

Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2020; 10:1-18. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.38>  
Artigo Original. Recebido: 27/04/2020. Aceito: 26/11/2020. Publicado: 22/12/2020. Chave:2020-35.

## Tratamento sazonal com amitraz contra *Varroa destructor* e seus efeitos nas colônias de *Apis mellifera*

Seasonal treatment with amitraz against *Varroa destructor* and its effects in honeybee colonies

Maya-Martínez Omar<sup>1</sup> , Medina-Flores Carlos<sup>\*2</sup> , Aquino-Pérez Gildardo<sup>1</sup> ,  
Olmos-Oropeza Genaro<sup>1</sup> , López-Carlos Marco<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados Campus Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, México. <sup>2</sup>Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Zacatecas, México. \*Autor responsável e para correspondência: Medina-Flores Carlos. Carretera Panamericana Km 31.5 tramo Zacatecas-Fresnillo, El Cordovel Gral Enrique Estrada, Zacatecas, México, C.P. 98500. omarmaya\_m@hotmail.com, carlosmedina@uaz.edu.mx, jaquino@colpos.mx, olmosg@colpos.mx, lopcarmarco@uaz.edu.mx

### RESUMO

O efeito do tratamento sazonal com amitraz contra *Varroa destructor* sobre a população e as reservas alimentares de colônias de abelhas foi determinado durante as quatro estações do ano no planalto central do México. Foram utilizadas 48 colônias com rainhas irmãs, homogêneas em população, reservas alimentares e níveis de *Varroa*. 12 colônias receberam tratamento no verão, 12 no inverno, 12 no verão e inverno e 12 não foram tratadas. Os níveis de *V. destructor* em abelhas adultas, na ninhada e na queda dos ácaros no chão das colmeias foram determinados durante um ano. A população de abelhas, áreas de cria, mel, pólen e peso da colônia também foram avaliados. Houve diferenças nos níveis de *Varroa* entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ). No final do experimento (primavera), o nível de infestação nas colônias tratadas no verão ( $602 \pm 114$ ) e não tratadas ( $416 \pm 86$ ) foram maiores ( $P = 0,0002$ ) do que naquelas tratadas no verão e inverno ( $109 \pm 50$ ) ou apenas no inverno ( $100 \pm 42$ ), entre os quais não houve diferenças. No entanto, não houve efeito significativo dos tratamentos sobre a população, reservas alimentares e peso das colônias. O tratamento de inverno foi suficiente para controlar *Varroa* em colônias nas terras altas centrais do México.

**Palavras-chave:** *Varroa destructor*, abelhas, amitraz, população de abelhas, reservas alimentares.

### ABSTRACT

The objective was to determine the effect of amitraz treatments against *Varroa destructor* on the population and food reserves of honey bee colonies during the four seasons of the year in Mexico's central high plateau. 48 colonies were used with similar sister queens, homogeneous populations, food reserves, and *Varroa* infestation levels. 12 colonies received acaricidal treatment in summer, 12 in winter, 12 in summer and winter, and 12 were untreated. The levels of *Varroa* infestation was determined for a year in adult bees, worker brood, and mites on the floor of the hives. The adult bee population, capped brood area, honey, pollen, and colony weight were also evaluated. There were differences ( $P < 0.05$ ) in the levels of *Varroa* between the treatments. Ending the experiment (spring), the level of infestation in colonies treated in summer ( $602 \pm 114$ ) and not treated ( $416 \pm 86$ ) were higher ( $P = 0.0002$ ) than those treated in summer and winter ( $109 \pm 50$ ) or only in winter ( $100 \pm 42$ ), between which, there were no differences. However, there were no significant effects of the treatments on population bees, food stores, and weight. The winter treatment was sufficient for controlling *Varroa* in colonies located in Mexico's central high plateau.

**Keywords:** *Varroa destructor*, honeybees, amitraz, bee population, food stores.

## INTRODUÇÃO

O ácaro *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) (Anderson e Trueman, 2000, a causa da varroose, é o problema de saúde número um para a apicultura em todo o mundo (Nazzi e Le Conte, 2016). Isso ocorre porque sua distribuição é generalizada, afeta crias e abelhas adultas, transmite e predispõe à presença de doenças bacterianas, virais e fúngicas (Martin *et al.*, 2010; vanEngelsdorp y Maixner, 2010; Ryabov *et al.*, 2017, reduz o tempo de vida das abelhas (Dainat *et al.*, 2012), o tamanho da população e a produção de mel das colônias (Arechavaleta e Guzmán-Novoa, 2000; Medina-Flores *et al.*, 2011) e é considerada um dos principais fatores associados à elevada perda anual de colônias (Marie-Pierre *et al.*, 2010; Guzmán-Novoa *et al.*, 2010).

Além dos problemas já mencionados por *Varroa* para as colônias e a indústria apícola, a aplicação dos acaricidas utilizados para o seu controle representam outro problema, pois em geral todos apresentam efeitos adversos para as abelhas, ainda mais se não forem aplicados numa maneira correta. Produtos sintéticos (fluvalinato, flumetrina e amitraz) têm sido os mais eficazes, particularmente o amitraz, que se mostrou menos residual e tóxico para as abelhas (Gashout *et al.*, 2018) e tem menos problemas de resistência na região serrana. México central (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2011). No entanto, esses acaricidas podem afetar o desenvolvimento de rainhas e zangões, a capacidade de aprendizagem e a postura da rainha (Berry *et al.*, 2013) e causar o desenvolvimento de resistência do ácaro (Martínez-Puc e Medina-Medina, 2011; Kamler *et al.*, 2016). Os ácidos orgânicos, como o fórmico, reduzem a memória de Gashout *et al.*, 2020 e o ácido oxálico afeta a longevidade e a sobrevivência dos trabalhadores e da reprodução (Schneider *et al.*, 2012), enquanto os monoterpenos constituintes dos óleos essenciais derivados de plantas, podem ter efeitos tóxicos e reduzir a imunidade humoral (Boncristiani *et al.*, 2012). A eficiência acaricida dos ácidos orgânicos e extratos vegetais é variável e depende do aplicador e de sua posição na colmeia, umidade e temperatura ambiente, tamanho da colmeia, presença de cria, entre outros fatores (Pietropoli e Formato, 2018).

Para controlar as populações de ácaros nas colônias e ao mesmo tempo reduzir o uso de acaricidas, é necessário identificar o momento oportuno para a aplicação dos tratamentos; Isso contribuirá para a redução dos efeitos negativos dos acaricidas citados, bem como a pressão seletiva por ácaros resistentes, os riscos de contaminação dos produtos da colônia, o custo de produção para os apicultores pela aplicação desnecessária de tratamentos e evitaria relaxar a pressão de seleção para resistência aos ácaros (Delaplane e Hood, 1997; 1999; Delaplane, 1998; Caron, 1999; González-Cabrera *et al.*, 2016). No entanto, o desenvolvimento populacional do ácaro difere regionalmente devido à variação do período de reprodução nas colônias e seus efeitos na dinâmica populacional do ácaro (Delaplane, 1998; Caron, 1999). Consequentemente,

o limiar de tratamento deve ser determinado em regiões específicas. Portanto, o objetivo do presente estudo foi determinar o efeito do tratamento à base de amitraz aplicado no verão, inverno e verão e inverno nos níveis de infestação por *Varroa destructor* e na população e condições de alimentação de colônias de abelhas sob condições de planalto central do México.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Localização.** O apiário experimental foi localizado em Jalpa, Zacatecas, México, a 21° 38'N e 100° 51' W, e 1.380 metros acima do nível do mar. A área de estudo tem um tipo de vegetação de floresta decídua baixa e um clima semi-seco semi-quente. A temperatura média anual é de 21,2 ° C e a precipitação média anual de 700 mm ([INEGI, 2019](#)).

**Colônias experimentais e aplicação de tratamentos acaricidas.** Duma população de 200 colônias de abelhas alojadas em colmeias do tipo Langstroth, 48 foram selecionadas em condições semelhantes. Em média, as colônias experimentais consistiram de oito favos cobertos por abelhas, dos quais cinco favos continham cria tampada, dois favos com mel e um com pólen e um nível médio de infestação de *V. destructor* em abelhas adultas de  $5,3 \pm 0,36\%$ . As colônias foram estabelecidas em um único apiário e suas rainhas foram substituídas por rainhas irmãs da mesma geração e origem.

Foram formados quatro grupos experimentais, cada um composto por 12 colônias de abelhas. As colônias do primeiro grupo receberam tratamento contra *Varroa* no verão (nos dias 10, 17, 24 e 31 de julho de 2016), as colônias do segundo grupo receberam tratamento durante o inverno (19, 26 de janeiro, 2 e 9 de fevereiro 2017), o grupo três recebeu tratamento duplo, um deles no verão e outro no inverno (nas mesmas datas mencionadas acima) e as colônias do grupo quatro não receberam tratamento durante todo o experimento. O objetivo da aplicação de duplo tratamento acaricida (grupo: verão e inverno) foi causar menores níveis de infestação por *Varroa* do que nas colônias tratadas em apenas uma estação do ano e fazer comparações quanto às condições populacionais e reservas alimentares das colônias, além disso, alguns apicultores usam este protocolo, que provavelmente é desnecessário e adverso para as colônias. A geração dessas informações permite tomar decisões sobre a quantidade de tratamentos e o momento mais conveniente de aplicação para o controle de *Varroa*.

Os tratamentos contra *Varroa* consistiram na aplicação de 10 ml de amitraz (Tactic®) a 1,25% em toalha absorvente (Scott®) medindo 28 x 6,5 cm, semanalmente e por quatro vezes nas cabeças das armações das câmaras de criação. O uso de amitraz nessas preparações é baseado em pesquisas anteriores de [Lupo e Gerling \(1990\)](#), [Smodiš et al.](#)

(2011) e [Gregorc e Planinc \(2012\)](#) e na eficácia comprovada do amitraz ([Semkiw et al., 2013](#)), a baixa disponibilidade de acaricidas específicos para abelhas no México e a necessidade do experimento para garantir uma redução significativa dos níveis de infestação, independentemente das condições ambientais de cada época do ano.

**Tamanho da população, reservas alimentares e peso.** A população de abelhas, áreas de cria, mel e pólen das colônias foram calculadas por meio da porcentagem média estimada por duas pessoas da superfície de cada lado do favo ocupado por essas variáveis. Para determinar a população de abelhas, a área percentual e o número de abelhas ocupando um favo de mel Langstroth com uma câmara de criação em ambos os lados (2.430 abelhas) foram usados ([Delaplane et al., 2013](#)). A porcentagem de superfície de cria, mel e pólen foi convertida em área (cm<sup>2</sup>), utilizando a superfície que possui um favo de mel do tipo Langstroth em ambos os lados (1.760 cm<sup>2</sup>) ([Delaplane et al., 2013](#)). As medições foram feitas no período da tarde (16h às 19h), quando a maioria das abelhas estava dentro das colmeias. O peso das colônias foi determinado subtraindo o peso do equipamento (piso, câmara de criação, telhado e favos) do peso total de cada colmeia. As avaliações foram realizadas com frequência mensal de maio de 2016 a abril de 2017. 1,5 L de xarope de açúcar (1: 1) foi fornecido semanalmente e 250 g de substituto proteico (25% proteína) a cada duas semanas, quando o As condições ambientais não forneciam alimento às colônias (14 de junho a 22 de julho e de 10 de dezembro de 2016 a 20 de janeiro de 2017).

**Infestação por *V. destructor*.** O nível de infestação em abelhas adultas, na ninhada de operárias e o número de ácaros caídos nas colônias experimentais, foi determinado mensalmente de maio de 2016 a abril de 2017. O nível de infestação em abelhas foi determinado pelo método de De Jong, dividindo o número de ácaros pelo número total de abelhas analisadas e multiplicado por 100 ([De Jong et al., 1982](#)). O número total de ácaros nas abelhas adultas das colônias foi estimado com o número médio de ácaros por abelha multiplicado pela população estimada de abelhas nas colônias ([Delaplane et al., 2013](#)). O nível de infestação na ninhada da operária foi determinado dividindo o número de células infestadas em uma porção (10 x 10 cm) do favo de mel com ninhada tampada pelo número de células analisadas e multiplicando por 100 ([De Jong et al., 1982](#)). Para o registro dos ácaros caídos, uma chapa galvanizada (28 x 43,5 cm) impregnada com vaselina foi instalada no piso das colmeias e uma malha (3 mm) foi colocada entre a chapa e a câmara de cria, para que os ácaros caiu através da malha e aderir à folha. A média diária de varroas caídos foi obtida dividindo-se o número de ácaros registrados por sete dias em que as folhas aderentes permaneceram no local ([Dietemann et al., 2013](#)). Além disso, durante a aplicação do tratamento acaricida, a queda dos ácaros nas lâminas dos quatro grupos de colônias foi registrada semanalmente durante quatro semanas.

**Análise estatística.** A partir dos registros mensais, a média de cada uma das variáveis medidas (população de abelhas, áreas de cria ( $\text{cm}^2$ ), mel e pólen, peso, níveis de infestação em abelhas adultas, na ninhada de operárias e o número de ácaros caídos) para cada estação do ano, e foram utilizados os testes de análise de variância, medidas repetidas e o teste de comparação de médias de Newman-Keuls. Além dos testes de correlação de Pearson para estabelecer relações entre as variáveis avaliadas e o teste  $\chi^2$  para determinar possíveis diferenças na frequência de casos de mortalidade de colônias entre colônias tratadas com amitraz no verão, verão e inverno, inverno e controle. Os dados percentuais foram transformados para a raiz quadrada do arco seno, isso para normalizar sua distribuição (SAS, 2014).

## RESULTADOS

No início do experimento (abril de 2016), as 48 colônias selecionadas apresentavam condições estatisticamente semelhantes de população de abelhas ( $F=0,14$ ,  $P=0,35$ ), ninhada coberta ( $F=0,42$ ,  $P = 0,52$ ), reservas de mel ( $F=0,14$ ,  $P=0,78$ ), pólen ( $F= 0,39$ ,  $P=0,65$ ) e níveis de infestação de *V. destructor* ( $F=0,44$ ,  $P=0,51$ ).

Uma redução significativa na população varroa foi observada como consequência dos tratamentos acaricidas aplicados no verão e inverno. Os valores dos níveis de infestação em abelhas adultas, ninhada e queda diária de varroas antes e após os tratamentos aplicados no verão e inverno são apresentados nas tabelas 1 e 2.

Ao utilizar os registros mensais dos níveis de infestação por Varroa e gerar uma média para cada estação do ano, observou-se que estes diferem significativamente entre os quatro grupos de colônias ( $P \leq 0,05$ ), o tratamento aplicado no verão reduziu os níveis de infestação em abelhas adultas, ninhada e queda de ácaros no fundo aderente das colmeias. No entanto, em abelhas adultas, os níveis de infestação aumentaram rapidamente com a queda para níveis semelhantes àqueles em que foram inicialmente tratadas (figura 1).

A população *Varroa* na ninhada e os ácaros caídos no piso aderente das colmeias tiveram um comportamento semelhante (figuras 2 e 3), em ambos os locais, as colônias tratadas no verão (verão e verão e inverno) apresentaram níveis significativos ( $F = 7,01$ ,  $P = 0,0008$ ) menor nas estações de verão e outono, ao contrário das colônias tratadas no inverno e não tratadas. O tratamento miticida aplicado no inverno teve efeito apenas na população de ácaros em abelhas adultas. O número de ácaros no fundo pegajoso e na ninhada durante o inverno e a primavera não diferiu entre os quatro grupos de colônias (Figuras 1, 2 e 3).

**Tabela 1. Nível de infestação por *V. destructor* em abelhas e ninhadas (% média ± ep) e queda diária (média ± ep) de varroas antes e após o tratamento com amitraz no verão, das colônias dos grupos experimentais: verão, inverno, verão e inverno e controle.**

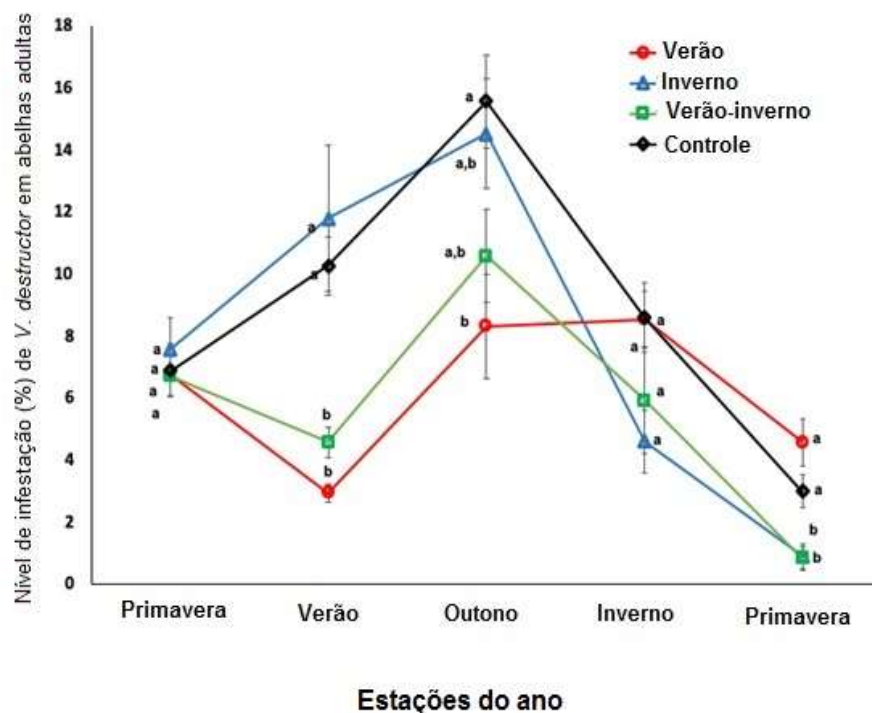
Variável / grupo de colônias	Verão	Inverno	Verão e inverno	Controle	F e P
Infestação de abelhas adultas antes do tratamento	7.01±0.66a	10.51±2.4a	10.95±1.33a	10.36±1.69a	1.42, 0.25
Infestação de abelhas adultas após o tratamento	0.69±0.44b	13.98±2.7a	0.94±0.50b	11.05±1.83a	18.97, <0.0001
Infestação na ninhada antes do tratamento	11.0±1.75a	8.40±1.84a	10.09±2.23a	10.82±1.54a	0.39, 0.76
Infestação na ninhada após o tratamento	2.31±0.57b	25.25±4.73a	5.25±1.45b	19.34±2.58a	17.68, <0.0001
Eliminação diária de varroas antes do tratamento	51.13±9.2a	77.0±15a	72.7±10a	63.9±11a	1.01, 0.39
Perda diária de varroas após o tratamento	38.2±3.7b	66.7±14.8ab	36.9±4b	113.58±31a	4.46, 0.008

Valores não transformados. Literais diferentes entre as linhas indicam diferenças significativas com base em uma análise de variância e na comparação de médias com o teste de Newman-Keuls, após a transformação dos dados.

**Tabela 2. Nível de infestação por *V. destructor* em abelhas e ninhadas (% média ± ep) e queda diária (média ± ep) de varroas antes e após o tratamento com amitraz no inverno, das colônias dos grupos experimentais: verão, inverno, verão e inverno e controle.**

Variável	Verão	Inverno	Verão e inverno	Controle	F e P
Infestação de abelhas adultas antes do tratamento	10.77±1.07a	10.43±1.69a	9.41±1.48a	9.73±1.42a	0.22, 0.88
Infestação de abelhas adultas após o tratamento	5.68±0.72a	0.09±0.04b	0.47±0.33b	7.2±1.22a	18.97, <0.0001
Infestação na ninhada antes do tratamento	7.88±1.25a	16.22±2.24a	10.4±2.2a	14.1±3.63a	2.55, 0.070
Infestação na ninhada após o tratamento	0.62±0.24b	0.45±0.30b	0.20±0.10b	2.20±0.85a	2.89, 0.045
Eliminação diária de varroas antes do tratamento	20.7±4.3a	16.8±4.2a	21.3±3.6a	17.6±3.5a	0.29, 0.82
Perda diária de varroas após o tratamento	1.75±0.48b	1.31±0.30b	1.36±0.25b	3.8±0.9a	4.35, 0.01

Valores não transformados. Literais diferentes entre as linhas indicam diferenças significativas com base em uma análise de variância e na comparação de médias com o teste de Newman-Keuls, após a transformação dos dados.



**Figura 1. Nível de infestação (média ± ep) de *V. destructor* em abelhas adultas de colônias tratadas com amitraz no verão, inverno, verão e inverno e não tratadas.** Valores não transformados. Literais diferentes indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) com base na análise de medidas repetidas e na comparação das médias com o teste de Newman-Keuls, após transformação dos dados para o arco-seno da raiz quadrada.

Em relação à queda de varroas no piso aderente das colmeias durante as quatro aplicações do tratamento acaricida, observou-se que a primeira aplicação do tratamento causou significativamente ( $F=8,51$ ,  $P<0,001$ ) um maior número de ácaros caídos do que nas aplicações subsequentes. A queda dos ácaros devido às três últimas aplicações de amitraz foi estatisticamente semelhante ( $P> 0,05$ ) à queda natural do ácaro do grupo controle.

A população de abelhas, áreas de mel, pólen e peso não foram diferentes entre os quatro grupos de colônias nas quatro estações do ano. Diferenças significativas foram observadas apenas nas áreas de criação cobertas durante o outono, as colônias tratadas no verão ( $6.747 \pm 352 \text{ cm}^2$ ) e verão-inverno ( $5.960 \pm 191 \text{ cm}^2$ ) tiveram áreas significativamente ( $F = 3,55$ ,  $P = 0,023$ ) maiores de cria do que as colônias tratadas no inverno ( $4.889 \pm 472 \text{ cm}^2$ ) ou não tratadas ( $5.240 \pm 631 \text{ cm}^2$ ), entre as quais não houve diferença significativa.

Sem considerar o tratamento a que pertenciam as colônias, as áreas de cria cobertas e a população de abelhas foram estatisticamente menores nas duas últimas safras do experimento (inverno e primavera), ao contrário do que foi observado nas primeiras safras, esses valores são apresentados em Tabela 3.

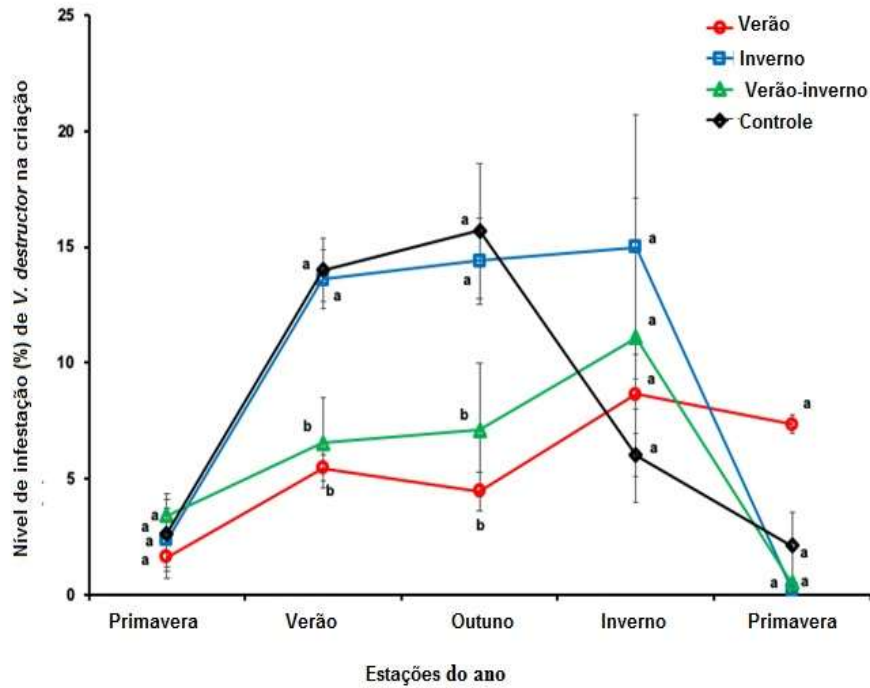


Figura 2. Nível de infestação (média ± ep) de *V. destructor* na criação de colônias tratadas com amitraz no verão, inverno, verão e inverno e não tratadas. Valores não transformados. Literais diferentes indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) com base em uma análise de medidas repetidas com valores transformados e comparação de médias com o teste de Newman-Keuls.

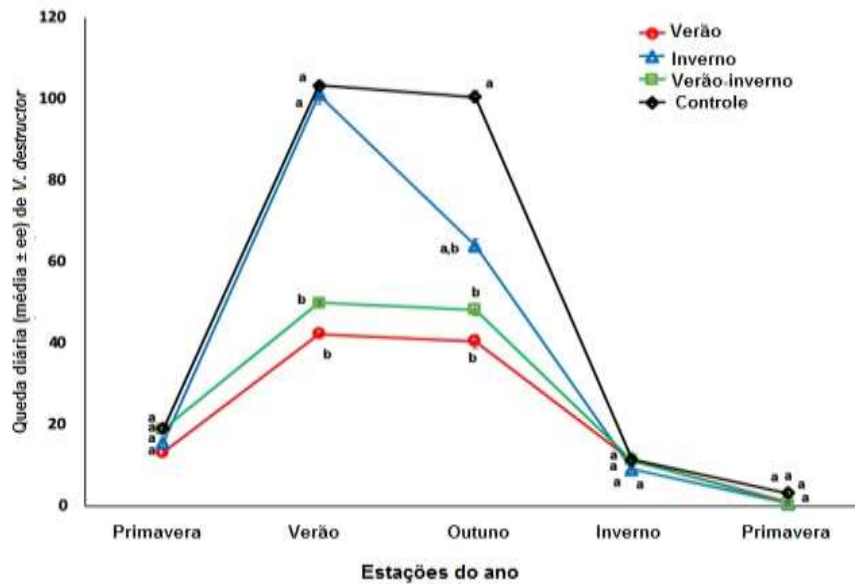


Figura 3. Queda diária (média ± ee) de *V. destructor* em colônias tratadas com amitraz no verão, inverno, verão e inverno e não tratadas. Literais diferentes indicam diferenças significativas com base em uma análise de medidas repetidas e comparação de médias com o teste de Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ).



**Tabela 3. Áreas (cm<sup>2</sup>) de cria cobertas e população de abelhas adultas de colônias de abelhas melíferas (n=48) durante a primavera, verão, outono e inverno de 2016 e primavera de 2017**

<b>Estação</b>	<b>Áreas de reprodução (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>População de abelhas</b>
Primavera (2016)	10,410±182 a	9,484±136 a,b
Verão (2016)	8,387±220 b	10,011±398 a
Otoño (2016)	5,771±238 c	8,614±417 b
Inverno (2016)	3,252±240 d	4,366±372 c
Primavera (2017)	5,813±275 c	5,123±445 c
F e P	F=146.8, P<0.0001	F=48.9, P<0.0001

Literais diferentes em cada coluna indicam diferenças significativas com base em uma análise de variância e comparação de médias com o teste de Newman-Keuls.

No final do experimento (primavera), o número médio de varroas por abelha e o tamanho populacional estimado de varroas na população de abelhas adultas das colônias foi significativamente menor nos grupos tratados no inverno (inverno e verão e inverno), mas Não houve diferenças significativas quanto aos valores populacionais, reservas alimentares e peso entre as colônias tratadas no verão, inverno, verão e inverno e o grupo controle (Tabela 4).

**Tabela 4. População de abelhas, áreas de criação (cm<sup>2</sup>), mel, pólen, peso, varroa média por abelha e população de ácaros em abelhas adultas de colônias tratadas com amitraz no verão, inverno, verão e inverno e não tratadas, no final do experimento (primavera).**

<b>Grupo</b>	<b>População de abelhas</b>	<b>População reprodutiva (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Reservas de mel (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Reservas de pólen (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Peso (Kg)</b>	<b>Varroas por 100 abelhas</b>	<b>Ácaros na população estimada de abelhas</b>
<b>Verão</b>	13314±953	5560±475	3560±372	660±220	8.5±1.02	0.045±0.0 a	602±114 a
<b>Inverno</b>	12757±1349	6356±464	3276±544	605±321	6.2±1.03	0.0086±0.01 b	109±50 b
<b>Verão - Inverno</b>	12879±1542	5808±593	3036±266	968±205	7.3±0.81	0.0078±0.00 b	100±42 b
<b>Controle</b>	14200±1847	5555±743	3410±360	1320±525	6.7±0.85	0.0293±0.01 a	416±86 a
	F=0.19, P=0.90	F=0.43, P=0.73	F=0.34, P=0.79	F=1.01, P=0.39	F=1.13, P=0.35	F=10.09, P<0.0001	F=8.71, P=0.0002

Literais diferentes em cada coluna indicam diferenças significativas com base em uma análise de variância e comparação de médias com o teste de Newman-Keuls.

O nível de infestação nas abelhas foi positiva e significativamente relacionado com o nível de infestação na ninhada (r=0,52, P=0,0002) e com a queda dos ácaros no piso aderente das colmeias (r =0,63, P<0,0001). Da mesma forma, o peso das colônias foi relacionado à população de abelhas das colônias (r = 0,65, P <0,001).

No grupo de colônias tratadas no verão 8% das colônias morreram e 16% no grupo tratado no verão e inverno, enquanto no grupo tratado no inverno e controle houve mortalidade de 25% e 33% , respectivamente, não houve diferenças estatisticamente significativas ( $\chi^2 = 2,52$ , gl = 3, P = 0,47).

## DISCUSSÃO

A redução da população varroa como resultado dos tratamentos aplicados no verão e no inverno confirmam a eficácia acaricida do amitraz por reduzir significativamente a população de ácaros em colônias de abelhas ([Semkiw et al., 2013](#)). No entanto, um rápido aumento nos níveis de infestação em abelhas adultas foi observado no outono nas colônias tratadas durante o verão, o que foi apresentado em outras investigações e foi atribuído a varroa sobreviventes do tratamento e a migração de ácaros de colônias não tratadas do mesmo apiário ([Delaplane e Hood, 1997](#); [Gatien e Currie, 2003](#); [Wilfert et al., 2016](#)).

Considerando as médias de infestação para cada estação do ano, observou-se que o tratamento acaricida aplicado no inverno teve efeito apenas sobre a população de ácaros em abelhas adultas ( $\approx 7,3\%$  a menos em relação aos níveis de infestação no outono) e que o número de ácaros no fundo pegajoso nas colmeias (média = 10,5) e na ninhada (média = 10,1%) durante o inverno e a primavera (1,4 e 2,5%, respectivamente), não diferiu ( $P > 0.05$ ) entre os quatro grupos de colônias. Nos poucos estudos com os quais os presentes resultados podem ser comparados, observa-se variabilidade nos resultados e algumas coincidem com as obtidas no presente estudo, como é o caso do experimento realizado por [Delaplane e Hood \(1997\)](#) que não encontraram uma redução no número de ácaros nas colônias tratadas em junho (1.702 varroas) em comparação com as colônias não tratadas (986), isto no estado da Geórgia, EUA. No entanto, neste estudo eles descobriram que para a Carolina do Sul o efeito do tratamento na população de ácaros foi significativo.

A dinâmica populacional de *V. destructor* está relacionada ao ciclo e à quantidade de jovens disponíveis na colônia ([Delaplane, 1998](#); [Caron, 1999](#)). E o aumento da população de abelhas e cria diminui a proporção de ácaros em relação à população de abelhas ([Moretto et al., 1991](#)). Isso explica a notável redução dos níveis de infestação ao final do experimento nos quatro grupos de colônias, visto que houve redução significativa das áreas de reprodução e população de abelhas no outono e inverno ( $P < 0,0001$ , tabela 3), o que causou menos possibilidades de reprodução para o ácaro. Além disso, na primavera, o aumento observado nas áreas de reprodução e população de abelhas derivado de uma maior disponibilidade de recursos para as abelhas pode reduzir a proporção de varroas em relação à população de abelhas.

Em relação ao número de aplicações do tratamento, os resultados revelam que na primeira dose houve uma queda maior ( $P < 0,001$ ) dos ácaros em relação às aplicações subsequentes e ao grupo controle. Isso provavelmente se deve ao fato da maioria dos ácaros morrerem na primeira aplicação e o pequeno número de varroas remanescentes na fase fereal e reprodutiva não permitir a identificação de diferenças significativas em relação ao grupo controle nas aplicações subsequentes do tratamento. Esses resultados coincidem com os relatados anteriormente com o uso de timol ([Espinosa-Montaña e Guzmán-Novoa, 2007](#)). Porém, é importante manter o tratamento durante o surgimento de novas varroas que estão em fase reprodutiva no interior das células, isso permitirá uma melhor redução da população de ácaros nas colônias ([Rosenkranz et al., 2010](#)).

A população de abelhas, áreas de mel, pólen e peso não foram diferentes entre os quatro grupos de colônias nas quatro estações do ano. Diferenças significativas foram observadas apenas nas áreas de criação cobertas durante o outono, as colônias tratadas no verão ( $6.747 \pm 352 \text{ cm}^2$ ) e verão e inverno ( $5.960 \pm 191 \text{ cm}^2$ ) tiveram significativamente ( $P=0,023$ ), áreas de criação maiores do que as colônias tratadas no inverno ( $4.889 \pm 472 \text{ cm}^2$ ) ou não tratadas ( $5.240 \pm 631 \text{ cm}^2$ ), entre as quais não houve diferença significativa. Com exceção dos tratamentos aplicados no verão, que impactaram em maiores criadouros no outono ( $P=0,023$ ); As diferenças nos níveis de infestação de *Varroa* entre os tratamentos (colônias tratadas no verão, inverno, verão-inverno e controle) não tiveram efeitos significativos nas variáveis populacionais (abelhas e criadouros), reservas alimentares (mel e pólen) e peso das colônias. Assim como no presente estudo, os trabalhos realizados por [Delaplane e Hood \(1997,1999\)](#) e [Strange e Sheppard \(2001\)](#) mostram resultados contraditórios sobre o efeito dos níveis de infestação de *V. destructor* sobre os parâmetros populacionais do colônias, suas reservas alimentares e o peso das colônias. A esse respeito, foi relatado que nem sempre há uma relação clara entre a população de ácaros e a população da colônia ([Korpela et al., 1992](#)) e que os tratamentos acaricidas às vezes não afetam a produção de descendentes em colônias parasitadas por *Varroa* ([Delaplane, 1995](#)). Isso provavelmente se deve ao aumento da produção de crias em colônias com altos níveis de infestação de *Varroa*, devido aos esforços das colônias para compensar a perda de prole como resultado de parasitose ([Delaplane e Hood, 1997](#)).

No final do experimento (primavera), os níveis médios de infestação de 0,045 ácaros por abelha (4,5% de infestação) e uma população estimada de 100 a 602 ácaros não reduziram a população de abelhas, áreas de cria, mel, pólen e peso das colônias do planalto central do México com populações de 12.757 a 14.200 abelhas. Nesse sentido, tem sido relatado que o nível de infestação tolerável para a colônia muda regionalmente devido à variação no período de reprodução nas colônias e seus efeitos na dinâmica populacional do ácaro ([Delaplane, 1998](#); [Caron, 1999](#)).

No México, [SAGARPA \(2005\)](#) recomenda que após 5% de infestação de *Varroa* em abelhas e/ou 10 ácaros caídos em 24 h no piso aderente de colmeias, algum tratamento contra a doença seja implementado. No entanto, esses limites diferem de outros estabelecidos por diferentes autores em diferentes épocas e regiões. O limite de tratamento estabelecido para o noroeste e sudoeste dos EUA é de 5% em abelhas e 12 ácaros caídos em 24 horas na primavera ([Strange e Sheppard, 2001](#)). Para o verão, recomenda-se que o tratamento acaricida seja aplicado de 23 ácaros a noroeste e 70 a 224 caídos em 24 h ou de 3.000 a 4.000 ácaros para colônias com populações de 24.000 a 34.000 abelhas (8-8,5% nas abelhas) em o sudeste dos EUA ([Delaplane e Hood, 1997, 1999](#)). Em contraste, para o Reino Unido, o limite de dano foi relatado como 2.500 ácaros por colônia ([Martin, 1999](#)).

No Canadá, os níveis médios de infestação por *Varroa* de 2% em abelhas têm um efeito negativo na produção de mel e em colônias com níveis acima de 4% no verão é necessário aplicar um tratamento para evitar sua perda no outono e inverno ([Currie e Gatién, 2006](#)). Contraditoriamente, [Currie e Gatién \(2006\)](#) relatam que níveis de 7 e 10% nas abelhas não afetam a produção de mel das colônias. Em Valle de Bravo, estado do México, observou-se que colônias tratadas com fluvalinato e com infestação média de 2,3% produziram 65% mais mel do que colônias não tratadas e com nível médio de infestação de 6,8% ([Arechavaleta e Guzmán-Novoa, 2000](#)). O exposto acima reflete a variabilidade dos efeitos que os níveis de infestação exercem sobre as colônias de abelhas em diferentes condições ambientais e épocas do ano. Provavelmente, a presença de vírus e outros fatores de saúde poderiam explicar as variações encontradas nos limiares de tratamento relatados.

A análise de correlação permitiu observar uma relação positiva entre os níveis de infestação em abelhas e ninhadas e com a queda diária de ácaros, bem como o peso com a população de abelhas nas colônias. O anterior coincide com o relatado por [Gaḃka \(2014\)](#) e [Saini \(2018\)](#). Essas características podem ser utilizadas pelos apicultores como estratégias preditivas das condições da colônia.

Foi relatado que as colônias que recebem tratamento miticida no início do ano têm uma taxa de mortalidade mais baixa do que as colônias tratadas tardiamente ou não tratadas ([Delaplane e Hood, 1997](#); [Fries et al., 2006](#)). No entanto, no presente estudo a taxa de mortalidade dos quatro grupos de colônias não diferiu significativamente.

Estudos adicionais são necessários para fornecer mais informações sobre o efeito do tratamento *Varroa* aplicado em diferentes épocas do ano sobre os níveis de infestação de ácaros e população e condições de alimentação, bem como seu efeito na produção de colônias de abelhas em diferentes regiões.

## CONCLUSÃO

O tratamento aplicado no verão reduziu significativamente os níveis de infestação de *Varroa*, mas estes aumentaram no outono para níveis semelhantes aos iniciais. As diferenças nos níveis de infestação observados no outono, inverno e primavera não afetaram a população de abelhas, criadouros, mel, pólen e peso das colônias. Níveis médios de infestação de 4,5% em abelhas e uma população estimada de até 602 ácaros não reduziram a população, as reservas alimentares e o peso das colônias avaliadas no presente estudo com populações de até 14.200 abelhas. Recomenda-se monitorar o nível de infestação das colônias e aplicar acaricidas durante o inverno para evitar que a população de ácaros aumente e tenha impacto nas condições e produtividade das colônias de abelhas.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária e Zootécnica da Universidade Autónoma de Zacatecas, do Colégio de Pós-Graduação Campus San Luis Potosí pelas facilidades concedidas para a realização deste estudo e obtenção do grau de Mestre em Ciências da Inovação em Gestão de Recursos Naturais do primeiro autor, bem como CONACYT pela bolsa concedida.

## LITERATURA CITADA

ANDERSON DL, Trueman JWH. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*. 24(3):165-189. ISSN: 1572-9702. <https://doi.org/10.1023/A:1006456720416>

ARECHA VALETA VME, Guzmán-Novoa E. 2000. Producción de miel en colonias de abejas (*Apis mellifera* L.) tratadas y no tratadas con fluvalinato contra *Varroa jacobsoni* Oudemans en Valle de bravo, Estado de México. *Veterinaria México*. 31(4):381-384. ISSN 2448-6760. <https://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2000/vm004m.pdf>

BERRY JA, Hood WM, Pietravalle S, Delaplane KS. 2013. Field-Level Sublethal Effects of Approved Bee Hive Chemicals on Honey Bees (*Apis mellifera* L). *PLoS ONE*. 8(10): e76536. ISSN: 1932-6203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076536>

BONCRISTIANI H, Underwood R, Schwarz R, Evans JD, Pettis J, vanEngelsdorp D. 2012. Direct effect of acaricides on pathogen loads and gene expression levels in honey bees *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology*. 58:613-620. ISSN: 00221910. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.12.011>

CARON D. 1999. Delaware bee mites survey. *American Bee Journal*. 139(8): 631-633. ISSN: 00027626. <https://europepmc.org/article/agr/ind22002953?client=bot&client=bot&client=bot>

CURRIE RW, Gatién P. 2006. Timing acaricide treatments to prevent *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) from causing economic damage to honey bee colonies. *The Canadian Entomologist*. 138(2):238–252. ISSN: 0008-347X. <https://doi.org/10.4039/n05-024>

DAINAT B, Evans JD, Chen YP, Gauthier L, Neumann P. 2012. Dead or alive: deformed wing virus and *Varroa destructor* reduce the life span of winter honeybees. *Applied Environmental Microbiology*. 78(4):981-987. ISSN: 1098-5336. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.06537-11>

DELAPLANE KS, Der-Steen JV, Guzman-Novoa E. 2013. Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apicultural Research*. 52(1):1-12. ISSN: 0021-8839. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.03>

DELAPLANE KS, Hood WM. 1997. Effects of delayed acaricide treatment in honey bee colonies parasitized by *Varroa jacobsoni* and a late-season treatment threshold for the south-eastern USA. *Journal of Apicultural Research*. 36(3/4):125-132. ISSN: 0021-8839. <https://doi.org/10.1080/00218839.1997.11100938>

DELAPLANE KS, Hood WM. 1999. Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Apidologie*. 30: 383-395. ISSN: 0044-8435. <https://doi.org/10.1051/apido:19990504>

DELAPLANE KS. 1995. Effects of Terramycin antibiotic and Apistan acaricide on colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with *Varroa jacobsoni* (Parasitiformes: Varroidae). *Journal of Economic Entomology*. 88(5):1206-1210. ISSN 0022-0493. <https://doi.org/10.1093/jee/88.5.1206>

DELAPLANE KS. 1998. *Varroa* control: timing is everything. *American Bee Journal*. 138:575-576. ISSN: 0002-7626. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US1997076691>

DIETEMANN V, Nazzi F, Martin SJ, Anderson D, Locke B, Delaplane K, Wauquiez Q, Tannahill C, Frey E, Ziegelmann B, Rosenkranz P, Ellis JD. 2013. Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research*. 52(1):1-54. ISSN: 0021-8839. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.09>

DE JONG D, Roma DA, Goncalves LS. 1982. A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honeybees. *Apidologie*. 13:297-306. ISSN: 1297-9678. [https://www.apidologie.org/articles/apido/pdf/1982/03/Apidologie\\_0044-8435\\_1982\\_13\\_3\\_ART0008.pdf](https://www.apidologie.org/articles/apido/pdf/1982/03/Apidologie_0044-8435_1982_13_3_ART0008.pdf)

ESPINOSA-MONTAÑO LG, Guzmán-Novoa E. 2007. Eficacia de dos acaricidas naturales, ácido fórmico y timol, para el control del ácaro *Varroa destructor* de las abejas (*Apis mellifera* L.) en Villa Guerrero, Estado de México. *Veterinaria México* 38(1):9-19. ISSN: 0301-5092. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42338102>

FRIES I, Imdorf A, Rosenkranz P. 2006. Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apidologie*. 37:564-570. ISSN: 0044-8435. <https://doi.org/10.1051/apido:2006031>

GĄBKĄ J. 2014. Correlations between the strength, amount of brood and honey production of the honey bee colony. *Medycyna Weterynaryjna*. 70(12):754-756. ISSN: 0025-8628.

[https://www.researchgate.net/profile/Jakub\\_Gbka/publication/293074876\\_Correlations\\_between\\_the\\_strength\\_amount\\_of\\_brood\\_and\\_honey\\_production\\_of\\_the\\_honey\\_bee\\_colony/links/58385ea008ae3d91723dd7f7/Correlations-between-the-strength-amount-of-brood-and-honey-production-of-the-honey-bee-colony.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jakub_Gbka/publication/293074876_Correlations_between_the_strength_amount_of_brood_and_honey_production_of_the_honey_bee_colony/links/58385ea008ae3d91723dd7f7/Correlations-between-the-strength-amount-of-brood-and-honey-production-of-the-honey-bee-colony.pdf)

GASHOUT HA, Goodwin PH, Guzman-Novoa E. 2018. Lethality of synthetic and natural acaricides to worker honey bees (*Apis mellifera*) and their impact on the expression of health and detoxification-related genes. *Environmental Science and Pollution Research*. 25(34): 34730-34739. ISSN: 09441344. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3205-6>

GASHOUT HA, Guzman-Novoa E, Goodwin PH, Correa-Benítez A. 2020. Impact of sublethal exposure to synthetic and natural acaricides on honey bee (*Apis mellifera*) memory and expression of genes related to memory. *Journal of Insect Physiology*. 121 104014. ISSN: 00221910. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2020.104014>

GATIEN P, Currie RW. 2003. Timing of acaricide treatments for control of low-level populations of *Varroa destructor* (Acari: Varroidea) and implications for colony performance of honey bee. *The Canadian Entomologist*. 135(5):749-763. ISSN: 0008-347X. <https://doi.org/10.4039/n02-086>

GONZÁLEZ-CABRERA J, Rodríguez-Vargas S, Davies TGE, Field LM, Schmehl D, Ellis JD, Krieger K, Williamson MS. 2016. Novel Mutations in the Voltage-Gated Sodium Channel of Pyrethroid-Resistant *Varroa destructor* Populations from the Southeastern USA. *PLoS ONE*. 11(5): e0155332. ISSN: 1932-6203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155332>

GREGORC A, Planinc I. 2012. Use of thymol formulations, amitraz, and oxalic acid for the control of the varroa mite in honey bee (*Apis mellifera carnica*) colonies. *Journal of Apicultural Science*. 56(2): 61-69. ISSN: 2299-4831. <https://doi.org/10.2478/v10289-012-0024-8>

GUZMÁN-NOVOA E, Eccles L, Calvete Y, McGowan J, Kelly PG, Correa-Benítez A. 2010. *Varroa destructor* is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada. *Apidologie*. 41(4): 443-450. ISSN: 0044-8435. <https://doi.org/10.1051/apido/2009076>

INEGI. 2019. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Consultado el 8 de junio de 2019 en: <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=32>

KAMLER M, Nesvorna M, Stara J, Erban T, Hubert J. 2016. Comparison of tau-fluvalinate, acrinathrin, and amitraz effects on susceptible and resistant populations of *Varroa destructor* in a vial test. *Experimental and applied acarology*. 69(1): 1-9. <https://doi.org/10.1007/s10493-016-0023-8>

KORPELA S, Aarhus A, Fries I, Hansen H. 1992. *Varroa jacobsoni* Oud. in cold climates: population growth, winter mortality and influence on the survival of honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research*. 31(3/4): 157-164. ISSN: 0021-8839. <https://doi.org/10.1080/00218839.1992.11101278>

LUPO A, Gerling D. 1990. A comparison between the efficiency of summer treatments using formic acid and Taktic® against *Varroa jacobsoni* in beehives. *Apidologie*. 21(3): 261-267. ISSN: 1297-9678. <https://doi.org/10.1051/apido:19900311>

MARIE-PIERRE C, Anne-Claire M, Zeggane S, Drajnudel P, Schurr F, Marie-Claude C, Ribière-Chabert M, Aubent M, Jean-Paul F. 2010. A case control study and a survey on mortalities of honey bee colonies (*Apis mellifera*) in France during the winter of 2005-6. *Journal of Apiculture Research*. 49(1):40-51. ISSN: 0021-8839. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.06>

MARTIN SJ, Ball BV, Carreck NL. 2010. Prevalence and persistence of deformed wing virus (DWV) in untreated or acaricide-treated *Varroa destructor* infested honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research*. 49(1): 72-79. ISSN: 0021-8839. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.10>

MARTIN SJ. 1999. Population modeling and the production of a monitoring tool for *Varroa jacobsoni* an ectoparasitic mite of honey bees. *Aspects of Applied Biology*. 53: 105-112. ISSN: 0265-1491. [https://www.researchgate.net/publication/291772610\\_Population\\_modelling\\_and\\_the\\_production\\_of\\_a\\_monitoring\\_tool\\_for\\_Varroa\\_jacobsoni\\_an\\_ectoparasitic\\_mite\\_of\\_honey\\_bees#fullTextFileContent](https://www.researchgate.net/publication/291772610_Population_modelling_and_the_production_of_a_monitoring_tool_for_Varroa_jacobsoni_an_ectoparasitic_mite_of_honey_bees#fullTextFileContent)

MARTÍNEZ-PUC JF, Medina-Medina LA. 2011. Evaluación de la resistencia del ácaro *Varroa destructor* al fluvalinato en colonias de abejas (*Apis mellifera*) en Yucatán, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 2(1):93-100. ISSN 2448-6698. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/1451>

MEDINA-FLORES CA, Guzmán-Novoa E, Aréchiga-Flores CF, Aguilera-Soto JI, Gutiérrez-Piña J. 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*. 2:313-317. ISSN 2448-6698. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11242011000300006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242011000300006)



MORETTO G, Goncalves SL, De Jong D. 1991. Africanized bees are more efficient at removing *Varroa jacobsoni*- Preliminary data. *American Bee Journal*. 131(7):434. ISSN: 0002-7626.

<https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=19855220>

NAZZI F, Le Conte Y. 2016. Ecology of *Varroa destructor*, the major ectoparasite of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Annual Review of Entomology*. 61:417-432. ISSN: 1545-4487. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023731>

PIETROPAOLI M, Formato G. 2018. Liquid formic acid 60% to control varroa mites (*Varroa destructor*) in honey bee colonies (*Apis mellifera*): protocol evaluation. *Journal of Apicultural Research*. 57(2): 300-307. ISSN: 0021-8839. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1376767>

RODRÍGUEZ-DEHAIBES SR, Otero-Colina G, Villanueva-Jiménez JA, Corcuera P. 2011. Susceptibility of *Varroa destructor* (Gamasida: Varroidae) to four pesticides used in three mexican apicultural regions under two different management systems. *International Journal of Acarology*. 37(5): 441-447. ISSN: 1572-9702. <https://doi.org/10.1080/01647954.2010.525523>

ROSENKRANZ P, Aumeier P, Ziegelmann B. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of invertebrate pathology*. 103: S96-S119. ISSN: 1096-0805. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>

RYABOV EV, Childers AK, Chen Y, Madella S, Nessa A, Evans JD. 2017. Recent spread of *Varroa destructor* virus-1, a honey bee pathogen, in the United States. *Scientific reports*. 7(1):1-10. ISSN: 2045-2322. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17802-3>

SAGARPA (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2005. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ZOO-1994, campaña contra la varroasis de las abejas. Diario Oficial. 28 de diciembre de 2005. [http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/PE/APF/APC/SAGARPA/Modificaciones/28122005\(1\).pdf](http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/PE/APF/APC/SAGARPA/Modificaciones/28122005(1).pdf)

SAINI S, Chaudhary OP, Anoosha, V. 2018. Relationship of population size and extraction frequency with honey production in *Apis mellifera* colonies. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 6(3):1374-1377. ISSN: 2320-7078. [https://www.researchgate.net/profile/Op\\_Chaudhary2/publication/328902070\\_Relationship\\_of\\_population\\_size\\_and\\_extraction\\_frequency\\_with\\_honey\\_production\\_in\\_Apis\\_mellifera\\_colonies/links/5bea992d299bf1124fce68f2/Relationship-of-population-size-and-extraction-frequency-with-honey-production-in-Apis-mellifera-colonies.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Op_Chaudhary2/publication/328902070_Relationship_of_population_size_and_extraction_frequency_with_honey_production_in_Apis_mellifera_colonies/links/5bea992d299bf1124fce68f2/Relationship-of-population-size-and-extraction-frequency-with-honey-production-in-Apis-mellifera-colonies.pdf)

SAS Intitute. 2014. Statistical Analysis Software SAS/STAT®. version 9.4, Cary, N.C., USA: SAS Institute Inc., ISBN: 978-1-60764-599-3. [https://www.sas.com/en\\_us/software/stat.html](https://www.sas.com/en_us/software/stat.html)

SCHNEIDER S, Eisenhardt D, Rademacher E. 2012. Sublethal effects of oxalic acid on *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae): changes in behaviour and longevity. *Apidologie*. 43(2): 218–225. ISSN: 0044-8435. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0102-0>

SMODIŠ ŠMI, Nakrst M, Žvokelj L, Gregorc A. 2011. The acaricidal effect of flumethrin, oxalic acid and amitraz against *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera carnica*) colonies. *Acta Veterinaria Brno*. 80(1): 51-56. ISSN: 1801-7576. <https://doi.org/10.2754/avb201180010051>

SEMKIW P, Skubida P, Pohorecka K. 2013. The amitraz strips efficacy in control of *Varroa destructor* after many years application of amitraz in apiaries. *Journal of Apicultural Science*. 57(1): 107-121. ISSN: 2299-4831. <https://content.sciendo.com/view/journals/jas/57/1/article-p107.xml>

STRANGE JP, Sheppard WS. 2001. Optimum timing of miticide applications for control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in Washington State, USA. *Entomological Society of America* 94(6):1324-1331. ISSN 0022-0493. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.6.1324>

VANENGELSDORP D, Meixner MD. 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology*. 103: S80-S95. ISSN: 0022-2011. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.011>

WILFERT L, Long G, Leggett HC, Schmid-Hempel P, Butlin R, Martin SJM, Boots M. 2016. Deformed wing viruses is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. *Research Report. Science*. 351(6273):594-597. ISSN 1095-9203. <https://doi.org/10.1126/science.aac9976>