in control group before application of the gel in the colonies under treatment.

B = Level of mite infestation in control group after application of the gel in the colonies under treatment.

C = Level of mite infestation in the group under treatment before the gel application.

D = Level of mite infestation in the group under treatment after the gel application.

The effectiveness of thymol gels, expressed in percentages, was compared between groups G1 and G2, by a “t” test of Student, previous angular transformation (arc sine) of the results obtained for each colony.¹³

Results

The infestation levels of *V. destructor* mite in adult bees ($X \pm E. E.$), before the treatment application were: $12.7\% \pm 2.1\%$, $16.7\% \pm 3.1\%$ and $15.2\% \pm 2.6\%$ for G1, G2 and G3, respectively (Figure 1). At 15 days of the first application of the trays with thymol gel, these infestation levels decreased to $3.6\% \pm 1.0\%$ and $2.0\% \pm 0.8\%$ in G1 and G2, respectively, while in G3 an infestation of $11.8\% \pm 1.9\%$ was registered. After the second application (30 days) $0.2\% \pm 0.2\%$ and $0.3\% \pm 0.2\%$ for G1 and G2, respectively, while for G3 was of $6.1\% \pm 0.7\%$.

For the capped worker brood (Figure 2), the levels of infestation of *V. destructor* mite before the application of the trays with thymol gel were of $36.0\% \pm 2.3\%$, $50.0\% \pm 12.4\%$ and $54.0\% \pm 12.0\%$ for G1, G2 and G3, respectively. Fifteen days after the first application of the trays, the levels of infestation in the capped worker brood decreased to $4.0\% \pm 1.7\%$ and $2.8\% \pm 1.6\%$ for G1 and G2, respectively, while for G3, the infestation was of $20.8\% \pm 4.3\%$. At the end of the second application, the levels of infestation of mite were reduced to $0.8\% \pm 0.4\%$ and $0.4\% \pm 0.4\%$ in G1 and G2, respectively, while for G3 the level of infestation stayed on $21.2\% \pm 2.1\%$.

After the first application, the effectiveness of the thymol gels was slightly superior in the colonies that received two trays the same day (G2), in comparison to the effectiveness in the colonies that received one tray the same day (G1). Nevertheless, at the end of two applications (30 days after), no significant differences were observed between both groups, in relation

obreras (número de celdas infestadas/número de celdas analizadas) se abrieron 50 celdas de cada colonia para registrar el número de celdas que se encontraban infestadas.¹¹

La eficacia de las bandejas de gel de timol en cada colonia se determinó con base en los niveles de infestación del ácaro en las abejas adultas y la cría operculada, de acuerdo con la siguiente fórmula:¹²

$$E = 1 - \frac{A \times D}{B \times C} \times 100$$

donde:

E = Eficacia del tratamiento.

A = Nivel de infestación del ácaro en el grupo testigo antes de la aplicación del gel en las colonias bajo tratamiento.

B = Nivel de infestación del ácaro en el grupo testigo después de la aplicación del gel en las colonias bajo tratamiento.

C = Nivel de infestación del ácaro en el grupo bajo tratamiento antes de la aplicación del gel.

D = Nivel de infestación del ácaro en el grupo bajo tratamiento después de la aplicación del gel.

La eficacia de los geles de timol expresada en porcentaje se comparó entre los grupos G1 y G2, a través de una prueba de “t” de Student, previa transformación angular (arcoseno) de los resultados obtenidos para cada colonia.¹³

Resultados

Los niveles de infestación del ácaro *V. destructor* en las abejas adultas ($X \pm E. E.$), antes de la aplicación de los tratamientos fueron: $12.7\% \pm 2.1\%$, $16.7\% \pm 3.1\%$ y $15.2\% \pm 2.6\%$ para G1, G2 y G3, respectivamente (Figura 1). A los 15 días de la primera aplicación de las bandejas con el gel de timol, estos niveles de infestación descendieron a $3.6\% \pm 1.0\%$ y $2.0\% \pm 0.8\%$ en G1 y G2, respectivamente, mientras que en G3 se registró una infestación de $11.8\% \pm 1.9\%$. Después de la segunda aplicación (30 días) se registró un porcentaje de infestación de $0.2\% \pm 0.2\%$ y $0.3\% \pm 0.2\%$ para G1 y G2, respectivamente, mientras que para G3 fue de $6.1\% \pm 0.7\%$.

Para la cría operculada de obreras (Figura 2), los niveles de infestación del ácaro *V. destructor* antes de la aplicación de las bandejas con el gel de timol fueron de $36.0\% \pm 2.3\%$, $50.0\% \pm 12.4\%$ y $54.0\% \pm 12.0\%$ para G1, G2 y G3, respectivamente. Quince días después de la primera aplicación de las bandejas, los niveles de infestación en la cría operculada de obreras disminuyeron a $4.0\% \pm 1.7\%$ y $2.8\% \pm 1.6\%$ para G1 y G2, respectivamente, mientras que para G3, la infestación fue de $20.8\% \pm 4.3\%$. Al término de la segunda aplicación, los niveles de infestación del ácaro se redujeron

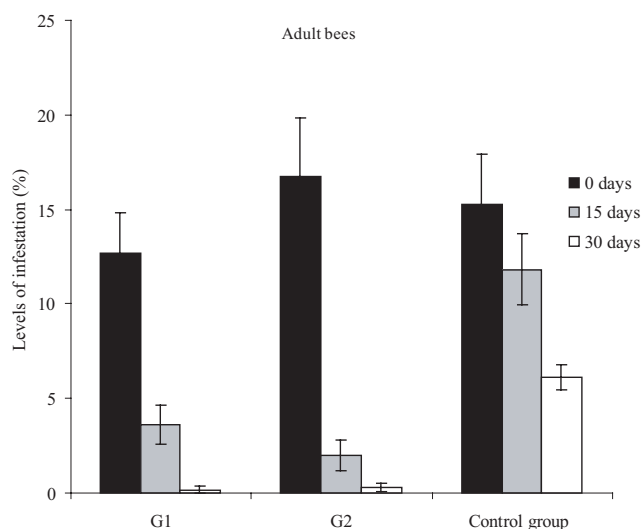


Figura 1: Niveles de manifestación ($X \pm E.E.$) del ácaro *Varroa destructor* en las abejas adultas antes (día 0) y después de la primera y segunda aplicaciones de los tratamientos (15 y 30 días, respectivamente)

Figure 1: Levels of infestation ($X \pm E.E.$) of *Varroa destructor* mite on adult bees before (day 0) and after first and second application of treatments (15 and 30 days, respectively).

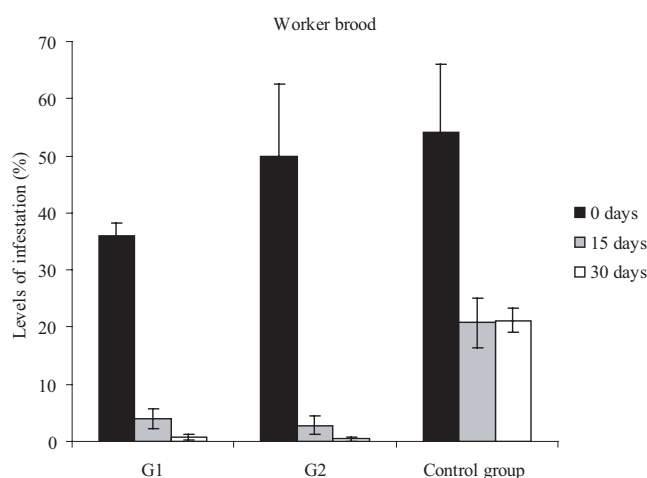


Figura 2: Niveles de manifestación ($X \pm E.E.$) del ácaro *Varroa destructor* en la cría operculada de obreras antes (día 0) y después de la primera y segunda aplicaciones de los tratamientos (15 y 30 días respectivamente)

Figure 2: Levels of infestation ($X \pm E.E.$) of *Varroa destructor* mite on worked capped brood before (day 0) and after first and second appli-

to the effectiveness of the thymol gels, as well as adult bees ($t = 0.60$, $P = 0.44$) as in the capped worker brood ($t = 0.57$, $P = 0.46$) (Table 1).

Discussion

The results obtained in this research show a high effectiveness of the thymol gel in the control of *V. destructor* mite, which is similar to the registered with other commercial chemical products made with pyrethroids.¹⁴ On the other hand, the application of thymol in gel showed a slighter superior effectiveness in one research,¹⁵ in which thymol was applied in powder and oil under the same environmental conditions of Yucatan. This difference may be attributed to the fact that the thymol applied in a matrix of gel presents a slow and constant liberation of the active ingredient, in comparison to the fast evaporation of thymol in powder or oil.

The results of the effectiveness obtained in this research also show the importance of applying thymol in gel for a prolong period (one tray the same day,

a $0.8\% \pm 0.4\%$ y $0.4\% \pm 0.4\%$ en G1 y G2, respectivamente, mientras que para G3 el nivel de infestación se mantuvo en $21.2\% \pm 2.1\%$.

Después de la primera aplicación, la eficacia de los geles de timol fue ligeramente superior en las colonias que recibieron dos bandejas el mismo día (G2), en comparación con la eficacia registrada en las colonias que recibieron una sola bandeja el mismo día (G1). Sin embargo, al final de las dos aplicaciones (30 días después) no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos, en relación con la eficacia de los geles de timol, tanto en las abejas adultas ($t = 0.60$, $P = 0.44$) como en la cría operculada de obreras ($t = 0.57$, $P = 0.46$) (Cuadro 1).

Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran una alta eficacia del timol en gel en el control del ácaro *V. destructor*, que es similar a lo registrado con otros productos químicos comerciales elaborados a base de piretroides.¹⁴ Asimismo, la aplicación de timol

Cuadro 1

EFICACIA DE LOS GELES DE TIMOL EN EL CONTROL DEL ÁCARO *Varroa destructor*
 ESTIMADA EN LAS ABEJAS ADULTAS Y LA CRÍA OPERCULADA
 EFFECTIVENESS OF THYMOL GELS ON THE CONTROL OF *Varroa destructor*
 ESTIMATED ON ADULT BEES AND CAPPED BROOD

Dose	Adult bees	
	1 st Application	2 nd Application
One tray	55.0%	97.0% ^a
Double tray	74.4%	93.0% ^a
	Capped brood	
	1 st Application	2 nd Application
One tray	71.2%	94.4% ^a
Double tray	76.0%	95.0% ^a

Same letters indicate no significant differences

with a repetition at 15 days), contrary to applying a higher dose of thymol during the same period (two trays the same day, with a repetition at 15 days). This also diminishes the total cost of the treatment when two trays are used (G1), in comparison to the four trays used in G2.

In this research it was observed that the application of only one dose of thymol gel and its repetition at 15 days presented no negative effect over the adult bee population, the brood or queen, which was similar to a study where gels were used with the same thymol concentration and where the brood areas, adult bees or honey yield were not negatively affected.⁸ Nevertheless, in G2, where two trays of thymol gel were applied the same day, it was observed that two colonies swarmed and in the rest, bees jammed in the entrance of the beehive due to greater concentration of thymol in the colony, which exerts a repellent action in the adult bee population. A similar effect has been observed when the thymol gel is impregnated over a strip of paper with greater evaporation surface than the one used in this research,^{8,16} which increments the rate of product evaporation. These results show that the adequate handling of application and concentration of thymol represents an important factor in the reduction of negative effects in bee population of the colonies under treatment, mainly in regions with warm climate, where the evaporation of essential oils is faster.⁸

In tropical regions, where the queen does not interrupt its laying of eggs and the presence of worker brood is constant, it is possible to increase the efficacy by applying treatments during stages in which brood areas and adult bee populations are inferior (in the region of research it includes August to November), considering that the majority of mites during these periods are in their phoretic phase, on the adult

en gel presentó una eficacia ligeramente superior en un estudio,¹⁵ en el que se aplicó el timol en polvo y en aceite bajo las mismas condiciones ambientales de Yucatán. Esta diferencia se puede atribuir a que el timol aplicado en una matriz de gel presenta una liberación lenta y constante del ingrediente activo, en comparación con la evaporación rápida del timol en polvo o en aceite.

Los resultados de la eficacia obtenida en este trabajo demuestran también la importancia de aplicar el timol en gel por un periodo prolongado (una bandeja el mismo día, con repetición a los 15 días), al contrario de aplicar una dosis alta de timol durante el mismo periodo (dos bandejas el mismo día, con repetición a los 15 días). Esto último también disminuye el costo total del tratamiento cuando se utilizan dos bandejas (G1), en comparación con las cuatro bandejas utilizadas en G2.

En este trabajo se observó que la aplicación de una sola dosis del timol en gel y su repetición a los 15 días no presentó ningún efecto negativo sobre la población de abejas adultas, la cría o la reina, lo cual fue similar a un estudio en el que se utilizaron geles con la misma concentración de timol y donde las áreas de cría, abejas adultas o la producción de miel no se afectaron negativamente.⁸ Sin embargo, en G2, donde se aplicaron dos bandejas del gel de timol el mismo día, se observó que dos colonias enjambraron y en las restantes, las abejas se aglomeraban en la entrada de la colmena debido a la mayor concentración de timol en la colonia, lo cual ejerce una función repelente en la población de abejas adultas. Un efecto similar se ha observado cuando se impregna el gel de timol sobre una lámina de papel con mayor superficie de evaporación que el utilizado en este estudio,^{8,16} lo que incrementa la tasa de evaporación del producto. Estos resultados demuestran que el manejo adecuado en la

bees,¹⁷ for which they are affected during thymol gel application.

It has been observed that the fluctuation of the worker brood areas also affects the levels of mite infestation, being lower in times of greater worker brood production as a result of parasite dilution, explaining the natural reduction of the infestation levels in the control group.¹⁷ Also, greater levels of infestation are registered in worker brood in comparison to the levels of infestation in adult bees due to $\approx 71\%$ of mite population enter to the worker's cells for its reproduction under tropical conditions of Yucatan.¹⁷

Even when in the European Union, the allowed maximum limits of thymol in honey have not been established, in contrast to the observed in other acaricides,¹⁸ it is important to avoid its application during previous seasons to nectar flow or during the extraction periods of honey, with the finality to reduce, at the most, the presence of residuals in products obtained from colonies under treatment.¹⁹

Finally, it is important to point out that there have been no registered resistant mites to essential oils, including thymol, for which its use on *Varroa destructor* mite control represents a good option, on alternation with utilized products for the control of this parasite.

Acknowledgements

The authors give special thanks to Vita (Europe) Limited/Novartis enterprise for their financial support in order to perform this study, and their thymol trays donation which were used in it.

Referencias

1. Anderson DL, Trueman JWH. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp Appl Acarol* 2000; 24:165:189.
2. Beetsma J. The *Varroa* mite, a devastating parasite of Western honeybees and an economic threat to bee-keeping. *Outlook on Agriculture* 1994; 23:169-175.
3. Finley J, Camazine S, Frazier M. The epidemic of honey bee colonies losses during the 1995-1996 season. *Am Bee J* 1996; 136(11):805-808.
4. De Jong D. Mites: *Varroa* and other parasites of brood. In: Roger Morse, Kim Flottum, editors. *Honey bee pests, predators, & diseases*. Medina, Ohio (USA): AI Root Company, 1997: 278-327.
5. Bogdanov S, Kilchenmann V, Imdorf A. Acaricide residues in some bee products. *J Apicultural Res* 1998; 37:57-67.
6. Thompson HM, Brown MA, Ball RF, Bew MH. First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie* 2002; 33:357-366.
7. Imdorf A, Charriere JD, Kilchenmann V, Bogdanov S, Fluir P. Alternative strategy in central Europe for the

concentración y aplicación del timol representa un factor importante en la reducción de los efectos negativos en la población de abejas de las colonias bajo tratamiento, principalmente en regiones con clima cálido, donde la evaporación de los aceites esenciales es más rápida.⁸

En regiones tropicales, donde la presencia de la cría de obreras es constante debido a que la reina no interrumpe la postura de huevos, es posible incrementar la eficacia aplicando los tratamientos durante épocas en que las áreas de cría y la población de abejas adultas son inferiores (en la región de estudio comprende de agosto a noviembre), considerando que la mayoría de los ácaros durante estos periodos se encuentran en su fase forética, sobre las abejas adultas,¹⁷ por lo que son afectados durante la aplicación del timol en gel.

Se ha observado que la fluctuación de las áreas de cría de obreras afecta también los niveles de infestación del ácaro, siendo menores en épocas de mayor producción de cría de obreras como resultado de la dilución del parásito, explicando la reducción natural de los niveles de infestación en el grupo testigo.¹⁷ Así también, mayores niveles de infestación son registrados en la cría de obrera en comparación con los niveles de infestación de las abejas adultas debido a que $\approx 71\%$ de la población de varroas ingresan a las celdas de obreras para su reproducción bajo condiciones tropicales de Yucatán.¹⁷

Aun cuando en la Unión Europea no se han establecido los límites máximos permitidos de timol en la miel, a diferencia de lo observado con otros acaricidas,¹⁸ es importante evitar su aplicación durante épocas previas a los flujos de néctar o durante los periodos de extracción de miel, con la finalidad de reducir al máximo la aparición de residuos en los productos obtenidos de las colonias bajo tratamiento.¹⁹

Finalmente, es importante señalar que no se han registrado ácaros resistentes a los aceites esenciales, incluyendo el timol, por lo que su uso en el control del ácaro *Varroa destructor* representa una opción viable, en alternancia con productos utilizados para el control de este parásito.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la empresa Vita (Europe) Limited/Novartis el financiamiento para llevar a cabo este trabajo, y la donación de las bandejas de timol utilizadas en él.

- control of *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Apiacta* 2003; 38:258-285.
8. Baggio A, Arculeo P, Nanetti A, Marineli E, Mutinelli F. Field trials with different thymo-based products for the control of varroosis. *Am Bee J* 2004; 144:395-400.
 9. Skinner JA, Parkman JP, Studer MD. Evaluation honey bee miticides, including temporal and thermal effects on formic acid gel vapours, in central south-eastern USA. *J Apicultural Res* 2001; 40:81-89.
 10. Duch GJ. La conformación territorial del Estado de Yucatán. Estado de México (México): Universidad Autónoma Chapingo 1988; 427.
 11. De Jong D, Goncalves L, Morse R. Dependence of climate on the virulence of *Varroa jacobsoni*. *Bee World* 1984; 65:117-121.
 12. 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.
 13. Zar JH. Bioestatistical Analisis. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999.
 14. Ferrer-Dufol M, Moreno-Manera C, Martinez-Viñuales AI, Sanchez-Acedo C, Gracia-Salinas MJ. Field trails of treatments against *Varroa jacobsoni* using fluvalinate [Apistan] and flumethrin [Bayvarol] strips in honey bee colonies containing sealed brood. *J Apicultural Res* 1995; 34:147-152.
 15. Vicario ME, Medina ML. Uso del ácido fórmico y timol en el control del ácaro *Varroa jacobsoni* en Yucatán, México: Resultados preliminares. *Memorias del XIII Seminario Americano de Apicultura*; 1999 agosto 26-28. Morelia, (Mich). México (DF): Programa Nacional para el Control de la Abeja Africana, 1999: 35-38.
 16. Melathopoulos AP, Gates J. Comparison of two thymol-based acaricides, Api Life Var® and Apiguard®, for the control of *varroa* mites. *Am Bee J* 2003; 143:489-493.
 17. Medina ML, Martin SJ, Espinosa-Montaña L, Ratnieks FLW. Reproduction of *Varroa destructor* in worker brood of Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Exp Appl Acarol* 2002; 27:79-88.
 18. Wallner K. Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie* 1999; 30:235-248.
 19. Floris I, Satta A, Cabras P, Garau VL, Angioni A. Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: Effectiveness, Persistence, and Residues. *J Econ Entomol* 2004; 97(2):187-191.