

Actividad Varroocida del timol en colonias de *Apis mellifera* L. de la provincia de Santa Fe

BULACIO CAGNOLO, N.¹; BASUALDO, M.² Y EGUARAS, M.³

Resumen

Se evaluó la actividad acaricida del timol sobre *Varroa destructor* Anderson & Trueman, en un apiario en producción en el año 2006 y 2008. El timol, en su formulación comercial Naturalvar® administrado en dosis de 32,12 g aplicados cada 15 días en dos dosis repartidas en dos tabletas de vermiculita colocadas sobre los cabezales de los marcos de las cámaras de cría mostró una eficacia del 81 % en el 2006 y un 82% en el 2008. Estos resultados sugieren que el timol puede considerarse un producto orgánico eficaz para el control de la Varroosis en el marco de un Programa de Manejo Integrado de Plagas.

Palabras clave: (*Varroa destructor*), (eficacia), (timol)

Varroocide activity of thymol in the colonies of *Apis mellifera* L of the province Santa Fe

Summary

Miticide activity of thymol on *Varroa destructor* Anderson & Trueman mite in an apiary in production was evaluated in 2006 and 2008. Thymol, in commercial formulation Naturalvar® at doses of 32.12 g applied every 15 days in two divided doses of two tablets of vermiculite placed on the heads of the frames of the brood chambers, showed an efficacy of 81% in 2006 and 82% in 2008, respectively. .

These results suggested that thymol could be considered as an effective organic product for varroosis control within a program of Integrated Pest Management.

Key words: (*Varroa destructor*), (effectiveness), (thymol)

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Rafaela, Ruta 34 Km 227, Rafaela, C.P. 2300, Provincia de Santa Fe, Argentina. e-mail: nbulacio@rafaela.inta.gov.ar. Teléfono: +54 3492 440121 interno 170. PROAPI. ²Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Centro Prov. Buenos Aires – PROAPI. ³Facultad de Ciencias Exactas y Naturales- Universidad Nacional de Mar del Plata- CONICET. Parte de los resultados publicados en este trabajo de investigación fueron presentados en forma oral en el II Congreso Argentino de Apicultura, celebrado en la ciudad de Mar del Plata en agosto de 2008
Recibido: 21.11.2009 - Aceptado: 19.08.2010

Introducción

La Varroosis, enfermedad provocada por el ácaro *Varroa destructor* Anderson & Trueman 2000, ocasiona grandes pérdidas económicas en la actividad apícola. En la Argentina fue detectado por primera vez en 1976 en colmenas de Laguna Blanca, provincia de Formosa. Sin embargo, se cree que habría ingresado al país unos años antes, debido probablemente a la importación de reinas desde Japón por parte de apicultores paraguayos en el año 1971⁷.

Actualmente existen en el mundo muy pocas zonas libres de *V. destructor*, como Australia y parte de África⁹. Por el contrario, en aquellos países donde coexiste con las abejas melíferas representa un verdadero flagelo ya que la hembra de este parásito completa todo su ciclo de vida en las colmenas, alimentándose de la hemolinfa de larvas y abejas adultas, ocasionando la disminución en la producción y en las poblaciones de abejas hasta su colapso. Por este motivo, cuando el ácaro coloniza un apiario, los apicultores deben realizar diferentes tratamientos acaricidas para controlarlo y evitar la muerte de las colonias. En los últimos 15 años los tratamientos de control en Argentina, en su mayoría, se realizaron con acaricidas de síntesis. Los principales principios activos utilizados son piretroides (fluvalinato, flumetrina), fosforados (cumafós) y formamidinas (amitráz). El uso reiterado de estas moléculas conduce a la presencia de residuos en miel, cera y propóleos y el desarrollo de resistencia de la población de ácaros¹⁵. Estos problemas han llevado a desarrollar investigaciones sobre métodos alternativos de control, tales como el uso de ácidos orgánicos y aceites esenciales. Estos últimos son destilados de plantas aromáticas, poseen un intenso olor, baja toxicidad en mamíferos, escasos efectos nocivos sobre el medio ambiente y una vasta aceptación entre los productores¹⁴. El timol, 5-metil-2-(1-metiletil) fenol, es uno de los componentes principales del aceite esencial que se encuentra presente sobre todo en especies vegetales de la Familia de las Labiadas. Como biocida, ha demostrado su

eficacia no sólo para combatir la Varroosis en las abejas, sino también por su gran capacidad como insecticida, bactericida, fungicida y nematocida⁹. Su acción acaricida es ejercida fundamentalmente por evaporación sobre un soporte, pero también por contacto, ya que las abejas al acceder a los soportes lo “disgregan” y “dispersan” en toda la colmena. Su eficacia como varroocida ha sido demostrada con valores que fluctúan desde el 70% al 97%, dependiendo de muchos factores como temperatura ambiente, prevalencia inicial de ácaros, fortaleza de la colonia, forma de administración y la presencia o no de cría, entre otros^{14, 17, 4, 9}.

Debido a la falta de información sobre la eficacia de este producto en la zona centro oeste de la Provincia de Santa Fe, se ve la necesidad de llevar a cabo ensayos de eficacia para determinar la factibilidad del uso de este producto en colmenares productivos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia acaricida del timol en una formulación comercial (Naturalvar ®, Apilab, Pringles, provincia de Buenos Aires, Argentina) aplicada sobre soporte de vermiculita en colonias de *Apis mellifera*.

Material y métodos

El experimento se realizó en el período comprendido entre marzo-junio de 2006 y entre febrero-mayo de 2008 en un apiario en producción situado en la Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA, provincia de Santa Fe (Argentina). El apiario con 20 colmenas tipo Langstroth estaba encabezado por reinas de un año de edad y producidas bajo protocolo de calidad del PROAPI (Programa de Apicultura Nacional de INTA). Las colmenas no habían recibido tratamiento acaricida al iniciar los ensayos en el año 2006. La formulación comercial a base de timol fue aplicada post-cosecha de miel en ambos años (mediados de febrero y principios de marzo respectivamente).

Las colmenas fueron divididas al azar en dos grupos:

Grupo Tratadas: 15 colmenas que recibieron

la formulación comercial Naturalvar® según marbete. La misma consistió en 32,12 g de timol aplicado cada 15 días en dos dosis de 16,06 g repartidas en dos tabletas de vermiculita embebidas cada una en 8,03 g de timol colocadas sobre los cabezales de los marcos de las cámaras de cría.

Grupo Testigo: 5 colmenas que no recibieron ningún tratamiento y se mantuvieron como controles.

Cada una de las colmenas fue provista con pisos técnicos para retener y contabilizar los ácaros caídos durante el tratamiento. Los conteos de los ácaros caídos en ambos grupos, se realizaron cada quince días, posterior a la primera y la segunda aplicación. La mortalidad diaria se obtuvo a partir de las colmenas testigos. Para ello se contaron la totalidad de los ácaros muertos y se los dividió por los días que duró el ensayo.

Luego de finalizada la aplicación del Naturalvar®, se realizó un tratamiento control a la totalidad de las colmenas, con dos formulaciones comerciales de reconocida eficacia, Amivar® (i.a amitraz) y Cumavar® (i.a cumafós) en simultáneo para conocer el número de ácaros remanentes y calcular así la población total de ácaros, conforme a lo establecido por Floris *et al.* (2001)¹².

$$\text{Eficacia (\%)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de ácaros caídos con timol}}{\text{N}^\circ \text{ ácaros caídos con timol} + \text{N}^\circ \text{ de ácaros caídos con tratamiento control}} \times 100$$

Los valores de eficacia obtenidos fueron corregidos de acuerdo a Abbott (1925)¹, en función de la mortalidad diaria, siguiendo las recomendaciones del grupo de trabajo europeo CA3686 (2002)¹⁰.

Se estimaron las temperaturas medias con base en las temperaturas diarias máximas y mínimas obtenidas en la Estación Agrometeorológica de la EEA Rafaela del INTA.

Resultados

La Tabla 1 muestra el número promedio de ácaros caídos por el tratamiento, por la acción conjunta de los acaricidas de síntesis en el tratamiento control y la eficacia del Naturalvar® durante el verano de 2006. Este producto mostró una eficacia de 81%, la cual se correspondió con un 46% para la primera mitad del tratamiento y 30% para la segunda aplicación.

En la Tabla 2 se observa el número promedio de ácaros caídos en el tratamiento que correspondió a un porcentaje de eficacia del 82% para el año 2008. El porcentaje de eficacia fue del 63% y 16% para la primera y segunda aplicación del tratamiento respectivamente.

La eficacia promedio del timol fue del 81% (rango 61% y 96%) en el año 2006 y del 82% (rango 56,3% y 96,3%) en el 2008.

La mortalidad natural diaria promedio del parásito fue de 0,5 % (rangos 0,2% y 0,8%) en el 2006 y de 0,6 % (rangos 0,1% y 1,2%) en el año 2008. Provocándose en este último año la muerte de dos colmenas testigo.

Tabla 1: ácaros caídos en el grupo tratado y testigo (± desvío standard) con el tratamiento a base de timol y luego del tratamiento control en el año 2006.

COLMENA	Ácaros recolectados por el tratamiento	Ácaros eliminados tratamiento control	Ácaros totales	Promedio Eficacia	% Mortalidad natural	Promedio Eficacia corregida (Abbott)
Tratadas	1266 ± 1283	148 ± 67	1405 ± 1322	81,9	-	80,8
Testigos	252 ± 196	1154 ± 752	1406 ± 932	-	0,5	-

Tabla 2: ácaros caídos en el grupo tratado y testigo (\pm desvío standard) con el tratamiento a base de timol y luego del tratamiento control en el año 2008

COLMENA	Ácaros recolectados por el tratamiento	Ácaros eliminados tratamiento control	Ácaros totales	Promedio Eficacia	% Mortalidad natural	Promedio Eficacia corregida (Abbott)
Tratadas	1729 \pm 1735	206 \pm 258	1918 \pm 1764	83,5	-	82,4
Testigos	41 \pm 68	1251 \pm 32	1266 \pm 110	-	0,6	-

Durante el tiempo que duró el tratamiento el rango de temperatura media fue de 16,6 °C - 27,9 °C en el 2006 y de 18,7 C° - 27, 9 C° en el año 2008.

Discusión

En Argentina son escasos los ensayos realizados para calcular la eficacia del timol en su formulación comercial, aunque existen antecedentes sobre evaluaciones con diferentes cantidades de este principio activo donde se obtienen eficacias muy variables. Según los resultados obtenidos en este trabajo, los valores de eficacia se mantuvieron cercanos al 80%, eficacias aceptables en productos orgánicos. Estas eficacias coinciden con lo reportado por Flores *et al.* (2000)¹¹ en Italia, al comparar dos tratamientos a base de timol, siendo uno un producto comercial, Apilife Var (i.a. timol, mentol, eucaliptol y alcanfor) con un poder acaricida de 81,2% y TAV diseñado por el centro andaluz de apicultura ecológica con un 85,8%. De la misma manera, resultados semejantes fueron obtenidos por De Felipe y Vandame (1999)⁶, en México con un 81,7% y 82,8% respectivamente. Eguaras *et al.* (2004)⁸ evaluaron el efecto varroocida del timol en las proximidades de la ciudad de Ayacucho, Pcia de Buenos Aires, registrando durante dicha evaluación temperaturas promedio de 18°C con máximas de 30°C. El timol contenido en soportes de perlita expandida y vermiculita se administró de dos formas; una aplicación única

de 25 g y otra de dos aplicaciones de 12,5 g cada una, separadas por 12 días. Obtuvieron eficacias del 94% y 91% respectivamente sin verse afectadas las abejas adultas y la cría. Eficacias semejantes fueron conseguidas por Marinelli *et al.* (2001)¹⁶ en tres productos comerciales Apilife Var en sustrato poroso (95,5%), Apiguard en una matriz de gel (94,3%) y Thymovar (90%), evaluados bajo el clima mediterráneo de Roma. Recientemente, Schmidt *et al.* (2008)¹⁸ evaluaron dos productos aprobados en Chile, Bayvarol® (i.a. flumetrina) y Apilife Var, este último fue el que mayor poder acaricida mostró (90%). Comparados con las dosis utilizadas en este ensayo, las eficacias obtenidas por estos investigadores resultaron muy altas considerando que las cantidades de principio activo que aquí se utilizaron fueron mayores (32,12 g). A pesar de ello, podría ser posible aumentar la eficacia acaricida si se aplica el producto en colonias sin cría operculada, puesto que Varroa queda protegida debajo del opérculo durante una etapa de su ciclo vital.

Marinelli *et al.* (2001)¹⁶ aseguraron que las condiciones de temperatura que se deben dar para obtener una liberación óptima del producto están entre 15 y 35 °C, ya que con temperaturas inferiores a los 15 °C se dificulta la evaporación y superior a 35 °C puede ocasionar intoxicación dentro de la colonia o potenciar la fuga de las abejas. Estas conclusiones fueron obtenidas en un área mediterránea próximas a Roma con una temperatura promedio de 25°C.

Carmona *et al.* (2002)⁴ concluyeron en su trabajo desarrollado en España, que la presencia de timol en las cantidades necesarias (10 y 15 g de timol disuelto en aceite de oliva) produce un control adecuado de esta parasitosis y no interfiere en la oviposición de la reina cuando la temperatura exterior se encuentra entre 10 y 25 °C. A pesar que Naturalvar® contenía más cantidad de timol (32,12 g) que lo evaluado por estos autores, sólo en algunas colmenas se observó corte de la postura en los primeros dos días de aplicado.

En este estudio la temperatura media tuvo un rango de 17 °C a 28 °C, con máximas de 33,6 °C y mínimas de 5 °C en el 2006 y de 19 °C a 28 °C en el año 2008 con máximas de 34,9 °C y mínimas de 10,9 °C, ambos años mostraron una gran amplitud térmica; así mismo no se registraron fugas ni mortandad de abejas o de reinas. Sí se observó al inicio de la aplicación del producto, agitación de las abejas debido al aumento de la actividad de ventilación y una acción repelente del timol hacia las abejas, las que se alejaban de las tabletas. Eguaras *et al.* (2004)⁸ evidenciaron también una mayor excitación de los individuos de la colonia que fue desapareciendo paulatinamente con el transcurso de los minutos.

Es importante destacar el roído de las tabletas de vermiculita por parte de las abejas que, de acuerdo a Chiesa (1991)⁵, De Felipe y Vandame (1999)⁶ y Eguaras y Ruffinengo (2006)⁹ esto resulta óptimo para una buena dispersión del principio, ya que si no hay contacto de las abejas con el producto la eficacia puede disminuir y no hacer factible el tratamiento. Estas evaluaciones fueron realizadas en climas mediterráneos, cálidos y templados húmedos respectivamente.

De la misma manera, Carmona *et al.* (2002)⁴ sostienen que las colonias más fuertes son capaces de disgregar y por lo tanto repartir más eficientemente por toda la colonia las formulaciones absorbidas sobre algún soporte físico. Lo observado en este trabajo coincide con estos autores ya que las colonias con mayor cantidad de abejas disgregaron y propolizaron el soporte en menor tiempo que aquellas con

menor cantidad de individuos en la colonia. Esto puede explicar, entre otros factores, la marcada variabilidad de eficacias entre las colmenas en ambos años.

Los resultados obtenidos en este trabajo no deben generalizarse ya que están supeditados a la región bajo estudio y a las condiciones ambientales imperantes en el momento de la aplicación del producto. Es importante destacar que las eficacias pueden variar de acuerdo a una pluricausalidad de factores externos e internos de la colonia.

Conclusión

El timol puede considerarse un producto orgánico eficaz para el control de la Varroosis en el marco de un Programa de Manejo Integrado de Plagas en el que se ponga énfasis en la calidad del producto obtenido y el cuidado del medio ambiente.

Es posible que el poder acaricida pueda potenciarse si se aplica el producto en colonias sin cría operculada.

Las temperaturas reinantes durante el lapso que duraron los ensayos, son aceptables para una buena liberación del producto.

Al comparar el Naturalvar® con los acaricidas de síntesis utilizados para el control de la Varroosis, podría parecer una eficacia limitada, sin embargo se logró un control apropiado de la parasitosis.

Bibliografía

1. Abbott, W. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 1925; 18:265-267
2. Bulacio Cagnolo N.; M. Basualdo; C. Salto; E. Bedascarrasbure; M. Eguaras y J. Merke. 2008. Efecto Varroocida del Timol en colmenas de abejas bajo producción comercial. *Libro de resúmenes del 2º Congreso Argentino de Apicultura*. Pág. 36. Mar del Plata, agosto de 2008.
3. Calderone, N. Evaluation of formic acid and thymol-based blend of natural product for the control of *Varroa jacobsoni* in colonies of the honey bee *Apis mellifera*. *Journal of Economic Entomology*. 1999; 92:428-432

4. Carmona, M; Valero, A.; Zalacaín, I.; Zalacaín, A. y Salinas, M. R. Influencia del timol en la puesta de cría de la abeja melífera. *Vida Apícola*; 2002. Nº 113
5. Chiesa, F. Effective control of varroaosis using powdered thymol. *Apidologie*; 1991. 22:135-145
6. De Felipe, H. y VanDame, R. Control alternativo de Varroa en la Apicultura. *Curso de capacitación sobre control alternativo de Varroa en la apicultura*. 1999. En: <http://www.netcall.com.mx/abejas/investigación/Remy/varroa.htm>, consultado 20 de noviembre de 2006
7. Eguaras, M. *Varroosis en el sudeste de la provincia de Buenos Aires*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Universidad Nacional de Mar del Plata; 1993. 156 pp
8. Eguaras, M; Cora, D; Ruffinengo, S; Faverin, C y Palacio, A. Efectividad del timol en el control de *Varroa destructor* en condiciones de laboratorio y en colonias de *Apis mellifera*. *Natura Neotropicalis*; 2004. 34 y 35:27-32
9. Eguaras, M y Ruffinengo, S. *Estrategia para el control de Varroa*. Ed. Martin, Mar del Plata, Argentina; 2006. 149 pp
10. European Working Group CA 3686. *Technical guidelines for the evaluation of treatments for control of varroa mites in honey bee colonies*. 2002
11. Flores, J. M; Ruiz, J.A.; Cunha, S. R. *et al.* Situación actual y perspectivas de los tratamientos en el control de *Varroa jacobsoni* Oud. en Andalucía- *Vida Apícola*; 2000. Nº 104
12. Floris, I., Satta, A.; Garau, V.L.; Melis, M.; Cabras, P. y Aloul, N. Effectiveness, persistence, and residue of amitraz plastic strips in the apiary control of *Varroa destructor*. *Apidologie*; 2001. 32: 577-585
13. Higes, M. y Llorente, J. Ensayo de eficacia en el control de la Varroosis en colmenas de producción: timol. *Vida Apícola*; 1997. 81: 14-17
14. Isman, M. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*; 2000. 19: 603-608
15. Maggi, M.; Ruffinengo, S.; Gende, L.; Eguaras, M. and Sardella, N. LC50 baseline levels of amitraz, coumaphos, fluvalinate and flumethrin in populations of *Varroa destructor* from Buenos Aires Province, Argentina. *Journal of Apicultural Research*; 2008. 47(4):292-295
16. Marinelli, E; de Pace, F. M; Ricci, L.; Persano Oddo, L. Use of different formulated with thymol for summer treatment antivarroa in a mediterranean environment. En: <http://www.apis.admin.ch/english/host/pdf/alternativ/York/thymolem.pdf>, consultado marzo 2006.
17. Mattila, H.; Otis, G. Trials of Apiguard, a thymol-based miticide. Part 1. Efficacy for control of parasitic mites and residues in honey. *American Bee Journal*; 1999. 139: 947- 952
18. Schmidt, V; Neira, M. y Carrillo R. Evaluación comparativa de los acaricidas Bayvarol (Flumetrina) y Apilife Var (Timol, Eucaliptol, Mentol y Alcanfor) en el control del ácaro varroa destruct or Anderson & Trueman en época primaveral. *Agro Sur*; 2008 36(1):8-14