

Control integrado del ácaro *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) con ácido oxálico en colmenas de abejas africanizadas en las condiciones tropicales de Costa Rica

Integrated control of the *Varroa destructor* mite (Mesostigmata: Varroidae) with oxalic acid
in Africanized honeybee colonies in the tropical conditions of Costa Rica

Controle integrado do ácaro *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) com ácido oxálico em
colmeias de abelhas africanizadas nas condições tropicais da Costa Rica

Rafael A. Calderón-Fallas¹✉, Oriana Quiros-Vargas¹, Fernando Ramírez-Arias², Luis A. Sánchez-Chaves³

- 1 Universidad Nacional, Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Programa de Patología Apícola: biología, detección y manejo integrado de enfermedades, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico para correspondencia*: rafael.calderon.fallas@una.cr
 <https://orcid.org/0000-0002-6991-6899>. Correo electrónico: ori.naty@gmail.com  <https://orcid.org/0009-0006-5157-3062>
- 2 Universidad Nacional, Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Programa de Producción Apícola Sostenible: manejo integrado de apiarios y reinas seleccionadas, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: jose.ramirez.arias@una.cr  <https://orcid.org/0000-0001-5902-3512>
- 3 Universidad Nacional, Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Programa Integrado de Ecología y Polinización, Heredia, Costa Rica. Correo electrónico: luis.sanchez.chaves@una.cr  <https://orcid.org/0000-0003-4903-8176>

Recibido: 28 de febrero de 2024 **Corregido:** 2 de octubre de 2024 **Aceptado:** 6 de noviembre de 2024

Resumen

En la presente investigación, se evaluó la efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro *Varroa destructor*. El estudio se desarrolló en un apiario constituido por 16 colmenas de abejas africanizadas, en Atenas, Alajuela. Las colmenas se dividieron en cuatro grupos para administrar los siguientes tratamientos de ácido oxálico: 1- método de goteo: se aplicó la solución con jeringa sobre los marcos de la colmena, 2- método de toalla: se colocó la toalla sobre los marcos, 3- método de cartón impregnado: se utilizaron cuatro tiras impregnadas por colmena y 4- grupo control: no se aplicó ácido oxálico. Los tres tratamientos, se aplicaron en la cámara de cría y se realizaron observaciones para determinar posibles efectos adversos. Posteriormente, se utilizó la flumetrina, como producto de choque durante cinco semanas. El método de toalla fue el tratamiento que obtuvo la mayor efectividad en el control de varroa, con un 74.4% de eficacia, mientras que los métodos de goteo y tiras de cartón alcanzaron un 63.0% y un 50.0%, respectivamente. En cuanto al grupo control, se registró un 34.1% de caída natural de ácaros. Con base en lo anterior, se puede indicar que el ácido oxálico mostró efectividad en el control del ácaro *V. destructor* en abejas africanizadas en condiciones tropicales. Al comparar los métodos de aplicación, el de toalla presentó la mayor efectividad, seguido del goteo, por lo que ambos pueden ser considerados como una alternativa en el manejo integrado del ácaro varroa. Las concentraciones de ácido oxálico utilizadas en el presente estudio, se consideran seguras para su uso en abejas africanizadas, ya que no se observaron efectos adversos evidentes en las colmenas.

Palabras clave: Ácido oxálico, *Varroa destructor*, abeja africanizada, control integrado

✉ Autor de correspondencia: rafael.calderon.fallas@una.cr



Abstract

The effectiveness of oxalic acid in controlling the *Varroa destructor* mite was evaluated in the present study. The experiment was conducted in an apiary consisting of 16 Africanized honeybee (AHB) colonies in Atenas, Alajuela. The colonies were divided into four groups to apply the following oxalic acid treatments: 1) trickling method: the solution was applied to the top of the frames with a syringe; 2) towel method: a towel was placed on the frame; 3) impregnated cardboard method: four impregnated strips were used per colony; and 4) control group: no oxalic acid was applied. Treatments were administered in the brood chamber, and observations were made to determine any possible adverse effects. Flumethrin was subsequently administered as a shock treatment for five weeks. The most effective method for controlling *Varroa* was the towel treatment, which achieved 74.4% effectiveness, while the trickling and cardboard strip methods produced 63.0% and 50.0% effectiveness, respectively. The control group registered a natural mite fall of 34.1%. Based on the results, it can be concluded that oxalic acid demonstrated effectiveness in treating *V. destructor* in AHB colonies under tropical conditions. When comparing the application methods, the towel method was the most effective, followed by the trickling method, making these approaches viable alternatives in the integrated management of the *Varroa* mite. The concentrations of oxalic acid used in the study were safe for AHBs, as no evident adverse effects were observed on the colonies.

Keywords: Oxalic acid, *Varroa destructor*, Africanized honeybee, integrated control

Resumo

No presente estudo, foi avaliada a eficácia do ácido oxálico no controle do ácaro *Varroa destructor*. A pesquisa foi realizada em um apiário composto por 16 colmeias de abelhas africanizadas, em Atenas, Alajuela. As colmeias foram divididas em quatro grupos para a aplicação dos seguintes tratamentos com ácido oxálico: 1- método de gotejamento: a solução foi aplicada com seringa sobre os quadros da colmeia, 2- método de toalha: a toalha foi colocada sobre os quadros, 3- método de papelão impregnado: foram utilizadas quatro tiras impregnadas por colmeia e 4- grupo controle: o ácido oxálico não foi aplicado. Os três tratamentos foram aplicados na câmara de cria e foram feitas observações para determinar possíveis efeitos adversos. Posteriormente, a flumetrina foi utilizada como produto de choque durante cinco semanas. O método de toalha foi o tratamento que obteve a maior eficácia no controle da *Varroa*, com 74,4% de eficiência, enquanto os métodos de gotejamento e tiras de papelão alcançaram 63% e 50%, respectivamente. Em relação ao grupo controle, foi registrada uma queda natural de ácaros de 34,1%. Com base no exposto, pode-se afirmar que o ácido oxálico mostrou eficácia no controle do ácaro *V. destructor* em abelhas africanizadas em condições tropicais. Ao comparar os métodos de aplicação, o de toalha apresentou a maior efetividade, seguido do gotejamento, sendo que ambos podem ser considerados uma alternativa no manejo integrado do ácaro *Varroa*. As concentrações de ácido oxálico utilizadas no presente estudo são consideradas seguras para o uso em abelhas africanizadas, uma vez que não foram observados efeitos adversos evidentes nas colmeias.

Palavras-chave: Ácido oxálico, *Varroa destructor*, abelha africanizada, controle integrado.

Introducción

Uno de los problemas sanitarios de mayor importancia económica para la apicultura mundial, es la varroosis (Bailey & Ball, 1991; Espina & Ordetx, 1984), parasitosis causada por el ácaro *Varroa destructor* (Anderson & Trueman, 2000). Este ácaro, originalmente infestaba a la abeja asiática *Apis cerana*, sin causarle daños severos. En la actualidad, es un parásito de las abejas melíferas, *Apis mellifera*, que se alimenta de la hemolinfa y/o cuerpo graso de los individuos adultos y de la cría (larvas y/o pupas) (Bailey & Ball, 1991; Ramsey et al., 2019).



Algunos autores señalan que una infestación severa de *V. destructor* puede causar la muerte de una colonia de *A. mellifera* entre tres a cuatro años posterior a su infestación (Ritter et al., 1983), mientras que otros mencionan que una colonia no sobrevive más de dos años cuando está infestada con varroa (Le Conte et al., 1989). En Estados Unidos y Europa, se han reportado pérdidas de colmenas debido a este parásito (Bailey & Ball, 1991; Ritter & De Jong, 1984). El ácaro varroa es vector de diversos virus, como el virus que deforma las alas y el virus de la parálisis aguda, los cuales afectan la sobrevivencia de las colmenas (Bailey & Ball, 1991; Ritter, 2001). En colonias fuertemente infestadas, las abejas emergen de las celdas con las alas deformes (Boecking & Genersch, 2008). Además, debilita el sistema inmune de su hospedero, ocasionando una disminución de hasta un 30.0% del peso corporal de la abeja (Bowen-Walker & Gunn, 2001) y una reducción de las proteínas totales (Dandeu et al., 1991). Al debilitar el sistema inmune, las abejas se vuelven más susceptibles a infecciones virales y bacterianas (Yang & Cox-Foster, 2005).

En países con clima tropical, la infestación de *V. destructor* podría tener consecuencias severas, ya que hay presencia de cría durante todo el año, en la cual el ácaro se reproduce y de esta manera aumenta su población en las colmenas (Calderón et al., 2012). En Costa Rica, el ácaro varroa fue detectado el 26 de setiembre de 1997 (Calderón et al., 1998) y desde entonces, productores de distintas zonas apícolas del país, han reportado una reducción en la producción de miel relacionada con su presencia (Calderón, 2009).

Debido a que la mayoría de los productos acaricidas, actúan por contacto sobre el ácaro adulto durante su fase forética (sobre las abejas adultas), cuando *V. destructor* se está reproduciendo dentro de la celda sellada, se encuentra protegido, lo cual representa una limitante para su tratamiento (Koeniger & Fuchs, 1988). Tradicionalmente, en las abejas melíferas se han utilizado acaricidas químicos para el control del ácaro varroa, como el fluvalinato (Apistan®), la flumetrina (Bayvarol®) y el coumafos (Checkmite®) (Aliano et al., 2006; Calderón et al., 2014). Sin embargo, el uso inadecuado, como la subdosificación, la aplicación por periodos cortos o prolongados y el empleo de preparaciones caseras, han causado algunos inconvenientes, como por ejemplo, que el ácaro desarrolle resistencia a algunos acaricidas (Kanga et al., 2010; Milani, 1995; Trouiller, 1998). Además, la utilización de productos químicos puede afectar la salud de las colmenas, así como también la salud pública, ya que se ha detectado la presencia de residuos en la miel y cera en colmenas bajo tratamiento (Al-Rifai & Akeel, 1997; Wallner, 1999).

Considerando las desventajas de los acaricidas químicos convencionales, es necesario evaluar alternativas orgánicas que sean seguras para las colonias y eficaces en el control del ácaro. Uno de los productos alternativos que se ha utilizado en el tratamiento de la varroosis, corresponde al ácido oxálico (Adjlane et al., 2016; Gregor & Planinc, 2002). Este ácido se produce de manera natural en forma de oxalatos en las raíces y rizomas de plantas de la familia *Oxalis* y *Rumex*, de las cuales fue aislado originalmente (Martínez, 2015) y se comercializa principalmente en cristales que contienen 71.4% de ácido oxálico anhidro y 28.6% de agua (Mariani et al., 2003). Aún se desconoce su mecanismo de acción contra varroa, sin embargo, su función acaricida se ha atribuido a la sensibilidad de los ácaros al pH ácido (Maggie et al., 2015; Nanetti, 2003). Por tanto, para que el ácido oxálico sea efectivo debe estar en contacto directo con el parásito en la fase forética (Aliano et al., 2006; Mutinelli et al., 1997).

Los principales métodos descritos para la aplicación del ácido oxálico en las colmenas son el goteo, la toalla, la sublimación (evaporación) (Aliano et al., 2006) y actualmente en Suramérica, se están usando tiras de cartón impregnadas con este producto (Esteban, 2015). En estos métodos, se emplean soluciones de ácido oxálico



con glicerina o con azúcar (Charriere & Imdorf, 2002). La glicerina es un compuesto orgánico que posee afinidad por la cutícula de la abeja y del ácaro, lo que facilita que el ácido oxálico se adhiera, mejorando su eficacia (Maggie et al., 2015; Oliver, 2018). Respecto al azúcar, se indica que incrementa la adhesión del ácido al cuerpo de las abejas, de manera que los ácaros lo ingieren y mueren (Sabová et al., 2019).

La mayoría de estudios con ácido oxálico para el control del ácaro varroa, se han realizado con abejas de tipo europeo en condiciones de clima templado o con influencia de clima mediterráneo. Mientras que los estudios en abejas africanizadas, en condiciones tropicales, son escasos (Calderón et al., 2019). Un estudio preliminar, sobre su uso en abejas africanizadas en Costa Rica, administrado a las colmenas mediante diferentes métodos, indica una efectividad en el control de varroa, que varía entre un 60.0 y 75.0% (Villegas, 2021). La variación en la efectividad del ácido oxálico, está probablemente relacionada con el método de aplicación (Calderón & Villegas, comunicación personal, 2021). Debido a la escasa información en condiciones tropicales, el objetivo del presente estudio es determinar la efectividad del ácido oxálico en el control integrado del ácaro *V. destructor* en colmenas de abejas africanizadas e identificar el método de aplicación más efectivo.

Materiales y métodos

Se analizó la efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro varroa en los meses de julio y agosto de 2022, durante la época lluviosa que corresponde a la mayor prevalencia de varroa en las colmenas (Calderón & Sánchez, 2011). El estudio se llevó a cabo en un apiario experimental, constituido por 16 colmenas de abejas africanizadas, ubicado en Atenas, Alajuela (09°57'45" N y 84°21'50" O, 535 msnm), clasificado como bosque húmedo premontano, con una temperatura promedio de 27.3°C y una humedad relativa entre 83.0 y 92.0%.

Cada colmena estaba conformada por ocho panales cubiertos con abejas (los panales de la cámara tenían presencia de cría abierta y sellada), una abeja reina joven de aproximadamente seis meses de edad. Debido a la época de escasez de néctar, las colmenas se alimentaron con una solución saturada de azúcar y agua (1:1), la cual se proporcionó mediante un alimentador interno (el cual reemplazó dos panales de la colmena). Al momento de iniciar el estudio, las colmenas no recibieron tratamiento para el control de varroa con al menos seis meses de anticipación. Se descartó la presencia de otras enfermedades en las colmenas, como la Acariosis y la Aethinosis (Pequeño Escarabajo de la Colmena.)

Para determinar la efectividad del ácido oxálico en el tratamiento de *V. destructor* e identificar el método de aplicación más efectivo, el apiario se dividió en cuatro grupos de cuatro colmenas cada uno. Se evaluó el nivel de infestación inicial en las abejas adultas, con el fin de establecer grupos con carga homogénea (niveles de infestación de varroa homogéneos entre los grupos). El nivel de infestación de varroa, se cuantificó mediante el método de tamizaje, para lo cual se tomó una muestra de aproximadamente 100 abejas adultas de la cámara de cría en un frasco de boca ancha, luego se separaron y contaron los ácaros y las abejas para establecer una relación de infestación, mediante la siguiente fórmula: número de ácaros / número de abejas adultas x 100 (Bailey & Ball, 1991).

Métodos de aplicación del ácido oxálico

Al grupo uno se le aplicó ácido oxálico mediante el método de goteo, mientras que las colmenas del grupo dos recibieron tratamiento con toalla. En cuanto al grupo tres, se trataron con tiras de cartón impregnadas con ácido oxálico y las restantes cuatro colmenas, se utilizaron como grupo control (no se aplicó ácido oxálico).



Método de goteo: Se utilizaron 35 g de ácido oxálico, los cuales se mezclaron en una solución que contenía 1 kg de azúcar (moreno) y 1 L de agua destilada. De esta solución, se aplicaron 5 ml sobre los marcos de la cámara de cría con una jeringa, cada siete días durante un periodo de cuatro semanas. Esta preparación, se realizó con base en un estudio preliminar desarrollado en el país (Calderón & Villegas, comunicación personal, 2021).

Método de toalla: Se utilizó una toalla de material absorbente (fibra sintética de 30 x 20 cm), impregnada con una solución que contenía 12 g de ácido oxálico, 13 ml de glicerina grado alimenticio y 10 ml de agua destilada. En este caso, se calentó la mezcla de agua destilada con la glicerina (60°C) y posteriormente se agregó el ácido oxálico. Para garantizar una adecuada distribución del ácido oxálico, cada toalla se humedeció con la solución de manera individual. Posteriormente, se colocó una toalla sobre los marcos de la cámara de cría de cada colmena, la cual permaneció durante un periodo de cuatro semanas.

Método de tiras de cartón impregnado: Para este método, se tomó como base la metodología propuesta por Esteban (2015). Se utilizaron tiras de cartón (celulosa) de 2 mm de espesor, 3 cm de ancho por 46 cm de largo. Se colocaron cuatro tiras por colmena, para un total de 16 por tratamiento. Para impregnar las 16 tiras de cartón, se calentaron 200 ml de glicerina a 65°C (observándose traslúcida o cristalina), posteriormente se añadieron 120 g de ácido oxálico, se disminuyó la temperatura entre 30°C y 40°C (la solución se empezó a observar opaca). Luego, se mezcló y calentó nuevamente hasta que la temperatura alcanzó los 65°C (la solución se observa cristalina). Cabe destacar que no se debe exceder la temperatura, porque el ácido oxálico puede degradarse y generar ácido fórmico (el cual es peligroso al ser cáustico y corrosivo). Después del proceso anterior, se redujo la temperatura de la solución y se remojaron las 16 tiras de manera individual, lo anterior para asegurar que la mezcla del ácido oxálico se distribuyera de manera homogénea entre ellas. Para que las tiras se impregnaran de manera adecuada, se remojaron durante cuatro horas y luego se almacenaron en bolsas con cierre hermético para su traslado al apiario. En las colmenas, las tiras se colocaron entre los marcos de la cámara de cría (en la zona central) (se doblaron a la mitad para cubrir ambos lados del panal) y permanecieron durante cuatro semanas, con el fin de liberar el producto y completar el tratamiento.

Producto de choque

Luego de finalizar los diferentes tratamientos con ácido oxálico, se aplicó a todas las colmenas, el acaricida Flumevar® (flumetrina), como producto de choque durante cinco semanas. El Flumevar® eliminó aquellos ácaros que no se removieron con el ácido oxálico en los grupos tratamiento y los ácaros que no cayeron de manera natural en las colmenas control (ácaros remanentes). Lo anterior permitió calcular la efectividad de los tratamientos. El Flumevar® es un producto químico formulado en tiras plásticas (polietileno) cuyo ingrediente activo es la flumetrina, en una concentración de 0.3 g. Este acaricida pertenece al grupo químico de los piretroides y posee una efectividad superior al 99.0% en el control del ácaro varroa (Calderón et al., 2000).

Colecta de ácaros en las colmenas experimentales

Para determinar la mortalidad de los ácaros que cayeron al aplicar el ácido oxálico y la caída natural en las colmenas control, se colocó una trampa de fondo en cada colmena (se reemplazó temporalmente el piso) (Calderón & Sánchez, 2023). La trampa consistió en un fondo de madera (50 x 42 cm), cubierto con un cedazo metálico en la parte superior, el tamaño del tamiz fue de seis agujeros por cm², el cual permitió el paso



de los ácaros y a su vez impidió el contacto con las abejas. En el interior de cada trampa, se colocó una lámina de cartulina blanca impregnada con vaselina y previamente cuadrículada, para facilitar el conteo de varroa (Calderón et al., 2007). Para no abrir las colmenas y evitar disturbar a las abejas, la cartulina se introdujo por la parte posterior de la trampa (en una bandeja móvil metálica). La cartulina se reemplazó una vez por semana y se trasladó al laboratorio de Patología Apícola del CINAT-UNA, donde se realizó la identificación, conteo y registro de los ácaros. Para facilitar la observación de los ácaros en el fondo blanco de la cartulina, se utilizó una lupa de laboratorio, provista con fuente de luz.

Efectividad de los tratamientos

Para calcular la efectividad de los distintos tratamientos con ácido oxálico, en el control del ácaro varroa, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de efectividad} = \frac{\text{Total de ácaros caídos con ácido oxálico}}{\text{Total de ácaros presentes en la colmena}^*} \times 100$$

*Total de ácaros presentes en la colmena = ácaros caídos con ácido oxálico + ácaros caídos con el producto de choque (Flumevar®).

Efectos adversos de los tratamientos sobre la condición de las colmenas

Para identificar posibles efectos adversos de la aplicación del ácido oxálico en las colmenas, se realizaron observaciones sobre la condición general, tanto de la cría como de las abejas adultas.

Abejas adultas: Al inicio y al final de la aplicación de los tratamientos con ácido oxálico, se estimó el número de panales cubiertos con abejas adultas mediante observación directa, determinando una cobertura completa cuando el panal se encontraba cubierto por ambos lados. Asimismo, se realizó una inspección semanal del fondo de la colmena y de la entrada (frente a la colmena), para cuantificar mortalidad de abejas adultas.

Cría: Se realizó la inspección de aproximadamente 50 celdas con cría abierta y sellada por colmena, para determinar algún efecto adverso (evidente) en las larvas y/o pupas, como cambio de color, olor desagradable o cambio de posición en la celda.

Postura de la reina: Con el fin de identificar si el ácido oxálico ocasionó una reducción en la postura de la reina, se revisó el interior de las celdas una semana después de iniciado los tratamientos, para observar y constatar la oviposición.

Evasión de colmenas: La evasión o pérdida de colmenas fue uno de los principales factores a considerar con la aplicación del ácido oxálico, para lo cual, en cada visita al apiario se constató la presencia de abejas (colonia) en las colmenas presentes por tratamiento.

Análisis de datos: Se utilizó el software Minitab, considerando que una de las variables corresponde a los métodos de aplicación del ácido oxálico (T1: método de goteo; T2: método de toalla; T3: tiras de cartón impregnado; T4: grupo control), los cuales se compararon entre ellos. Otra variable evaluada fue el tiempo en que se aplicaron los tratamientos (semanas). Para seleccionar el tratamiento más efectivo, se utilizó la prueba



de Tukey para comparaciones múltiples, la cual consiste en comparar los promedios de cada tratamiento (todos contra todos), mediante intervalos de confianza para cada comparación y su respectiva media, en un nivel de confianza del 95.0%. Además, se realizó la prueba de Dunnett, para comparaciones múltiples entre intervalos de confianza, para contrastar la efectividad promedio de la media de cada tratamiento con respecto a la media del control, con un nivel de confianza del 90.0% entre las comparaciones.

Resultados

Se determinó la efectividad del ácido oxálico en el control del ácaro *V. destructor* en colmenas de abejas africanizadas en condiciones tropicales, mediante tres métodos de aplicación. A continuación, se indica la efectividad de cada uno de los métodos utilizados y la mortalidad de ácaros durante su administración a las colmenas.

Método de goteo: El promedio de ácaros caídos en las colmenas tratadas con el método de goteo fue de 115.5 ± 102.3 ($n= 4$). Al aplicar el producto de choque (flumetrina), se obtuvo una caída de 67.7 ± 80.9 ($n= 4$). Lo anterior permite establecer una efectividad del 63.0%.

Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación: La mayor mortalidad del ácaro varroa en este grupo, se presentó principalmente durante la primera semana de administración. Luego, se observó un descenso considerable en el conteo de ácaros en la segunda semana, el cual aumento durante la tercera (Figura 1).

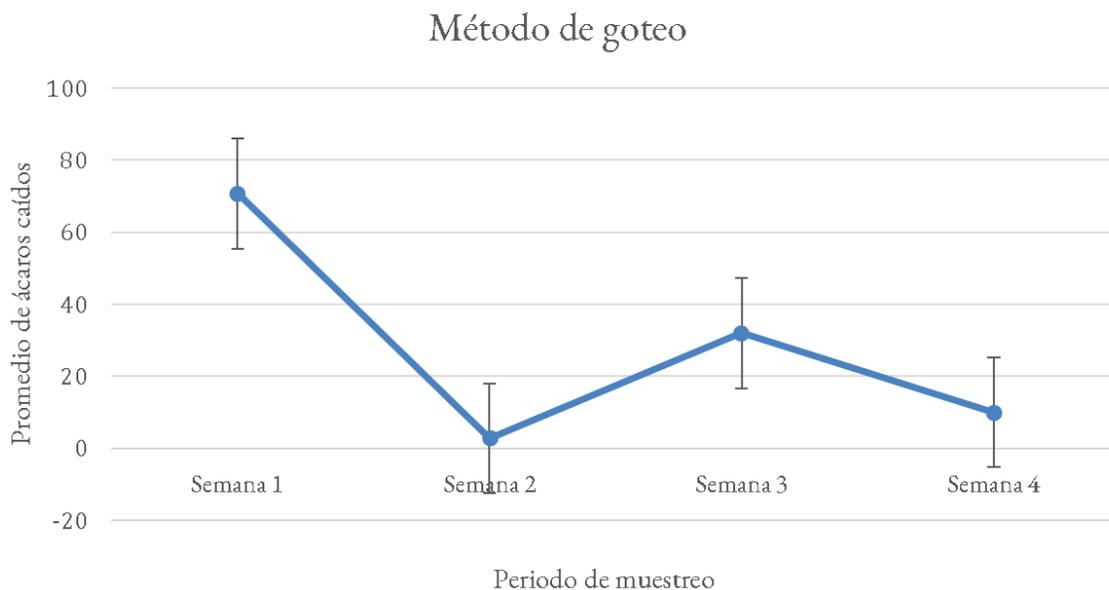


Figura 1. Caída del ácaro *V. destructor* durante la aplicación de ácido oxálico mediante el tratamiento de goteo ($n= 4$, $\bar{X} \pm DE$) en cuatro semanas.



Método de toalla: El promedio de ácaros caídos en las colmenas tratadas con el método de toalla, en un periodo de cuatro semanas, fue de 451.7 ± 154.9 ($n= 4$). Al aplicar flumetrina (Flumevar), se obtuvo una caída de 155.5 ± 57.0 ($n= 4$). Lo anterior permitió determinar una efectividad del 74.4% en el control de varroa.

Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación: En las colmenas tratadas mediante el método de toalla, la mayoría de los ácaros (77.0%) se eliminó en la primera semana de tratamiento con ácido oxálico, mientras que en la tercera se observó un leve aumento (Figura 2).

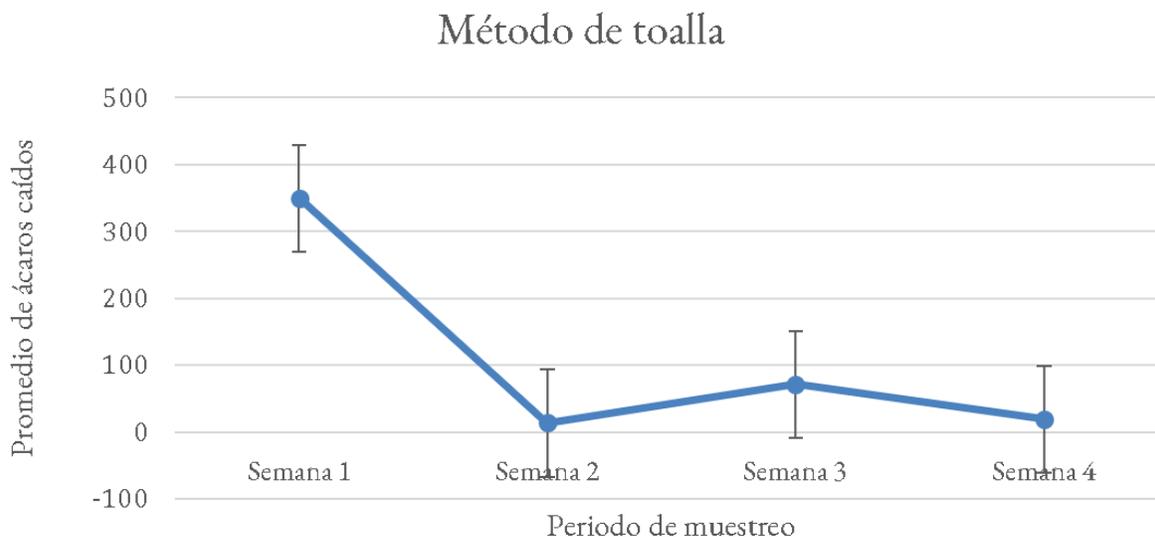


Figura 2. Distribución de la caída de ácaros durante el periodo de aplicación de ácido oxálico con el método de toalla ($n= 4$, $\bar{X} \pm DE$).

Tiras de cartón impregnadas: El promedio de ácaros caídos en las colmenas tratadas con el método de tiras de cartón fue de 127.7 ± 209.0 ($n= 4$). Al aplicar flumetrina (Flumevar®), se obtuvo una caída de 127.5 ± 195.8 ácaros. Lo anterior, permite establecer una efectividad del 50.0% en el control de varroa.

Mortalidad de ácaros durante el periodo de aplicación: La caída de *V. destructor* en este grupo, se comportó muy diferente con respecto a los otros tratamientos, ya que en la primera semana el conteo de ácaros fue menor que las otras semanas. La mayor mortalidad de varroa, se presentó durante la segunda semana, mientras que, durante la cuarta semana, se observó una reducción considerable (Figura 3).



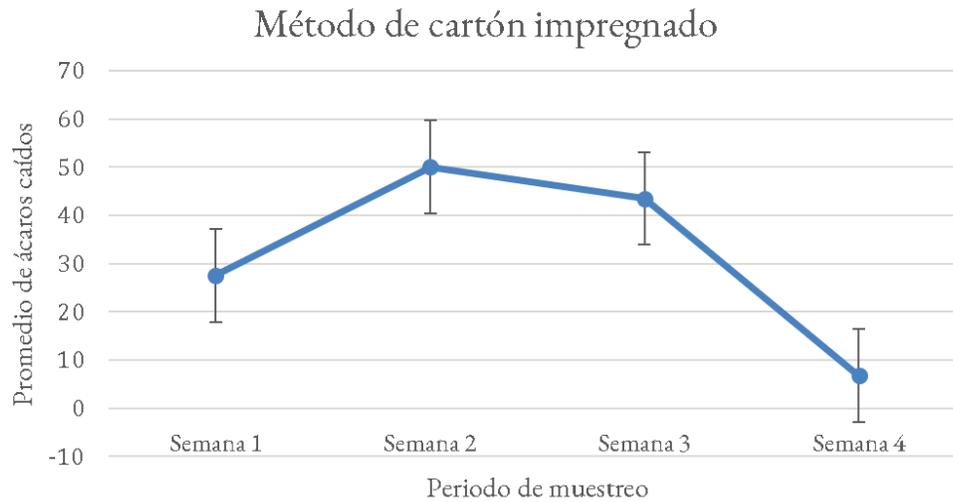


Figura 3. Caída de ácaros durante las cuatro semanas de aplicación de ácido oxálico en tiras de cartón impregnadas (n= 4, $\bar{X} \pm DE$).

Grupo control: El promedio de ácaros caídos de forma natural en las colmenas del grupo control fue de 46.5 ± 43.4 (n= 4), en un espacio de cuatro semanas. Al aplicar flumetrina (Flumevar®), se obtuvo una mortalidad de 89.7 ± 61.5 (n= 4). Lo anterior permite establecer que la caída natural de varroa durante ese periodo, correspondió a un 34.1% de los ácaros presentes en las colmenas, lo cual es menor a lo determinado con el uso del ácido oxálico en los diferentes tratamientos.

Caída natural de ácaros: En estas colmenas, la mayor caída de ácaros se registró durante la primera semana y disminuyó en las siguientes semanas. En este grupo, al igual que en el método de toalla, la mortalidad de ácaros tuvo una distribución homogénea en las colmenas (Figura 4).

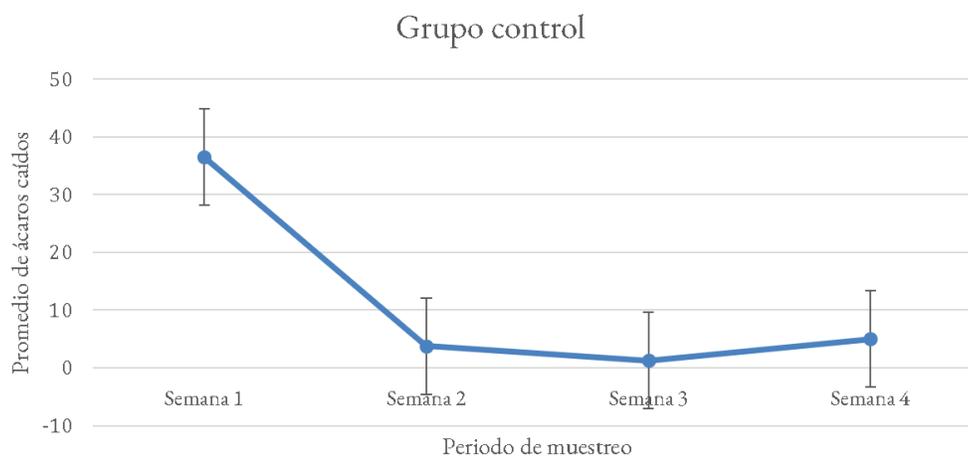


Figura 4. Caída natural de ácaros en el grupo control ($\bar{X} \pm DE$) durante cuatro semanas.

Comparación entre los métodos de aplicación del ácido oxálico y el control

El método de toalla fue el tratamiento que obtuvo la mayor efectividad en el control de varroa, la cual correspondió a un 74.4% ($P < 0.006$), mientras que los métodos de goteo y de tiras de cartón, alcanzaron un 63.0% y un 50.0%, respectivamente. En cuanto al grupo control, al cual no se le aplicó tratamiento con ácido oxálico, con la finalidad de cuantificar la caída natural de varroa, se obtuvo un porcentaje de mortalidad del 34.1%. En los grupos de toalla y goteo, el promedio de ácaros caídos fue mayor durante la primera y tercera semana. Mientras que, en el grupo de cartón impregnado, se observó un aumento en la segunda semana y posteriormente un descenso en la mortalidad (Figura 5).

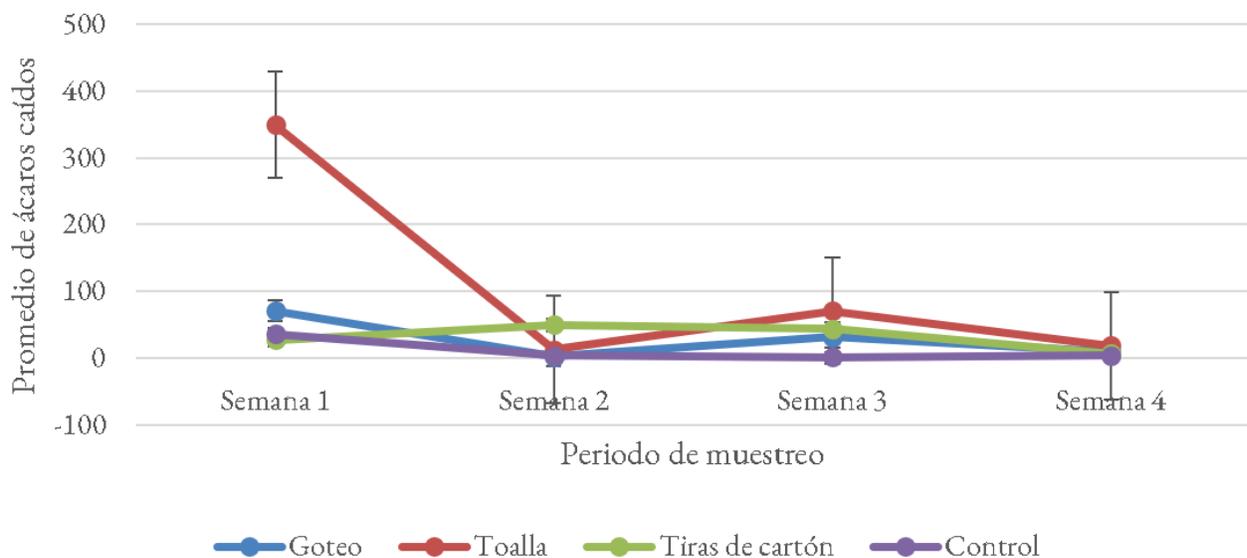


Figura 5. Comparación semanal de la mortalidad del ácaro varroa en los tratamientos con ácido oxálico y la caída natural en el grupo control.

En la Figura 6, se observan las medias ajustadas y las desviaciones estándar de los diferentes grupos (tratamientos y control), lo cual muestra que la mortalidad de ácaros fue homogénea entre las colmenas del grupo de toalla. Por otro lado, la caída de varroa en las colmenas con tiras de cartón, fue diferente entre ellas, mostrando una alta variabilidad.

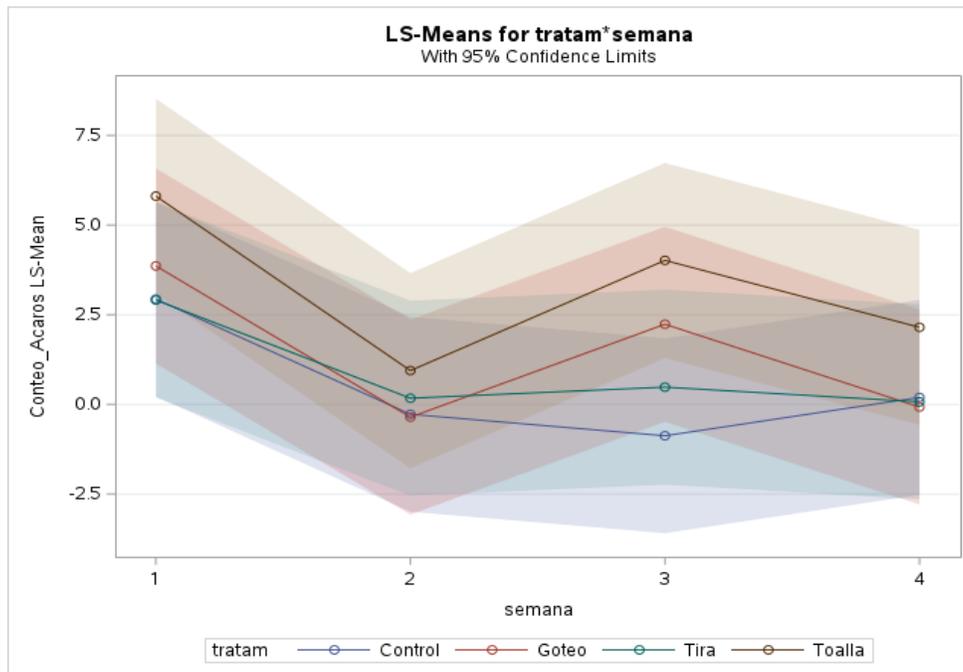


Figura 6. Comparación de medias ajustadas y desviaciones estándar de los grupos tratamiento y el control.

A pesar de que el porcentaje de efectividad de los métodos de toalla y goteo, son notablemente mayores que la caída natural de ácaros en el grupo control, al realizar el análisis de varianza, solo el de toalla presenta diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), con respecto al grupo control (considerando los valores de caída de las cuatro semanas). Por otro lado, al comparar la eficacia entre los tratamientos con la prueba de Tukey, no se encontraron diferencias significativas. De igual manera, al contrastar las medias de los tratamientos con el control mediante la prueba de Dunnett, no se encontraron diferencias significativas.

Efectos adversos: Para identificar posibles efectos adversos de la aplicación del ácido oxálico en las colmenas, se analizó la condición general tanto de las abejas adultas, como de la cría.

Método de goteo

Abejas adultas: Al inicio de la aplicación del ácido oxálico, las colmenas de este grupo presentaban entre seis y siete panales cubiertos con abejas adultas. Al finalizar el tratamiento, la cantidad de panales cubiertos con abejas adultas era similar a la cantidad inicial o mostraron un leve aumento. Durante las inspecciones semanales, no se observó mortalidad de abejas en el fondo de la colmena ni frente a la piquera.

Cría: Al realizar la inspección de la cría abierta y sellada por colmena, no se observó mortalidad ni lesiones evidentes en las larvas y/o pupas.

Postura de la reina: No se identificó una reducción evidente en la postura de la reina.

Evasión de colmenas: Durante la aplicación del ácido oxálico mediante el método de goteo, no hubo evasión



de colmenas. Sin embargo, posterior al tratamiento, cuando se aplicó el producto de choque, una de las colmenas evadió y se observó mortalidad de abejas frente a la piquera. Un aspecto evidente en esta colmena, fue la presencia de abejas nativas (*Trigona* spp.) en el apiario, probablemente del género *Lastrimelita*, el cual se considera cleptobiótica con hábitos de invadir y robar el alimento de la colonia invadida (oportunista-invasor).

Método de toalla

Abejas adultas: Al finalizar el tratamiento, se observó un ligero aumento en la población de abejas de las colmenas (mayor cantidad de panales cubiertos con abejas). Por otro lado, no se observó mortalidad de abejas adultas en el fondo de la colmena, ni frente a la piquera.

Cría: Al revisar la cría abierta y sellada, no se identificó mortalidad ni lesiones evidentes. Las larvas y/o pupas se observaron de color blanco, sin olor y posicionadas de manera correcta en la celda.

Postura de la reina: las reinas mantuvieron la postura (presencia de huevos) en los panales de la cámara de cría. El patrón de oviposición de la cría sellada fue irregular al inicio (cría salteada), mientras que al finalizar el tratamiento, se observó uniforme, con continuidad en los opérculos.

Evasión de colmenas: No hubo evasión de colmenas, todas se mantuvieron hasta finalizar el experimento.

Método de tiras de cartón impregnado

Abejas adultas: Tanto al inicio como al final de la aplicación de las tiras con ácido oxálico, las colmenas mantuvieron entre cinco y siete panales cubiertos con abejas adultas. En dos de las colmenas, se observó un leve aumento de la población de abejas. No se determinó mortalidad de abejas adultas en la colmena, ni frente a la piquera.

Cría: Una de las colmenas de este grupo, estaba conformada por la cámara de cría y un alza (dos cajas). En la tercera semana de tratamiento con las tiras de cartón, se observó que la cría y la mayoría de las abejas adultas, se trasladaron a la caja superior (alza).

Postura de la reina: No se observó una reducción evidente en la postura de huevos; sin embargo, en dos de las colmenas, la reina no oviposó en las celdas que estaban en contacto con las tiras de cartón, aun cuando había suficiente espacio.

Evasión de colmenas: No se determinó evasión de colmenas. Sin embargo, como se indicó, en una colmena la cámara de cría se trasladó hacia el alza.

Discusión

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, se determinó que el ácido oxálico tiene efectividad en el control integrado del ácaro *V. destructor* en abejas africanizadas, la cual varía con el método de aplicación (goteo, toalla y tiras de cartón). **Método de goteo:** Al utilizar este método, se obtuvo una efectividad del 63% (35 g de AO). Este resultado es similar a estudios realizados en Argelia (clima mediterráneo), donde se utilizó el método de goteo en tres concentraciones y obtuvieron efectividades de 65.0% (50 g de AO), 72.0% (75 g de AO) y 81.0% (100 g de AO). La efectividad del 65.0%, se obtuvo al utilizar una concentración



ligeramente mayor a la empleada en la presente investigación, mientras que para alcanzar la efectividad del 81.0%, usaron una cantidad elevada de ácido oxálico, con el inconveniente que reportaron efectos adversos, como el debilitamiento de las colmenas (Adjlane et al., 2016). Por otro lado, en Baja California, México (clima subtropical) se administraron dos tratamientos con el método de goteo, reportando eficacias de 82.8% (30 g de AO) y 90.6% (40 g de AO) (Aguirre et al., 2007). Mientras que, en un estudio preliminar en Costa Rica, se utilizó el método de goteo en dos concentraciones, la primera de 35 g con la que se alcanzó una efectividad del 89.0% y la segunda de 100 g (diluida en 2 L de agua destilada), cuya efectividad fue de 67.0% (Villegas, 2021).

La mayor mortalidad de ácaros, se observó durante la primera y la tercera semana de aplicación del ácido oxálico en goteo. Esto puede deberse a que dicho producto actúa sobre los ácaros en estado forético (Rademacher & Harz, 2006). Es decir, que durante la primera semana los ácaros que murieron fueron los que se encontraban sobre las abejas adultas, mientras que durante la segunda semana *V. destructor* estaba protegido en la cría sellada. Posteriormente, al emerger las abejas adultas durante la tercera semana, los ácaros se expusieron al ácido, aumentando nuevamente la mortalidad.

Método de toalla: Este método tuvo una efectividad del 74.4% en el control de varroa. La concentración empleada, es similar a la reportada en otros estudios, los cuales en su mayoría se han realizado en condiciones de clima templado y abejas de origen europeo. En una investigación llevada a cabo en Ontario, Canadá, colocaron dos toallas por colmena, cada una de ellas con 6 g de ácido oxálico y 6.5 ml de glicerina. De esta forma se reportó una efectividad del 78.7% (Giovenazzo & Dubreuil, 2011). Por otro lado, Oliver (2018) ha realizado diferentes experimentos con ácido oxálico en Los Estados Unidos, con el fin de encontrar el método más práctico, efectivo y amigable con el ambiente para controlar al ácaro *V. destructor*. En una de sus investigaciones, utilizó el método de toalla y determinó que el conteo de ácaros se redujo hasta en un 75.0%. Además, mencionó que el método de toalla posee menos efectos adversos que la sublimación (Oliver, 2018). En un estudio preliminar llevado a cabo en nuestro país, se utilizaron 12 g de ácido oxálico por toalla, con una efectividad del 61.0% (Villegas, 2021), similar a la encontrada en el presente estudio. Mientras que, en una zona de clima templado subhúmedo de México y con abejas africanizadas, se comparó el método de sublimación con el de toalla, obteniendo una efectividad del 86.8% y 88.3%, respectivamente (Gallardo et al., 2019).

La principal caída de ácaros con el método de toalla se registró en la primera semana, con un leve aumento durante la tercera. Dicho aumento puede deberse al ciclo de *V. destructor*, el cual queda expuesto al ácido oxálico en fase forética (Rademacher & Harz, 2006).

Tiras de cartón impregnadas: En este método, se utilizaron 50 g de ácido oxálico por colmena (12.5 g por tira), con una efectividad del 50.0%. Aun cuando esta efectividad se considera baja, esta es la primera vez que se usa el ácido oxálico aplicado en tiras de cartón en un estudio en Costa Rica. Se debe mencionar que este método ha sido estudiado y aplicado en América del Sur. En Argentina utilizan una versión comercial llamada Aluen CAP®, la cual fue evaluada por Pérez et al. (2022) quienes determinaron que, al utilizar dos tiras, la eficacia fue del 84.5%, mientras que, al utilizar cuatro tiras, la eficacia superó el 96.0%. Por otro lado, en Uruguay evaluaron la efectividad en distintas estaciones del año. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: 91.0% en marzo (transición verano-otoño), 97.5% en junio (transición otoño-invierno), 69.0% en setiembre (transición invierno-primavera), 71.0% en octubre (primavera) y 94.0% en enero (verano). También determinaron que la efectividad fue mayor, en las colmenas donde se colocaron las tiras en la cámara de cría. Por otra parte, no se observaron efectos adversos en abejas adultas ni en la cría. Cabe destacar que los autores concluyeron que la



efectividad disminuyó en primavera, ya que las colmenas se estaban expandiendo (presencia de cría sellada) y royeron las tiras (Branchiccela et al., 2022). Al comparar los resultados obtenidos en Argentina y Uruguay con los del presente estudio, hay una diferencia considerable, ya que la efectividad obtenida fue menor. Factores como el clima, la temperatura y la humedad, pueden haber afectado la liberación del ácido oxálico de las tiras de cartón y reducir su efectividad. También podría deberse a que el cartón utilizado, no absorbió todo el ácido de forma adecuada. Este aspecto en particular, puede ser evaluado en una próxima investigación, para determinar la adherencia del ácido en diferentes tipos de cartón y medir la efectividad.

La mortalidad de ácaros en las cuatro colmenas de este grupo fue distinta. Esta diferencia puede estar relacionada con el nivel de infestación de cada colonia y el comportamiento de limpieza de las abejas (Espinosa et al., 2008). Se ha reportado que, mediante el comportamiento de limpieza, las abejas remueven de su cuerpo una cantidad considerable de ácaros (Moretto & Leonidas, 1999).

Grupo control: La caída natural de ácaros en el grupo control, correspondió a un 34.1%. En un estudio realizado en Costa Rica, Calderón & Sánchez (2023) determinaron una mortalidad natural de 25.7% de varroa en un periodo de cuatro semanas. Por otro lado, Espinosa et al. (2008) en México, indicaron un 21.9% de caída natural de ácaros en un grupo de colmenas de abejas africanizadas. Como se mencionó, mediante el comportamiento de limpieza, la varroa es removida del cuerpo de la abeja y cae al fondo de la colmena (Webster et al., 2000). Además, en condiciones naturales, los ácaros mueren en la cría sellada, debido al espacio reducido de las celdas (Donze & Guerin, 1994) y por la competencia entre los diferentes estadios por el sitio de alimentación en la pupa (Martin, 1994). Específicamente en el macho, la principal mortalidad ocurre por la falta de alimento, ya que su aparato bucal está modificado para la transferencia de espermatozoides y no es utilizado para la alimentación (Ritter, 2001).

En el grupo control, la mortalidad por colmena y por semana fue similar, pero hubo una colonia en particular cuyo número de ácaros caídos fue considerablemente mayor.

Comparación entre los métodos de aplicación del ácido oxálico: Los métodos de toalla y goteo presentaron la mayor efectividad. No obstante, al comparar estadísticamente (análisis de varianza) entre el grupo control y los tres tratamientos, solamente el de toalla presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Lo anterior puede deberse, a que es necesario aumentar el tamaño de los grupos experimentales (número de colmenas), con el fin de mejorar la potencia de la prueba estadística. Sin embargo, se debe tomar en cuenta el comportamiento defensivo de las abejas africanizadas, lo cual dificulta el manejo de apiarios con más de 20 colmenas (Van Veen & Arce, 1993). Otro factor que pudo influir en que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos tratamiento, fue probablemente el comportamiento individual de las colonias, el cual puede ocasionar variación de los resultados entre las colmenas del mismo grupo (Espinosa et al., 2008). Según Araneda et al. (2008) el comportamiento de las abejas puede variar entre un 20.0% y un 80.0% entre colmenas del mismo apiario.

Efectos adversos: Con respecto a efectos adversos del ácido oxálico en las colmenas, se determinó que bajo los métodos utilizados y según las concentraciones administradas en el presente estudio, éstos son nulos o poco evidentes. Igualmente, Villegas (2021) no reportó ningún efecto adverso al administrar ácido oxálico mediante goteo y toalla, en colmenas de abejas africanizadas en condiciones similares. Cheriére & Imdorf (2002) utilizaron ácido oxálico en diferentes cantidades (30 g, 37 g y 45 g) y mencionan que, a partir de los 45 g se observó un leve debilitamiento de las colmenas. Por otro lado, Adjlane et al. (2016) reportaron que al utilizar



100 g de ácido, la efectividad fue elevada, pero las colmenas se debilitaron considerablemente. Por lo cual, debe considerarse que este ácido puede ocasionar daño en las colmenas cuando se utiliza en concentraciones elevadas. Otros productos alternativos (orgánicos) como el ácido fórmico, utilizados para el tratamiento del ácaro varroa, pueden provocar la salida de abejas de la colmena, las cuales abandonan temporalmente el nido de cría y se agrupan cerca de la piquera. Además, se ha reportado abejas adultas muertas en el suelo y una cantidad considerable de cría abierta afectada (color oscuro) (Calderón et al., 2014).

En conclusión, el ácido oxálico mostró efectividad en el control del ácaro *V. destructor* en abejas africanizadas en condiciones tropicales. Los métodos de aplicación mediante goteo y toalla presentaron una efectividad moderada, mientras que la efectividad con tiras de cartón fue baja. Al comparar los tratamientos, el método de toalla presentó la mayor efectividad, seguido del goteo, por lo que ambos pueden ser considerados como una alternativa en el manejo integrado del ácaro varroa. El método de tiras de cartón presentó la menor efectividad en el control de varroa; no obstante, se debe considerar que es la primera vez que se evalúa en Costa Rica, por lo que se debe continuar su investigación. Las concentraciones de ácido oxálico utilizadas en el presente estudio, se consideran seguras para su uso en abejas africanizadas, ya que no se observaron efectos adversos evidentes sobre las colmenas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de interés en el presente estudio.

Agradecimientos

Deseamos agradecer al compañero del CINAT, Tec. Guillermo Ramírez Arias, por el apoyo brindado durante el desarrollo del estudio en el manejo de las colmenas experimentales y el acompañamiento en las giras de campo. Agradecemos al Dr. Bernardo Vargas Leitón, por su valiosa colaboración en el análisis estadístico de los datos.

Referencias

- Adjlane, N., Tarek, E.O. & Haddad, N. (2016). Evaluation of Oxalic Acid Treatments against the Mite *Varroa destructor* Secondary Effects on Honey Bees *Apis mellifera*. *Journal Arthropod-Borne Diseases*, 10(4), 501-509.
- Aguirre, J.L., Demedio, J. & Roque, E. (2007). Eficacia varroicida del ácido oxálico en jarabe de sacarosa por goteo. *Revista Salud Animal*, 29(2), 118-122.
- Aliano, N., Ellis, M. & Siegfried, B. (2006). Acute contact toxicity to *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and their *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) hosts in laboratory bioassays. *Journal of Economic Entomology*, 99(5), 1579-1582. <http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-99.5.1579>
- Al-Rifai, J. & Akeel, N. (1997). Determination of pesticide residues in imported and locally produced honey in Jordan. *Journal of Apicultural Research*, 36, 155-161. <https://doi.org/10.1080/00218839.1997.111100943>



- Anderson, D.L. & Trueman, J. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, 24, 165-189. <https://doi.org/10.1023/A:1006456720416>
- Araneda, X., Pérez, R., Castillo, C. & Medina, L. (2008). Evaluación del comportamiento higiénico de *Apis mellifera* L. en relación al nivel de infestación de *Varroa destructor* Anderson & Trueman. *IDESIA*, 26(2), 59-67. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292008000200008>
- Bailey, L. & Ball, B. (1991). *Honey Bee Pathology*. Academic Press, London.
- Boecking, O. & Genersch, E. (2008). Varroosis: the Ongoing Crisis in Beekeeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2, 221-228. <https://doi.org/10.1007/s00003-008-0331-y>
- Bowen-Walker, P. & Gun, A. (2001). The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate and lipid levels. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 101(3), 101-112. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2001.00905.x>
- Branchiccela, B., Díaz, S., Mendoza, Y., Ramallo, G. & Silva, C. (2022). Control de *Varroa destructor* con ácido oxálico en tiras de celulosa: aspectos claves para maximizar su eficacia. Libro de resúmenes FILAPI, Cusco. p 146.
- Calderón, R.A., Arce, H. & Van Veen, J. (1998). Detección, distribución y control de *Varroa jacobsoni* Oudemans en Costa Rica. *Revista Ciencias Veterinarias*, 21, 31-40.
- Calderón, R.A., Ortiz, A., Sánchez, L. & Lalama, K. (2000). Control del ácaro *Varroa jacobsoni* en abejas melíferas (*Apis mellifera*) bajo condiciones tropicales. *Revista Ciencias Veterinarias*, 27(2), 45-55.
- Calderón, R.A., Fallas, N. & Sánchez, L. (2007). Detección de enfermedades en abejas africanizadas en Costa Rica. *Revista Ciencias Veterinarias*, 25, 335-348.
- Calderón, R.A. (2009). Diagnóstico de enfermedades de la cría en abejas africanizadas en Costa Rica. Memorias del X Congreso Nacional de Apicultura: Apicultura y su impacto en la seguridad alimentaria, San José. p 66.
- Calderón, R.A. & Sánchez, L. (2011). Diagnóstico de enfermedades en colmenas de abejas africanizadas en Costa Rica: prevalencia y distribución de setiembre a noviembre del 2007. *Agronomía Costarricense*, 35(2), 49-60.
- Calderón, R.A., Ureña, S. & Van Veen, J. (2012). Reproduction of *Varroa destructor* and offspring mortality in worker and drone brood cells of Africanized honey bees. *Experimental and Applied Acarology*, 56, 297-307. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9518-0>
- Calderón, R.A., Ramírez, M., Ramírez, F. & Villalobos, E. (2014). Efectividad del ácido fórmico y el timol en el control del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas. *Agronomía Costarricense*, 38(1), 175-188.
- Calderón, R.A., Padilla, S. & Ramírez, M. (2019). Estudio preliminar sobre la presencia de enfermedades en enjambres de abejas africanizadas (*Apis mellifera*) en diferentes zonas de Costa Rica. *Revista Ciencias Veterinarias*, 37(1), 12-25. <http://dx.doi.org/10.15359/rcv.37-1.2>



- Calderón, R., Ramírez, F. & Sánchez, L. (2023). Trampa de fondo como una alternativa en el control integrado del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas. *Revista Ciencias Veterinarias*, 4(2), 1-13. <https://doi.org/10.15359/rcv.41-2.1>
- Charriere, J. & Imdorf, A. (2002). Oxalic acid treatment by trickling against *Varroa destructor*: recommendation for use in central Europe and under temperate climate conditions. *Bee World*, 83(2), 51-60. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2002.11099541>
- Dandeu, J., Lux, M., Colin, M., Rabillon, J. & David, B. (1991). Étude immuno-chimique del'hémolymph de l'abeille ouvrière adulte (*Apis mellifera* L) saine ou infestée par *Varroa jacobsoni*. *Oud. Apidologie*, 22, 37-42.
- Donzé, G. & Guerin, P. (1994). Behavioral attributes and parental care of varroa mites parasiting honey bee brood. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 34, 305-319. <https://doi.org/10.1007/BF00197001>
- Espina, D. & Ordetx, G. (1984). *Apicultura Tropical*. Tecnológico de Costa Rica, Cartago. p 506.
- Espinosa, L., Guzmán, E., Sánchez, A., Montaldo, H. & Correa, A. (2008). Estudio comparativo de tres pruebas para evaluar el comportamiento higiénico en colonias de abejas (*Apis mellifera* L.). *Revista Veterinaria México*, 39(1), 39- 54.
- Esteban, F. (2015). Estado de la técnica del manejo de Varroa con tiras de cartón con ácido oxálico. *Revista Apicultura del Centro del País*, 112.
- Gallardo, H., Ordoñez, A., De la Torre, P., Martínez, D. & Ramírez, C. (2019). Evaluación de dos métodos de tratamiento con ácido oxálico para el control de *Varroa destructor* en colonias de abejas *Apis mellifera* L., en México. <https://hermeshoney.com>
- Giovenazzo, P. & Dubreuil, P. (2011). Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada. *Experimental and Applied Acarology*, 55, 65-76. <https://doi.org/10.1007/s10493-011-9447-3>
- Gregorc, A. & Planinc, I. (2002). The control of *Varroa destructor* using oxalic acid. *The Veterinary Journal*, 163, 306-310. DOI:10.1053/tvj.2001.0675
- Kanga, L., Adamczyk, J., Marshall, K. & Cox, R. (2010). Monitoring of resistance to organophosphorus and pyrethroid insecticides in varroa mite populations. *Journal of Economic Entomology*, 5, 1797-1802. <https://doi.org/10.1603/ec10064>
- Koeniger, N. & Fuchs, S. (1988). Control of *Varroa jacobsoni* Oud. In honeybee colonies containing sealed brood cells. *Apidologie*, 19, 117-130. <https://doi.org/10.1051/apido:19880202>
- Le Conte, Y., Arnold, G., Trouiller, J., Masson, C., Chappe, B. & Ourisson, G. (1989). Attraction of the parasitic mite varroa to the drone larvae of honeybees by simple aliphatic esters. *Science Journal*, 245, 638-639. <https://doi.org/10.1126/science.245.4918.638>
- Maggie, M., Tourn, E., Negri, P., Szawarski, N., Marconi, A., Gallez, L., Medici, S., Ruffinengo, S., Brasesco, C., De Feudis, L., Quintana, S., Sammataro, D. & Eguaras, M. (2015). A new formulation of oxalic acid for *Varroa destructor* control applied in *Apis mellifera* colonies in the presence of brood. *Apidologie*, 47, 596-605. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0405-7>



- Mariani, F., Lambrech, R. & Testiani, M. (2003). Evaluación del ácido fórmico para el control de la varroosis en la colmena en mielada. *Vida Apícola*, 122, 48-51.
- Martin, S. (1994). Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Experimental and Applied Acarology*, 18, 87-100. <https://doi.org/10.1007/BF00055033>
- Martínez, K. (2015). Evaluación de diferentes variedades de *Oxalis tuberosa* (OCA) para la obtención de harina con fines industriales. Tesis de grado para la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador.
- Milani, N. (1995). The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud to pyrethroids: a laboratory assay. *Apidologie*, 23, 257-272.
- Moretto, G. & Leonidas, J. (1999). *Varroa jacobsoni* infestation of adult Africanized and Italian honey bees (*Apis mellifera*) in mixed colonies in Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 22, 321-323. <https://doi.org/10.1590/S1415-47571999000300006>
- Mutinelli, F., Baggio, A., Capolongo, F., Piro, R., Prandin, L. & Biasion, L. (1997). A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis. *Apidologie*, 28, 461-462. <https://doi.org/10.1051/apido:19970612>
- Nanetti, A., Büchler, R., Charriere, J., Fries, I., Helland, S., Imdorf, A., Kornela, S. & Kristiansen, P. (2003). Oxalic acid treatments for varroa control (Review). *Apiacta*, 38, 81-87.
- Oliver, R. (2018). Oxalic shop towel updates. Scientific beekeeping, 1-10. <https://scientificbeekeeping.com/oxalic-shop-towel-updates>
- Perez, I., Rinaldi, J.P., Tellarini, E., Zarate, J.E., Almuni, A., Revello, E. & Tourn, E. (2022). Eficacia del ácido oxálico en tiras de liberación lenta para el control de *Varroa destructor* con 2, 3 y 4 tiras en colonias de *Apis mellifera* L. Libro de resúmenes FILAPI, Cusco, p 114.
- Rademacher, E. & Harz, M. (2006). Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies-a review. *Apidologie*, 37, 98-120. <https://doi.org/10.1051/apido:2005063>
- Ramsey, S., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicerco, J., Ellis, J., Hawthorne, D. & vanEngelsdorp, D. (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 16(5), 1792-1801. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818371116>
- Ritter, W., Perschil, F. & Hövell, R. (1983). Reconocimiento del ácaro *Varroa* mediante métodos simples. *Apicultura Alemana*, 17, 221-222.
- Ritter, W. & De Jong, D. (1984). Reproduction of *Varroa jacobsoni* O. in Europe, the Middle East and tropical South America. *Z Angewandte Entomology*, 98, 55-57. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1984.tb02684.x>
- Ritter, W. (2001). *Enfermedades de las abejas*. Acribia, Zaragoza.
- Sabová, L., Sobeková, A., Staron, M., Sabo, R., Legáth, J., Staronová, D., Lohajová, L. & Javorský, P. (2019).



- Toxicity of oxalic acid and impact on some antioxidant enzymes on in vitro-reared honeybee larvae. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 19763-19769. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05247-2>
- Trouiller, J. (1998). Monitoring *Varroa jacobsoni* resistance to pyrethroids in western Europe. *Apidologie*, 29, 537-546.
- Van Veen, J.W. & Arce, H. (1993). Situación actual y perspectivas de la apicultura en Costa Rica. Memorias del II Congreso Nacional de Apicultura, San José. p 57-66. <https://fdocuments.in/document/perspectiva-actual-apicultura-costa-rica-1993.html>
- Villegas, X. (2021). Prevalencia y manejo integrado del ácaro *Varroa destructor* en colmenas de abejas africanizadas. Tesis para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Universidad Nacional, Heredia.
- Wallner, K. (1999). Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie*, 30, 235-248. <https://doi.org/10.1051/apido:19990212>
- Webster, T.C., Thacker, E.M. & Vorisek, F.E. (2000). Live *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae) fallen from honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Journal of Economic Entomology*, 93(6), 1596-1601. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.6.1596>
- Yang, X. & Cox-Foster, D. (2005). Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 7470-7475. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501860102>