



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Chiná

TESIS

***Croton humilis* L. (Euphorbiaceae): una planta con potencial acaricida para el control de *Varroa destructor* en la Península de Yucatán, México**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
**MAESTRO (A) EN CIENCIAS EN AGROECOSISTEMAS
SOSTENIBLES**

Presenta
José Adán Jiménez Vázquez



Calle H u'ñ wot' 22 y 28, C.P. 24500
Chiná, Campeche. Tel. (981) 62-72062 y 62-72063
E-mail: oad@it_china.tecnm.mx
secretaria@it_china.tecnm.mx



División de Estudios de Posgrado e Investigación
China, Campeche **22/Febrero/2021**
Oficio Tesis MCAGS-03
ASUNTO: Aprobación

C. JOSÉ ADÁN JIMÉNEZ VÁZQUEZ
PRESENTE

El que suscribe, manifiesta que el Dictamen emitido por el Comité de Revisión que integra el sínodo del trabajo de tesis denominado "Croton humilis L. (Euphorbiaceae): una planta con potencial acaricida para el control de Varroa destructor en la Península de Yucatán, México". Es aprobado como requisito parcial para obtener el Grado de **MAESTRO EN CIENCIAS EN AGROECOSISTEMAS SOSTENIBLES**.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica
Aprender. Producir. Crear.



JOSÉ JAMES PERALTA COSCAYA
DIRECTOR

JIPC/MCRA/JFMP



S.E.P.
T.N.M.
INSTITUTO
TECNOLÓGICO
DE CHINA
CLAVE:
84DIT0002W



Calle 11 al cruz 22 y 28, C.P. 24308
China, Campeche. Tel: (981) 82-3200 y 82-7082
Email: oficio_tesis@itcna.mx
TELÉFONO | 0181.82.3200

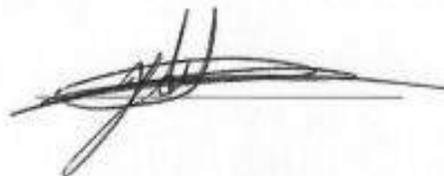


COMITÉ REVISOR

“Este trabajo fue revisado y aprobado por este Comité y presentado por el C. **José Adán Jiménez Vázquez**, como requisito parcial para obtener el **Grado de Maestro en Ciencias en Agroecosistemas Sostenibles** el día 22 del mes de febrero del año 2021 en Chiná, Campeche”.

M.C. Jesús Froylán Martínez Puc

Presidente



Dr. William Rolando Cetzal Ix

Secretario



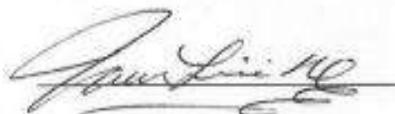
Dr. Fernando Casanova Lugo

Vocal



Dra. Norma Laura Rodríguez Ávila

Suplente



DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en el presente documento deriva de los estudios realizados para alcanzar los objetivos planteados en mi trabajo de tesis, en las instalaciones del Instituto Tecnológico de Chiná. De acuerdo a lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente al Instituto Tecnológico de Chiná. Por otra parte, de acuerdo a lo manifestado, reconozco de igual manera que los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que se deriven de la información generada en el desarrollo del presente estudio, le pertenecen patrimonialmente al Instituto Tecnológico de Chiná de manera que si se derivasen de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

Firma: _____



Ing. José Adán Jiménez Vázquez

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante el desarrollo de mis estudios de posgrado.

Al Instituto Tecnológico de Chiná (IT Chiná) por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado y en especial a los profesores que forman parte de la División de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPI).

Al MC. Jesús Froylán Martínez-Puc por la confianza que depositó en mí para desarrollar este proyecto, por su paciencia y apoyo a lo largo de este trabajo.

Al Dr. William R. Cetzal-Ix por darme la oportunidad de desarrollar este trabajo, y por la disponibilidad que siempre existió de su parte cuando lo necesité.

Al Dr. Fernando Casanova-Lugo por su apoyo, su tiempo, sus comentarios y aportaciones sobre mi trabajo que fueron fundamentales para llevar a fin este proyecto.

Para las personas que de alguna u otra manera contribuyeron en la realización de esta investigación.

A mis compañeros y amigos con los que compartí momentos de alegría y tristezas en las diferentes etapas de mi vida, en especial a Anais Farías Coj, Gustavo Alfonso Salinas Cach, Salvador Jiménez Arcos y Braulio Cesar Marín Gutiérrez.

A mi primo Cesar Jiménez Moreno (Q.E.P.D.) por haberme dado consejos, y apoyarme en los momentos difíciles en el transcurso de mis estudios de Posgrado.

A toda mi familia en general por haberme aconsejado y apoyado en los momentos que más lo necesitaba.

Dedicatoria

A Dios

Por haberme permitido la culminación de este esfuerzo, por haberme dado unos padres comprometidos con mi preparación.

A mis padres

José Alfredo Jiménez Pérez y Juana Vázquez Díaz Por ser los pioneros en mi educación por todos los sacrificios hechos para volverme un hombre de bien, por los apoyos que siempre me dieron, con todo mi amor y respeto muchas gracias.

A mis hermanos

Por su apoyo incondicional a lo largo de esta carrera, ya que siempre estuvieron seguros de que podía terminar la carrera.

A mi primo

Cesar Jiménez Moreno por haberme dado consejos, y apoyarme en los momentos difíciles en el transcurso de mi carrera, que no logró verme terminar mi profesión como ingeniero agrónomo, hoy en día ya no está con nosotros. Q.E.P.D.

A mi familia

A toda mi familia en general por su apoyo incondicional, en los momentos que más lo necesitaba.

Resumen

La varroosis es una parasitosis causada por el ácaro *Varroa destructor* y es considerado uno de los principales problemas sanitarios que afectan a la apicultura a nivel mundial. Entre los principales daños destacan deformación en alas, patas, tórax y abdomen hasta la pérdida total de la colmena. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de los extractos de *Croton humilis* L (hoja, tallo y raíz) a diferentes concentraciones (0, 5, 10, 20, 30, 40 y 50%), como alternativa para el control de la *V. destructor* en Campeche, México. El presente trabajo se realizó entre septiembre de 2018 y abril de 2019, consistió en dos etapas: 1) recolecta y obtención del extracto de *C. humilis* y 2) evaluación de la eficacia de los extractos de *C. humilis* para el control del ácaro *V. destructor* mediante bioensayos.

El material vegetal (hoja, tallo y raíz), se secó (60 °C durante 72 horas) por separado, para posteriormente ser triturado y tamizado. El extracto etanólico se obtuvo mediante extracción por destilación (Rotavapor Clavenger, adaptado, con baño de recirculación centrifuga manteniendo una temperatura de 5°C. Los bioensayos se realizaron exponiendo al ácaro *V. destructor* en cajas Petri, durante 24 horas a cada una de las concentraciones y posteriormente se evaluó el efecto del extracto en *V. destructor* sobre *A. mellifera* durante 72 horas. Se observó que la C50% del T1 (extracto obtenido de la hoja) ocasiono un 100 % de mortalidad de *V. destructor*. Sin embargo, no se observaron diferencias en la mortalidad de *V. destructor* ($p > 0.05$) causada por el origen del extracto T1 (hoja), T2 (tallo) y T3 (raíz), con sus diversas concentraciones (5, 10, 20, 30, 40, y 50%). La mayor mortalidad se observó las primeras dos horas después de que los ácaros fueron expuestos al extracto en todos los tratamientos. Al evaluar la mortalidad de los extractos en *A. mellifera* y *V. destructor* se observó una mortalidad en *A. mellifera* a partir de la C 20 % en extractos de hoja, y C 30 % en raíz y tallo. Posteriormente se realizó un tamizaje fotoquímico donde se observó la presencia de componentes metabólicos (Saponinas esteroidales, lactonas, grupo amino, taninos, flavonoides, alcaloides, cardenolidos y leucoantocianidinas), el efecto acaricida se debe a la presencia de saponinas, flavoniodes y alcaloides.

Palabras clave: *Apis mellifera*, *Croton humilis*, *Varroa destructor*, extracto etanólico, mortalidad.

***Croton humilis* L. (Euphorbiaceae): a plant with acaricidal potential for the control of *Varroa destructor* in the Yucatan Peninsula, Mexico**

Abstract

Varroosis is a parasitosis caused by the *Varroa destructor* mite and is considered one of the main health problems that affect beekeeping worldwide. Between the main damages they emphasize deformation in wings, legs, thorax and abdomen until the total loss of the hive. The objective of this study was to evaluate the effect of *Croton humilis* L extracts (leaf, stem and root) at different concentrations (0.5, 10, 20, 30, 40 and 50%), as an alternative for the control of *V. destructor* in Campeche, Mexico. This work was carried out between September 2018 and April 2019, it consisted of two stages: 1) collection and obtaining of the extract of *C. humilis* and 2) evaluation of the efficacy of the extracts of *C. humilis* for the control of the mite *V. destructor* by bioassays. The plant material (leaf, stem and root) was dried (60 ° C for 72 hours) separately, to later be crushed and sieved. The ethanolic extract was obtained by distillation extraction (Rotavapor Clavenger, adapted, with centrifugal recirculation bath maintaining a temperature of 5 ° C. The bioassays were performed exposing the mite *V. destructor* in Petri dishes, for 24 hours at each of the concentrations and subsequently the effect of the extract in *V. destructor* on *A. mellifera* was evaluated for 72 hours. It was observed that C50% of T1 (extract obtained from the leaf) caused 100% mortality of *V. destructor*. no differences were observed in the mortality of *V. destructor* ($p > 0.05$) caused by the origin of the extract T1 (leaf), T2 (stem) and T3 (root), with its various concentrations (5, 10, 20, 30, 40, and 50%) The highest mortality was observed the first two hours after the mites were exposed to the extract in all treatments. At the evaluation of the mortality of the extracts in *A. mellifera* and *V. destructor*, mortality was observed in *A. mellifera* from C 20% in leaf extracts, and C 30% in root and stem. Subsequently, a photochemical screening was performed where the presence of metabolic components (steroidal saponins, lactones, amino group, tannins,

flavonoids, alkaloids, cardenolides and leucoanthocyanidins) was observed, the acaricidal effect is due to the presence of saponins, flavonoides and alkaloids.

Keywords: *Apis mellifera*, *Croton humilis*, *Varroa destructor*, ethanolic extract, mortality.

INDICE

Agradecimientos	i
Dedicatoria	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
3. Justificación	4
4. Hipótesis	5
5. Objetivos	6
5.1 Objetivo general.....	6
5.2. Objetivos específicos.....	6
6. Referencias	7
7. Capítulos	10
7.1 Capítulo I	10
7.1.1.-Introducción.....	10
7.1.2.-Origen y distribución del ácaro <i>V. destructor</i>	10
7.1.3.-Situación en México.....	11

7.1.4.-Clasificación taxonómica.....	11
7.1.5.-Morfología de <i>V. destructor</i>	12
7.1.6.-Biología del ácaro <i>V. destructor</i>	12
7.1.7.-Fase reproductiva.....	12
7.1.7.1.-Ingreso a celda de cría.....	13
7.1.7.2.-Oviposición y desarrollo.....	13
7.1.8.-Fase forética.....	14
7.1.9.-Diseminación del ácaro <i>V. destructor</i>	14
7.1.10.- Daños ocasionados por <i>V. destructor</i>	14
7.1.11.- Métodos de detección y evaluación de la infestación.....	16
7.1.12.-Niveles críticos de infestación.....	16
7.1.13.-Diagnóstico de <i>V. destructor</i> en abejas adultas.....	16
7.1.14.-Diagnóstico de <i>V. destructor</i> en celdas de cría.....	16
7.1.15.-Métodos de control del ácaro <i>V. destructor</i>	16
7.1.16.-Control biológico cultural.....	17
7.1.17.-Procedimientos culturales.....	17
7.1.17.1.--Control químico.....	18
7.1.17.2-Control alternativo.....	19
7.1.18.-Control con ácidos orgánicos.....	20
7.1.19.-Control con ácido fórmico.....	20
7.1.20.-Aceites esenciales.....	21

7.1.21.-Método de aplicación de los aceites esenciales.....	22
7.1.22.-Modo de acción de los aceites esenciales.....	22
7.1.23.-Especie vegetal en estudio: <i>Croton humilis</i> L.....	23
7.1.24.-Distribución en la Península de Yucatán.....	24
7.1.25.-Descripción general de la familia Euphorbiaceae.....	24
7.1.26.-Características.....	26
7.1.27.- <i>Croton humilis</i> L. "Ik ja'aban".....	26
7.1.28.-Vegetación.....	26
7.1.29.-Referencias.....	27
7.2.-Capítulo 2.....	33
7.2.1.-Evaluación de extractos etanólicos de <i>Croton humilis</i> L. (Euphorbiaceae) para el control alternativo del ácaro <i>Varroa destructor</i> (Acari: Varroidae) en Campeche, México.....	34
7.2.2.-Resumen.....	34
7.2.3.-Abstract.....	35
7.2.4.-Introducción.....	36
7.2.5.-Materiales y métodos.....	38
7.2.6.-Obtención de extractos etanólicos.....	38
7.2.7.-Obtención de ácaros <i>V. destructor</i> para realizar bioensayos.....	39
7.2.8.-Actividad acaricida en <i>V. destructor</i>	40
7.2.9.-Efecto de la actividad acaricida en <i>A. mellifera</i>	40
7.2.10.-Tamizaje fitoquímico.....	40

7.2.11.-Análisis estadístico.....	41
7.2.12.-Resultados.....	41
7.2.13.-Extractos etanólicos de hojas, tallo y raíz.....	42
7.2.14.-Actividad acaricida de <i>C. humilis</i> en <i>A. mellifera</i>	43
7.2.15.-Mortalidad de <i>V. destructor</i> y <i>A. mellifera</i> expuestos a los extractos etanólicos.....	43
7.2.16.-Tamizaje fitoquímico.....	44
7.2.17.-Discusión.....	45
7.2.18.-Actividad acaricida de <i>C. humilis</i> en <i>V. destructor</i>	45
2.2.19.-Actividad acaricida de <i>C. humilis</i> en <i>A. mellifera</i>	47
7.2.20.-Tamizaje fitoquímico.....	49
7.2.21.-Conclusión.....	51
7.2.22.-Agradecimientos.....	51
7.2.23.-Literatura citada.....	52

Capítulo I

Índice de tablas

Tabla 1.- Métodos químicos y alternativos utilizados en el control de <i>V. destructor</i>	19
Tabla 2.- Característica de los ácidos orgánicos utilizados en la apicultura para el control de <i>V. destructor</i>	20
Tabla 3.-Concentración de ácido fórmico, recomendada según la temperatura ambiental.....	21
Tabla 4.- Composición química principal de algunas especies vegetales.....	22

Índice de figuras

Figura 1.- Distribución Euphorbaceae en abundancias en la península de Yucatán.....	25
---	----

Capítulo II

Índice de tablas

Tabla 1. Efecto de los extractos etanólicos procedentes de diferentes componentes de <i>Croton humilis</i> L. (hojas, tallos y raíces), en diferentes concentraciones sobre la mortalidad de <i>Varroa destructor</i> a las 24 h de evaluación.....	59
Tabla 2. Principales metabolitos secundarios evidenciados en el EE de <i>C. humilis</i> .	60

Índice de figuras

Figura 1.-Promedio de la mortalidad de <i>V. destructor</i> a las 24 horas de evaluación en diferentes concentraciones del extracto etanólico de hoja (T1) <i>C. humilis</i>	60
Figura 2.-Promedio de datos acumulados de la mortalidad en <i>V. destructor</i> a las 2 horas de aplicación durante las 24 h de evaluación, del extracto etanólico de hoja (T1).....	61
Figura 3.-Mortalidad promedio de <i>V. destructor</i> a las 24 horas de evaluación en diferentes concentraciones del extracto etanólico de tallo (T2) <i>C. humilis</i>	61

Figura 4.-Promedio de datos acumulados de la mortalidad en <i>V. destructor</i> a las 2 horas de aplicación durante las 24 h de evaluación, del extracto etanólico de hoja (T1).....	62
Figura 5.-Mortalidad promedio en <i>V. destructor</i> a las 24 horas de evaluación en diferentes concentraciones del extracto etanólico raíz (T3) <i>C. humilis</i>	62
Figura 6.-Promedio de datos acumulados de la mortalidad en <i>V. destructor</i> a las 2 horas de aplicación durante las 24 h de evaluación del extracto etanólico de raíz (T3).....	63
Figura 7.-Promedio de mortalidad en abejas infestadas de <i>V. destructor</i> durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de hoja (T1) durante las 72 horas de evaluación.....	63
Figura 8.-Promedio de mortalidad de <i>V. destructor</i> durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de hoja a las 24, 48 y 72 horas de evaluación.....	64
Figura 9.-Promedio de mortalidad en abejas infestadas de <i>V. destructor</i> durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de tallo (T2) durante las 24, 48 y 72 horas de evaluación.....	64
Figura 10.-Promedio de mortalidad de <i>V. destructor</i> durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de tallo a las 24, 48 y 72 horas de evaluación.....	65
Figura 11.-Promedio de mortalidad en abejas infestadas de <i>V. destructor</i> durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de raíz (T3) durante las 24, 48 y 72 horas de evaluación.....	65
Figura 12.-Promedio de mortalidad de <i>V. destructor</i> durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de raíz a las 24, 48 y 72 horas de evaluación.....	66

1. Introducción

La Varroosis es una parasitosis causada por el ácaro *Varroa destructor* (Anderson & Trueman, 2000), el cual se alimenta de la hemolinfa de las abejas (*Apis mellifera* L.), en el estado adulto y de la cría, causando desde el debilitamiento hasta la pérdida total de la colonia después de dos a cuatro años de haber iniciado la infestación en caso de no recibir ningún tratamiento (Medina *et al.*, 2011). Las abejas parasitadas por el ácaro *V. destructor* viven aproximadamente la mitad del tiempo en comparación con las abejas sanas, entre otros efectos negativos se ha observado la disminución del promedio de vida, pérdida de peso y malformaciones emergentes en las alas, patas, tórax y abdomen (De Jong & De Jong, 1983; Monetti *et al.*, 1991).

En México se ha demostrado que la varroosis puede ocasionar una reducción hasta en un 60% en la producción de miel. En la actualidad y con la finalidad de reducir la presencia de *V. destructor* en las colonias de *A. mellifera*, se han diseñado diversos métodos de control probando un número considerable de sustancias y métodos, teniendo en cuenta tanto la toxicidad para *V. destructor* y al mismo tiempo, los efectos sobre las abejas (Ritter, 1992). En la actualidad existen diversos productos para el control de *V. destructor*, siendo los piretroides (fluometrina y fluvalinato), formidinas y fosforados (amitraz, bromopropilato, ciazolol), los ácidos orgánicos (fórmico, acético y oxálico) y los aceites esenciales (timol, mentol y eucaliptol). Sin embargo, la aplicación inadecuada de algunos productos químicos ha generado poblaciones de *V. destructor* resistentes a estos químicos (Thompson *et al.*, 2002; Maggi *et al.*, 2009).

Así mismo, la mayoría de los productos, representan un riesgo de contaminación para la miel y cera de las colonias tratadas (Kanga *et al.*, 2006). Por lo tanto, es necesario encontrar nuevas alternativas para el control del ácaro *V. destructor*. Entre las plantas más estudiadas destacan aquellas que poseen aceites esenciales (alcanfor, clavo de olor, eucalipto, limoncillo, orégano y gaulteria) con propiedades acaricidas (Imdorf *et al.*, 1999). Este efecto acaricida es atribuido a monoterpenos (Tripathi *et al.*, 2009), cuya propiedad es una alta efectividad contra el ácaro *V. destructor* (Ghasemi *et al.*, 2011). Sin embargo, cuando los compuestos aromáticos exceden el umbral del gusto de 1.1 mg-kg⁻¹, existen

efectos negativos en el sabor y olor de la miel (Colin, 1992). Por tal razón, es necesario determinar a partir de diferentes partes de la planta (raíz, tallo, hojas, flores, corteza), qué tipo de extractos posee mayores concentraciones acaricidas para el control de *V. destructor*, así como las propiedades físicas y químicas.

Por tal motivo, el presente trabajo se realizó con la finalidad de evaluar diferentes concentraciones de extracto etanólico del “ik ja’aban (*Croton humilis*), al 5, 10, 20, 30, 40 y 50%, obtenido de diversas partes de planta (hoja, tallo y raíz), para el control del ácaro *V. destructor*.

2.-Antecedentes

El ácaro *V. destructor*, es uno de los principales problemas sanitarios que afecta la apicultura a nivel mundial (Vásquez *et al*, 2006). En México, *V. destructor* se registró por primera vez en 1992, y en 1996 ya se encontraba en toda la república mexicana, exceptuando Baja California (Chihú *et al.*, 1992). Posteriormente El acaro *V. destructor* se reportó por primera vez en Yucatán en septiembre de 1994 (Echazarreta *et al.*, 1997). Entre los principales daños provocados por el ácaro *V. destructor*, se destaca la reducción del periodo de vida de las abejas infestadas y la pérdida total de las colmenas. El ácaro *V. destructor*, afecta a larvas y adultos de todas las castas a las que succiona la hemolinfa, ocasionándoles deformaciones en alas, patas, tórax y abdomen, predisponiéndolas a otras enfermedades (De Jong & De Jong, 1983). En la Península de Yucatán, los apicultores registraron por la infestación del ácaro una mortalidad del 30 al 70% de las colonias. Asimismo, se observó que las colonias infestadas reducen hasta en un 65% de la producción de miel en comparación con las colonias libres del ácaro (Medina, 1998). Con la finalidad de controlar los niveles de infestación del ácaro *V. destructor* se han aplicado diversos acaricidas; los cuales ocasionan algunos inconvenientes: como el desarrollo de poblaciones de ácaros resistentes al principio activo, así mismo, el riesgo de contaminar la miel y cera de la colonia tratada (Espinoza & Guzmán, 2007), por lo que se ha hecho necesario la búsqueda de sustancias alternativas.

Actualmente se están empleando diferentes productos naturales como ácidos orgánicos (fórmico, oxálico y láctico) y aceites esenciales (timol y mentol), siendo los tratamientos con timol y ácido fórmico los que están dando mejores resultados (Cánovas, 2006). Entre las sustancias activas presentes en los aceites esenciales de hierbas y especias, se encuentran diversos compuestos fenólicos como es el caso del carvacrol y el timol, que poseen actividad antifúngica, antibacteriana y acaricida (Albado *et al.*, 2001). El *C. humilis* es usado en la medicina tradicional tiene diversos usos destacando como tratamiento para el paludismo, como diaforético (provoca sudor abundante), estimulante y expectorante.

También se le emplea para curar la sífilis, úlceras crónicas, sarna, infecciones de la piel y trastornos urinarios. Por lo cual representa una alternativa para el control de *V. destructor*.

3.-Justificación

En los últimos años se han realizado diversas investigaciones con la finalidad de encontrar productos para el control del ácaro del ácaro *V. destructor*, entre los principales productos utilizados en su control destacan los tratamientos químicos como el fluvalinato y la fluometrina, así como los tratamientos alternativos (ácido fórmico, el ácido oxálico, y el timol). Sin embargo, en México se han realizado pocos estudios con la finalidad de encontrar nuevas alternativas principalmente utilizando acaricidas de procedencia natural (Cánovas 2006). El *C. humilis* es usado en la medicina tradicional y tiene diversos usos, destacando como tratamiento para el paludismo, como diaforético (provoca sudor abundante), estimulante y expectorante. También se le emplea para curar la sífilis, úlceras crónicas, sarna, infecciones de la piel y trastornos urinarios. Así mismo, es una planta con diversas propiedades para el control de parásitos por lo cual representa una alternativa para el control de *V. destructor*. Así mismo, El uso de acaricidas naturales, presenta como ventajas la disminución del uso de acaricidas sintéticos (Cánovas, 2006); y se puede obtener a bajo costo.

4.- Hipótesis

Los extractos obtenidos de la hoja, tallo y raíz de *C. humilis* tienen un efecto positivo sobre el control del acaró *V. destructor* en abejas melíferas (*A. mellifera*).

Las altas concentración del extracto etanólico de *C. humilis*, presentan una elevada eficiencia cuando son aplicados en bioensayos.

5.- Objetivo general

Determinar el efecto a diferentes concentraciones de extractos botánicos de *C. humilis* para el control del ácaro *V. destructor* como una alternativa a la aplicación de productos bioquímicos en apiarios de la Península de Yucatán, México.

5.1 Objetivos específicos

Determinar la eficiencia del extracto de *C. humilis* (hoja, tallo, raíz) en diferentes concentraciones, si muestra efectividad contra la *V. destructor*.

Determinar el nivel de infestación de la *V. destructor* presentes en las colmenas de *A. mellifera*

Determinar la concentración mínima y máxima letal del extracto botánico de *C. humilis* aplicados en acaró *V. destructor* mediante bioensayos.

Identificar los principales metabolitos secundarios del extracto botánico de *C. humilis*, mediante un análisis fitoquímico.

Evaluar la eficiencia del extracto *C. humilis* bajo la concentración (CL) en las abejas *A. mellifera* con índices de infestación de *V. destructor*.

6.-Referencias

- Albado Plaus, E., Saenz Flores, G., & Grabiél Ataucusi, S. 2001. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (Orégano). *Revista Media Herediana*, 12, 16-19.
- Anderson, DL; Trueman, J. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari:Varroidae) is more than one species. *Exp App Acarol*. 24(3): 165-189.
- Cánovas Alcázar, J. A. 2006. *Varroa (Varroa jacobsoni)* Situación actual y métodos de control. *VII Congreso SEAE. Zaragoza 2006.*, N°6.
- Castillo R. 1992. Varroasis, grave amenaza para la apicultura y la agricultura para nuestro país. *Chile Hortofruticultura* 5(26): 19–22.
- Colin, M.E., F. Ciavarella, G. Otero-Colina, and L. P. Belzunces. 1994. A method for characterizing the biological activity of essential oils against *Varroa jacobsoni*. In *New perspectives on Varroa*. Ed. A. Matheson IBRA, Cardiff, U. K.:109-114.
- Chihu AD., Rojas AL, Rodríguez DS. 1992. Primer reporte en México del ácaro *Varroa jacobsoni*, causante de la Varroasis de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.). *Memorias VI seminario americano de apicultura*. Oaxtepec, Morelia. Damiani N, Marcangeli J. (2006).
- De Jong, D; De Jong, P .1983. Longevity of africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested by *Varroa jacobsoni* (Parasitiformes: Varroidae). *J. Econ. Entomol.*, 76: 766-768.
- Echazarreta-González CM, Quezada-Euán JJG, Medina ML, Pasteur KL. 1997. Beekeeping in the Yucatan peninsula: development and current status. *Bee World* 78: 115–127.
- Espinoza Montaña LG, Guzmán-Novoa. 2007. Eficacia de dos acaricidas naturales, ácido fórmico y timol, para el control del ácaro *Varroa destructor* de las abejas (*Apis mellifera* L.) en Yucatán, México. *Vet. Méx*;38(1):1-8.
- Indorf, A., S. Bogdanov, R. Ibañez, and N. Calderone. 1999. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidologie* 30: 209-228.
- Gerson U, Mozes K, Cohen ER. (1991). Enzyme levels used monitor pesticide resistance en a *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* 30: 17–20.

- Ghasemi V, Moharramipour S, Tahmasbi G. 2011. Biological activity of some plant essential oils against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), an ectoparasitic mite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Experimental and Applied Acarology* 55: 147–154.
- Kanga L, Jones W, Garcia C. 2006. Efficacy of strips coated with *Metarhizium anisopliae* for control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee colonies in Texas and Florida. *Experimental and Applied Acarology* 40: 249-258.
- Le Conte Y, Marion E, Wolfgang R. 2010. Varroa mites and honey bee health can Varroa explain part of the colony losses. EDP Sciences, USA.
- Maggi M, Ruffinengo S, Damiani N, Sardella N, Eguaras M. 2009. First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos in Argentina. *Experimental and Applied Acarology* 47 (4): 317-320.
- Medina FC, Guzmán NE, Aréchiga FCF, Aguilera SJI, Gutiérrez PFJ. 2011. Efecto del nivel de infestación de *Varroa destructor* sobre la producción de miel de colonias de *Apis mellifera* en el altiplano semiárido de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2(3): 313-317.
- Medina ML. 1998. Frequency and infestation levels of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in managed honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Yucatan, México. *Am Bee J.* 138(2): 125-127.
- Monetti L, Marcangeli J, Eguaras M, Fernández N. 1991. Pérdida de peso en la abeja *Apis mellifera*, raza criolla, producida por el ectoparásito *Varroa jacobsoni*. *Ecología Austral* 1: 103-106.
- Ritter, W. 1992. Chemical control: options y problems. En: Matheson, A. Ed. Living with Varroa. IBRA, Cardiff, U.K. pp. 17-24.
- Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *J of Invert Pathol.* 2010;103:96-119.
- Thompson, H; Brown, M; Ball, R; Bew, M. 2002. First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie*, 33: 357-366.

- Tripathi A, Upadhyay S, Bhuiyan M, Bhattacharya P. 2009. A review on prospect of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy 1*: 52-63.
- Urchaga Fernandez, A., & Reque Kilchenmann, J. A. 2008. Estudio de polinización en áreas de distribución de Oso Pardo y urogallo Cantábrico. 2. Valladolid, España
- Vásquez Castro, J. A., Bracho Pérez, J. C., & Narrea Cango, M. 2006. Efecto del ácido oxálico, ácido fórmico y coumaphos sobre *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) en colonias de abejas. *Revista Peruana de Entomología*, 45, 149-152.
- Vandame R, Colin M, Otero G. 1998. Tolerancia a Varroa. *Vida Apícola* 88: 45-50

7 Capítulos

7.1 Capítulo I

7.1.1.-Introducción

El ácaro *V. destructor* (Anderson & Trueman, 2000), es considerado en la actualidad como el parásito que mayor impacto ocasiona a la apicultura generando grandes pérdidas económicas a nivel mundial (Sammataro *et al.*, 2000). El ácaro *V. destructor* se alimenta de la hemolinfa de las abejas adultas y de las crías (Eguaras, 1993), así mismo, ocasiona pérdida de peso, disminución del periodo de la vida de la abeja infestada (De Jong *et al.*, 1982; Monetti *et al.*, 1991; Oldroy, 1999; Sammatario *et al.*, 2000), y malformaciones en alas, patas tórax y abdomen (Marcangeli *et al.*, 1992).

7.1.2-Origen y distribución del ácaro *V. destructor*

El ácaro *V. jacobsoni* fue descrito por Oudemans, en 1904, en la Isla de Java, República de Indonesia (Bailey, 1984; Dietz & Hermann, 1988; De Jong, 1997; Sammatario *et al.*, 2000). En sus inicios, *V. jacobsoni* se desarrolló junto a la especie de abeja asiática (*Apis cerana* Fabr), especie que no se ve seriamente afectada debido a que posee una tolerancia natural al ácaro *V. destructor*, producto de una coevolución entre ambas especies (De Jong, 1997; Goodwin & Van eaton, 2001). El primer contacto entre *A. mellifera* y *V. jacobsoni* se produjo cuando colonias de *A. mellifera* fueron transportadas hacia el Este de la Ex Unión Soviética, lugar donde se encontraba la abeja *A. cerana* junto con el ácaro (De Jong, 1997). El ácaro *V. jacobsoni* se diseminó a través de la deriva de abejas obreras y zánganos infestados, el movimiento de enjambres y del pillaje de colonias parasitas a colonias sanas. Sin embargo, la diseminación en gran escala ha sido producto de la trashumancia y la apertura del mercado internacional (De Jong, 1997; Sammatario *et al.*, 2000; Goodwin & Van Eaton, 2001). Según Sammatario *et al.*, (2000), el ácaro *V. destructor* se encuentra disperso en la mayor parte del mundo, siendo Australia, Nueva Zelanda y Hawaii, los únicos lugares libres de esta plaga.

7.1.3-Situación en México

El ácaro *V. destructor* considerado como el principal problema sanitario al que se enfrenta la apicultura a nivel mundial (De Jong 1997), en México *V. destructor* fue reportado en 1992 y para 1996 todo el territorio nacional se encontraba infestado a excepción de Baja California (Chihú *et al.*, 1992), Así mismo, se ha observado que existen varias enfermedades asociadas a *V. destructor*, entre ellas destaca la nosemosis (Hinojosa & González, 2004, Markovick *et al.*, 1995), causada por los hongos *Nosema apis* (Zander) (Fries 1993, 1997; Ritter 2001), y *Nosema ceranae*.

7.1.4-Clasificación taxonómica

Hasta el año 2000, solo se reconocía una especie del género *Varroa*, la cual correspondía a *V. jacobsoni* Oudemans. Sin embargo, Anderson & Trueman (2000), luego de realizar numerosos estudios en ácaros del género *Varroa* provenientes de diferentes lugares del mundo, lograron encontrar e identificar diferencias morfológicas, reproductivas y genéticas, lo cual permitió reclasificar la especie denominando a *V. destructor* como aquella que afecta a las abejas melíferas (Anderson & Trueman, 2000). La clasificación taxonómica del ácaro *V. destructor* es la siguiente (Anderson & Trueman, 2000).

Phylum	<i>Arthropoda.</i>
Sub phylum	<i>Chelicerata</i>
Clase	<i>Arachnida</i>
Sub clase	<i>Acari</i>
Orden	<i>Mesostigmata</i>
Familia	<i>Varroidae</i>
Género	<i>Varroa</i>
Especie	<i>destructor</i> Anderson & Trueman

7.1.5.-Morfología de *V. destructor*

El ácaro *V. destructor* presenta dimorfismo sexual, siendo la hembra de mayor dimensión en comparación al macho (De Jong, 1997). La hembra adulta es ovalada y plana dorsoventralmente, mide 1.1 mm de largo y 1.5 mm de ancho, pesa aproximadamente 0.14 mg, es de color castaño oscuro o café rojizo. El cuerpo es piloso; presenta quelíceros puntiagudos; tiene cuatro pares de patas que terminan en ventosas y garras, las que son utilizadas para adherirse a su hospedero (Neira, 1998; Sammataro *et al.*, 2000; Shimanuki y Knox, 2000). Según De Jong (1997), el macho adulto de *V. destructor* presenta una forma esférica, con un diámetro aproximado a 0.7 mm; presenta una coloración similar a la hembra, pero en tono más pálido. Los quelíceros del macho están altamente modificados y tienen su extremo abierto, el cual es usado para transferir semen, debido a esta modificación el macho no es capaz de alimentarse y por tanto muere dentro de la celdilla, lugar donde se lleva a cabo la reproducción y fecundación de la hembra.

7.1.6.-Biología del ácaro *V. destructor*

El ácaro *V. destructor* es un parásito externo de las abejas adultas y de las crías. En las abejas adultas se presenta principalmente en la región abdominal, especialmente entre los esternitos donde se encuentran físicamente protegidas y muy cercanos a las membranas intersegmentales para alimentarse de la hemolinfa de su hospedero (De Jong, 1997). La biología de *V. destructor* puede ser descrita separando su ciclo de vida en dos fases: la fase forética, que ocurre cuando las hembras adultas de *V. destructor*, se ubican en zánganos y obreras que han emergido de la celda y la fase reproductiva, que ocurre en interior de las celdas operculadas (Apinet, 1996; Vandame, 2000).

7.1.7-Fase reproductiva

La hembra de *V. destructor* se fecunda y reproduce únicamente en el interior de la celda de cría operculada. La invasión a la celda ocurre 15 horas antes de la operculación, en el caso de corresponder a una celda de obrera, y 45 horas antes, en el caso de la cría de zánganos (Calderone, 1999).

7.1.7.1.-Ingreso a la celda de cría

El ingreso a las celdas de cría de obreras ocurre cuando estas se encuentran en su quinto estadio larval, al igual que las crías de zánganos, momento en el cual los pesos larvales son mayores a 100 y 200 mg, respectivamente (Vandame *et al.*, 1998). Una vez que ha ocurrido el ingreso, el ácaro se ubica preferentemente en el fondo de la celda, inmerso en el alimento larval lugar donde permanece inactivo. Esta inactividad cesa cuando la larva ha consumido completamente su alimento, momento en que el *V. destructor* comienza a succionar la hemolinfa de su hospedero (De Jong, 1997; Martin, 1998).

La tasa reproductiva de *V. destructor* en regiones tropicales es baja en comparación de las regiones templadas, la reproducción es reducida en abejas africanizadas en comparación con abejas europeas (De Jong, 1997).

7.1.7.2.-Oviposición y desarrollo

La oviposición de la hembra de *V. destructor* inicia alrededor de 60 horas después de la operculación de la celda. Las hembras depositan 5 o 6 huevos en celdas de obreras y hasta 7 en celdas de zánganos. Sin embargo, la mortalidad de deutoninfas reduce la tasa de reproducción, llegando al estado adulto cerca de 1.5 hembras en celdas de obreras, y 2.6 en celdas de zánganos por cada hembra fundadora (Martin 1998; De Jong, 1997). Los huevos son puestos a intervalos de aproximadamente 30 horas; son ovalados y de color blanco, miden cerca de 0.3 mm de largo por 0.23 mm de ancho. El primer huevo es generalmente un macho, y los restantes son hembras. El desarrollo de los machos, desde huevo a adulto demora cerca de 5.5 a 6.2 días, en tanto las hembras demoran 6.5 a 6.9 días desde huevo a adulto. Debido a que el parásito solo puede reproducirse durante el periodo de operculación, mientras más largo es dicho periodo, más numerosa puede ser la descendencia (Vandame *et al.*, 1996; De Jong, 1997; Neira, 1998; Catalayud, 2002). Los descendientes del ácaro se desarrollan en el interior de la celda hasta que la abeja alcanza su estado adulto y rompe el opérculo para salir al exterior. El macho llega a la madurez antes que la hembra, debido a esto, el macho debe esperar que la hembra alcance el estado adulto para realizar la cópula. Cuando la celda es infestada la infesta una sola hembra fundadora,

la descendencia será consanguínea, situación factible dado que *V. destructor* posee un sistema de determinación del sexo haplodiploide. Los machos se forman a partir de huevos haploides sin fertilizar que contienen 7 cromosomas, en tanto las hembras provienen de huevos diploides fertilizados, los cuales contienen 14 cromosomas (De Jong, 1997).

Las hembras de *V. destructor* que no logran ser fecundadas sufren una atrofia de su órgano copulador que impide la posterior fecundación, por lo que pasan a ser hembras infértiles. En algunos casos, el macho muere antes de aparearse, por lo que las hembras de esa celda serán infértiles (Calatayud, 2002).

7.1.8.-Fase forética

Esta etapa inicia con la salida del ácaro hembra *V. destructor* de la celda de cría, junto su hospedero adulto (obrero o zángano). Esta etapa constituye el factor principal de la propagación y diseminación de *V. destructor*, ya que con la deriva y el pillaje de abejas infestadas, se invaden nuevas colmenas, mediante esta vía, durante un día de gran actividad, pueden llegar a una colmena hasta 70 ácaros (Vandame *et al.*, 1996).

7.1.9.-Diseminación del ácaro *V. destructor*

La diseminación de la varroosis puede ocurrir por diversos medios, por una parte se encuentran los zánganos que pueden acceder libremente de una colonia a otra. Las abejas pecoreadoras que se confunden al ingresar a su colmena; el pillaje de una colmena infestada a una colonia libre, la introducción de enjambres silvestres infestados y el traslado de núcleos infestados de un apiario a otro (De Jong, 1997; Goodwin & Van Eaton, 2001).

7.1.10.-Daños ocasionados por *V. destructor*

Los daños ocasionados por *V. destructor* podemos clasificarlos como daños directos y daños indirectos. Los daños directos se aprecian sobre el hospedero, en tanto los indirectos son el resultado de diversas enfermedades transmitidas por el parásito (Barriga & Neira, 1988). Los daños inician en el interior de la celda de cría. Entre los principales daños se observan, bajo peso corporal, deformación de alas, patas, tórax y abdomen, glándulas hipofaríngeas reducidas, pérdida de proteínas en la hemolinfa, reducción en la tasa de

emergencia de zánganos, cambios en la fisiología de zánganos y disminución en el tiempo de pecoreo (Goodwin & Van Eaton, 2001). Una abeja parasitada reduce su posibilidad de vida al 50% por lo menos, por cada ácaro que la parasita pierde el 10% de su peso y sufre una disminución de proteínas de un 60%. Si una celda es parasitada por más de seis ácaros la abeja muere a los pocos días de emerger o cuando aún está en su celda (Castillo, 1992).

Según Calatayud (2002), los daños indirectos corresponden a patologías ocasionadas por infecciones secundarias que pueden estar ligadas a la acción inoculativa de diversos microorganismos que son transmitidos por *V. destructor* o bien aparecer de forma oportunista cuando la colonia de abejas se debilita. Se ha comprobado que el ácaro, es capaz de inocular bacterias y diversos tipos de virus (Apinet, 1996). Según Martin *et al.*, (1998), el ácaro *V. destructor* transmite particularmente ciertos virus, como es el caso del virus de la parálisis aguda (APV). Hasta antes de la aparición de la varroosis, en las abejas europeas se habían encontrado una multitud de virus que no producían signos o solo producían brotes estacionales y no muy graves. Es el caso del virus de la parálisis lenta (SPV), virus de las alas deformadas (DWV), virus de las alas nubladas (CWV), virus de la cría sacciforme (SBV),), virus de la parálisis crónica (CPV), virus cachemire (KBV), y el virus de la celda negra de la reina (BQCV) que producen daños solo en las crías. El virus de la parálisis crónica (CPV), y el virus de la cría sacciforme si causaban síntomas típicos en la colmenas, pero se han agravado sus efectos con el advenimiento de la varroosis (Goodwin & Van Eaton, 2001; Calatayud, 2002).

7.1.11.-Métodos de detección y evaluación de la infestación

Existen diversos métodos para determinar la presencia de *V. destructor* en los apiarios, (Goodwin y Van Eaton, 2001). Según Dietz & Hermann (1988) y Peldoza (1992), señalan que si la infestación de *V. destructor* es descubierta tardíamente, los tratamientos de control serán poco efectivos y de un elevado costo económico. Entre los principales métodos de detección de *V. destructor* destacan el muestreo de abejas adultas, muestreo de panales de cría, método de aplicación de éter, utilización de agua jabonosa o alcohol (Dietz & Hermann, 1988; Ostiguy & Sammataro, 2000; Shimanuki & Knox, 2001).

7.1.12.-Niveles críticos de infestación

En programas de control de plagas y enfermedades, normalmente se determina una tasa de infestación crítica, con el fin de aplicar medidas de control cuando estas se encuentren sobre dicho nivel. Sin embargo, por ser la infestación un proceso de incremento continuo, regulado por condiciones ambientales favorables, el valor crítico dependerá directamente de la época del año en que las muestras sean tomadas. Las crías y las abejas adultas de *A. mellifera* pueden soportar niveles de infestación cercanos al 10% durante las estaciones frías, nivel que puede aumentar hasta un 30% (De Jong, 1997; Goodwin & Van Eaton, 2001). Un método sencillo para determinar el nivel de infestación de las colonias presentes en un apiario considera un muestreo representativo de al menos el 15 % de las colmenas presentes en el apiario (De Jong, 1997; Vandame, 2000).

7.1.13.-Diagnóstico de *V. destructor* en abejas adultas

Una de las alternativas más confiables para detectar la presencia de *V. destructor* es recolectar una muestra entre 200 y 300 abejas adultas extraídas de la cámara de cría, las cuales posteriormente se agitan en un frasco que contenga una solución al 2% de detergente líquido en agua. Por la fricción los ácaros se desprenden del cuerpo de la abeja. Una vez realizada esta actividad se divide el número de ácaros recuperados entre el total de abejas y se multiplica por 100 (Mobus & Connor, 1988).

7.1.14.-Diagnóstico de *V. destructor* en celdas de cría

Este método consiste en desopercular un área aproximada de 15 cm² de panal con cría de zánganos. Posteriormente se procede a sacudir el marco suavemente sobre la tapa de la colmena para extraer la larva, o bien, la cría puede ser retirada con una pinza. Si los ácaros se encuentran presentes, se visualizan a simple vista (De Jong, 1997; Calatayud 2002).

7.1.15.-Métodos de control del ácaro *V. destructor*

Se han empleado diversos métodos para mantener las colmenas con bajos niveles de infestación de *V. destructor*. Sin embargo, el método más popular es el control químico,

con el uso recurrente de productos derivados de piretroides (flumetrina y fluvalinato), lo cual, sumado a un deficiente manejo, ha generado una presión de selección en la descendencia de los ácaros, con el posterior resultado de especies resistentes a los ingredientes activos aplicados. Lo anterior, ha generado que una gran parte de las investigaciones que se realizan actualmente para el control de *V. destructor*, se focalicen en el estudio de sustancias naturales no contaminantes, utilizando para ello productos químicos orgánicos tales como el ácido láctico, ácido fórmico, ácido oxálico y aceites esenciales provenientes de diversos tipos de vegetales (Agrobit.COM, 2000).

7.1.16.-Control biológico cultural

Este concepto frecuentemente es utilizado para describir a aquellos métodos de control que no utilizan químicos para lograr su objetivo. Según lo anterior, Goodwin y Van Eaton (2001), señalan que puede ser definido como la utilización de técnicas de manejo apícola específicas, previo conocimiento de la biología del parásito y su hospedero, diseñadas para reducir los niveles de ácaros en una colonia. El desarrollo del control biológico cultural se debe a diversas razones, entre las cuales destacan el requerimiento de producción orgánica de miel, sin residuos en los productos, evitar la resistencia química en ácaros y la imposibilidad de acceder a onerosos tratamientos químicos. Sin embargo, Sammataro *et al.*, (2000), señalan que los procedimientos necesarios para ejecutar un control de este tipo suelen ser extremadamente laboriosos y difícilmente aplicables en apiarios de gran escala debido al alto costo económico que involucra la mano de obra y al mayor tiempo necesario para su realización (De Jong, 1997; Delaplane, 1997; Calatayud, 2002). Procedimientos biológicos. Büchler (1994) y Sammataro *et al.*, (2000), señalan que estos están dirigidos principalmente al mejoramiento genético destacando, colonias que presenten una mayor tolerancia a *V. destructor* y colonias con alto comportamiento higiénico.

7.1.17.-Procedimientos culturales

Sammataro *et al.*, (2000) y Calatayud (2002), señalan que los procedimientos culturales se dirigen principalmente a la alteración del medio ambiente natural de una

colmena mediante técnicas de manejo físicas y mecánicas, entre las cuales se encuentran: utilización de humo proveniente de material vegetal, el cual se aplica hacia el interior de la colmena lo que provoca la caída de los ácaros. Este procedimiento se puede complementar con la utilización de un tablero pegajoso ubicado en el piso de la colmena, que recoge los ácaros para su posterior eliminación. Uso de calor a temperaturas de 46 a 48°C para desprender ácaros desde el cuerpo de las abejas adultas. Este método es muy riesgoso ya que las abejas mueren a temperaturas de 49 a 50°C, por lo que su éxito incluso en combinación con agentes químicos, es muy variable (Ritter, 1981; Barriga & Neira, 1988). La introducción de panales zanganeros en colonias infestadas, los cuales se retiran una vez finalizado el proceso de operculación de la celdilla, es una medida que permite la eliminación de los panales en que se encuentran los ácaros en desarrollo. Ritter (1981) y Robles (1995), indican que mediante este método se han alcanzado reducciones variables en el nivel de infestación.

7.1.17.1.-Control químico

Actualmente destacan los tratamientos químicos y los tratamientos alternativos (De Jong, 1997; Delaplane, 1997; Goodwin & Van Eaton, 2001). Según Fredes (1993), existen numerosos métodos de tratamiento, cada uno de ellos agrupados según su modo de aplicación, siendo más usual la fumigación de las colonias, la aplicación de productos en los marcos o bastidores, la colocación de tiras fumígenas en los marcos, o asperjando directamente a las abejas. Una de las soluciones para este problema es la alternancia de acaricidas, cuyo requisito es que pertenezcan a diferentes grupos químicos, o sea, se diferencien en el modo de acción, que actúen en diferentes sitios de acción y que sean aplicados en la dosis precisa (Watkins, 1996; Goodwin & Van Eaton, 2001; Wang *et al.*, 2002). Por otra parte, muchos de los químicos sintéticos utilizados habitualmente por los apicultores tienen la particularidad de ser liposolubles, característica poco deseada debido a la elevada residualidad presente en la cera, tal es el caso del coumaphos, acrinatrina, fluvalinato, flumetrina, bromopropilato (Goodwin & Van Eaton, 2001; Calatayud, 2002; **Tabla 1**).

Tabla 1. Métodos químicos y alternativos utilizados en el control de *V. destructor*.

Métodos de Control	Grupo químico	Nombre común	Nombre comercial
Químico	Piretroide sintético	Fluvalinato	Apistan®
		Flumetrina	Bayvarol®
	Imofenil tiazolidine	Cimiazol	Apitol®
	Formamidinas	Amitraz	Apivar®
Alternativo	Ácidos orgánico	Ácido fórmico	Genérico
		Ácido láctico	Genérico
		Ácido oxálico	Genérico
	Aceites esenciales	Timol	Apiguard®
Timol, eucaliptol, mentol, alcafor		Apilife VAR®	

Fuente: Ritter, 2001; MF, 2001; SENASA, 2004.

Además, muchos químicos de síntesis que se han empleado, muestran efectos colaterales indeseables, algunos son tóxicos, mientras que otros son cancerígenos y mutagénicos. Otro de los problemas con los productos sintéticos, es que en su mayoría presentan consecuencias adversas de contaminación de miel, cera y polen (Calderone & Spivak, 1995).

7.1.17.2.-Control alternativo

El acelerado desarrollo de estas nuevas alternativas de acaricidas naturales, se debe a la principalmente a problemas como la residualidad, alta persistencia, toxicidad y la generación de ácaro resistentes a los ingredientes activos (Calderone & Spivak, 1995). Según Imdorf & Charrière (2003), las sustancias como los ácidos orgánicos (fórmico, láctico y oxálico), y algunos aceites esenciales (timol, mentol, alcanfor y eucaliptol, pueden ser una alternativa o bien complementarse a los métodos de control tradicionales. Sin

embargo, existen dos problemas debido a la aplicación de tratamientos inadecuados, siendo la acumulación de residuos en la cera y miel y algunos aceites esenciales en dosis altas también afectan a las abejas. Comparativamente con el fluvalinato, este es 800 a 1000 veces más tóxico en ácaros que en abejas. En tanto, en ciertos aceites esenciales esta relación disminuye, siendo ésta entre dos a cuatro veces más tóxico en ácaros que en abejas (Goodwin & Van Eaton, 2001).

7.1.18.-Control con ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos están presentes en forma natural en muchos alimentos, por lo que las abejas están habituadas a convivir con estas sustancias, sin ser dañadas (Vandame, 2000, Bogdanov *et al.*, 2002). La efectividad de estos productos es variable, ya que depende de factores tales como la concentración del producto, período de duración de cada tratamiento, el método de liberación, el tipo de colmena, presencia o ausencia de cría y temperatura ambiente. Entre las principales características a reconocer en los ácidos orgánicos previo a su utilización, se encuentran la eficacia, duración del tratamiento, los efectos adversos documentados en apicultura (**Tabla 2**).

Tabla 2. Características de los ácidos orgánicos utilizados en la apicultura para el control de *V. destructor*.

Ingrediente activo	Eficiencia (%)	Periodo de tratamiento	Efectos adversos	Problemas de residuos
Ácido fórmico	61-98	Final de verano o comienzo de primavera	Ocasional en crías, zánganos, obreras	Miel
Ácido láctico	41-99	2 a 4/ años	Posible en huevos de obreras	Miel
Ácido oxálico	82-99	Otoño	Reducción de crías en primavera	Miel

Fuente: Vandame, 2000.

7.1.19.-Control con ácido fórmico

Las técnicas de aplicación del ácido fórmico son múltiples, existiendo diferentes tipos de dosificadores que permiten su evaporación, por lo que la temperatura juega un

papel importante (Higes, 1996). Según Imdorf & Charrière (2003), indican que la máxima eficiencia del tratamiento comienza a fines de verano posterior a la mielada, y cuando la temperatura ambiente diurna es entre 18 a 25°C, y las temperaturas nocturnas no descienden de los 12°C. Además, Vandame (2000), indica que la concentración de ácido fórmico a utilizar se relaciona en forma inversa a la temperatura, según se observa en la **Tabla 3**. Una ventaja de utilizar el ácido fórmico en comparación a ciertos acaricidas de síntesis, es su elevada volatilidad. Esta característica le permite evaporarse en tan solo tres semanas, y en consecuencia, no contamina los productos de la colonia (Vandame, 2000). El ácido fórmico actúa dentro de la colonia matando al ácaro por medio de los gases producto de la evaporación, ya que la colonia se satura del gas y la mueren por acidificación (Imdorf *et al.*, 1999; Vandame, 2000). Respecto al sitio de acción, el ácido fórmico actúa inhibiendo el complejo citocromo oxidasa mitocondrial, causando asfixia de tejido con la consecuente muerte celular (Maduh *et al.*, 1990).

Tabla 3. Concentración de ácido fórmico, recomendada según la temperatura ambiental.

Concentración del producto	Temperaturas recomendadas
50% v/v de ácido fórmico	>30°C
60% v/v de ácido fórmico	25-30°C
70% v/v de ácido fórmico	<25°C

Fuente: Vandame, 2000.

7.1.20.-Aceites esenciales

Según Imdorf *et al.*, (1999), en el control de *V. destructor* han sido probados cerca de 150 diferentes tipos de aceites esenciales, pero solo unos pocos han resultado efectivos en pruebas de campo (Gal *et al.*, 1992; Calderone & Spivak, 1995; Amrine *et al.*, 1996; Imdorf *et al.*, 1999), entre otros, los cuales señalan que su utilización es influenciada por la temperatura, ya que en climas o estaciones frías la volatilización se ve afectada negativamente y no produce el efecto deseado en los ácaros, que es eliminar o repeler. En cambio, aplicado con temperaturas extremadamente altas, se presentan problemas de

agitación y muerte de abejas. Uno de los motivos que generó la investigación en el uso de estos compuestos, fue evitar la resistencia de *V. destructor* y la residualidad en los productos y subproductos de las abejas, condición que presentan la mayoría de los acaricidas de síntesis. Sin embargo, al contrario de los ácidos orgánicos, los aceites esenciales se acumulan temporalmente en la miel y cera, pero estos residuos no son importantes desde el punto de vista toxicológico (Imdorf *et al.*, 1996; Goodwin & Van Eaton, 2001). Se ha demostrado que concentraciones de 5 a 15 ug de timol, 50 a 150 ug de alcanfor y 20 a 60 ug de mentol por litro de aire, eliminaron mataron cerca del 100% de ácaros sin evidenciarse efectos adversos en abejas. Sin embargo, el eucaliptol aplicado en dosis de 240 ug por litro, generó una mortalidad del 100% de la población de *V. destructor*, pero eliminó al 25 % de las abejas de la colmena tratada (Imdorf *et al.*, 1995). Según Vandame la utilización de cristales de timol, en dosis de 8 g por colmena disueltos en alcohol o simplemente en polvo. Esto es para una aplicación que dura siete días, consistiendo el tratamiento de 2 o 3 aplicaciones, obteniendo una eficiencia cercana al 82%.

7.1.21.-Método de aplicación de los aceites esenciales

Según lo señalado por Imdorf *et al.*, (1999), dada la naturaleza de estos productos, el método más apropiado para la aplicación de aceites esenciales y sus componentes es la evaporación pasiva, lo cual se logra mediante la utilización de sustratos inertes, fácilmente disgregables, los cuales se impregnan con una solución líquida de los aceites esenciales que luego se liberan lentamente. La facilidad de disgregación del sustrato, ayuda a que las abejas distribuyan dicho elemento en el interior de su colmena (Vandame, 2000).

7.1.22.-Modo de acción de los aceites esenciales

Según Imdorf *et al.*, (1996), los aceites esenciales y sus componentes exhiben actividades acaricidas, actuando ya sea como repelente, atrayente o bien teniendo efectos sobre la reproducción de *V. destructor*, agregan que se han encontrado algunos aceites y compuestos derivados de estos que pueden causar la muerte, o efectos adversos sobre *V. destructor*, a través de dos mecanismos de acción: Toxicidad por contacto directo: Disminución de la reproducción de los ácaros, por medio de la alimentación con jarabes

que contengan aceites esenciales (Amrine *et al.*, 1996). Según señala Imdorf *et al.*, (2003), diversas empresas han desarrollado acaricidas formulados en base a aceites esenciales o mezclas de estos, especializados en control de *V. destructor*, los que han debido ser sometidos a numerosos estudios para determinar su eficacia y efectividad en diferentes climas y condiciones, existiendo una amplia variedad de éstos disponibles en el mercado (**Tabla 4**).

Tabla 4.- Composición química principal de algunas especies vegetales

Nombre científico	Nombre común	Composición química principal
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Tomillo	Geraniol, carvacrol, borneol, linalol, timol.
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill	Eucalipto	Eucaliptol (70-80%) α - β - pineno, p-cimeno, d-limoneno, felandreno, etc.
<i>Mentha x piperita</i> var. <i>piperita</i> L	Menta	Mentol, mentona, acetato de mentilo, etc.
<i>Cinnamomum canphora</i> L	Alcanfor	Safrol, alcanfor.
<i>Thymus capitatum</i> L.	Orégano	Carvacrol (58%), para cymene (17%), (6%), timol (2%), α - β - pineno, g-terpineno, etc.
<i>Salvia officinalis</i> L.	Salvia	Tuyona.

Fuente: Imdorf *et al.*, 2003.

7.1.23.-Especie vegetal en estudio: *Croton humilis* L.

Con base en criterios del género *Croton* de la familia Euphorbaceae, de distribución tropical comprenden 2053 especies descritas y de estas, solo 1195 aceptadas (Salamanca & Sánchez, 2009). La clasificación actual de la planta en estudio se muestra a continuación (Martínez *et al.*, 2002).

Reino	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida

Subclase: Rosidae
Orden: Malpighiales
Familia: Euphorbiaceae
Subfamilia Crotonoideae
Tribu: Crotonae
Género: *Croton* L.
Especie: *Croton humilis* L.

Se han registrado cerca de 1000 especies de Croton en los trópicos y subtrópicos de todo el mundo, posteriormente cerca de 127 especies en México y 32 en el área de la flora de la Península de Yucatán (Carnevali *et al.*, 2005).

7.1.24.-Distribución en la Península de Yucatán

La distribución de la familia Euphorbaceae en abundancias en la península de Yucatán, debido a que estudios de flora y los listados florísticos son herramientas fundamentales para el conocimiento de la diversidad biológica de un país o región (Sousa & Cabrera, 1983; Gutiérrez, 2000).



Figura 1: Distribución Euphorbaceae en abundancias en la península de Yucatán (Sousa & Cabrera, 1983).

7.1.25.-Descripción general de la familia Euphorbaceae

Son árboles, arbustos o hierbas. Con hojas alternas o subopuestas debajo de las inflorescencias terminales, a veces palmadamente lobadas, pinnatinervias o palmatinervias; pecioladas, muy frecuentemente estipuladas, frecuentemente glandulares con tricomas, al menos en partes, estrellados o lepidotos, con látex al realizarle un daño en el tallo que oxida a color rojo; borde ligeramente aserrado y con un par de glándulas en la base, que se visualiza por el envés de lámina. Las hojas que caen tornan de un color naranja. Plantas monoicas o raramente dioicas. Flores en racimos o espigas terminales o axilares; flores estaminadas con sépalos mayormente 5, imbricados o valvados, pétalos 5 o raramente ausentes, imbricados, disco entero o disecado, estambres mayormente 8–50, libres, filamentos inflexos en la yema, pistilodio ausente; flores pistiladas sésiles o pediceladas, sépalos mayormente 5–7, imbricados o valvados, enteros o dentados, pétalos 5 ó ausentes, disco generalmente entero o lobado, ovario 3-locular, 1 óvulo por lóculo, estilos libres o casi así, bífidos o bipartidos a multífidos. Fruto capsular; semillas carunculadas.

7.1.26.-Características

Como todas las euforbiáceas, las plantas del género *Croton* contienen un látex blanco, muy venenoso, que fluye cuando se corta una rama o una hoja, este látex, de color blanquecino, está compuesto de agua, gránulos de almidón, alcaloides, enzimas, sustancias proteicas, resinas y gomas.

7.1.27.-*Croton humilis* L. "Ik ja'aban"

El *Croton humilis* o "Ik ja'aban" (nombre maya), pepperbush (inglés) es un pequeño arbusto de hasta un metro de altura, de hojitas color verde grisáceos, con pequeñas vellosidades y que al frotarlas exhalan un aroma similar al de la savia. En medicina tradicional tiene diversos usos: para curar el paludismo, diaforético (provoca sudor abundante para eliminar toxinas y microbios), estimulante y expectorante. También se le emplea para curar la sífilis, úlceras crónicas, sarna, infecciones de la piel y trastornos urinarios. Sin embargo, hay que tomar ciertas precauciones en el manejo de esta planta, ya que si cae en la piel el jugo de sus hojas o tallos produce una molesta irritación que tarda tiempo en quitarse; también hay que evitar que el jugo tenga contacto con los ojos, ya que puede causar ceguera. El cocimiento se debe preparar con muy pequeña cantidad de la planta ya que contiene sustancias activas muy fuertes que pueden resultar tóxicas (Standley, 1930; Souza, 1942; Adrews, 1979; Salamanca & Sánchez, 2009; Carnevali *et al.*, 2005).

7.1.28.-Vegetación

La planta *C. humilis* proviene de vegetaciones secundarias derivada de selvas bajas, las flores y frutos retiene el rocío en esta planta, es conocido como maleza en la Península de Yucatán, puede producir quemaduras en la córnea, que si son graves resultan en ceguera. Posteriormente su distribución general es en Estados Unidos de Norteamérica (Florida) y Las Antillas y la distribución en México principalmente en la Península Yucatán, Chis., N.L., Zonas., Templadas. Y su hábitat: SBC, VS, y posteriormente el Clima: Aw0, Aw0(x'), Aw1(x') (Roys, 1931; Carnevali *et al.*, 2005).

7.1.29.-Referencias

- Apinet. (1996). Workshop sobre control de varroasis en la República Argentina. <<http://www.inta.gov.ar/apinet/WORKSHOP.HTM>>(26 de sept de 2002).
- Amrine, J; Noel, B; mallow, H; Stasny,T; Skidmore, R. (1996). Essential oils used to control mites in honey bees. (On line).
- Bailey L. (1981). Patología de las abejas. Acribia. España; 139 pp.
- Albado Plaus, E., Saez Flores, G., & Grabiell Ataucusi, S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (Orégano). *Revista Media Herediana*, 12, 16-19.
- Anderson, DL; Trueman, J (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari:Varroidae) is more than one species. *Exp App Acarol*. 24(3): 165-189.
- Bailey, L. (1984). Patología de las abejas. Rothamsted Experimental Station, UK. Traducido por Pedro Ducar. Zaragoza, España. Academic press 139 p.
- Barriga, J. & Neira, M. (1988). *Varroa jacobsoni*, peligro potencial para las abejas en Chile. In. Seemann, P. y Neira, M. (eds). Tecnología de la producción apícola. *Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. pp: 31-46.*
- Bogdanov, S.; Cahrière, J.; Imdorf, A.; Kilchenmann, V. Y Fluri, P. (2002). Determination of residues in honey after treatments with formic and oxalic acid under field condition. *Apidologie (Francia)* 33: 399-409.
- Bogdanov, S.; Imdorf, A. Y Kilchenmann, V. (1998). Residues in wax and honey after Apilife VAR® treatment. *Apidologie (Francia)* 29: 513-524.
- Büchler, R. (1994). Varroa tolerance in honey bees ocurrente, characters and breeding. *Bee World (Inglaterra)* 75(2):54-70.
- Calderone, N.& Spivak, M. (1995). Plant extracts for control of the parasitie mite *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the western honey bee (*Hymenoptera: Apidae*). *Journal of Economic Entomology (USA)* 88(5): 1211-1215.
- Calderone, N. (1999). Evaluation of formic acid and thymol based bled of natural products for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of *Apis*

- mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology (USA)* 92(2): 253-260.
- Carnevali Fernández-Concha, G., J.L. Tapia-Muñoz, I.M. Ramírez M., R. Duno de Stefano, S. Hernández-Aguilar, T.F. Daniel, F. Coe, J.J. Ortiz, N. Diego, L. Can Itzá & F. May Pat (2005). Notes on the flora of the Yucatan Peninsula III: new records and miscellaneous notes for the peninsular flora II. *Harvard Pap. Bot.* 9(2): 257-296.
- Castillo R. (1992). Varroasis, grave amenaza para la apicultura y la agricultura para nuestro país. *Chile Hortofruticultura* 5(26): 19–22.
- Calatayud, F. (2002). La varroosis de las abejas: Nuevos conocimientos y su aplicación práctica. (On line). <<http://www.apiuno.com/pdf/vroosis.pdf>> (18 de junio de 2002).
- Cánovas Alcázar, J. A. (2006). Varroa (*Varroa jacobsoni*) Situación actual y métodos de control. VII Congreso SEAE. Zaragoza 2006., N°6.
- Chihuah AD., Rojas AL, Rodríguez DS. (1992). Primer reporte en México del ácaro *Varroa jacobsoni*, causante de la Varroosis de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.). *Memorias VI Seminario Americano de Apicultura*. Oaxtepec, Morelia.
- Clemente, I. (1990). Varroosis diversas experiencias para su control. In: II Encuentro nacional de ciencia y tecnología apícola. Departamento de Ciencias Agronómicas Básicas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de la Frontera Temuco. Chile. pp 198-212.
- Damiani N, Marcangeli J. (2006). Control del parásito *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) en colmenas de la abeja *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) mediante la aplicación de la técnica de entrapado. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 65(1-2): 33–42.
- De Jong, D; Roma, A; Goncalves, L S (1982). A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honey bees. *Apidologie*. 1982; 13(3):297-306.
- De Jong, D; De Jong, P (1983). Longevity of africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested by *Varroa jacobsoni* (Parasitiformes: Varroidae). *J. Econ. Entomol.*, 76: 766-768. : <https://www.researchgate.net/publication/233613490>.

- De Jong, D. (1997). Mites: Varroa and other parasites of brood. In: Morse, R y Flottum, K. (eds.) Honey bee pests, predators, & diseases. Third edition. Ohio, USA. Root publishing pp 279-327.
- De Jong, D. Y A. E. Egea Soares. (1997). An isolated population of Italian bees that has survived Varroa infestation without treatment for over 12 years. *American Bee Journal (USA)* 132: 742-745.
- Dietz, A. Y Hermann, H. (1988). Biology, detection and control of *Varroa jacobsoni*: a parasitic mite on honey bees. Georgia, USA. Lei-Act Publishers. 82p.
- Echazarreta-González CM, Quezada-Euán JIG, Medina ML, Pasteur KL. (1997). Beekeeping in the Yucatan peninsula: development and current status. *Bee World* 78: 115–127.
- Espinosa Montaña LG, Guzmán-Novoa. (2007). Eficacia de dos acaricidas naturales, ácido fórmico y timol, para el control del ácaro *Varroa destructor* de las abejas (*Apis mellifera* L.) en Yucatán, México. *Vet. Méx*; 38 (1):1-8.
- Egueras, M. 1993. Variaciones estacionales en la tasa de reproducción e incremento de *Varroa jacobsoni* O. (Acari: Gamasida), parasioto de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *Tesis Doctoral. FCEYN. UNMDP.174 P.*
- Flores, J.; Afonso, S. & Puerta, F. (2001). Comportamiento higiénico de *Apis mellifera* Ibérica em células de criação de obreiras artificialmente infestadas com o parasita varroa. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinarias (Portugal)* 96 (538): 71-74.
- Fries I. (1993). *Nosema apis*, a parasite in the honey bee colony. *Bee World*; 74 (1):5-19.
- Fries I. Protozoa IN: R. Morse; K. (1997). Honey Bee Pests, Predators, & Diseases. Third Edition; 57-76.
- Gal, H.; Slabezki, Y.; Lensky, Y. (1992). A preliminary report on the effect of origanum oil and thymol applications in Honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in a subtropical climate on population levels of *Varroa jacobsoni*. *Bee Science (USA)* 2 (4): 174- 179.
- Gerson U, Mozes K, Cohen ER. (1991). Enzyme levels used monitor pesticide resistance en a *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* 30: 17–20.

- Goodwin, M. Y Van Eaton, C. (2001). Control of varroa. A guide for New Zealand beekeepers. New Zealand Ministry of Agriculture and Forestry (M.A.F). Ed. Astra Print. Wellington, New Zealand. 127 p.
- Ghasemi V, Moharramipour S, Tahmasbi G. (2011). Biological activity of some plant essential oils against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), an ectoparasitic mite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Experimental and Applied Acarology* 55: 147–154.
- Hinojosa A, González D. (2004). Prevalencia de parásitos en *Apis mellifera* L. en colmenares del secano costero e interior de la VI Región, Chile. *Parasitol Latinoam*; 59: 137141.
- Higes, M. (1996). Tratamientos alternativos contra varroa. *Vida Apícola (España)* 77:7.
- Indorf, A., Charriere, J.; Maquelin, C.; Kilchenmann, V.; Y bachofen, B. (1996). Alternative varroa control. *American Bee Journal (USA)* 136(3): 189-193.
- Indorf, A., S. Bogdanov, R. Ibañez, and N. Calderone. (1999). Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. In honey bee colonies. *Apidologie* 30: 209-228.
- Indorf, A. Y Charrière, J. (2003). Alternative Varroa control. Swiss Bee Research Centre. Dairy Research Station. Liebfeld, Bern (On line). http://www.apis.admin.ch/english/pdf/Varroa/AVB98_e.pdf (04 de abril de 2004).
- Kanga L, Jones W, Garcia C. (2006). Efficacy of strips coated with *Metarhizium anisopliae* for control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee colonies in Texas and Florida. *Experimental and Applied Acarology* 40: 249-258.
- Le Conte Y, Marion E, Wolfgang R. (2010). Varroa mites and honey bee health can Varroa explain part of the colony losses. EDP Sciences, USA.
- Maduh, E.; Borowits, J. Y Isom, G. (1990). Cyanide-induced alteration of cytosolic pH: involvement of cellular hydrogen ion handling processes. *Toxicology and Applied Pharmacology (USA)* 106: 201-208.
- Maggi M, Ruffinengo S, Damiani N, Sardella N, Eguaras M. (2009) First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos in Argentina. *Experimental and Applied Acarology* 47 (4): 317-320.

- Marcangeli, J.; L. Monetti & N. Fernández. (1992). Malformations produced by *Varroa jacobsoni* on *Apis mellifera* in the province of Buenos Aires, Argentina. *Apidologie*, 23: 399-402.
- Markovic J, Matesen Z, Sulimanovic D. (1995). 50 years of dealing the nosema disease (research, diagnosis and treatment). *The XXXIV th International Apicultural Congress of Apimondia, Lausanne. Switzerland*. 510 pp.
- Martin, S. (1998). A population model for the ecto-parasitic mite *Varroa jacobsoni* in the honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological modelling (Inglaterra)* 109 (2): 267-281.
- Martínez Gordillo, M., J. Jiménez Ramírez, R. Cruz Durán, E. Juárez Arriaga, R. García, A. Cervantes & R. Mejía Hernández. (2002). los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. *An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. Méx., Ser. Bot.* 73(2): 155-281.
- Medina FC, Guzmán NE, Aréchiga FCF, Aguilera SJI, Gutiérrez PFJ. (2011). Efecto del nivel de infestación de *Varroa destructor* sobre la producción de miel de colonias de *Apis mellifera* en el altiplano semiárido de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2(3): 313-317.
- Medina ML. Frequency and infestation levels of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in managed honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Yucatan, México. *Am Bee J.* 1998; 138(2): 125-127.
- Monetti L, Marcangeli J, Eguaras M, Fernández N. (1991). Pérdida de peso en la abeja *Apis mellifera*, raza criolla, producida por el ectoparásito *Varroa jacobsoni*. *Ecología Austral* 1: 103-106.
- Mobus, B. Y Connor, L. 1988. The varroa handbook. Northern bee books. Connecticut, U.S.A. 50p.
- Mutinelli, F. 2000. European legislation governing the use of veterinary medicinal products with particular reference to varroa control. *Bee World (Inglaterra)* 81(4):164-171.
- Neira, M. (1998). Apicultura. In Amtmann, C.; Mujica, F. y Vera, B. (eds.). Pequeña agricultura en la Región de Los Lagos. Universidad Austral de Chile. pp: 261-295.

- Ritter, W. (1981). Varroa disease of the honey bee *A. mellifera*. *Bee World (Inglaterra)* 62(4): 141-151.
- Ritter, W (1992). Chemical control: options y problems. En: Matheson, A. Ed. Living with Varroa. IBRA, Cardiff, U.K. pp. 17-24.
- Ritter, W. (1999). Coordination in Europe of research on integrated control of Varroa mites in honey bee colonies. <<http://www.entom.slu.se/res/bi/proj16b.html>> (13 de julio de 2003).
- Ritter W. (2001). Enfermedades de las abejas. Acibia, S.A. España. 146 pp.
- Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *J of Invert Pathol.* 2010;103:96-119.
- Robles, M. 1995. Ensayo de la eficacia del método biotécnico “cría de zángano dirigida” en el control de varroasis. *Vida apícola (España)* 73:16.
- Oldroy B.P. (1999). Coevolution while you wait: *Varroa Jacobsoni*, a new parasite of western honey bees. *Tree Physiol* 14:312-315.
- Ordex G, Espina P. (1996). La apicultura en los trópicos. Bartolomé Trucco, Editor. México, D.F. 412 pp.
- Ostiguy, N. Y Sammataro, D. (2000). A simplified technique for counting *Varroa jacobsoni* Oud. on sticky boards. *Apidologie (Francia)* 31: 707 – 716.
- Sammataro, D., Gerson, U. Y Needham, G. (2000). Parasitic mites of honey bees: Life history, implications and impact. *Annual Review of Entomology (USA)* 45: 519 - 548.
- Shimanuki, H. Y Knox, D. (2000). Diagnosis of honey bee diseases. United States Department o Agriculture (USDA). Agricultural Research Service. *Agriculture handbook. Beltsville, USA. N° 690. 57 p.*
- Skinner, J.; Parkman, J. Y Studer, M. (2000). Evaluation of New treatments for parasitic mites of honey bees. University of Tennessee. http://bioengr.ag.utk.edu/Extension/ExtProg/Vegetable/year/VegInitReport00/55evaluation_of_new_treatments_for.htm > (23 de mayo de 2002).
- Thompson, H; Brown, M; Ball, R; Bew, M (2002). First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie*, 33: 357-366.

- Tripathi A, Upadhyay S, Bhuiyan M, Bhattacharya P. (2009). A review on prospect of essentials oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy 1*: 52-63.
- Urchaga Fernandez, A., & Reque Kilchenmann, J. A. (2008). Estudio de polinización en áreas de distribución de Oso Pardo y urogallo Cantábrico. 2. Valladolid, España.
- Vandame R, Colin M, Otero G. (1998). Tolerancia a Varroa. *Vida Apícola 88*: 45-50.
- Vandame, R. (2000). Curso de capacitación sobre control alternativo de varroa en la apicultura. Valdivia, Chile. p22. 15–16 agosto 2000. Estación experimental Santa Rosa. Universidad Austral de Chile.
- Vásquez Castro, J. A., Bracho Pérez, J. C., & Narrea Cango, M. (2006). Efecto del ácido oxálico, ácido fórmico y coumaphos sobre *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) en colonias de abejas. *Revista Peruana de Entomologia 45*, 149-152.
- Wang, R.; Liu, Z.; Dong, K.; Elzen, P.; Pettis, J. Y Huang, Z. 2002. Association of novel mutations in a sodium channel gene with fluvalinate resistance in the mite, *Varroa destructor*. *Journal of Apicultural Research (Inglaterra) 40(1-2)*: 17- 25.
- Watkins, M. (1996). Resistance and its relevance to beekeeping. *Bee World (Inglaterra) 77 (4)*:15 - 22.
- Wilson W, Nunamaker R. (1983) The incidence of *Nosema apis* Z. in honey bees in Mexico. *Bee World*; 64(3):132-136.

7.2.-Capítulo 2

7.2.1.-Evaluación de extractos etanólicos de *Croton humilis* L. (Euphorbiaceae) para el control alternativo del ácaro *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) en Campeche, México

Evaluation of ethanolic extracts of *Croton humilis* L. (Euphorbiaceae) for the alternative control of the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in Campeche, Mexico

José Adan Jiménez-Vázquez^a

Jesús Froylán Martínez-Puc^{ac*}

William Cetzal-Ix^a

Fernando Casanova-Lugo^b

Norma Laura Rodríguez-Ávila^a

^aTecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Chiná, Calle 11 entre 22 y 28, Colonia Centro Chiná, C.P. 24050, Campeche, México.

^bTecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de la Zona Maya, carretera Chetumal-Escárcega, km. 21.5, Ejido Juan Sarabia, C.P. 77965, Quintana Roo, México.

^cTecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Conkal, Avenida Tecnológico s/n Conkal, C.P. 97345, Yucatán.

*Autor por correspondencia: froyitovarrooo@hotmail.com

7.2.2.-Resumen:

La varroosis es considerada uno de los principales problemas sanitarios que afectan a la apicultura a nivel mundial, y es ocasionada por el ácaro *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). Entre los daños producidos por *V. destructor* a las abejas melíferas destacan la deformación de alas, patas, tórax y abdomen, hasta la pérdida total de la colmena. En este

estudio evaluó entre septiembre 2018 y abril 2019, el efecto de extractos etanólicos (EE) obtenidos de diversas partes de la planta (hojas, tallos y raíces) de *Croton humilis* L. (Euphorbiaceae) a siete concentraciones (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50%; con cuatro repeticiones), como una alternativa para el control de *V. destructor* en colmenas de abejas melíferas en el estado de Campeche, México. Los bioensayos consistieron en exponer a *V. destructor* a los EE durante 24 horas, así como también evaluar el efecto sobre individuos de *A. mellifera* infestados con *V. destructor* durante 72 horas. Se observó una mortalidad del 100% de *V. destructor* al EE de obtenido de la hojas, tallo y raíz de *C. humilis*, ($p > 0.05$). La mayor mortalidad se observó las primeras dos horas después de que los ácaros fueron expuestos al EE en todos los tratamientos. Con respecto con la mortalidad de *V. destructor* sobre *A. mellifera*, se registró una mortalidad a partir de la concentración del 20% en el T1 y a 30% en los T2 y T3. Un tamizaje fitoquímico indicó la presencia de saponinas esteroidales, lactonas, grupo amino, taninos, flavonoides, alcaloides, cardenolidos y leucoantocianidinas. Se concluye que los E.E. de *C. humilis* presentan una alternativa para el control de *V. destructor*. Sin embargo, es importante realizar otros estudios para conocer la presencia de residuos de los extractos en la miel de la colonia tratada.

Palabras clave: Mortalidad, Varroosis, *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, *Croton humilis*.

7.2.3.-Abstract:

Varroosis is considered one of the main health problems that affect beekeeping worldwide, and is caused by the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). Among the damage caused by *V. destructor* to honey bees, the deformation of wings, legs, thorax and abdomen stands

out, up to the total loss of the hive. In this study we evaluate between September 2018 and April 2019, the effect of ethanolic extracts (EE) obtained from various parts of the plant (leaves, stems and roots) of *Croton humilis* L. (Euphorbiaceae) at seven concentrations (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50%; with four repetitions), as an alternative for the control of *V. destructor* in honey bee hives in the state of Campeche, Mexico. The bioassays consisted of exposing *V. destructor* to the EE for 24 hours, as well as evaluating the effect on individuals of *A. mellifera* infested with *V. destructor* for 72 hours. A mortality of 100% was observed of *V. destructor* at EE obtained from the leaves, stem and root of *C. humilis*, ($p > 0.05$). The highest mortality was observed the first two hours after the mites were exposed to EE in all treatments. Regarding the mortality of *V. destructor* on *A. mellifera*, a mortality was recorded from the concentration of 20% in T1 and 30% in T2 and T3. Phytochemical screening indicated the presence of steroidal saponins, lactones, amino group, tannins, flavonoids, alkaloids, cardenolides, and leucoanthocyanidins. It is concluded that the EE of *C. humilis* present an alternative for the control of *V. destructor*. However, it is important to carry out other studies to know the presence of residues of the extracts in the honey of the treated colony.

7.2.4.-Introducción

La varroosis es una parasitosis causada por el ácaro *Varroa destructor*⁽¹⁾, que afecta a las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) y es considerado uno de los principales problemas sanitarios que afectan a la apicultura a nivel mundial^(2,3). Este ácaro se alimenta de la hemolinfa de las abejas obreras, reinas y zánganos^(2,3). Entre los daños ocasionados por *V.*

destructor, destacan la deformación de alas, patas, tórax y abdomen de las abejas infestadas, hasta la reducción del contenido de proteína del cuerpo de la abeja, la reducción del periodo de vida por debilitamiento, así como la incapacidad de volar⁽⁴⁾. Además, las colonias de abejas infestadas y que no reciben tratamiento para el control del ácaro pueden llegar al colapso (pérdida total de la colonia) después dos o cuatro años de haber iniciado la infestación⁽³⁾.

En este contexto, en México se realizó un estudio para evaluar el efecto perjudicial de la varroosis en la producción de miel, observándose que colonias tratadas con fluvalinato en contra de *V. destructor* producen hasta un 65% más de miel en comparación a colonias no tratadas⁽⁵⁾. La varroosis se ha convertido en una preocupación mundial para la producción de miel desde que se extendió a Europa y América⁽⁶⁾. En el país el primer registro del ácaro *V. destructor* ocurrió en 1992 en Veracruz, luego se extendió a diversas regiones⁽⁷⁾. En la península de Yucatán se registró por primera vez en Campeche (1993), seguido de Yucatán (1994), y Quintana Roo (1995), ocasionando diversos daños a la actividad apícola⁽⁸⁾. Para reducir el daño ocasionado por el ácaro *V. destructor* a las colonias de abejas *A. mellifera*, se desarrollaron diversos productos para su control, entre los que destacan los tratamientos químicos (fluvalinato y fluometrina), los cuales son los más utilizados a nivel mundial por su elevado porcentaje de eficacia^(9,10,11). Sin embargo, se ha observado que algunas poblaciones de *V. destructor* han desarrollado resistencia a los ingredientes activos de los tratamientos químicos^(9,10,11). Aunado a la inadecuada aplicación de los productos químicos (autorizados o no), que ha ocasionado la acumulación de residuos de productos químicos como en miel y cera de la colonia tratada^(4,12,13,14). Por tal motivo, con la finalidad de encontrar nuevas estrategias para su control y que a la vez reduzcan la probabilidad de la

aparición de resistencia a los productos químicos aplicados y la acumulación de residuos en la colmena tratada se continúan realizando investigaciones^(4,15,16). Entre las alternativas de control se encuentran la introducción de abejas resistentes al ácaro *V. destructor*, ácidos orgánicos, extractos vegetales y aceites esenciales^(17,18). Por lo anterior, se evaluó el efecto de los extractos etanólicos (EE) de *Croton humilis* L. a diferentes concentraciones como una alternativa para el control de *V. destructor* en Campeche, México.

7.2.5.-Materiales y métodos

7.2.6.-Obtención de extractos etanólicos

La recolecta del material vegetativo (MV), para la obtención de los extractos etanólicos (EE) de *Croton humilis* se realizó de septiembre a octubre del 2018, en horario de 7:00 a 9:00 am, en una selva mediana subcaducifolia dentro la Unidad de Conservación de la Flora Nativa de la Península de Yucatán (19°43'4''N, 90°25'9''O) del Instituto Tecnológico de Chiná (IT Chiná), Campeche, México⁽¹⁹⁾ El MV fue procesado en el Laboratorio de Agroecosistemas y Conservación de la Biodiversidad, donde fueron secados y separados en hojas, tallos y raíces, luego colocados en una estufa de secado TR-450 (Clevenger[®]), a una temperatura de 60°C, 72 h aproximadamente. Posteriormente, el MV fue triturado y tamizado; de cada muestra de la planta se tomó 500 g y se colocó en un frasco de vidrio color ámbar, para posteriormente agregar 1.5 litros de etanol al 96%. Las muestras se dejaron reposar durante 36 horas, para luego eliminar los restos del MV. El líquido resultante, fue filtrado (papel filtro Whatman[®] grado 1) para retirar partículas más pequeñas, posteriormente 500 ml fueron sometidos a extracción por destilación con un

Rotavapor (Clevenger[®] R-300, a 70°C por tres horas); luego se recuperó el concentrado del EE (9 ml de raíz, 12 ml de tallo y 15 ml de hoja). Los EE fueron almacenados en refrigeración a 5 °C ⁽²⁰⁾. Con los EE se establecieron tres tratamientos: T1= EE de hojas, T2= EE de tallos y T3= EE de raíces; cada tratamiento contó con siete concentraciones 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50% (C0-50%) y cada uno con cuatro repeticiones.

7.2.7.-Obtención de ácaros *V. destructor* para realizar bioensayos

Inicialmente se determinó el nivel de infestación de ácaros (NI) en abejas adultas de un apiario experimental ubicado en el IT Chiná. Se seleccionaron 15 colmenas de abejas tipo Langstroth de dos cuerpos (cámara de cría y alza), las cuales fueron muestreadas de manera individual, y en cada una se recolectó de 250 a 300 abejas adultas con un frasco de plástico tipo pet con capacidad de 250 ml, conteniendo alcohol etílico al 70%; posteriormente cada muestra se agito durante 15 minutos para que desprendieran los ácaros⁽²⁰⁾, el NI se determinó con la siguiente fórmula:

$$\text{Nivel de infestación} = \frac{\text{Número de ácaros}}{\text{Número de abejas}} \times 100$$

Tomando como base el NI, se seleccionaron cinco colmenas con el mayor NI, identificándose y retirándose cortes de 10 × 10 cm de panales de crías de abejas obreras a punto de emerger (pupas con ojos morados); estas fueron incubadas dentro de cajas de madera a 30°C y con una humedad del 70% por un periodo de 24 horas. Una vez emergidas

las abejas infestadas con *V. destructor*, los ácaros fueron separados y colocados en cajas de Petri; estas cajas contaban con orificios para facilitar el flujo de aire, y nuevamente fueron colocadas en las incubadoras de madera con la misma temperatura y humedad previamente indicada⁽²¹⁾.

7.2.8.-Actividad acaricida en *V. destructor*

El efecto acaricida de los EE de *C. humilis* en *V. destructor*, se evaluó mediante la aplicación del EE a una altura de 10 cm, con un aspersor calibrado (0.9 ml del EE, a una superficie de 60 × 5 mm), en cajas de Petri, con 15 individuos de *V. destructor*; posteriormente se contabilizaron los ácaros muertos a intervalos de dos horas por 24 horas⁽²²⁾. Lo anterior, se realizó con los tres tratamientos (hoja, tallo y raíz), para cada una de sus concentraciones (5, 10, 20, 30, 40 y 50%), con cuatro repeticiones^(23,24). (cada caja de Petri contenía cinco pupas de abejas para la alimentación de los ácaros).

2.2.9._Efecto de la actividad acaricida en *A. mellifera*

Para evaluar el efecto acaricida de los EE de *C. humilis* en *A. mellifera*, se procedió a una ampliación de las horas de monitoreo a 24, 48 y 72 horas, esto con el fin de evaluar la mortalidad en abejas adultas⁽²²⁾.

2.2.10.-Tamizaje fitoquímico

Para identificar la presencia de metabolitos secundarios en *C. humilis* (alcaloides, benzoquinona, cardenolidos, flavonoides, grupo amino, lactonas, leucuantocianidinas,

quinonas, saponinas, saponinas esteroidales, taninos, xantonas y flavonas), se tomó un 1 ml de los extractos de raíz, tallo y hoja ⁽²⁵⁾. Los criterios utilizados para la identificación de la presencia de metabolitos secundarios fueron seis categorías: muy abundante (++++), abundante (+++), moderada (++) ,escasa (+), ausencia (-), dudoso (\pm)⁽²⁵⁾.

2.2.11.-Análisis estadístico

Para determinar la mortalidad por el efecto del EE en *V. destructor* y *Apis mellifera*, se obtuvo las medias de los EE de raíz, tallo y hojas de cada concentración (5, 10, 20, 30, 40 y 50%) con sus respectivas cuatro repeticiones. A estos mismos datos se le realizó un análisis de varianza (ANDEVA) no paramétrica con la prueba de Kruskal Wuallis, lo cual permitió comparar la actividad entre concentraciones y extractos con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$. Estos análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico InfoStat versión 2008⁽²⁶⁾. Por otro lado, se calcularon los valores de concentración más baja con efecto observado y concentración sin efecto observado utilizando estadística descriptiva.

2.2.12.-Resultados

Los EE presentaron efectos acaricidas en contra de *V. destructor* (Cuadro 1), pero no se observaron diferencias estadísticas en la mortalidad del ácaro ($p > 0.05$) causada por el origen del extracto T1 (hoja), T2 (tallo) y T3 (raíz). Sin embargo, si se observó dentro de cada tratamiento a diferentes concentraciones ($p < 0.05$).

2.2.13.-Extractos etanólicos de hojas, tallo y raíz

El porcentaje de mortalidad del ácaro *V. destructor* debido al efecto del EE de hojas (T1), y evaluado durante las 24 horas presentó una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los resultados obtenidos para cada una de las concentraciones probadas. Se observó que el mayor número de individuos del ácaro muere a las primeras dos horas después de haber sido expuesto al EE; siendo mayor este porcentaje a una C40%, seguido de la C50% (Figura 1). La mortalidad natural observada en el tratamiento testigo (C0%) se observó hasta 16 horas post-tratamiento. En la Figura 2, se observa la mortalidad de *V. destructor* a intervalos de dos horas, durante las 24 horas de monitoreo. Como se puede observar, la mayor mortalidad se presentó en el lapso de las dos primeras horas de exposición a los tratamientos.

El porcentaje de mortalidad del ácaro *V. destructor* debido al extracto del tallo (T2), al igual que el obtenido de hojas (T1), ocasionó la mayor mortalidad de *V. destructor* a las primeras dos horas después de haber sido aplicado, siendo mayor en la C10 y C 30%, en comparación con las demás concentraciones (Figura 3). La mortalidad en el tratamiento testigo se observó hasta las 16 horas post-tratamiento. En la Figura 4 se presenta el promedio de datos acumulados de *V. destructor* observados muertos en las cuatro repeticiones de cada una de las concentraciones evaluadas y durante las primeras 24 h de muestreo.

El porcentaje de mortalidad del ácaro *V. destructor* debido al extracto de raíces (T3) presentó mortalidad de *V. destructor* en todas las concentraciones evaluadas a las primeras dos horas, excepto en la C10 % (Figura 5). El tratamiento testigo presentó mortalidad hasta

las 16 horas. En la figura 6 se presenta el promedio acumulado de datos acumulados de *V. destructor* muertos detectado durante el monitoreo a intervalos de dos horas (Figura 6).

2.2.14.-Actividad acaricida de *C. humilis* en *A. mellifera*

La evaluación de la actividad acaricida (AA) en *A. mellifera* infestadas con *V. destructor* causó mortalidad en el ácaro y en menor medida en *A. mellifera*. Se probaron las diferentes concentraciones de los extractos obtenidos, observándose diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en los resultados de los tratamientos en sus diferentes concentraciones a las 24, 48 y 72 horas.

2.2.15.-Mortalidad de *V. destructor* y *A. mellifera* expuestos a los extractos etanólicos

La mortalidad de *V. destructor* y *A. mellifera* expuestos al extracto de *C. humilis* obtenido de hoja presento diferencia significativa ($p < 0.05$) cuando se aplicó a diferentes concentraciones (Figura 7). La C5 y C10%, son las que presentan una mejor opción para el control del ácaro debido a que no causaron mortalidad en las abejas, pero sí de *V. destructor*, con un 63% (Figura 8). Por su parte la C40 y C50% presentaron una mortalidad del 93% de abejas y de un 100% en los ácaros durante las 72 horas de evaluación.

En la Figura 9 se puede observar que las C5, C10 y C20% no causaron mortalidad en *A. mellifera*, pero si ocasionaron la muerte de un 58% en *V. destructor*, mientras que la C30 % causó una mortalidad en abejas de un 8 % y las C40 y C50% condujeron a una mortalidad del 95 % de éstas. Por otro lado, la C50 %, presentó la mayor mortalidad de *A. mellifera*

dentro de las primeras 24 horas del bioensayo. En la Figura 10, se observa la mortalidad de *V. destructor* en todas las concentraciones las primeras 24 horas.

Se observó una mortalidad en *A. mellifera* en las C30, C40 y C50% (figura 11). La C30% presentó la mayor mortalidad a las 24 horas, con un 5% de mortalidad de *A. mellifera*; mientras que la C40% presentó la mayor mortalidad a las 48 horas, con un 55%. La C50% presentó la mayor mortalidad de *A. mellifera* a las primeras 24 horas, con un 85%. Por su parte, la C50% causó el 86 % de mortalidad de *V. destructor* mientras que las C30 y C40 % presentaron un 78 % de mortalidad, siendo por lo tanto ambas menos efectivas. Sin embargo, las C5, C10 y C20 % no presentaron mortalidad en abejas, aunque si afectaron al 53% de los ácaros sujetos a estudio. Cabe mencionar que se presentó mortalidad en el grupo testigo; lo anterior puede explicarse en los posibles daños físicos derivados del manejo. En todos los tratamientos evaluados se observaron resultados con significancia estadística ($p < 0.05$) en cuanto a la mortalidad detectada al aplicar las distintas concentraciones, con respecto al testigo (figura 12).

2.2.16.-Tamizaje fitoquímico

En el Cuadro 2, se pueden apreciar los resultados obtenidos mediante el tamizaje fitoquímico de los extractos de hojas, tallos y raíz. En general, en los tres EE se detectaron saponinas esteroidales, lactonas, compuestos nitrogenados con grupos amino, taninos, alcaloides, cardenólidos y leucoantocianidinas; éstos últimos se presentaron en mayor abundancia en hojas, en tallos no se observó la presencia de dichos metabolitos. En el EE de raíz no se observó la presencia de saponinas esteroidales ni taninos.

2.2.17.-Discusión

2.2.18.-Actividad acaricida de *C. humilis* en *V. destructor*

El EE de *C. humilis* presentó AA y se considera fuente de principios bioactivos con uso potencial en el control *V. destructor*. La AA de los EE obtenidos de diferentes plantas se ha relacionado positivamente con la presencia de saponinas esteroidales, taninos, flavonoides y alcaloides, entre otros compuestos acaricidas^(26,27). En este estudio, el EE de *C. humilis* causó una elevada mortalidad de *V. destructor*, en todos los tratamientos con sus diferentes concentraciones, pero observándose en un 100% con el T1 (Cuadro 1); estos resultados concuerdan con otro estudio donde se encontró un efecto de repelencia que impidió que las hembras de *V. destructor* se posaran sobre las pupas de abejas, como resultado de la aplicación de aceites esenciales de *Salvia officinalis* L. y *Chenopodium* sp.⁽²⁹⁾. Otros estudios realizados sobre la aplicación de EE provenientes de tallo y raíz de *Croton leptostachyus* Kunth, utilizando una concentración de CI_{50} (11.883 ± 1.132 mg/l) ocasionaron una mortalidad de *V. destructor* causando daño estructural por su toxicidad^(30,31).

Cabe mencionar, en el presente estudio el EE de *C. humilis* no presentó diferencia significancia estadística ($p > 0.05$), entre los tratamientos T1, T2, y T3, demostrando que los EE obtenidos de cualquier parte de la planta provocan la mortalidad de *V. destructor*. Sin embargo, se presentó significancia estadística cuando las distintas concentraciones fueron monitoreadas a intervalos de dos horas ($p < 0.05$). En general, se observó que la mayor

mortalidad se presenta durante las primeras dos horas de exposición al EE en todos los tratamientos, los cuales coinciden con un estudio donde se usaron aceites esenciales extraídos de la corteza de *Croton malambo* H. Karst., con una actividad alta de los metabolitos (DL₅₀ de 262 ppm), obteniéndose un porcentaje de mortalidad máxima del $42.79 \pm 2.52\%$ después de 90 min de exposición, dependiendo la mortalidad de los ácaros de la dosis del aceite esencial utilizada⁽³²⁾.

El EE obtenido del tallo causó una mortalidad del 98% en C50 y C40%. Asimismo, la mayor mortalidad ocurrió en las primeras dos horas de exposición al EE. En este sentido, se han realizado trabajos con un aceite esencial obtenido de *Asarum sieboldii* Miq. (42.18%), el cual causó toxicidad de contacto y efecto fumigante contra *V. destructor*, exhibiendo una mortalidad del 100% a las 2.5 horas de exposición en recipientes cerrados con una DL₅₀ de contacto de $(37.7 \mu\text{g}/\text{cm}^2)$ ⁽³³⁾. Nuestros resultados concuerdan con lo reportado para aceites esenciales extraídos de variedades de *C. malambo*, observándose una mortalidad en *V. destructor* del 63 al 65.4%, usando variedades recolectadas en Colombia y Venezuela, respectivamente^(34, 35). A pesar de que el mecanismo exacto de acción tóxica del EE de *C. humilis* y sus congéneres es desconocido, algunos trabajos realizados con extractos aplicados en *V. destructor*, mencionan que éstos actúan inhibiendo al acetilsterasa, una enzima responsable de la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina, llevando eventualmente a la parálisis del parásito e insectos⁽³⁶⁾.

Es importante mencionar que se ha demostrado que productos químicos como el Apistan® es efectivo en el control del ácaro con un valor promedio de 85,38%, seguido de Bayvarol® (83,83%), Apitol® y Folbex® (62,78%). Estos productos son considerados actualmente como los mejores tratamientos para el control de *V. destructor*. Además, son de fácil

aplicación, larga duración y con una efectividad superior al 99%, pero son tóxicos para las abejas⁽³⁷⁾. En estudios realizados para determinar la letalidad de *V. destructor* con extracto de orégano (*Lippia graveolens* Kunth var. *berlandieri* Schauer); se observó una mortalidad del 80%, que se obtuvo a las 48 horas, aplicando una solución al 1%, mientras que con las soluciones al 0.1 y 0.5% los porcentajes de mortalidad fueron del 40%⁽³⁸⁾, utilizando soluciones de acuerdo a la fórmula propuesta por Colin⁽²⁹⁾. Cabe mencionar que en el presente estudio el EE obtenido de raíces no presentó algunos metabolitos secundarios, similar a lo reportado en estudios realizados con extractos de *C. leptostachyus*⁽³⁰⁾. Finalmente, la mortalidad de 23% observada tras 16 horas de evaluación en los tratamientos testigo en el presente estudio concuerda con el porcentaje observado en extractos de orégano (*L. graveolens* var. *berlandieri*), donde se presentó una mortalidad del 18% durante la evaluación de los organismos de las cajas Petri⁽³⁸⁾.

2.2.19.-Actividad acaricida de *C. humilis* en *A. mellifera*

El EE de *C. humilis* causó una mortalidad en altas concentraciones en los diferentes tratamientos, con una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) para los distintos tratamientos y concentraciones (24, 48 y 72 horas). El T1 no causó mortalidad de abejas *A. mellifera* cuando se aplicó a concentraciones C5 y C10%. Estos resultados coinciden cuando se evaluó concentraciones del 3, 4, y 5% del acaricida timol sobre *V. destructor* en condiciones naturales y en la toxicidad sobre crías de *A. mellifera* adultas, encontrándose un 90% de mortalidad en el acaro; además, encontraron que la concentración al 5% de timol no causó mortalidad en *A. mellifera* durante las 72 horas de evaluación⁽³⁹⁾. En el

presente estudio la mortalidad de *V. destructor* y *A. mellifera* dependió de las concentraciones aplicadas y, con base en los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico, debido a la presencia diferencial de metabolitos secundarios presentes en cada tratamiento. Evaluaciones realizadas con el aceite esencial de *Piper aduncum* subsp. *Ossanum*, se observó que el efecto acaricida se evidenció a las 24 horas. La sobrevivencia de las abejas fue evaluada hasta las 72 horas, donde posteriormente se obtuvo una mortalidad en abejas del 7% en una dosis de 5 ml y 100% en la dosis de 125 ml⁽⁴⁰⁾. En este estudio se observó que los EE de *C. humilis* en las concentraciones del 50% causan mortalidad del 100 % en *A. mellifera* y en *V. destructor*.

Se ha observado que altas temperaturas provocan la rápida evaporación de los aceites esenciales, causando efectos adversos sobre las abejas⁽⁴¹⁾. Este estudio se desarrolló dentro del rango óptimo de temperatura (29 y 30°C)^(14,42) y se observó que a altas temperaturas se reducía la efectividad del EE. En este sentido, también la efectividad del timol se redujo con el incremento de la temperatura^(43,44). En este estudio, en los testigos no se observó mortalidad de *A. mellifera* durante las 72 horas de monitoreo en los bioensayos en cajas de Petri, para la mortalidad de *V. destructor* se ha reportado que también puede ser posible a daños físicos causados durante el manejo y extracción en las cajas Petri o altas temperaturas presentes durante la evaluación⁽⁴⁵⁾. La toxicidad de *C. humilis* frente a *A. mellifera* puede deberse a la exposición completa del extracto; la cual puede estar asociada al efecto del contacto directo, inhalación y/o ingestión de dicha sustancia. Nuestros resultados sugieren que el efecto acaricida de los EE en contra de *V. destructor* está asociado en gran parte a la actividad de los componentes presentes en ellos⁽⁴⁶⁾. Dicho efecto letal fue superior dentro de las primeras 24 horas posteriores a su aplicación. Sin embargo, es posible que la

toxicidad de los componentes de estas mezclas naturales se produzca por contacto directo y/o ingestión. De hecho, se ha planteado que los tratamientos donde se aplica timol solo por evaporación no resultan suficientemente efectivos siendo necesario que la abeja entre en contacto con el principio activo para que el tratamiento sea eficaz⁽⁴⁷⁾.

2.2.20.-Tamizaje fitoquímico

Se detectó la presencia de saponinas esteroidales, metabolitos nitrogenados con grupo amino y alcaloides en relativa abundancia en hojas y en menor abundancia en tallo y raíz. También se han encontrado en *C. leptostachyus* como carbohidratos, saponinas, terpenos, esteroides y polifenoles en relativa abundancia en EE de tallos, hojas y raíz; los carbohidratos reductores, el material de saponósidos y los compuestos de naturaleza terpénica o esteroideal principalmente en hojas⁽⁴⁸⁾. Asimismo, se ha mencionado que el etanol es el solvente adecuado para realizar la extracción⁽³⁰⁾. Se ha observado que la concentración de los metabolitos secundarios se puede observar en mayor cantidad en hojas. Los únicos fitocompuestos encontrados con abundancia en la raíz de la planta y bajo las condiciones del ensayo son lactonas y grupos amino. En el EE de *C. leptostachyus* preparado a partir de raíz los fitocompuestos encontrados con abundancia fueron los alcaloides⁽³⁰⁾. La variación entre órganos, edad del vegetal, temporada de cosecha, ubicación geográfica y en la polaridad del solvente extractor, podría constituir una restricción adicional⁽⁴⁸⁾.

Por otra parte, se han encontrado numerosos efectos benéficos de los compuestos naturales producidos por las plantas (antocianinas, saponinas, taninos, flavonoides, alcaloides, ácidos

fenólicos etc.) sobre padecimientos degenerativos y diversas enfermedades^(49, 50). La bioactividad de estos metabolitos va más allá de la acción acaricida, pues también se ha detectado su efecto medicinal y actividad antimicrobiana^(51, 52). Lo anterior daría soporte, al menos parcialmente a las observaciones obtenidas en este estudio, ya que el extracto *C. humilis* contiene sustancias activas que pudieran resultar tóxicas. Por ejemplo, se ha reportado que las saponinas esteroidales, grupo amino, flavonoides y alcaloides presentan actividad biológica^(53, 54). Por otro lado, la aparición de dichos metabolitos secundarios principalmente en las hojas podría interpretarse como parte principal del sistema de defensa de la planta contra patógenos y herbívoros^(55, 56). Este tipo de compuestos conforma uno de los grupos de metabolitos secundarios más diversos encontrados en los organismos vivos. Cabe mencionar que se ha encontrado que la gran diversidad de sus estructuras químicas posible corresponde con igual variabilidad de bioactividad⁽⁵⁷⁾. Por tanto, la presencia de estos constituyentes en los extractos de hojas, tallos y raíces de *C. humilis* podría deberse a que actúan como una herramienta de defensa de la planta durante la competencia por nutrientes con otras especies vegetales, especialmente en suelos nutricionalmente pobres o con abundancia de patógenos⁽⁵⁸⁾. En *C. humilis* pudieran estarse sintetizándose en tallos y raíz, siendo la hoja el receptáculo escogido por el vegetal para depositarlos, siendo también las hojas el órgano sumidero para las saponinas esteroidales, compuestos nitrogenados y flavonoides.

Nuestros resultados permiten afirmar que el efecto biocida de los EE evaluados sobre el ácaro está asociada al conjunto de metabolitos secundarios encontrados, fundamentalmente a los de naturaleza alcaloide, saponinas esteroidales, grupo amino, flavonoides. En ese sentido, se han reportado numerosas plantas con propiedades farmacológicas precisamente

porque algunos de sus principios activos son de naturaleza iridoídica; entre esas destacan la valeriana, la genciana y el noni⁽⁵⁹⁾. El importante papel biocida de los metabolitos secundarios ha suscitado el interés de la comunidad farmacéutica y científica por investigar las plantas como nuevas fuentes de control en parásitos, antimicrobianos antibacteriana entre otros. Tal es el caso de los resultados obtenidos con los EE evaluados en este estudio, cuya caracterización química analítica y la evaluación de sus metabolitos acaricidas deberán constituir el objetivo de estudio de posteriores trabajos de investigación.

2.2.21.-Conclusión

Los EE de *C. humilis*, poseen actividad acaricida en contra de *V. destructor*, constituyendo una opción alternativa para su control orgánico. Sin embargo, a concentraciones elevadas también puede ocasionar la mortandad de *A. mellifera*, por lo cual se deben de realizar otros estudios para determinar la concentración letal y la permanencia de los metabolitos secundarios en los productos (miel y cera) de la colonia tratada. La presencia de saponinas esteroidales, grupo amino, flavonoides, así como el contenido de material alcaloide en abundancia hacen prever un futuro promisorio para el uso y control de *C. humilis*.

2.2.22.-Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para a través de la convocatoria Becas Nacionales a para estudios de posgrado en Programa Nacional Posgrados de Calidad (PNPC).

2.2.23.-Literatura citada

- 1.-Anderson DL, Trueman J. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari:Varroidae) is more than one species. *Exp App Acarol.* 24(3): 165-189.
- 2.-De Jong D, De Jong P. 1983. Longevity of africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested by *Varroa jacobsoni* (Parasitiformes: Varroidae). *J. Econ. Entomol.*, 76: 766-768.
- 3.-De Jong D. 1997. Varroa and other parasites of brood. In Honey Bees Pest, Predator and Diseases, 2a Ed. A. Morse and R. Nowogrodzki. Ithaca, N.Y. 200–218.
- 4.-Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *J of Invert Pathol.* 103:96-119.
- 5.-Arechavaleta VM, Guzmán-Novoa E. 2000. Producción de miel en colonias de abejas (*Apis mellifera* L.) tratadas y no tratadas con un acaricida contra *Varroa jacobsoni* Oudemans en el Valle de Bravo, Estado de México. *Vet Méx.*; 31:381-384.
- 6.- Eguaras MJ, Ruffinengo SR. 2008. Estrategias para el control de varroa. 2da ed. Mar del Plata: Argentina.
- 7.-Chihú AD, Rojas AL, Rodríguez DS. 1992. Primer reporte en México del ácaro *Varroa jacobsoni*, causante de la Varroasis de la abeja melífera (*Apis mellifera* L.). *Memorias VI seminario americano de apicultura. Oaxtepec, Morelia.*
- 8.-Echazarreta GCM, Quezada EJJG, Medina ML, Pasteur KL. 1997. Beekeeping in the Yucatan peninsula: development and current status. *Bee World.* 78: 115.127.
- 9.-Lodensani M, Colombo M, Spreafico M. 1995. Residue determination for some products used against Varroa infestation in bees. *Apidoiogie*, 23: 257-272.

- 10.-Milani N. 1995. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to pyrethroids: a laboratory assay. *Apidologie* 26: 415-429.
- 11.-Thompson H, Brown M, Ball R, Bew M. 2002. First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie*, 33: 357-366.
- 12.- Floris I, Satta A, Garau V, Melis M, Cabras P, Aloul N. 2001. Effectiveness, persistence, and residue of amitrast plastic strips in the apiary control of *Varroa destructor*. *Apidologie*, 32: 577-585.
- 13.-Bogdanov S, Kilchenmann V, Butikofer U. 2003. Determination of acaricide residues in beeswax: collaborative study. *Apiacta*, 38: 235-245.
- 14.-Eguaras M, Cora D, Ruffiniego S, Faverin C, Palacio A, Basualdo M. 2004. Efecto del timol en el control de *Varroa destructor* Anderson y Trueman, en condiciones de laboratorio y en colonias de *Apis mellifera*. *Asoc. Cienc. Nat. del Litoral. Natural Neotropicalis* 34 y 35: 27-32.
- 15.-Ritter W. 1992. Chemical control: options y problems. En: Matheson, A. Ed. Living with Varroa. IBRA, Cardiff, U.K. pp. 17-24.
- 16.-Verde, M., Chan, S. 2005. Estrategia de lucha integrada para el control de varroa: Resultados y experiencia cubana. *Revista Electrónica de Veterinaria*. VI (10) Octubre.
- 17.-Feldauer M, Pettis J, Kochansky J, Shimanuki H. 1997. A gel formulation of formic acid for the control of parasitic mites of honey bees. *Am. Bee J.*, 137: 661-663.
- 18.-Imdorf A, Charriere J, Kilchenmann V, Bogdanov S, Fluri P. 2003. Alternative strategy in central Europe for the control of *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Apiacta*, 38: 258-285.

19. Cetzal-Ix W., Zúñiga-Díaz D., Noguera-Savelli E., Casanova-Lugo F., Cuevas M.J., González-Valdivia N.A. & Martínez-Puc J.F. 2017. Flora ilustrada del Instituto Tecnológico de Chiná, Campeche, México. Instituto Tecnológico de Chiná, Campeche, México.
- 20.-Fair JR. 1987. Destillation. En R.W. Rousseau (Ed) Handbook of separation Process technology Wiley. Nueva York. Estados Unidos de América. PP. 229-339.
- 21.-De Jong D, Roma A, Goncalves LS. 1982. A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honey bees. *Apidologie*. 1982; 13(3):297-306.
- 22.- Lindberg GD, Melanophalus H, Winston M. 2000. Laboratory Evaluation of Miticides to Control *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae), a Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Parasite. *J Econ Entomol.*; 93(2):189–98.
- 23.-Rodriguez DSR, Moro JM, Otero-Colina G. 1992. Varroa found in Mexico. *Amer. Bee J*. 132 (11): 728-729.
- 24.-Pérez SG, Otero-Colina CG, Mota SD, Ramírez GME, Vandame R. 2000. Comparing effects of three acaricides on *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) using two application techniques. *Fla-entomol*. Lutz, Fla.: *Florida Entomological Society*. V. 83 (4) p. 468-476.
- 25.-Valencia DTG, Garin AME. 2010. Manual de prácticas de productos naturales. Instituto politécnico Nacional, unidad profesional interdisciplinaria de biotecnología. Pg. 31-34.
- 26.-Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. (2008). InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA. Argentina: Universidad Nacional de Córdoba.

- 27.-Cowan MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*10: 564-582.
- 28.-Silva WW, Brito AFS, Marinho FA, Rodrigues OG, Athayde ACR. 2005. Ação do extrato alcoólico do capim santo (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. *Agropecuária Científica no SemiÁrido 1*: 46-49.
- 29.- Colin ME, Ciavrella FG, Otero C, Belzunces L. 1994. A method for characterizing the biological activity of essential oils against *Varroa jacobsoni*. In: Ed.
- 30.- Pardo RDA, Ortiz RT, Tacha AL, Murrillo PEM, Mendez AJJ, Murrillo AW. 2014. Estudio químico y etnobotánico de *Croton leptostachyus*. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 38(149):356-63.
- 31.-Garavito G, Rincón J, Arteaga L, Hata Y, Bourdy G, Gimenez A, Pinzon R, Deharo E. 2006. Antimalarial activity of some Colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology.* 107: 460–462.
- 32.-Mendoza MD, Benavides HH, Taborda MM. 2014. Actividad acaricida del aceite esencial de la corteza de *Croton malambo* H. Karst, metil-eugenol y metil-isoeugenol contra *Dermatophagoides farinae* Hughes, 1961. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 13 (6): 537 - 544 ISSN 0717 7917
- 33.-Wu LJJ, Zhang F, Li L, Liu Z. 2012. Essential oil components from *Asarum sieboldii* Miquel are toxic to the house dust mite *Dermatophagoides farinae*. *Parasitol Res* 111: 1895 - 1899.
- 34.-Suarez AI, Vásquez LJ, Manzano MA, Compagnone RS. 2005. Essential oil composition of *Croton cuneatus* and *Croton malambo* growing in Venezuela. *Flavour Fragrance J* 20: 611 - 614

- 35.- Jaramillo BE, Duarte E, Muñoz K, Stassenko E. 2010. Composición química volátil del aceite esencial de *Croton malambo* H. Karst. Colombiano y determinación de su actividad antioxidante. *Rev Cubana Plant Med* 15: 133 - 142. <http://scielo.sld.cu>
- 36.-Lee SE, Lee BH, Choi WS, Park BS, Kim JG, Campbell BC. (2001). Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). *Pest Manag Sci* 57: 548 - 553.
- 37.-Cabras P, Floris I, Garau VM, Prota R. 1997. Fluvalinate content of Apistan® strips during treatment and efficacy in colonies containing sealed brood cells. *Apidologie*, 28: 91-96.
- 38.-Pérez SG, González GMC, Mere RA. 2007. Repelencia y letalidad con aceite de orégano (*Lippia graveolens* H. B. K. VAR. *berlandieri*) en *Varroa destructor*. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-IPN, U. RESPYN Edición Especial No. 1-2008.
- 39.-Eguaras M, Cora D, Ruffinego S, Faverin C, Palacio A, Basualdo M. 2004. Efecto del timol en el control de *Varroa destructor* Anderson y Trueman, en condiciones de laboratorio y en colonias de *Apis mellifera*. *Asoc. Cienc. Nat. del Litoral. Natural Neotropicalis* 34 y 35: 27-32.
- 40.-Pino O, Sánchez Y, Rodríguez H, Correa TM, Demedio J, Sanabria JL. 2011. Caracterización química y actividad acaricida del aceite esencial de *Piper aduncum* subsp. *ossanum* frente a *Varroa destructor*. *Rev. Protección Veg. Vol. 26 No. 1: 52-61.*
- 41.-Mattila H, Otis G. 1999. Trials of Apiguard, a thymol-based miticide. Part 1. Efficacy for control of parasitic mites and residues in honey. *Am. Bee j.* 139: 947-952

- 42.-Imdorf A, Bogdanov S, Kilchenmann V, Maquelin C. 1995. Apilife Var: a new miticide With thymol as the main ingredien. *Bee world* 76: 77-83.
- 43.-Calderone N. 1999. Evaluation of formica cid and a thymol-based blend of natura products for the fall control of *Varroa jacobsoni* in colonies of *Apis mellifera*. *J. encon. Entomol.* 90: 1080-1086.
- 44.-Gal H, Slabezki Y, Lensky Y. 1992. A preliminary report on the effect of origanum and thymol applications in honey bee colonies in a subtropical climate on population of *Varroa jacobsoni*. *Bee Science* 2: 175-179.
- 45.-Castillo, G. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. 189 p. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo e Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA), Jiutepec, México.
- 46.-Imdorf A, Bognadov S, Kilchenmann V, Berger T. 2006. Toxic effects of essential oils and some of their components on *Varroa destructor* (Oud.) and *Apis mellifera* L. under laboratory conditions. *ALP Science*; 495:1-18.
- 47.-Eguaras MJ, Ruffinengo SR. 2008. Estrategias para el control de varroa. 2da ed. Mar del Plata: Argentina.
- 48.-Bruneton J. 1991. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 594 p.
- 49.-Falchi M, Bertelli A, Scalzo RL, Morassut M, Morelli R, Das S, Cui, JH, Das DK. 2006. Comparison of cardioprotective abilities between the flesh and skin of grapes. *J. Agric. Food Chem.* 54: 6613–6622.

- 50.-Shanmugana D, Warmer TF, Krueger CG, Reed, JD, Folts JD. 2007. Concord grape juice attenuates platelet aggregation, serum cholesterol and development of atheroma in hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis*. 190: 135–142.
- 51.-Rodriguez-Vaquero MJ, Alberto MR, Manca-De-Nadra, M.C. 2007. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*. 18: 93–101.
- 52.-González-López G., Ojeda-Chi M.M., Casanova-Lugo F., Oros-Ortega I., Hernández-Chávez L.I., Piñeiro-Vázquez A.T., Rodríguez-Vivas R.I. (2019). Actividad acaricida de extractos etanólicos de tres genotipos de *Leucaena spp.* sobre *Rhipicephalus microplus* en condiciones in vitro. *Rev Mex Cienc Pecu*,10(3):692-704.
- 53.-Woldemichael, G.M., Wink, M. 2001. Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*. *J. Agric. Food Chem*. 49:2327-2332.
- 54.-Guzman, B., Tenorio, R., Cruz, D. L., Espinal, C., Alvarado, J.A. Mollinedo, P. 2015. Saponins from *Chenopodium quinoa* Willd and *Chenopodium pallidicaule* Aellen as biocontrollers of phytopathogen fungi and hemolysis agents. *Rev. Bol. Quím*. 32:8-14.
- 55.-Bednarek, P. 2012. Chemical warfare or modulators of defense responses – The function of secondary metabolites in plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 15: 407–414.
- 56.-Cushnie, T., Cushnie, B., Lambc, A .2014. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 44: 377-386. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
- 57.-Arango, A. G. J. 2008. Alcaloides y compuestos nitrogenados. Facultad de Química Farmacéutica. UDEA.

58.-Marcano, D., Hasegawa, M. 2002. Fitoquímica orgánica. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad Central de Venezuela. 588 pp.

59.-Palacios, M. 2013. Texto digital de farmacognosia y fitoquímica. Universidad Católica Los Angeles de Chimbote. Fecha de consulta: 10 de junio de 2014.

Tabla 1. Efecto de los extractos etanólicos procedentes de diferentes componentes de *Croton humilis* L. (hojas, tallos y raíces), en diferentes concentraciones sobre la mortalidad de *Varroa destructor* a las 24 h de evaluación.

Concentración (%)	Hojas		Tallos		Raíces	
	NIM	Mortalidad (%)	NIM	Mortalidad (%)	NIM	Mortalidad (%)
0	14	23	13	21	13	21
5	38	63	31	51	26	43
10	51	85	35	58	32	53
20	49	81	45	75	37	61
30	53	88	48	77	45	75
40	56	93	59	98	47	78
50	60	100	59	98	52	86
Promedio		100 A		98 A		86 A

NIM, Número de individuos muertos.

Tabla 2. Principales metabolitos secundarios evidenciados en el EE de *C. humilis*.

Metabolitos secundarios	Raíz	Tallo	Hoja
Saponinas	-	-	-
Lactonas	+++	++	+
Saponinas esteroidales	-	++	+++
Grupo amino	+++	++	+++
Taninos	-	+	++
Quinonas	-	-	-
Bensoquinonas	-	-	-
Alcaloides	++	++	+++
Cardenolidos	+	+	-
Leucoantocianidinas	-	-	++
Flavonoides	+	+	++
Flavonoides, xantononas, flavonas	-	-	-

++++ = Muy abundante, +++ = abundante, ++ = moderada, + = escasa, - = ausencia, ± = dudoso.

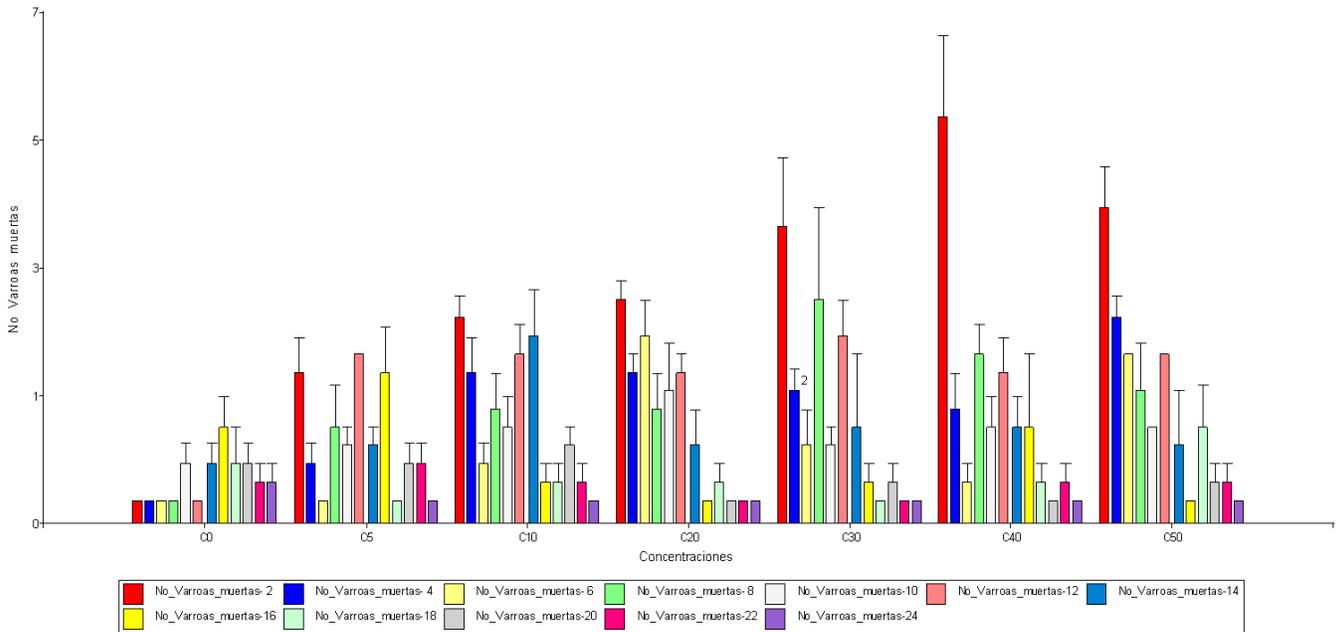


Fig. 1. Promedio de la mortalidad de *V. destructor* a las 24 horas de evaluación en diferentes concentraciones del extracto etanólico de hoja (T1) *C. humilis*.

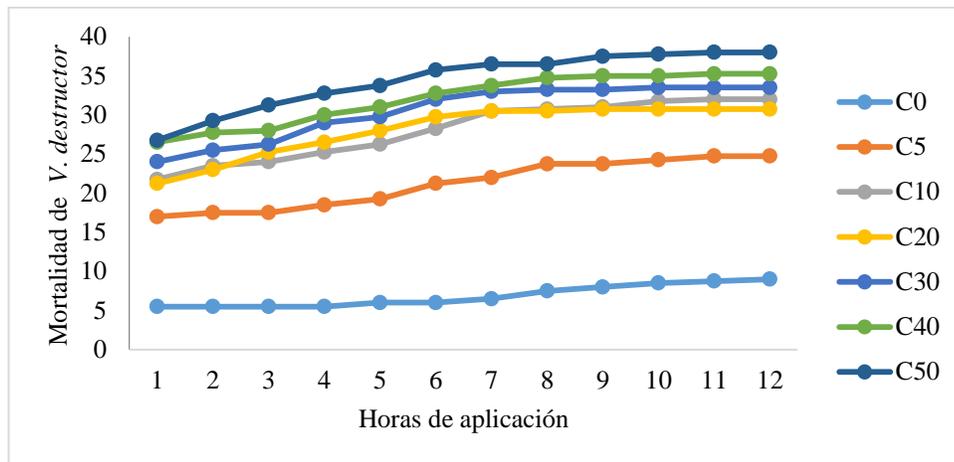


Fig. 2. Promedio de datos acumulados de la mortalidad en *V. destructor* a las 2 horas de aplicación durante las 24 h de evaluación, del extracto etanólico de hoja (T1).

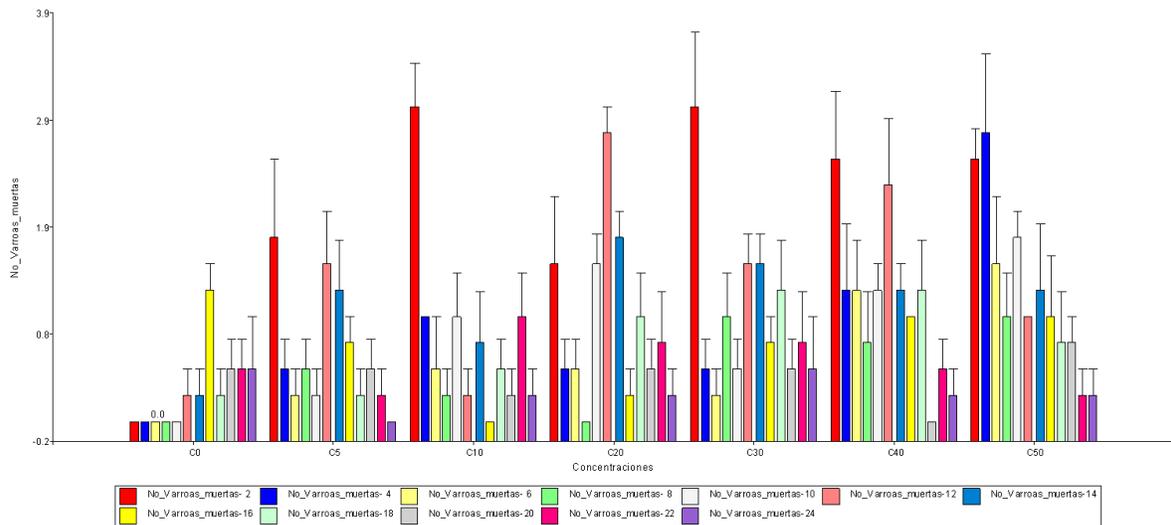


Fig. 3. Mortalidad promedio de *V. destructor* a las 24 horas de evaluación en diferentes concentraciones del extracto etanólico de tallo (T2) *C. humilis*.

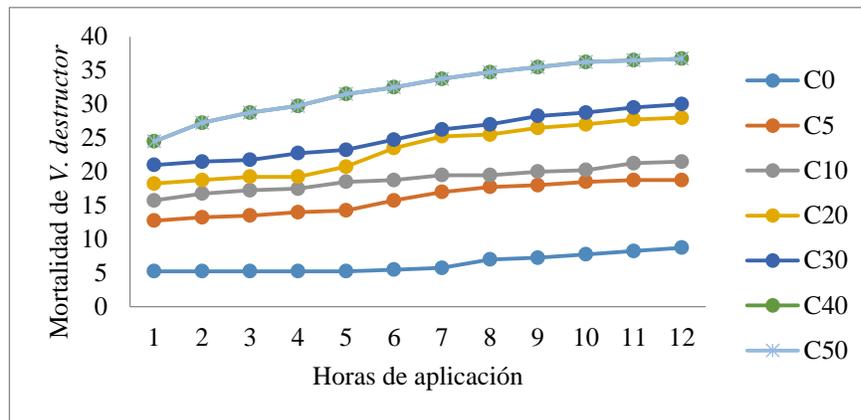


Fig. 4. Promedio de datos acumulados de la mortalidad en *V. destructor* a las 2 horas de aplicación durante las 24 h de evaluación, del extracto etanólico de hoja (T1).

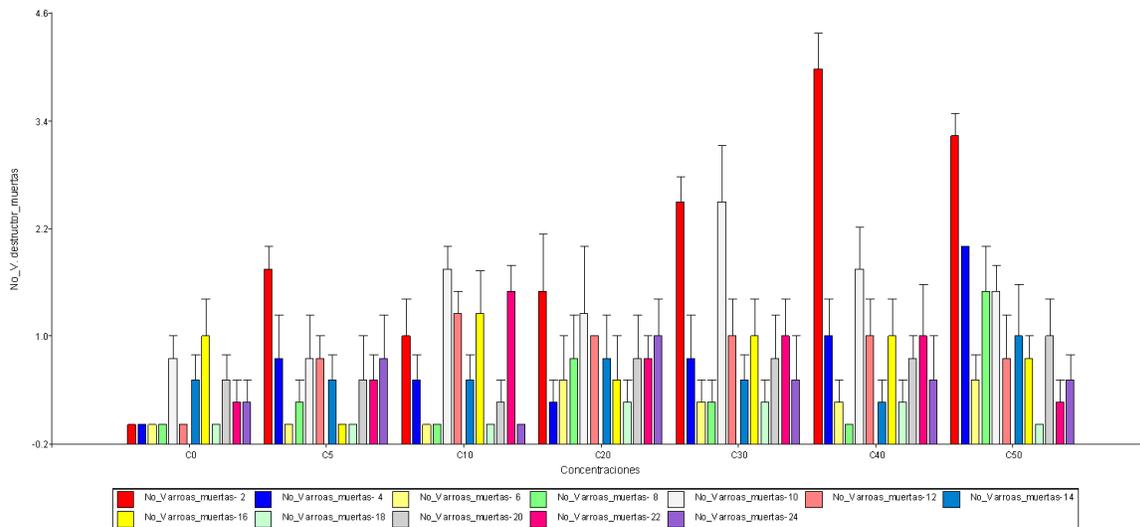


Figura 5. Mortalidad promedio en *V. destructor* a las 24 horas de evaluación en diferentes concentraciones del extracto etanólico raíz (T3) *C. humilis*.

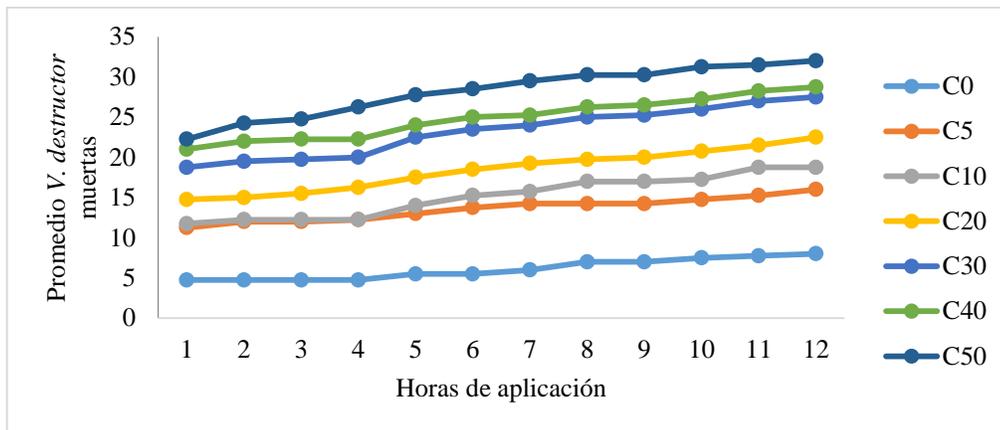


Fig. 6. Promedio de datos acumulados de la mortalidad en *V. destructor* a las 2 horas de aplicación durante las 24 h de evaluación del extracto etanólico de raíz (T3).

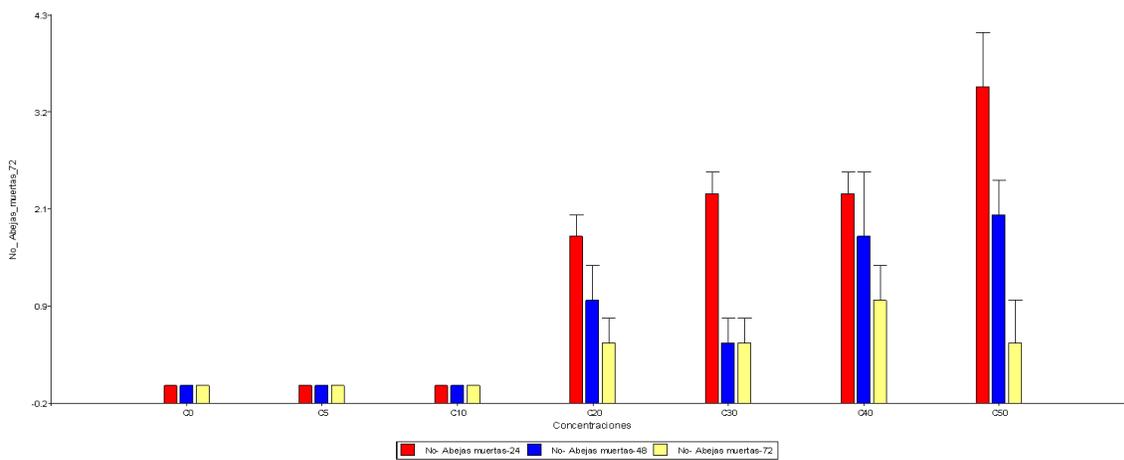


Fig. 7. Promedio de mortalidad en abejas infestadas de *V. destructor* durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de hoja (T1) durante las 72 horas de evaluación.

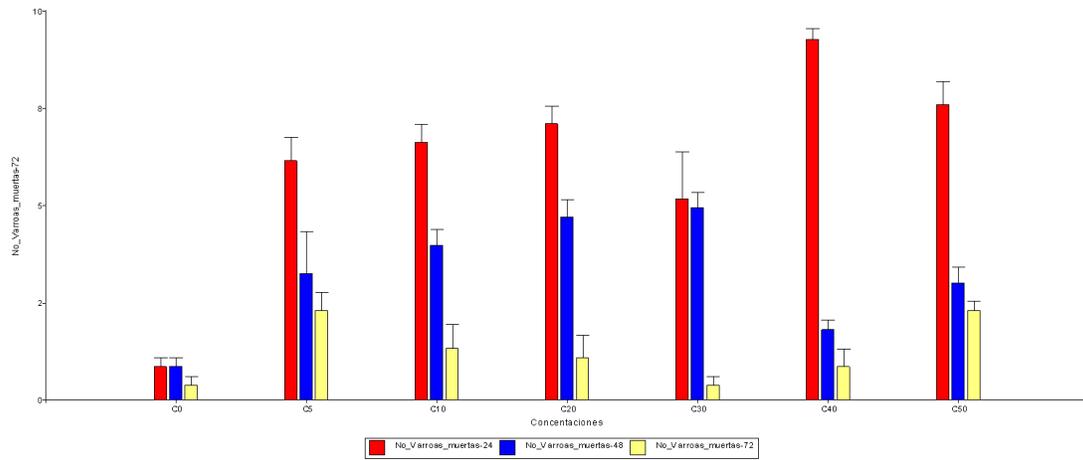


Fig. 8. Promedio de mortalidad de *V. destructor* durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de hoja a las 24, 48 y 72 horas de evaluación.

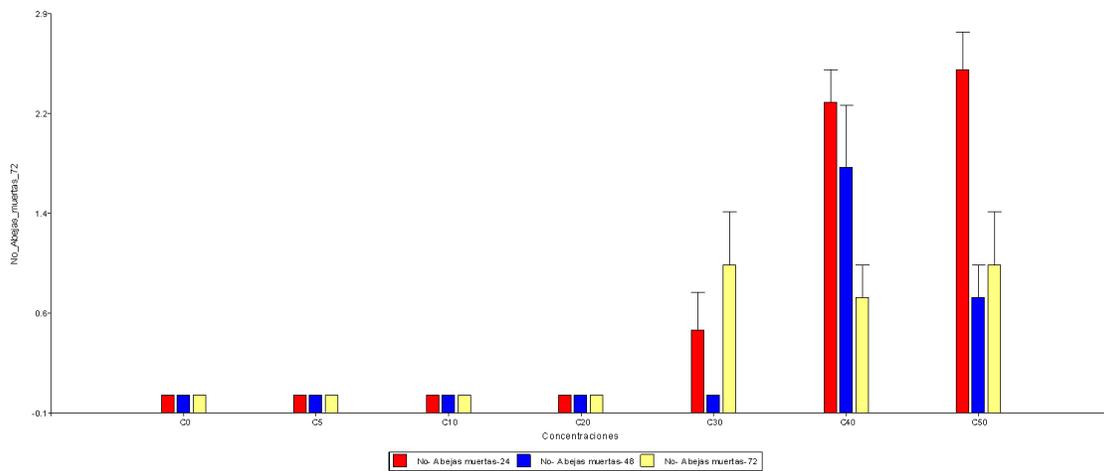


Fig. 9. Promedio de mortalidad en abejas infestadas de *V. destructor* durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de tallo (T2) durante las 24, 48 y 72 horas de evaluación.

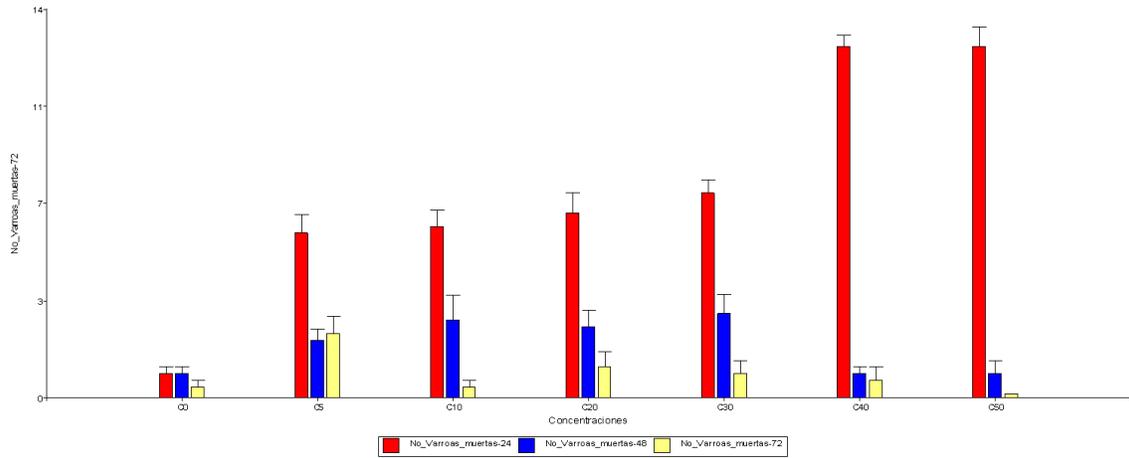


Fig. 10. Promedio de mortalidad de *V. destructor* durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de tallo a las 24, 48 y 72 horas de evaluación.

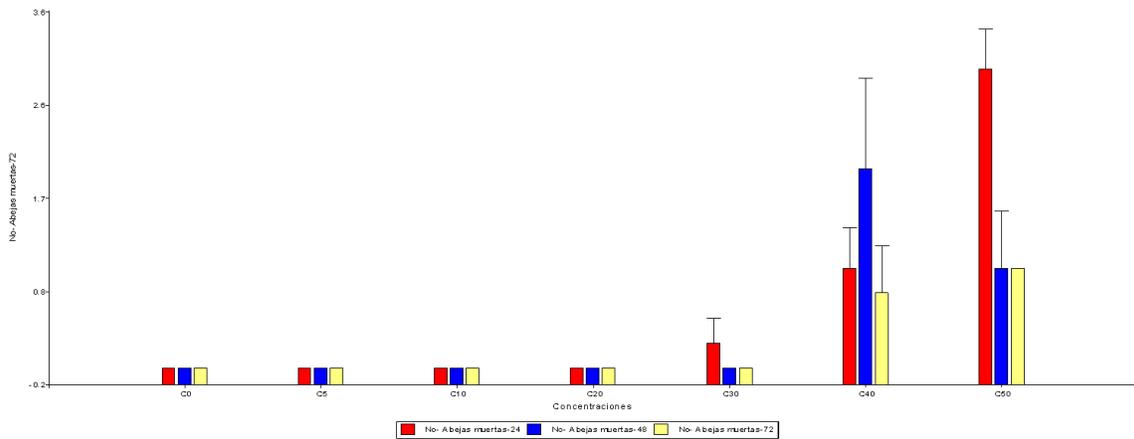


Fig. 11. Promedio de mortalidad en abejas infestadas de *V. destructor* durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de raíz (T3) durante las 24, 48 y 72 horas de evaluación.

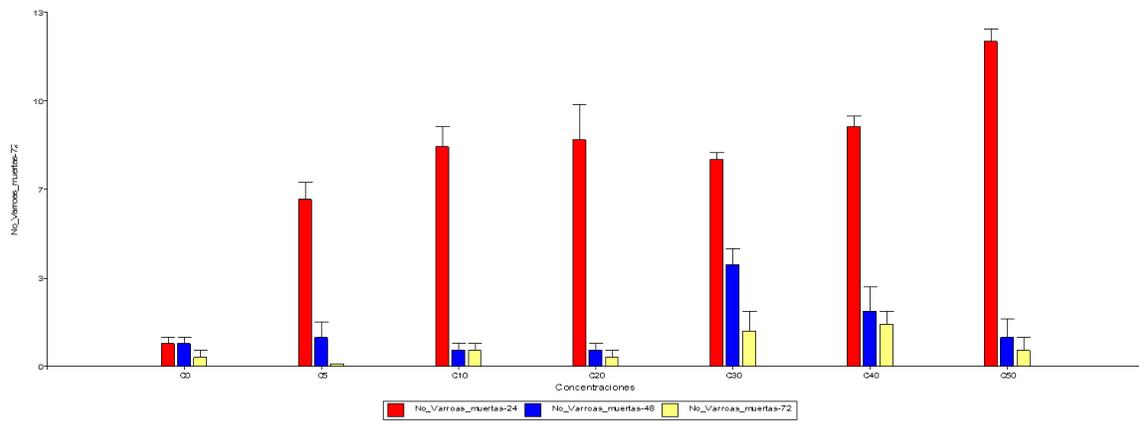


Fig. 12. Promedio de mortalidad de *V. destructor* durante la aplicación de diferentes concentraciones de extracto etanólico de raíz a las 24, 48 y 72 horas de evaluación.