

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**“Niveles de susceptibilidad de *Varroa destructor* Anderson y Trueman (Acari: Varroidae) a cuatro plaguicidas usados para su control en México”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P R E S E N T A

**SÓSTENES RAFAEL RODRÍGUEZ DEHAIBES**

CODIRECTORES DE TESIS:

Dr. GABRIEL OTERO COLINA

Dr. PABLO CORCUERA MARTÍNEZ DEL RÍO

ASESOR

Dr. JUAN ANTONIO VILLANUEVA JIMÉNEZ

MÉXICO, D.F.

6 DE ENERO DE 2011

**El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-20-93.**

El jurado designado por la Comisión del Doctorado en Ciencias Biológicas  
de la UAM (Unidades Cuajimalpa, Iztapalapa y Xochimilco)

aprobó la Tesis que presentó

**SÓSTENES RAFAEL RODRÍGUEZ DEHAIBES**

El día 6 de enero de 2011

**Sinodales:**

Dr. Pablo Corcuera Martínez del Río (Presidente)

\_\_\_\_\_

Dra. Ma. Teresa Santillán Galicia (Secretaria)

\_\_\_\_\_

Dr. Gabriel Otero Colina (Vocal)

\_\_\_\_\_

Dr. Juan Antonio Villanueva Jiménez (Vocal)

\_\_\_\_\_

Dra. Laura Guadalupe Espinosa Montaña (Vocal)

\_\_\_\_\_

## **COMITÉ TUTORIAL**

### **CODIRECTORES DE TESIS**

#### **Dr. Gabriel Otero Colina**

Profesor Investigador Titular  
Campus Montecillo  
Colegio de Postgraduados

#### **Dr. Pablo Corcuera Martínez del Río**

Profesor Titular "C" T.C.  
Unidad Iztapalapa  
Universidad Autónoma Metropolitana

### **ASESOR**

#### **Dr. Juan Antonio Villanueva Jiménez**

Profesor Investigador Titular  
Campus Veracruz  
Colegio de Postgraduados

### **SINODALES**

#### **Dra. Ma. Teresa Santillán Galicia**

Profesor Investigador Asociado  
Campus Montecillo  
Colegio de Postgraduados

#### **Dra. Laura Guadalupe Espinosa Montaña**

Profesor Asociado "C" T. C.  
F. M. V. Z.- Departamento de Producción Animal:  
Abejas, Conejos y Organismos Acuáticos  
Universidad Nacional Autónoma de México

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Apicultura de la Posta Zootécnica Torreón del Molino de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana y con el apoyo del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo y Veracruz para el montaje de las técnicas y metodologías empleadas en esta investigación.

## DEDICATORIAS

*En primer lugar, dedico esta Tesis a las admirables **Abejas**, insectos maravillosos que desempeñan una función extraordinaria e implacable en nuestro Planeta, pese a todas las adversidades y obstáculos que el ser humano le ha puesto es su camino.*

*A mi esposa **Nidia Libertad**, por su amor y apoyo incondicional que me permitieron continuar con mi formación profesional.*

*A mis hijos **Nidia Karime** y **Abdo José**, por su apoyo, amor y comprensión a lo largo de mi formación profesional.*

*A mi madre **Carmen Guillermina**, por su amor incondicional y ejemplo, que dieron una base firme a mi formación como ser humano.*

*Si en la lid el destino te derriba;  
si todo en tu camino es cuesta arriba;  
si tu sonrisa es ansia insatisfecha;  
si hay faena excesiva y vil cosecha;  
si a tu caudal se contraponen diques,  
date una tregua...pero... ¡no claudiques!*

*Joseph Rudyard Kipling*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma Metropolitana, por darme la oportunidad de realizar mis estudios de Doctorado.

Al Dr. Gabriel Otero Colina, por contribuir en mi formación profesional y brindarme su tiempo para la realización de esta investigación.

Al Dr. Juan Antonio Villanueva Jiménez, por brindarme su tiempo y asesoría, que contribuyeron de manera importante en la realización de mis estudios de Doctorado.

Al Dr. Pablo Corcuera Martínez del Río, por su tiempo e importante contribución para alcanzar las metas de esta investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Doctorado.

A la Fundación Produce de Veracruz A. C. por el financiamiento parcial para la realización de esta investigación.

Al Lic. Jacinto Alvarado Sánchez y a la empresa Citrofrut S. A. de C. V., por el apoyo y facilidades otorgadas para la terminación de mis estudios.

A mis compañeros y amigos que colaboraron para la realización de esta investigación: Ma. Del Carmen Chávez Valle, Rafael Lagunes Zapata, Dionisio Hernández Mendoza, Mayra L. Cisneros Cruz y Roberto Castillo Tlapa.

## RESUMEN

Se determinaron los niveles de susceptibilidad de *Varroa destructor* a cuatro plaguicidas: flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós bajo condiciones de laboratorio. Las varroas colectadas para este estudio procedieron de tres regiones apícolas: Tejería, Veracruz, región Golfo ruta de trashumancia 1; Texcoco, México, región Centro-Altiplano ruta de trashumancia 1; Cd. Valles, San Luis Potosí, región Centro-Altiplano ruta de trashumancia 2; y Sabancuy, Campeche, región Península de Yucatán bajo una forma de manejo de apicultura fija. Se estimaron las  $CL_{50}$  de varroa a los cuatro plaguicidas y se compararon con líneas base reportadas con anterioridad para obtener el índice de resistencia (IR). Se realizaron bioensayos mediante la técnica de aspersión utilizando la torre de Burgerjon. Los mayores IR fueron para la región Península de Yucatán. La flumetrina fue el plaguicida que mostró mayor IR en todas las regiones estudiadas: Golfo 659, Centro-Altiplano ruta de trashumancia-1 243, Centro-Altiplano ruta de trashumancia-2 419 y Península de Yucatán 4,057. El coumafós mostró los IR más bajos en todas las regiones, de mayor a menor: Península de Yucatán 3.9, Centro-Altiplano ruta de trashumancia-2 1.9, Golfo 1.5 y Centro-Altiplano ruta de trashumancia-1 1.2. El coumafós no cuenta con licencia en México en su presentación comercial para abejas. Las varroas de las dos rutas de trashumancia presentaron índices de resistencia similares, es decir se comportaron como una sola población. Los mayores IR de la Península de Yucatán se debe probablemente a que la población de abejas se encuentra aislada por el tipo de manejo apícola, lo que concentra los genes de resistencia seleccionados. De acuerdo con los resultados encontrados se elaboró un esquema de rotación de plaguicidas, tratamientos alternativos y de control etológico en cada región apícola para un periodo de cinco años, donde el coumafós y el amitraz fueron los plaguicidas de elección para el primer año de aplicación en las tres regiones estudiadas.

Palabras clave: Burgerjon, México, plaguicidas, resistencia, Varroa.

## **ABSTRACT**

The susceptibility levels of *Varroa destructor* to four pesticides: flumethrin, fluvalinate, amitraz and coumaphos were determined under laboratory conditions. The *Varroa* samples collected for this study came from three regions where beekeeping is practiced: Tejería, Veracruz: Gulf region migration route 1; Texcoco, Mexico, Central-Highland region migration route 1; Cd. Valles, San Luis Potosí, Central-Highland migration route 2; and Sabancuy, Campeche, Yucatan Peninsula region, where beekeeping is sedentary. To obtain the resistance index (RI), the  $CL_{50}$  of *Varroa* to the four pesticides was determined and compared to previously reported baselines. Bioassays were performed using the Burgerjon spraying tower. The highest RI belonged to the Yucatan Peninsula region. Flumethrin was the pesticide with the highest RI in all studied regions: Gulf 659, Center-Highland migration route-1 243, Center-Highland migration route-2 419, and Yucatan Peninsula 4,057. Coumaphos had the lowest RI in every region, from higher to lower: Yucatan Peninsula 3.9, Center-Highland migration route-2 1.9, Gulf 1.5 and Center-Highland migration route-1 2. The commercial presentation of Coumaphos in Mexico is not authorized for its use with bees. *Varroa* from the two migration routes had similar resistance indexes, so they behaved as a single population. The explanation for the highest RI being in the Yucatan Peninsula is that this bee population is isolated due to the beekeeping system which concentrates selected resistance genes. According to these results we designed a pesticide rotation plan, alternative treatments and ethological control in each of the beekeeping regions for a five year period. In this plan, coumaphos and amitraz were chosen to be used in the three studied regions during the first year.

Keywords: Burgerjon, Mexico, pesticides, resistance, *Varroa*.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
Regiones apícolas de México .....	3
ANTECEDENTES .....	6
Plaguicidas usados en México para el control de varroa .....	7
Modo de acción .....	8
Resistencia .....	12
Insecticidas selectivos para abejas y resistencia .....	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	18
HIPÓTESIS .....	20
OBJETIVO GENERAL.....	21
OBJETIVOS PARTICULARES.....	21
MÉTODOS.....	22
Encuestas de caso de historia de uso de plaguicidas en tres regiones apícolas y dos rutas de trashumancia .....	22
Método para determinación de resistencia a plaguicidas en varroa .....	23
Calibración de la Torre de Burgerjon .....	24
Origen de las varroas .....	26
Obtención de las varroas .....	30
Bioensayos .....	30
Análisis estadístico.....	33
RESULTADOS .....	34
Historia de casos de uso de plaguicidas en las regiones en estudio.....	34
Regiones Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) .....	34
Región Península de Yucatán.....	38
Región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2) .....	41
Bioensayos .....	45

Análisis Probit .....	56
Susceptibilidad a plaguicidas en varroa de dos regiones apícolas, bajo dos formas de manejo (ruta de trashumancia 1 y apicultura fija) .....	57
Discusión.....	62
Susceptibilidad a plaguicidas en varroa de dos regiones apícolas bajo una misma forma de manejo y en dos rutas de trashumancia (rutas de trashumancia 1 y 2).....	65
Discusión.....	70
Propuesta de un programa de rotación de plaguicidas y tratamientos alternativos contra <i>Varroa destructor</i> para un período de cinco años en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2) y Península de Yucatán.....	72
DISCUSIÓN .....	74
CONCLUSIONES .....	78
PERSPECTIVAS.....	80
REFERENCIAS .....	81
ANEXOS .....	88
ARTÍCULO PUBLICADO .....	105

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Plaguicidas de síntesis utilizados contra <i>Varroa destructor</i> en México.....	8
Cuadro 2. CL <sub>50</sub> y DL <sub>50</sub> de amitraz, flumetrina, fluvalinato y coumafós obtenidas mediante aplicación tópica y aspersion con la torre de Burgerjon para <i>Varroa destructor</i> en México, 2000. ....	14
Cuadro 3. CL <sub>50</sub> e índice de resistencia de <i>Varroa destructor</i> hacia la flumetrina y el amitraz en Veracruz, México, 2005 .....	17
Cuadro 4. Tratamientos utilizados contra <i>Varroa destructor</i> con base en las encuestas aplicadas a apicultores de las regiones Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1). ....	37
Cuadro 5. Tratamientos utilizados contra <i>Varroa destructor</i> con base en los apicultores encuestados en la región Península de Yucatán.....	41
Cuadro 6. Tratamientos utilizados contra <i>Varroa destructor</i> de la base de apicultores encuestados en la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2). ....	45
Cuadro 7. Bioensayos para determinar la ventana de respuesta biológica de <i>Varroa destructor</i> para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Tejería, Veracruz, región Golfo (ruta de trashumancia 1). ....	47
Cuadro 8. Bioensayos para determinar la ventana de respuesta biológica de <i>Varroa destructor</i> para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Texcoco, México, región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1). ....	48
Cuadro 9. Bioensayos para determinar la ventana de respuesta biológica de <i>Varroa destructor</i> para flumetrina, fluvalinato,	

amitraz y coumafós en Sabancuy, Campeche, región Península de Yucatán. ....	49
Cuadro 10. Bioensayos para determinar la ventana de respuesta biológica de <i>Varroa destructor</i> para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Cd. Valles, San Luis Potosí, región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2). ....	50
Cuadro 11. Bioensayos para determinar la CL <sub>50</sub> de <i>Varroa destructor</i> para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Tejería, Veracruz, región Golfo (ruta de trashumancia 1). ....	52
Cuadro 12. Bioensayos para determinar la CL <sub>50</sub> de <i>Varroa destructor</i> para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Texcoco, México, región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1). ....	53
Cuadro 13. Bioensayos para determinar la CL <sub>50</sub> de <i>Varroa destructor</i> para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Sabancuy, Campeche, región Península de Yucatán. ....	54
Cuadro 14. Bioensayos para determinar la CL <sub>50</sub> de <i>Varroa destructor</i> para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Cd. Valles, San Luis Potosí, región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2). ....	55
Cuadro 15. Concentraciones letales medias e índices de resistencia de <i>Varroa destructor</i> a flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en las regiones apícolas Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), Golfo y Península de Yucatán. ....	61
Cuadro 16. Concentraciones letales medias e índices de resistencia de <i>Varroa destructor</i> a flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en las regiones apícolas Golfo y Centro-Altiplano, en dos rutas de trashumancia. ....	69

Cuadro 17. Esquema de rotación de plaguicidas, tratamientos alternativos y control etológico contra <i>Varroa destructor</i> para un periodo de cinco años. ....	73
--	----

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de México integrando las cinco regiones apícolas: Norte, Centro-Altiplano, Pacífico, Golfo y Península de Yucatán.....	5
Figura 2. Esquema del ciclo biológico de <i>Varroa destructor</i> . ....	7
Figura 3. Esquema de las neuronas mostrando el axón por donde se transmite el impulso nervioso (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1999).....	9
Figura 4. Esquema simple de una sección del axón donde se muestra cómo funcionan los canales de sodio a lo largo de éste (Bayvet, 2005). ....	9
Figura 5. Esquema de las neuronas mostrando la sinapsis por donde el impulso nervioso es transmitido (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1999).....	11
Figura 6. Torre de Burgerjon conectada al compresor dentro la campana de extracción de humos. ....	24
Figura 7. Torre de Burgerjon modificada con la balanza de plato en su interior. ....	25
Figura 8. Detalle de la modificación de la torre de Burgerjon mostrando la balanza y la caja Petri lista para la aspersion. ....	26
Figura 9. Mapa con las ubicaciones de los apiarios muestreados en las dos regiones apícolas y en la principal ruta de trashumancia. ....	28
Figura 10. Mapa con las ubicaciones de los apiarios muestreados en dos regiones y en las dos principales rutas de trashumancia.....	29
Figura 11. Caja Petri desechable con tapa perforada y con orificio cubierto con malla, para tener ventilación. ....	31
Figura 12. Caja Petri con papel filtro y el grupo de varroas listas para el proceso de aspersion.....	31

Figura 13. Ventana de respuesta biológica (VRB).....	32
Figura 14. Número de encuestas aplicadas por localidad en las regiones Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1).....	35
Figura 15. Tratamientos con plaguicidas de síntesis utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en las regiones Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1). .....	35
Figura 16. Tratamientos alternativos utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en las regiones Golfo y Centro Altiplano (ruta de trashumancia 1). .....	36
Figura 17. Período de aplicación de los tratamientos contra varroa en las comunidades encuestadas de las regiones Golfo y Centro- Altiplano (ruta de trashumancia 1). .....	36
Figura 18. Localidades y número de encuestas realizadas en la región Península de Yucatán.....	39
Figura 19. Tratamientos con plaguicidas de síntesis utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Península de Yucatán.....	39
Figura 20. Tratamientos alternativos utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Península de Yucatán.....	40
Figura 21. Período de aplicación de los tratamientos contra <i>Varroa destructor</i> en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Península de Yucatán.....	40
Figura 22. Localidades encuestadas en la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2). .....	43

Figura 23. Tratamientos con plaguicidas de síntesis utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Centro-Altiplano ruta de trashumancia 2.....	43
Figura 24. Tratamientos alternativos utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2). .....	44
Figura 25. Período de aplicación de los tratamientos contra <i>Varroa destructor</i> en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2). .....	44
Figura 26. Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de <i>Varroa destructor</i> para flumetrina en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) y Península de Yucatán.....	59
Figura 27. Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de <i>Varroa destructor</i> para fluvalinato en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) y Península de Yucatán.....	59
Figura 28. Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de <i>Varroa destructor</i> para amitraz en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) y Península de Yucatán.....	60
Figura 29. Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de <i>Varroa destructor</i> para coumafós en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) y Península de Yucatán.....	60
Figura 30. Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de <i>Varroa destructor</i> para flumetrina en las regiones Golfo, Centro-Altiplano en las dos rutas de trashumancia.....	67

Figura 31. Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de <i>Varroa destructor</i> para fluvalinato en las regiones Golfo y Centro-Altiplano en dos rutas de trashumancia.....	67
Figura 32. Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de <i>Varroa destructor</i> para amitraz en las regiones Golfo y Centro-Altiplano en dos rutas de trashumancia.....	68
Figura 33. Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de <i>Varroa destructor</i> para coumafós en las regiones Golfo y Centro-Altiplano en dos rutas de trashumancia.....	68

## INTRODUCCIÓN

La varroasis es la enfermedad que más daño causa a la apicultura mundial; es causada por el ácaro *Varroa destructor* Anderson y Trueman (Acari: Varroidae), al que en lo sucesivo se le llamará simplemente varroa (Anderson y Trueman, 2000). Esta enfermedad se presenta en las áreas apícolas más importantes del mundo; ha causado grandes pérdidas económicas a lo largo de los años en todos los países en donde se ha detectado (Dietz y Hermann, 1988; Guzmán-Novoa *et al.*, 1999). En México fue detectada en mayo de 1992 (Rodríguez *et al.*, 1992); a partir de esa fecha se ha requerido controlarla con plaguicidas y otros productos alternativos (Otero-Colina, 1993).

Es una preocupación general de las autoridades zoonosanitarias de los países exportadores de miel la aplicación adecuada de plaguicidas autorizados, con miras a evitar la contaminación de la miel. En 2008 México ocupó el octavo lugar como país productor de miel y el tercero como exportador, por lo que las asociaciones de apicultores y el gobierno Mexicano han requerido generar métodos para controlar esta plaga sin afectar la calidad y la inocuidad de la miel que se exporta (FAO, 2010; SAGARPA 2010a; SAGARPA 2010b).

Los plaguicidas de síntesis usados en México para el control de varroa son: fluvalinato, flumetrina, amitraz y coumafós. El coumafós no está autorizado en México para su uso en colonias de abejas; sin embargo, se usa en presentación comercial para ganado<sup>1</sup>. Los dos primeros pertenecen al grupo toxicológico de los piretroides; el coumafós, al de los organofosforados; y el amitraz, a las formamidina. Por consiguiente, los países compradores de miel exigen la realización de análisis para certificar la ausencia de fluvalinato y flumetrina

---

<sup>1</sup> SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Oficio s/n del 21 de octubre 2009. Comunicado oficial de productos autorizados para uso en abejas en México.

y niveles por debajo de 100 ppb para coumafós en la miel<sup>2</sup> (Pettis *et al.*, 1998; Lagunes y Rodríguez, 1992; Eguaras y Ruffinengo, 2006).

En cuanto a los tratamientos alternativos, se cuenta con ácidos orgánicos como el fórmico y el oxálico, así como componentes de aceites esenciales los cuales son utilizados frecuentemente por los apicultores. Se han hecho investigaciones para desarrollar técnicas de aplicación de estos productos y con ellos alcanzar la mejor efectividad posible en las diferentes condiciones ambientales (Otero-Colina, 1991; Colin *et al.*, 1994; Vivas *et al.*, 1996; Bogdanov *et al.*, 1999).

El fenómeno de resistencia se presenta por la presión de selección sobre las poblaciones de los individuos que reciben un plaguicida, dando origen, tarde o temprano, a la aparición de individuos que no son eliminados por dicho plaguicida a la dosis originalmente usada. Metcalf (1983) indica que la resistencia a plaguicidas, es el resultado inevitable de la selección intensiva de una población que cuenta con una reserva genética sustancial que incorpora, por lo general a bajas frecuencias, alelos que le confieren aptitud para sobrevivir en un ambiente contaminado con un plaguicida.

El utilizar frecuentemente los mismos plaguicidas para el control de este ácaro, sin llevar un esquema adecuado de rotación, ha ocasionado la aparición de la resistencia a la flumetrina y al amitraz en Veracruz, México (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005). Por lo anterior, son necesarias nuevas investigaciones para determinar si se ha desarrollado resistencia al fluvalinato. Existe el potencial para el desarrollo de una resistencia a varios piretroides, ya que el fenómeno de resistencia cruzada es común entre este tipo de insecticidas (Milani, 1995). Es recomendable utilizar los plaguicidas por regiones para prolongar su efectividad frente a las plagas, manteniendo así las poblaciones de individuos

---

<sup>2</sup> SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Oficio s/n del 21 de octubre 2009. Comunicado oficial de productos autorizados para abejas en México.

susceptibles (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1999), pero exige el monitoreo periódico regional de la susceptibilidad a diferentes plaguicidas.

### **Regiones apícolas de México**

México se encuentra dividido en cinco regiones apícolas, cada una representada por varios estados y caracterizadas por diferentes tipos de floraciones, climas y algunas formas de manejo. En nuestro país el principal tipo de manejo es el trashumante; esto es, aquél donde las colmenas son trasladadas para seguir las fuentes de floración. Existen zonas importantes en cuanto a producción de miel donde no se maneja la movilización de colmenas, como lo es la Península de Yucatán, que contribuye aproximadamente con 35% de la producción del país (SAGAR, 2000; SIAP, 2010). Las cinco regiones apícolas y sus características en cuanto a su potencial necta-polinífero fueron clasificadas por SAGARPA (2010c) y se describen a continuación:

**Norte.-** Caracterizada por vegetación xerófila con amplias zonas de pastizales, bosque espinoso y de coníferas; cuenta también con zonas agrícolas de riego destinadas a productos de exportación, lo que ha facilitado el desarrollo de la polinización con abejas. La miel producida en esta región es de excelente calidad y se cosecha de marzo a mayo y de agosto a octubre. Comprende los estados de Baja California, Baja California Sur, Coahuila, Chihuahua, Durango, Nuevo León, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas (Figura 1).

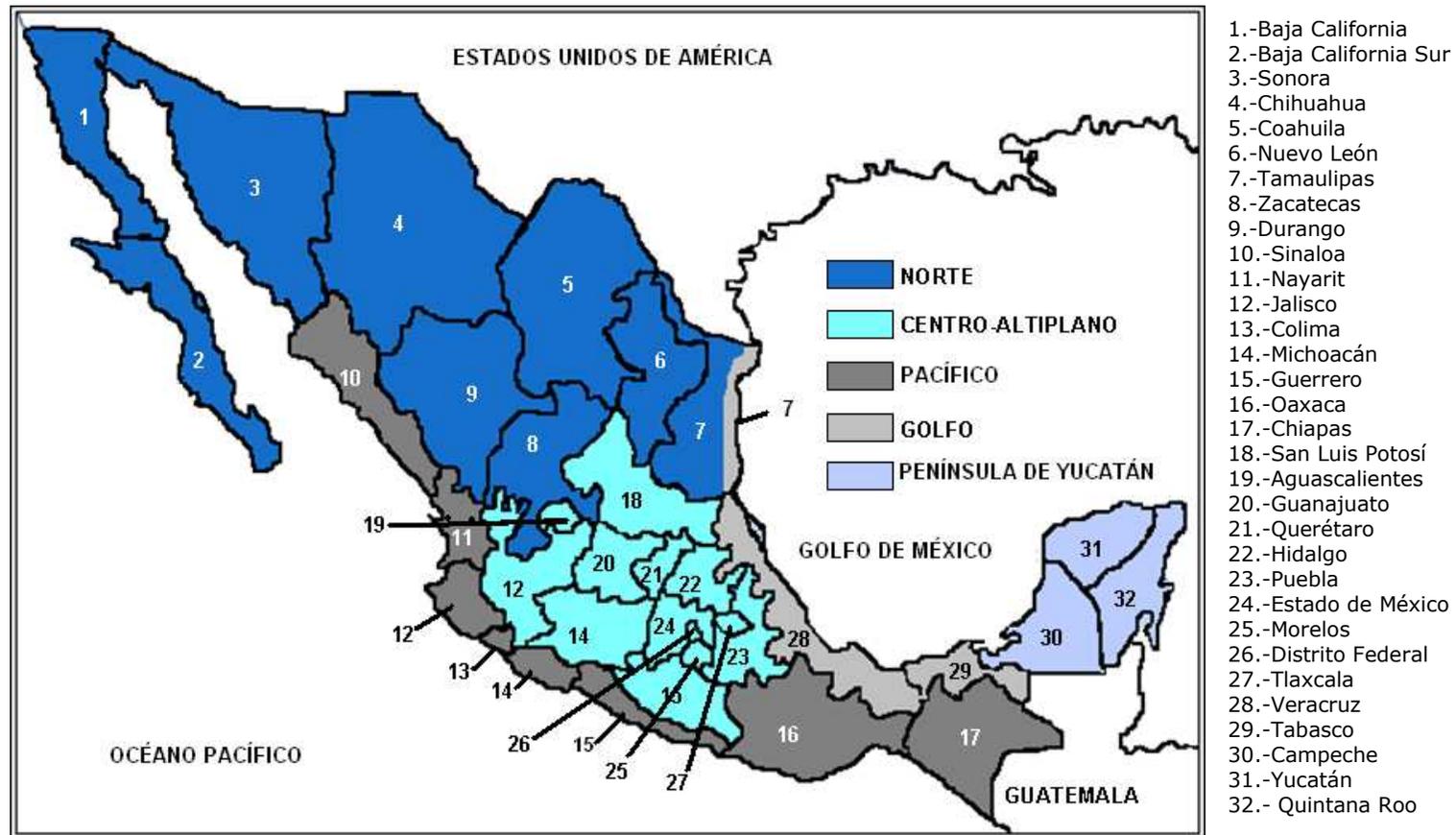
**Centro-Altiplano.-** La vegetación en esta región es variada, predominan el matorral xerófilo, bosque espinoso, pastizal y bosque de coníferas; se encuentran zonas con bosque subtropical, así como importantes zonas agrícolas. De septiembre a noviembre se produce una miel de excelente calidad, clasificada como ámbar extra clara, que es de gran demanda en Alemania por la suavidad de su sabor y su característica cristalización de grano fino. La región está integrada por los estados de Aguascalientes, Distrito Federal, Guanajuato,

Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Tlaxcala, o parte de ellos (Figura 1).

**Pacífico.**- En esta región predomina el bosque tropical caducifolio y subcaducifolio, además cuentan con zonas de bosques espinosos y de coníferas. La época más importante de floración y producción de miel es de octubre a diciembre. Comprende los estados y regiones de Colima, costa de Chiapas, costa de Guerrero, costa de Jalisco, costa de Michoacán, costa de Oaxaca, Nayarit y Sinaloa (Figura 1).

**Golfo.**- En ella predominan el bosque tropical perennifolio y el bosque tropical caducifolio; además, existen extensas zonas de cultivo de cítricos, cuya floración abarca los meses de febrero y marzo, lo que permite la producción de miel de azahar, caracterizada por su excelente calidad, seguida de una floración multifloral de marzo a junio. Está región integrada por los estados de Tabasco, Veracruz y la costa de Tamaulipas (Figura 1).

**Península de Yucatán.**- Su vegetación comprende el bosque tropical caducifolio y subcaducifolio, con períodos de floración que van desde noviembre hasta julio. En esta región se concentra el mayor número de colmenas del país; su participación en la producción del total nacional equivale al 35 % (SIAP, 2010). La miel obtenida en esta región se destina principalmente al comercio exterior donde goza de gran demanda. Comprende los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo (Figura 1).



**Figura 1.** Mapa de México integrando las cinco regiones apícolas: Norte, Centro-Altiplano, Pacífico, Golfo y Península de Yucatán.

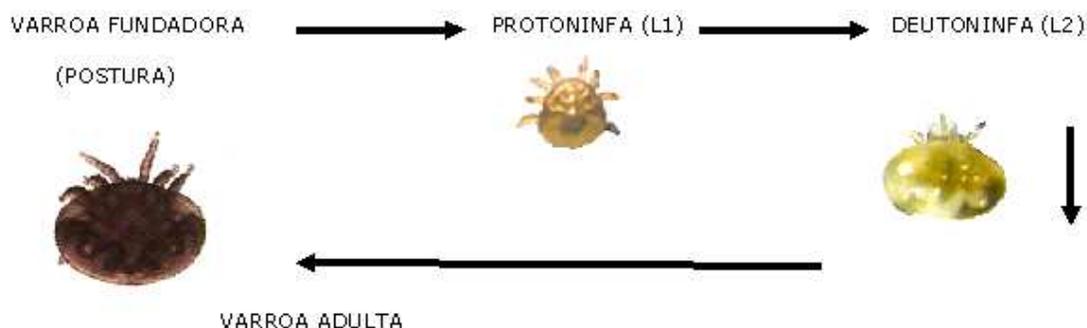
## **ANTECEDENTES**

La llegada a México del ácaro varroa, marcó la pauta para que se incluyeran nuevos análisis en la miel por la necesidad del uso de plaguicidas para su control y por la posible contaminación de la miel con estos productos. Actualmente, con las normas de inocuidad alimentaria a nivel mundial, la producción y manufactura de miel han sido objeto de normas estrictas para mantener buen control de su calidad. Esto incluye la detección de residuos de los fármacos y plaguicidas utilizados para controlar las enfermedades de las abejas, así como los que se utilizan para facilitar la cosecha de miel y los productos para el mantenimiento y reparación de las colmenas. Las instalaciones para la extracción y manufactura de miel ahora deben cumplir con las normas recomendadas por las autoridades competentes para calidad e inocuidad del producto terminado (SAGARPA 2010a; SAGARPA 2010b).

Un problema que ha cobrado importancia en los últimos años es la inapropiada utilización de plaguicidas preparados de manera empírica y artesanal, así como de antibióticos para el control de las enfermedades bacterianas en las abejas, debido al alto costo de los productos específicos para su uso en colmenas y algunas veces a la escasez de los mismos. Varios apicultores preparan sus formulaciones e improvisan la forma de suministrarlas, con lo que se corre el riesgo de contaminación de la miel y otros productos de las abejas con sustancias que incluso, no están permitidas en México, y cuyos parámetros en los análisis en la miel de abeja no están establecidos (González *et al.*, 2003).

El ciclo biológico de varroa (Figura 2) se realiza en crías de abejas en su etapa operculada. La varroa fundadora (hembra) se introduce en una celda con cría 24 h antes de que sea operculada. Posterior a la operculación de la cría, la varroa comienza su postura después de 60 h, y ovoposita a intervalos de 30 h. La primera fase postembrionaria es conocida como protoninfa (L1), la cual se alimenta de la hemolinfa de la cría al igual que la varroa fundadora. La segunda fase de desarrollo es llamada

deutoninfa (L2), en la cual se desarrolla la diferenciación sexual (Henderson *et al.*, 1986; Dietz y Hermann, 1988). En estas fases casi ningún plaguicida tiene efecto sobre estos ácaros, ya que están protegidos por el opérculo. Una vez que las varroas salen junto con la abeja adulta recién emergida, toman contacto con el plaguicida (Vivas *et al.*, 1996).



**Figura 2.** Esquema del ciclo biológico de *Varroa destructor*.

### **Plaguicidas usados en México para el control de varroa**

Actualmente cuatro plaguicidas de síntesis son utilizados en México: amitraz, flumetrina, fluvalinato y coumafós (Cuadro 1). El fluvalinato es poco utilizado, debido a reportes de ineficacia en los tratamientos en algunas regiones de Veracruz, así como el alto costo comparado con los otros plaguicidas utilizados<sup>3</sup>. Tanto la flumetrina como el fluvalinato pertenecen al mismo grupo toxicológico (piretroides) y ambos actúan por contacto.

El amitraz es un plaguicida de reciente introducción en México (SAGARPA, 2002). Su nombre comercial es Colmesan® y se aplica por evaporación y fumigación; pertenece al grupo toxicológico de las formamidinas (Lagunes y Rodríguez, 1992).

<sup>3</sup> Florina Chapol com. pers. 2010 Asociación Ganadera Local especialista en Apicultura La Choleña.

El coumafós es un plaguicida organofosforado que no está autorizado para su uso en abejas en México, por lo cual no existe una presentación comercial para esta especie disponible en el país; En EUA el nombre comercial es Check-Mite®. Los apicultores llegan a utilizar coumafós en la presentación que existe para ganado. Este plaguicida actúa por contacto (Lagunes y Rodríguez, 1992).

**Cuadro 1.** Plaguicidas de síntesis utilizados contra *Varroa destructor* en México.

Nombre común	Grupo toxicológico	Nombre comercial	Aplicación
fluvalinato	piretroides	Apistán®	contacto
flumetrina	piretroides	Bayvarol®	contacto
amitraz	formamidinas	Colmesan®	evaporación / fumigación
coumafós	organofosforados	Asuntol® **	contacto

\*\* Sin licencia en México en presentación comercial para abejas.

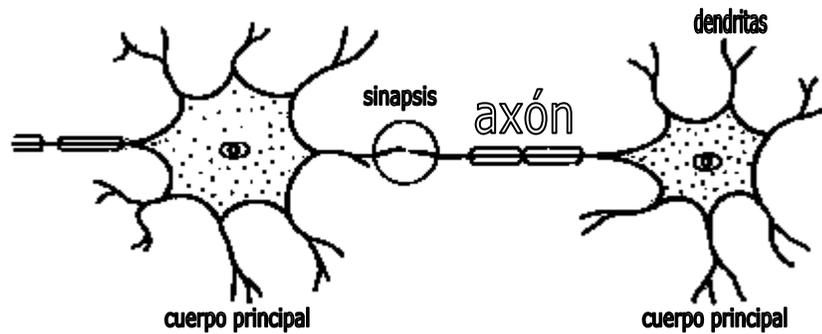
### Modo de acción

El modo de acción explica el efecto del plaguicida en el sitio activo, al inhibir, acelerar o mimetizar algún proceso metabólico esencial para la vida de la especie a controlar.

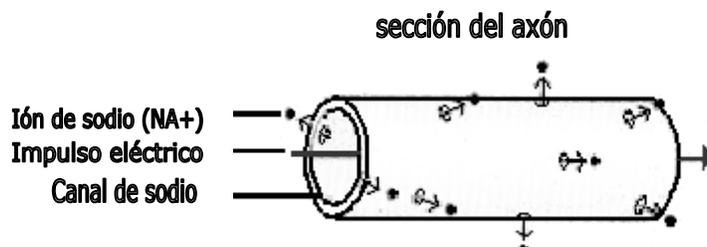
**a) Piretroides.** Las moléculas de los insecticidas piretroides son derivados sintéticos basados en las piretrinas naturales, las cuales, son alcaloides del *Chrysanthemum cinerariaefolium* Benth y Hook, que se obtienen del piretro (Lagunes, 1982).

Los piretroides actúan en el sistema nervioso de los insectos a nivel del axón de las neuronas (Figura 3), donde estimulan las descargas repetitivas de impulsos nerviosos con la consecuente paralización del cuerpo (Lagunes y Rodríguez, 1992). Mantienen abiertos de forma permanente los canales de los iones de sodio (canal de sodio) a lo largo del axón, en donde normalmente sólo pasan partículas con carga eléctrica, lo que altera

la transmisión del impulso eléctrico en el nervio, como se muestra en la Figura 4 (Bayvet, 2005; Wang *et al.*, 2002).



**Figura 3.** Esquema de las neuronas mostrando el axón por donde se trasmite el impulso nervioso (Tomado de Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1999).



**Figura 4.** Esquema simple de una sección del axón donde se muestra cómo funcionan los canales de sodio a lo largo de éste (Tomado de Bayvet, 2005).

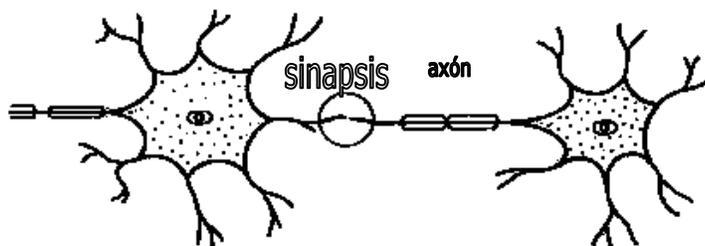
El fluvalinato y la flumetrina son dos piretroides utilizados de forma importante para el control de la varroasis de las abejas. Ambos plaguicidas se aplican en tiras de

cloruro de polivinilo (PVC). Según recomendaciones de los laboratorios que manufacturan dichos productos, las tiras deben permanecer en la colmena por un período mínimo de seis semanas, así los ácaros que permanecen dentro de las celdas operculadas tienen contacto con el plaguicida una vez que emergen junto con las abejas al término de su ciclo biológico (Bayvet, 2005).

**b) Formamidinas.** Dentro de este grupo pocas son las sustancias que poseen acción insecticida/acaricida, son el clordimeform y el amitraz. Las formamidinas actúan inhibiendo a la enzima monoaminooxidasa, alterando el metabolismo del neurotransmisor dopamina (Lagunes y Rodríguez, 1992). La forma de aplicación del amitraz es mediante evaporación dentro de la cámara de cría, así como por fumigación, aplicándolo dentro del ahumador donde el producto es volatilizado; así el humo que se aplica a la colmena contiene el ingrediente activo (Lavet, 2003).

**c) Organofosforados.** Este grupo toxicológico incluye al coumafós, que actúa inhibiendo la acetilcolinesterasa a nivel de la sinapsis neuronal, lo cual ocasiona que no se destruya el neurotransmisor acetil colina, causando una transmisión continua de impulso nervioso (Figura 5) (Lagunes y Rodríguez, 1992). El producto en presentación comercial para abejas es liberado mediante tiras plásticas impregnadas del ingrediente activo, las cuales se introducen dentro de la colmena y actúan y por contacto. El nombre comercial es Check-Mite®.

Este producto no está autorizado en México en su presentación comercial para abejas; sin embargo, los apicultores utilizan el coumafós, que se utiliza para el ganado bovino, impregnado en insertos de madera.



**Figura 5.** Esquema de las neuronas mostrando la sinapsis por donde el impulso nervioso es transmitido (Tomado de Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1999).

### **Tratamientos alternativos para el control de varroa**

Se han utilizado como tratamientos alternativos, la aplicación de ácidos orgánicos como el fórmico, el oxálico y el láctico. El ácido fórmico ha sido el más utilizado ya que sus vapores penetran el opérculo de los panales con cría, y afectan la respiración de las varroas que se encuentran dentro de estos, ocasionando una acidificación en su metabolismo y por consecuencia la muerte por alteración del pH de su hemolinfa. Cabe mencionar que el tratamiento con ácido fórmico es el único que puede matar a las varroas en la fase reproductiva (Eguaras y Ruffinengo, 2006).

Los aceites esenciales también juegan un papel muy importante para el control de este ácaro. El timol ha sido uno de los componentes de aceites esenciales más estudiado y utilizado por los apicultores. Se encuentra presente en plantas como el tomillo, romero, albahaca, menta y salvia entre otras. Actúa como un biocida y se aplica en cristales o disuelto en alcohol, utilizando soportes como la vermiculita para su aplicación. Se libera por evaporación y solo tiene efecto sobre la fase fonética de la varroa.

Todos estos compuestos tienen la ventaja de ser económicos para la formulación de tratamientos contra varroa, además de tener una baja probabilidad de contaminar la miel (Eguaras y Ruffinengo, 2006).

## **Resistencia**

El término resistencia se define como la habilidad que ha desarrollado una población de individuos, de tolerar dosis de tóxicos que serían letales para una población normal de la misma especie (Lagunes-Tejeda y Vázquez-Navarro, 1994). La utilización de cualquier sustancia que ocasiona la muerte a una parte de una población tiene como consecuencia la aparición individuos resistentes, resultado de la presión de selección que se da en las poblaciones (Lagunes y Rodríguez, 1992).

Varroa, al igual que otros ácaros, ha demostrado una alta capacidad para hacer frente a los plaguicidas. Sus poblaciones son numerosas y el intervalo entre generaciones es corto, lo cual eleva la posibilidad de que existan individuos más resistentes que el resto de la población y favorece su multiplicación. El mal uso de un plaguicida, predispone al fenómeno de resistencia, ya sea a través de una subdosificación o de una sobredosificación; lo mismo ocurre cuando se utiliza un plaguicida durante un tiempo más prolongado que el recomendado (De la Sota y Bacci, 2004).

Se han localizado mutaciones en los genes del canal de sodio, lugar donde se regula la transmisión del impulso nervioso, sitio activo de los plaguicidas piretroides. Pruebas bioquímicas aplicadas a las poblaciones que han resultado resistentes a plaguicidas indican un aumento en la actividad de las enzimas monoxigenasa y esterasa, las cuales degradan por oxidación la molécula de los piretroides o hidrolizan la unión éster (Wang *et al.*, 2002; Mozes-Koch *et al.*, 2000).

La aparición de resistencia tal vez se haya retardado por la utilización de tratamientos alternativos. Los componentes de aceites esenciales como el timol, o productos como los ácidos oxálico y fórmico se han utilizado en Europa Central alternándose con plaguicidas, con buenos resultados, por lo que dichos métodos se han popularizado, además de que son más económicos y no contaminan la miel (Imdorf *et al.*, 2003). Este tipo de estrategia, para un control adecuado de varroa ha sido utilizada por los apicultores en Cuba a instancias de su gobierno, donde utilizan un solo tratamiento

químico (flumetrina) al año, mientras que los demás tratamientos son a base de los productos alternativos antes mencionados (Verde y Chan, 2005). Estos métodos también son utilizados por apicultores de la región de Veracruz, quienes argumentan que son más económicos y algunas veces más efectivos dependiendo de la época de aplicación<sup>4</sup>.

La resistencia al fluvalinato ha sido registrada en otros países, como Italia, Inglaterra, Francia, Bélgica y EUA (Milani, 1995; Colin *et al.*, 1994; Elzen, *et al.*, 1999b; Thompson, *et al.*, 2002); la resistencia a la flumetrina ha sido citada en México (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005). La resistencia al amitraz se ha determinado en México y en EUA (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005; Elzen, 1999a). La resistencia al coumafós se ha identificado en EUA y Argentina (Pettis, 2004; Maggi *et al.*, 2009).

Pérez-Santiago (1995) realizó una investigación en México para determinar la efectividad de cuatro acaricidas (amitraz, flumetrina, fluvalinato y coumafós); en ella determinó la DL<sub>50</sub> y la CL<sub>50</sub> mediante dos técnicas de aplicación, la tópica y por aspersión; La DL<sub>50</sub> se define como la dosis que toma contacto directo con el individuo y la CL<sub>50</sub> como la concentración que rodea al individuo, ocasionando en los dos casos la muerte del 50 % de la población blanco. Los resultados que obtuvo aparecen en el Cuadro 2. Estos resultados indican los niveles máximos de susceptibilidad de varroa hacia los plaguicidas anotados, ya que los bioensayos fueron realizados en individuos que no habían tenido contacto previo con dichos plaguicidas; por ello, son una referencia útil para la detección temprana de resistencia, la cual se puede determinar en bioensayos posteriores llevados a cabo con la misma técnica, y comparando la CL<sub>50</sub> o la DL<sub>50</sub> estimadas por ellos.

---

<sup>4</sup>Asociación Ganadera Local Especialista en Apicultura La Choleña, Soledad de Doblado, Ver. 2009.

**Cuadro 2.** CL<sub>50</sub> y DL<sub>50</sub> de amitraz, flumetrina, fluvalinato y coumafós obtenidas mediante aplicación tópica y aspersión con la torre de Burgerjon para *Varroa destructor* en México, 2000.

<b>Plaguicida</b>	<b>CL<sub>50</sub></b> (mg L <sup>-1</sup> )	<b>DL<sub>50</sub></b> (pg ácaro <sup>-1</sup> )	<b>Pendiente</b>
<b>amitraz</b>	0.23	1.70	0.8813
<b>flumetrina</b>	875.08	0.46	0.4401
<b>fluvalinato</b>	0.19	15.50	0.8103
<b>coumafós</b>	4.19	330.52	1.1621

Fuente: Pérez-Santiago, 1995.

### **Insecticidas selectivos para abejas y resistencia**

Todo plaguicida que esté disponible en el mercado debe tener una autorización para su comercialización. En este proceso, diferentes datos son requeridos para asegurar que los plaguicidas no presentan ningún efecto negativo sobre polinizadores, en especial abejas. Estos datos deben generarse a partir de pruebas estándar basadas en las normas establecidas por la Organización Europea y Mediterránea de Protección a las Plantas (EPPO) N° 170, adoptada por la EPPO (2001). Estas pruebas presentan métodos para estudiar la toxicidad y seguridad de plaguicidas en abejas en condiciones de laboratorio, condiciones de semi-campo (cajas o mangas) y campo. La evaluación de la toxicidad corresponde a la dosis simple administrada por ingestión o contacto, que mate a la mitad de los individuos expuestos en un periodo de 24 y 48 h (DL<sub>50</sub> o CL<sub>50</sub>, respectivamente).

El riesgo de toxicidad a plaguicidas es comúnmente expresado mediante el coeficiente de seguridad de Hazard (HQ = tasa de aplicación/DL<sub>50</sub>) (EPPO, 2001). La mayoría de los plaguicidas aplicados a las plantas tienen una acción rápida y residual que

varía desde unas pocas horas hasta días. Los plaguicidas sistémicos penetran dentro de las plantas, incluyendo a las que son melíferas y poliníferas, para protegerlas de insectos fitófagos y otras plagas (Elbert *et al.*, 1991). El parámetro de importancia a considerar para examinar la exposición de las abejas a los diferentes principios activos es la contaminación del néctar y del polen de las plantas. Por otro lado, los insecticidas asperjados sobre plantas pueden ser tóxicos para las abejas que están en contacto directo con ellas (Koch y Weisser, 1997) o cuando vuelan y entran en contacto con partículas de polvo contaminado con dichas sustancias (Prier *et al.*, 2001). Lo que es aún más grave, es que las abejas pueden afectar negativamente a la colonia llevando néctar o polen contaminado a la misma (Bos y Mason, 1983; Villa *et al.*, 2000). Así mismo, cuando las abejas consumen pequeñas cantidades de plaguicidas podrían exhibir efectos tóxicos subletales. Tales impactos podrían afectar a las abejas por interrupción de sus capacidades de orientación y comportamiento.

Con respecto a los plaguicidas utilizados para controlar los parásitos que afectan a las abejas, aplican los mismos principios a la hora de evaluar los efectos negativos de nuevas moléculas antiparasitarias. Debido a los permanentes reportes de resistencia a las diferentes drogas existentes en la apicultura (Milani, 1995; Elzen y Westervelt, 2002), se ha promovido el desarrollo de moléculas alternativas no contaminantes (Eguaras y Ruffinengo, 2006; Imdorf *et al.*, 1995). En el caso de estas sustancias, se siguen los mismos procedimientos para evaluar la toxicidad de las nuevas moléculas antiparasitarias, sólo que ahora es posible medir directamente los efectos negativos de los principios activos sobre las abejas, paralelamente a la cuantificación de los efectos letales sobre los parásitos.

## **Métodos para determinar resistencia**

Pérez-Santiago (1995) estimó la efectividad de cinco acaricidas (fluvalinato, flumetrina amitraz, cimiazol y coumafós) en Córdoba, Veracruz, México, mediante dos técnicas de bioensayo; con la primera se obtuvo la  $DL_{50}$  y consistió en una aplicación tópica mediante una microjeringa; con la segunda obtuvo la  $CL_{50}$  por el método de aspersión mediante la torre de Burgerjon. Esta investigación determinó que la torre de Burgerjon resultó ser igual de efectiva que el método tópico.

Las  $CL_{50}$  de flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós mostradas en el Cuadro 2, fueron las primeras citadas en México con la técnica de aspersión utilizando la torre de Burgerjon; dichos parámetros sirvieron de base para determinar la resistencia a flumetrina y amitraz en Veracruz, México, (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005). Estos valores representan la  $CL_{50}$  en un momento determinado de tiempo y en las mismas condiciones de manejo. El desarrollo de la resistencia a plaguicidas se puede determinar si se comparan los valores de  $DL_{50}$  o  $CL_{50}$  entre dos poblaciones de la misma plaga o en tiempos distintos para la misma población, para lo cual se debe usar la misma técnica de aplicación.

Rodríguez-Dehaibes *et al.*, (2005) detectaron un aumento en la  $CL_{50}$  de la flumetrina en Veracruz, México (Cuadro 3), lo que interpretaron como desarrollo de resistencia a dicho plaguicida. En contraste, los resultados encontrados para el amitraz sugirieron que todavía era efectivo, debido a que no había mostrado un aumento mayor en la  $CL_{50}$ .

**Cuadro 3.** CL<sub>50</sub> e índice de resistencia de *Varroa destructor* hacia la flumetrina y el amitraz en Veracruz, México, 2005.

Plaguicida	CL <sub>50</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	Intervalo de confianza (mg L <sup>-1</sup> )	Ecuación de regresión	Índice de resistencia
flumetrina	0.286	0.255 - 0.321	y= 6.322+2.434x	326.82
amitraz	0.526	0.474 - 0.585	y= 6.016+3.642x	2.3

Fuente: Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

La aplicación continua de plaguicidas para el control de la varroasis en México puede tener como consecuencia el desarrollo de resistencia de varroa hacia los plaguicidas usados. El fluvalinato y la flumetrina pertenecen al mismo grupo toxicológico (piretroides) y se ha demostrado que presentan el fenómeno de resistencia cruzada (Milani, 1995). Por ello, de desarrollarse resistencia por parte de varroa a cualquiera de estos plaguicidas, es probable que se adquiriera resistencia al otro, que de comprobarse llevaría a desaconsejar el uso de ambos. El hecho anterior lleva al riesgo de no contar en todo el país mas que con dos plaguicidas, el amitraz y el coumafós, para el control de dicha plaga de las abejas. Este hecho es un importante riesgo para la apicultura, ya que de seguir utilizándolos sin una recomendación adecuada y en forma artesanal, la aparición de la resistencia a estos plaguicidas sería prematura. Esta situación dejaría a los apicultores de todo el país sin recursos técnicos de reconocida efectividad para el control de varroa.

Debido al continuo intercambio de poblaciones que existe en las abejas presentes en las rutas de trashumancia que hay entre las regiones Golfo y Centro-Altiplano, así como al relativo aislamiento que tienen las abejas de la Península de Yucatán, resultado de su manejo, se formuló la hipótesis de que podrían encontrarse niveles de susceptibilidad similares de varroa a los plaguicidas que se han utilizado para su control en las regiones apícolas que se encuentran en dichas rutas de trashumancia. En contraste, se esperarían otros niveles de susceptibilidad para la región Península de Yucatán, en donde la apicultura es fija y no hay intercambio de poblaciones con otras áreas.

La pregunta de investigación se refiere a cuál es el status actual a nivel nacional por regiones apícolas y rutas de trashumancia, de los niveles de resistencia de varroa a

los plaguicidas autorizados (fluvalinato, flumetrina y amitraz) para el control de varroa en México, así como de otros con potencial para ser usados en nuestro país (i.a. coumafós).

## **HIPÓTESIS**

El uso constante de plaguicidas para el control de varroa en México, por no contar con un programa nacional y regional de rotación de plaguicidas, ha traído como consecuencia el desarrollo de resistencia.

Se postula que se ha desarrollado resistencia al fluvalinato y a la flumetrina en las regiones apícolas con casos de historia de uso de estos plaguicidas. Por el contrario, los niveles de susceptibilidad de varroa hacia el amitraz y el coumafós no han variado, ya que estos plaguicidas tienen un corto tiempo de uso en el país.

A su vez, las regiones que se encuentran en rutas de trashumancia, los índices de resistencia de varroa hacia los plaguicidas estudiados son similares; por el contrario se espera encontrar índices de resistencia más elevados en las regiones donde no hay trashumancia.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la susceptibilidad de *Varroa destructor* al amitraz, fluvalinato, flumetrina y coumafós en las regiones: Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2) y Península de Yucatán.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

Determinar el índice de resistencia de *Varroa destructor* hacia amitraz, fluvalinato, flumetrina y coumafós en las regiones: Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2) y Península de Yucatán.

Desarrollar un esquema de rotación de tratamientos (plaguicidas, tratamientos alternativos y de control etológico) para *Varroa destructor* de acuerdo a los resultados encontrados en las regiones Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2) y Península de Yucatán.

Relacionar los índices de resistencia con los casos de historia de uso de los plaguicidas, según las regiones y manejo apícola.

## MÉTODOS

### **Encuestas de caso de historia de uso de plaguicidas en tres regiones apícolas y dos rutas de trashumancia**

Los casos de historia de uso de plaguicidas fueron obtenidos mediante la aplicación de una encuesta a 24 apicultores (Anexo A) de las siguientes regiones y localidades: región Golfo (ruta de trashumancia 1) (Soledad de Doblado, Veracruz); región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) (Puebla, Tlaxcala, Estado de México y Morelos); región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2) (Cd. Valles y San Luis Potosí) y región Península de Yucatán (Sabancuy, Campeche).

La encuesta fue diseñada para determinar los siguientes reactivos:

- 1) Nombre, dirección y teléfono del apicultor.
- 2) Número total de colmenas.
- 3) Número de apiarios.
- 4) Localidades principales donde mantiene sus apiarios.
- 5) Estados y localidades donde moviliza sus colmenas y en qué fecha (estado, localidades, fechas y floración).
- 6) En qué periodos aplica los tratamientos para el control de enfermedades.
- 7) Qué tratamientos aplica para controlar la loque americana y loque europea.
- 8) Qué tratamientos aplica para controlar la varroasis (Bayvarol, Apistán, Colmesan, Tactik, Bayticol, Asuntol, otros).
- 9) Tratamientos de tipo natural (timol, ácido fórmico, ácido oxálico, otros).

Esta información fue analizada gráficamente, la cual sirvió para relacionar con los resultados de susceptibilidad obtenidos mediante bioensayo en las mismas regiones.

### **Método para determinación de resistencia a plaguicidas en varroa**

En los trabajos de Pérez-Santiago *et al.* (2000) y Rodríguez-Dehaibes *et al.* (2005), ambos grupos utilizaron la torre de pulverización de Burgerjon. Esta torre está formada por una cámara cilíndrica de acrílico unida en un ángulo obtuso para evitar la caída de gotas grandes sobre la superficie a tratar. Consta de una boquilla neumática de aspersión de cono sólido (Cat. ¼J-SS+SU1A-SS, Spraying Systems, Wheaton, Illinois USA), que forma gotas de aproximadamente 15  $\mu\text{m}$  de diámetro. La torre se conecta a un compresor de aire que posee un regulador de precisión para que la presión del aire sea constante ( $10 \text{ lb in}^{-2}$  ó  $0.703 \text{ kg cm}^{-2}$ ), las aspersiones o pulverizaciones sean precisas y la cantidad del producto depositado sobre una superficie sea aproximadamente la misma. La boquilla tiene una entrada de líquido que al momento de fluir el aire a presión es absorbido automáticamente y pulverizado, con un mecanismo similar al de una pistola de aire para pintar (Burgerjon, 1956).

La torre de Burgerjon utilizada se modificó parcialmente (Figura 6) para tener un mejor manejo dentro de la cámara de extracción de humos al realizar los bioensayos.



**Figura 6.** Torre de Burgerjon conectada al compresor dentro la campana de extracción de humos.

### **Calibración de la torre de Burgerjon**

Para realizar la calibración de la torre se tomó como referencia la concentración inicial que se usó en el estudio de la efectividad de los acaricidas de Pérez-Santiago *et al.* (2000), valores de referencia con los que se comparó el estudio para la determinación de la resistencia.

En el interior de la torre se colocó un plato de acrílico con una superficie conocida de  $154 \text{ cm}^2$  y se procedió a preparar la aspersion utilizando una presión de  $10 \text{ lb in}^{-2}$  y un volumen de líquido inicial de  $6 \text{ mL}$  de agua destilada. Se procedió a hacer las pulverizaciones con este método, variando el volumen del líquido y el tiempo de sedimentación de las gotas una vez terminada la pulverización, a fin de lograr un promedio  $1.7 \text{ mg cm}^{-2}$  con una desviación estándar de  $0.14$ ; el tiempo de sedimentación fue de  $1.0 \text{ min}$ . Cada vez que terminó la pulverización, se procedió inmediatamente a pesar el plato; de la diferencia entre el peso inicial y el peso final del plato, dividida entre

la superficie del plato, se obtuvo la cantidad depositada por área, expresada en  $\text{mg cm}^{-2}$ . Esta operación se repitió cinco veces antes de cada bioensayo a fin de que el valor de la pulverización fuera preciso. Una vez lograda la calibración se procedió a aplicar los plaguicidas en estudio. Para mantener la misma cantidad de depósito por unidad de área se modificó el volumen del líquido a pulverizar, el cual osciló entre 15 y 25 mL, dependiendo de la temperatura ambiental y la presión atmosférica.

Para simplificar la operación de calibración y obtener datos más confiables, se procedió a realizar una adaptación de una balanza de plato dentro de la torre de Burgerjon (Figuras 7 y 8) a fin de determinar el peso exacto del líquido a pulverizar, calculando el peso a partir de la superficie de la caja Petri que se utilizó para las varroas y hasta alcanzar la concentración de  $1.7 \text{ mg cm}^{-2}$ . El peso exacto fue de 110 mg para la caja de Petri de 9 cm de diámetro.



**Figura 7.** Torre de Burgerjon modificada con la balanza de plato en su interior.



**Figura 8.** Detalle de la modificación de la torre de Burgerjon, mostrando la balanza y la caja Petri lista para la aspersion.

### **Origen de las varroas**

Las varroas para este estudio procedieron de las principales regiones apícolas del país: Centro-Altiplano y Golfo (ruta de trashumancia 1), Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2) y Península de Yucatán. El muestreo se enfocó en la obtención de un promedio de 1,500 varroas por región, procedieron de apiarios de producción e investigación, de los estados de México, Veracruz, San Luis Potosí y Campeche. Estos estados son muy importantes en la producción de miel nacional y tienen diferente forma de manejo de sus apiarios, principalmente la apicultura trashumante en la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), y la apicultura fija, característica de la Península de

Yucatán. La ubicación geográfica de los sitios de colecta de las varroas utilizadas aparece en las Figuras 9 y 10.



**Figura 9.** Mapa con las ubicaciones de los apiarios muestreados en las dos regiones apícolas y en la principal ruta de trashumancia.

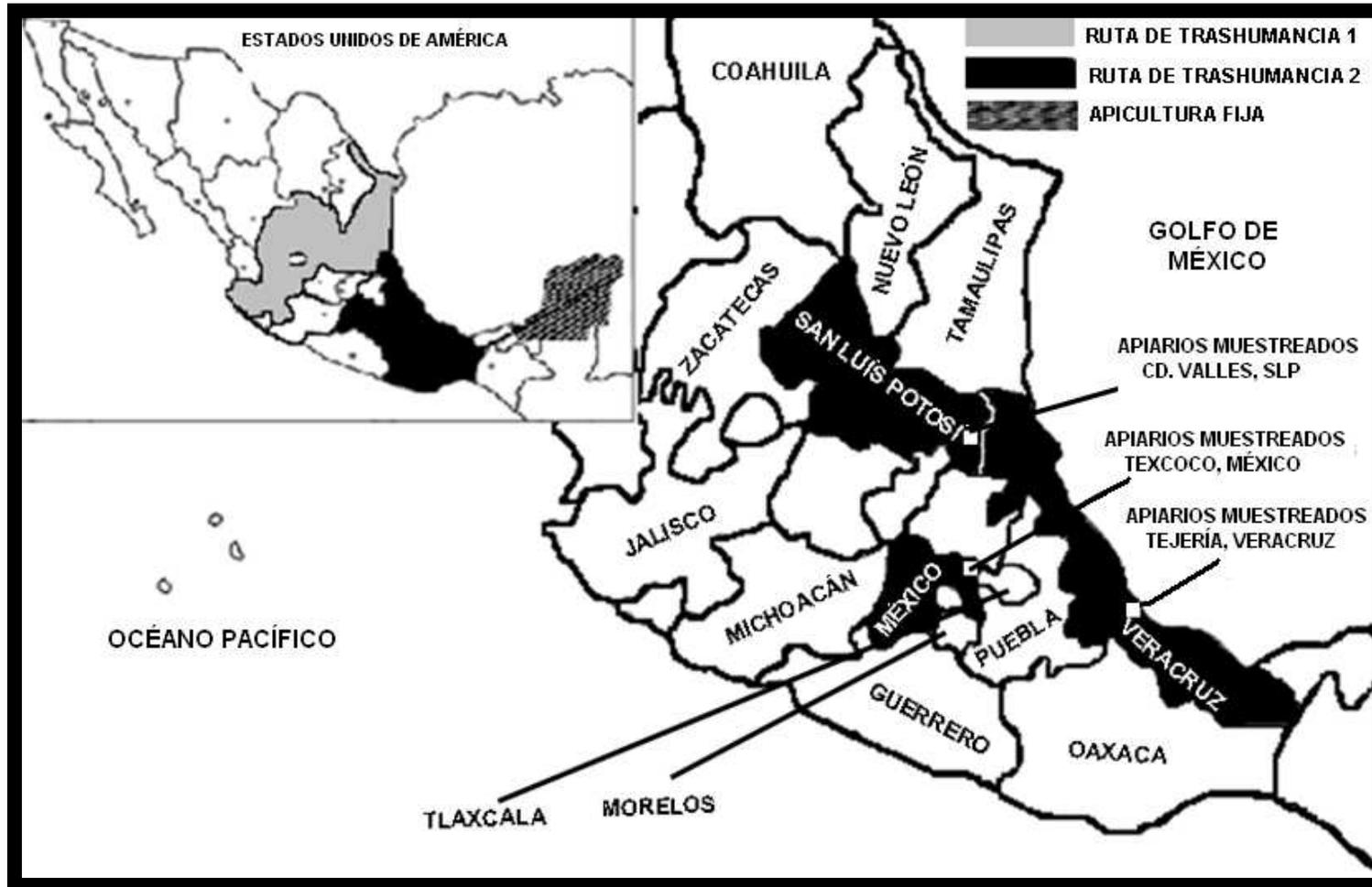


Figura 10. Mapa con las ubicaciones de los apiarios muestreados en dos regiones y en las dos principales rutas de trashumancia.

Los bioensayos fueron realizados en la Estación Apícola Experimental de la Posta Zootécnica Torreón del Molino de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana, ubicada en el Km 14.5 de la carretera federal Veracruz-México.

### **Obtención de las varroas**

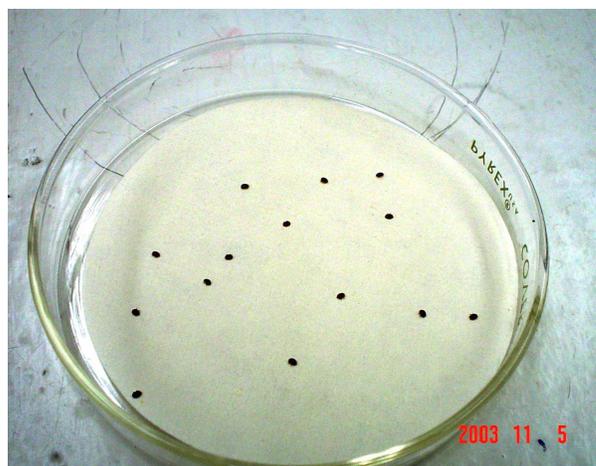
Los bioensayos se realizaron con hembras adultas de varroa. Para la obtención de las hembras, en las colmenas en estudio se introdujeron bastidores con cera estampada con celdas de tamaño tal que se desarrollaran zánganos; éstos fueron sacados una vez operculados, lo que permite obtener una gran cantidad de varroas dada la afinidad que el ácaro tiene por la cría de zángano (Dietz y Hermann, 1988). Las varroas fueron obtenidas por examen minucioso de celdas operculadas, las que se abrieron para tal fin. Estas varroas fueron colocadas en cajas Petri desechables, con tapa con un orificio de ventilación (Figura 11), en donde se colocaron pupas de abejas como alimento y algodón con agua para mantener una humedad relativa del 60%. Posteriormente, se incubaron a una temperatura de 32 °C y se utilizaron 24 h después en los bioensayos.

### **Bioensayos**

Para la realización de los bioensayos se utilizaron las varroas incubadas por un período máximo de 24 h. Se colocaron grupos de 14 ó 15 varroas en cajas Petri de cristal en las que se había colocado previamente un disco de papel filtro (Figura 12), para absorber el excedente de la aspersion. Una vez asperjadas en la torre de Burgerjon, las varroas fueron colocadas en las cajas Petri desechables modificadas y sometidas a las mismas condiciones de incubación.

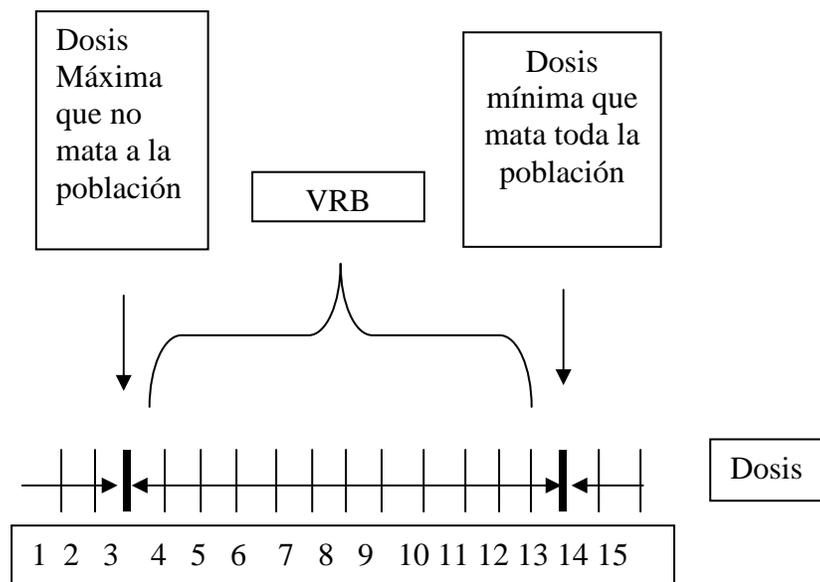


**Figura 11.** Caja Petri desechable con tapa perforada y con orificio cubierto con malla, para tener ventilación.



**Figura 12.** Caja Petri de vidrio con papel filtro que aloja al grupo de varroas listas para el proceso de aspersión.

Los primeros bioensayos tuvieron el objetivo de determinar la ventana de respuesta biológica (VRB) de cada uno de los plaguicidas a utilizar; esto es, el intervalo entre la concentración más alta que causa una mortalidad no diferente del testigo, y la concentración más baja que causa 100% de mortalidad (Figura 13).



**Figura 13.** Ventana de respuesta biológica (VRB).

En estos bioensayos preliminares no se realizaron repeticiones y se tomaron como referencias las  $CL_{50}$  estimadas por Pérez-Santiago *et al.* (2000). Las diluciones se prepararon inmediatamente antes de cada bioensayo, utilizando agua bidestilada como diluyente para el amitraz (Taktic®, líquido 12.5%; Hoechst, Frankfurt, Alemania), la flumetrina (Bayticol®, emulsión concentrada 3%, Bayer, Leverkusen, Alemania), el fluvalinato (Mavrik Perimeter 22.3%) y el coumafós (Asuntol® líquido 20%; Bayer, Leverkusen, Alemania). Las diluciones se manejaron en  $mg L^{-1}$  para el amitraz, fluvalinato y coumafós, y en  $ng L^{-1}$  para la flumetrina. Se manejó un grupo testigo en cada bioensayo, donde se toleró una mortalidad máxima de 15%. Este grupo de varroas recibió la aspersion del diluyente (agua bidestilada).

Una vez que se determinó la VRB se procedió a realizar los bioensayos correspondientes para la determinación de la  $CL_{50}$ . Se realizaron cinco bioensayos por

cada plaguicida con cuatro repeticiones, a diferentes concentraciones de cada plaguicida, las cuales fueron calculadas a partir de la ventana de respuesta biológica. El mismo procedimiento se utilizó para la realización de estos bioensayos, manejando grupos de 14 varroas y un grupo testigo. Se realizaron lecturas de mortalidad a las 24 y 48 h. Estas lecturas consistieron en observar las varroas al estereoscopio y aplicar estímulos con un pincel, considerando muertas las que no respondieron a este procedimiento, pero sin retirar las varroas aparentemente muertas de las cajas Petri. A las 48 h se procedió a realizar la misma operación a fin de verificar la mortalidad (Pérez-Santiago *et al.*, 2000).

### **Análisis estadístico**

La mortalidad obtenida en cada dosis de cada plaguicida por repetición fue corregida contra la mortalidad del testigo mediante la fórmula de Abbott (1925). Posteriormente fueron sometidas al análisis Probit, utilizando el programa PC Probit, el cual calculó la  $CL_{50}$  actual y sus intervalos de confianza a partir de las cinco mortalidades encontradas en los bioensayos. Con base en las nuevas  $CL_{50}$  para cada uno de los plaguicidas, se calculó el índice de resistencia actual como el cociente de la  $CL_{50}$  estimada en cuestión, entre la línea base estimada por Pérez-Santiago (1995) y Pérez-Santiago *et al.* (2000). Se determinó la diferencia significativa entre  $CL_{50}$ 's cuando sus intervalos de confianza no se traslapaban (Robertson y Preisler, 1992).

Los índices de resistencia se relacionaron con los casos de historia del uso de plaguicidas en cada región muestreada, con lo cual se integró un esquema de rotación de plaguicidas, tratamientos alternativos y control etológico en las regiones estudiadas.

## **RESULTADOS**

### **Historia de casos de uso de plaguicidas en las regiones en estudio**

#### **Regiones Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1)**

La importancia de estas regiones reside en que se encuentran en la principal ruta de trashumancia de México, que comprende los estados de Veracruz, Puebla, Tlaxcala, Oaxaca y Morelos (SAGARPA y ASERCA, 2010).

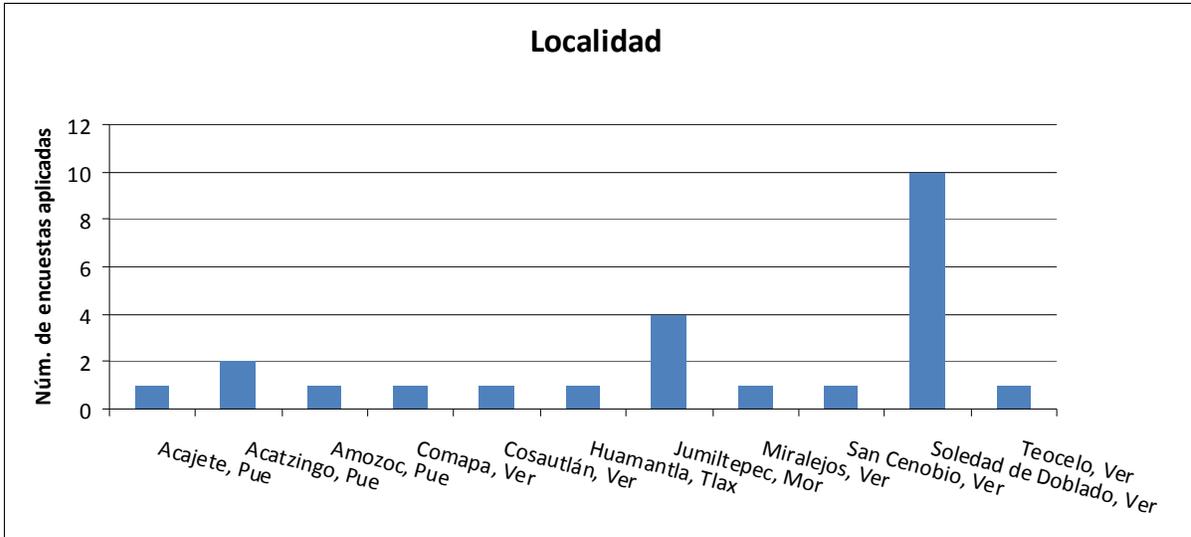
La movilización más importante se da entre los estados de Veracruz, Puebla y Tlaxcala. Por tal motivo los apicultores que se encuentran en estas regiones mantienen sus colmenas por temporadas en los estados mencionados durante las sucesivas épocas de floración. Las principales floraciones que existen en estas regiones y rutas de trashumancia comienzan en el mes de febrero con los cítricos; posteriormente, en los meses de marzo y mayo continúan con la multiflora de primavera y terminan con la floración de mangle, esto es para la región Golfo. Después de un descanso entre los meses de julio y agosto los apicultores movilizan sus colmenas a la región Centro-Altiplano para la floración del Altiplano, que abarca los meses de septiembre a noviembre<sup>5</sup>.

Con lo antes descrito se observa la dinámica de las colmenas de estas dos regiones, que prácticamente se comportan como si fueran una sola población de abejas en una región común. Al observar las características de esta forma de manejo tan intensivo, se identifican cortos periodos de tiempo en donde los apicultores deben preparar sus colmenas para llegar con poblaciones fuertes y sanas, que aseguren una buena cosecha de miel.

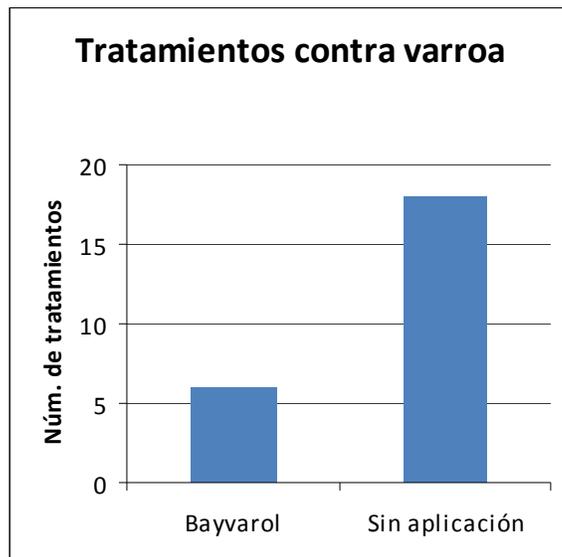
Los resultados que se encontraron en los casos de historia de uso de plaguicidas para estas regiones derivadas de las encuestas, se muestran en las Figuras 14, 15, 16 y 17.

---

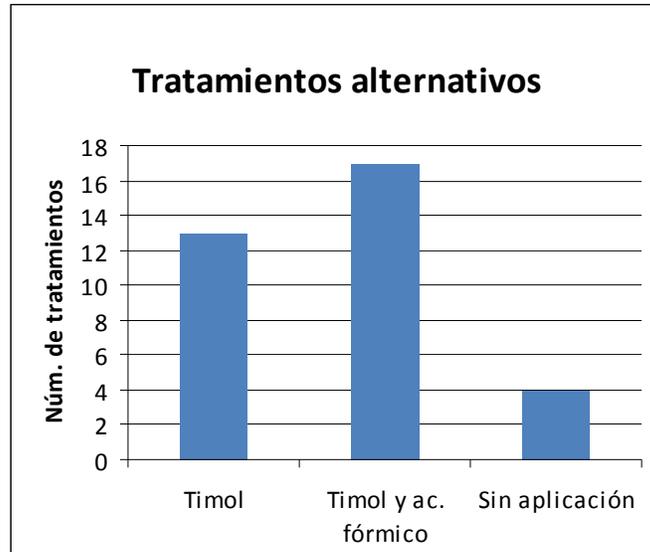
<sup>5</sup> Florina Chapol com. pers. 2010 Asociación Ganadera Local especialista en Apicultura La Choleña; Eliseo Texon com. pers. 2010 Vocal de la ONA.



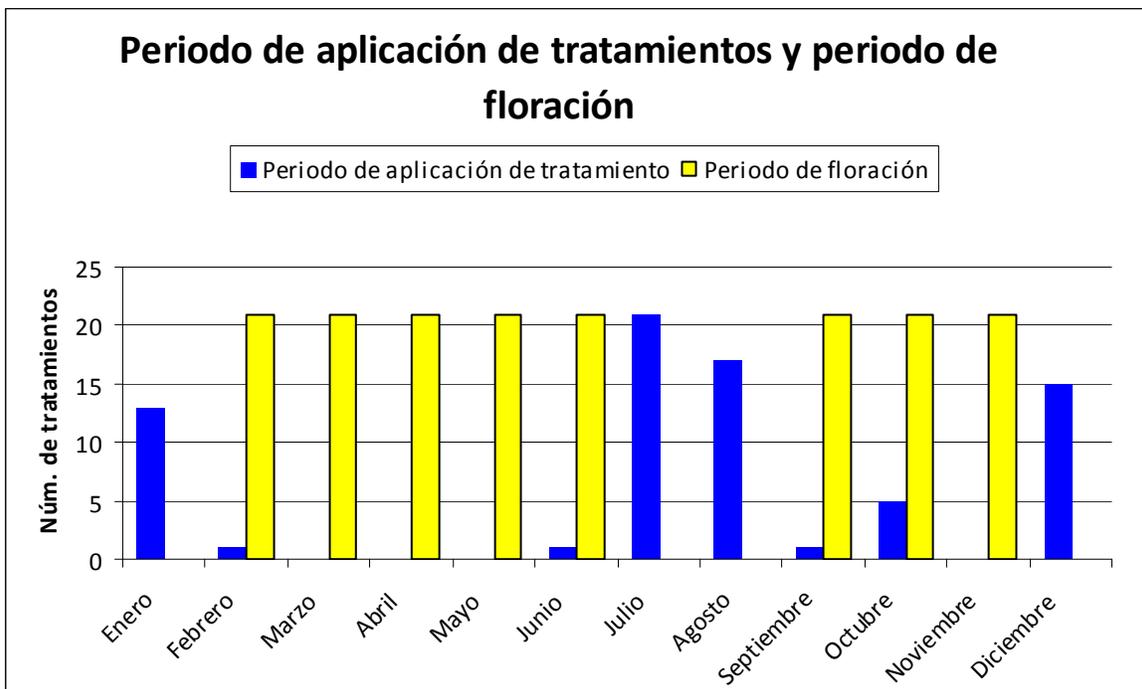
**Figura 14.** Número de encuestas aplicadas por localidad en las regiones Golfo y Centro-  
Altiplano (ruta de trashumancia 1).



**Figura 15.** Tratamientos con plaguicidas de síntesis utilizados por los apicultores en  
los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en las regiones Golfo y Centro-  
Altiplano (ruta de trashumancia 1).



**Figura 16.** Tratamientos alternativos utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en las regiones Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1).



**Figura 17.** Período de aplicación de los tratamientos contra varroa en las comunidades encuestadas de las regiones Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1).

En el Cuadro 4 se resume la información para conocer los tratamientos utilizados en las regiones Golfo y Centro-Altiplano, y su posible relación con los índices de resistencia de varroa en esta ruta de trashumancia.

**Cuadro 4.** Tratamientos utilizados contra *Varroa destructor* con base en las encuestas aplicadas a apicultores de las regiones Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1).

Tratamientos utilizados contra varroa	Grupo toxicológico	Porcentaje utilizado
Bayvarol®	piretroide	25
Timol, tratamiento alternativo	—	83
No aplican plaguicidas	—	75

Los resultados muestran que el uso de tratamientos alternativos es el más frecuente, seguido del uso de piretroides. Hay una clara tendencia a la no utilización de plaguicidas, lo que puede deberse al costo del producto y al corto periodo para la aplicación segura de tratamientos contra varroa para evitar la contaminación de la miel.

En estas regiones no se lleva el registro de los porcentajes de infestación de varroa antes ni después de los tratamientos, por lo que la eficacia de los mismos no ha podido ser evaluada en campo.

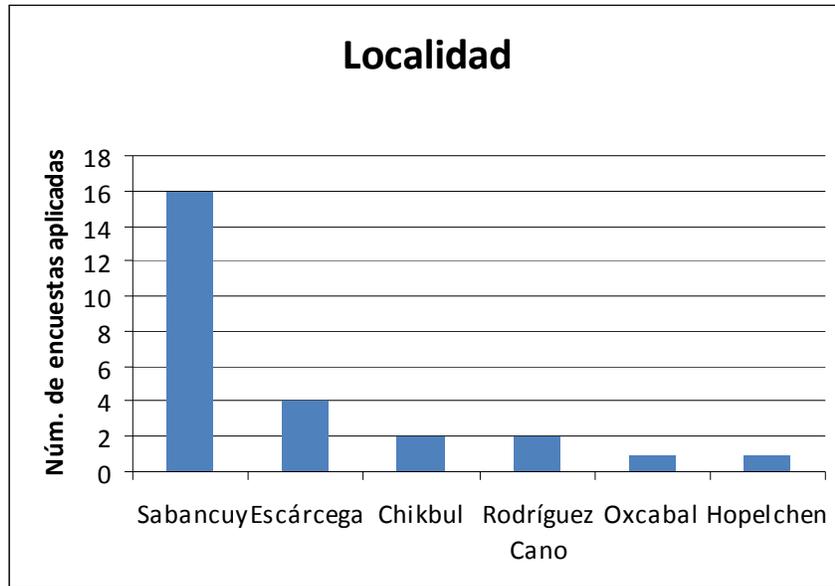
Se observa que los apicultores de las regiones Golfo y Centro-Altiplano tienen identificados los periodos en donde deben realizar los tratamientos para evitar contaminar la miel; además utilizan en mayor proporción los tratamientos alternativos en los periodos de descanso cortos entre floraciones.

## **Región Península de Yucatán**

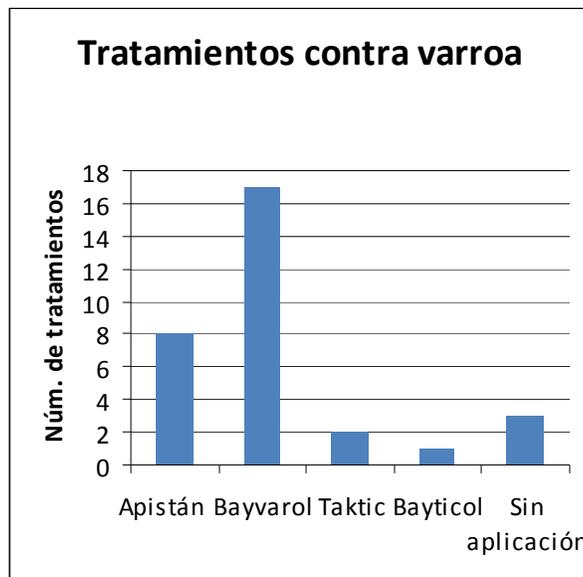
Con base en las observaciones realizadas, en la región Península de Yucatán la forma de manejo de la apicultura es fija, diferente de la que se maneja en el resto del país, basada principalmente en las dos rutas de trashumancia citadas.

El período de floración en esta región de estudio abarca del mes de enero al mes de junio, con un periodo de casi seis meses en donde no hay floraciones que los apicultores consideren importantes para la cosecha de miel (Flores, 1990). Durante el periodo de descanso aparente se realizan las labores de mantenimiento propias de la actividad para llegar al siguiente periodo de floración con grandes poblaciones de abejas que aseguren una buena cosecha de miel. Este periodo es el recomendado para la aplicación de los tratamientos contra las enfermedades que afectan a las abejas, para evitar una posible contaminación de la miel.

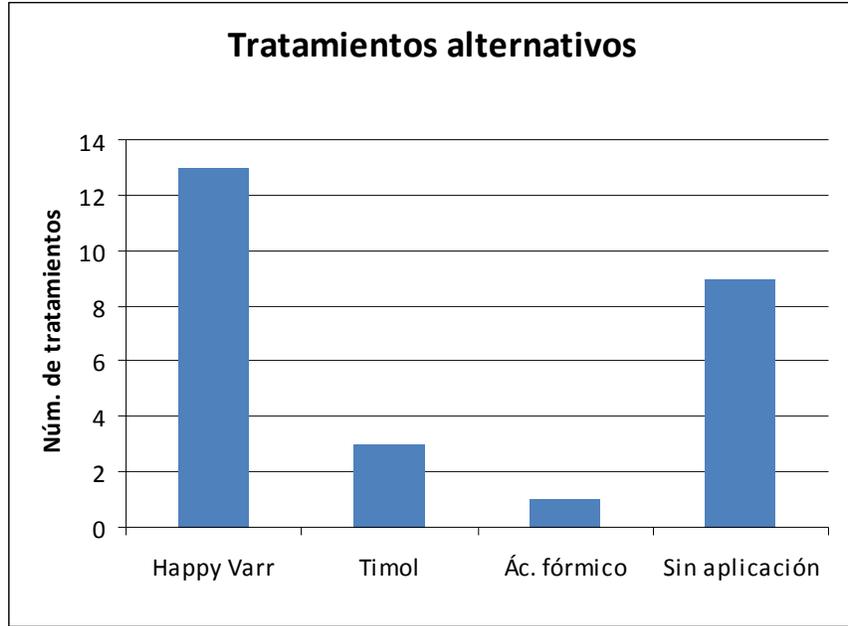
Los casos de historia de usos de plaguicidas en esta región arrojaron los resultados que se muestran en las Figuras 18, 19, 20 y 21.



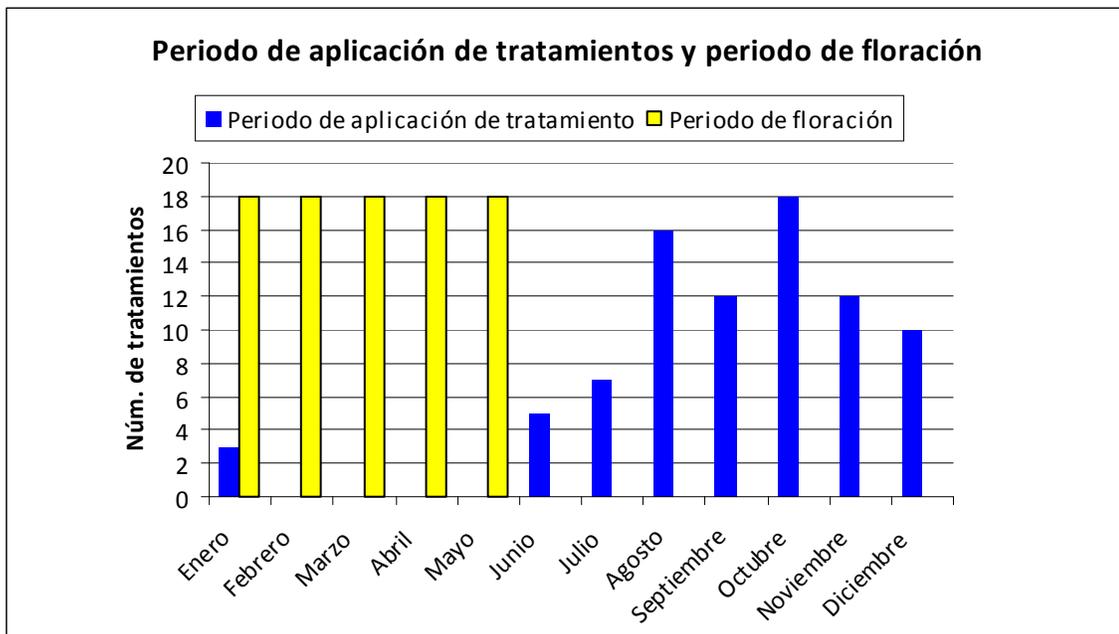
**Figura 18.** Localidades y número de encuestas realizadas en la región Península de Yucatán.



**Figura 19.** Tratamientos con plaguicidas de síntesis utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Península de Yucatán.



**Figura 20.** Tratamientos alternativos utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Península de Yucatán.



**Figura 21.** Período de aplicación de los tratamientos contra *Varroa destructor* en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Península de Yucatán.

En el Cuadro 5 se resume la información relevante que sirve de referencia para conocer los tratamientos utilizados y su posible impacto con los índices de resistencia de varroa en la región Península de Yucatán.

**Cuadro 5.** Tratamientos utilizados contra *Varroa destructor* con base en los apicultores encuestados en la región Península de Yucatán.

Tratamientos utilizados contra varroa	Grupo toxicológico	Porcentaje utilizado
Apistan®	piretroide	33
Bayvarol®	piretroide	71
Apistan® y Bayvarol®	piretroide	17
Bayticol®*	piretroide	4
Tactik® *	formamidina	8
Tratamientos alternativos	—	71

\*Presentación comercial no indicada para su uso en abejas.

Los resultados muestran que el uso de piretroides es el más común en combinación con los tratamientos alternativos. En esta región no se lleva el registro de los porcentajes de infestación de varroa antes o después de aplicar los tratamientos de control, por lo que la eficacia de los mismos no puede ser evaluada en campo. Sin embargo, los apicultores de esta región tienen bien identificados los periodos en los que deben realizar los tratamientos para evitar contaminar la miel.

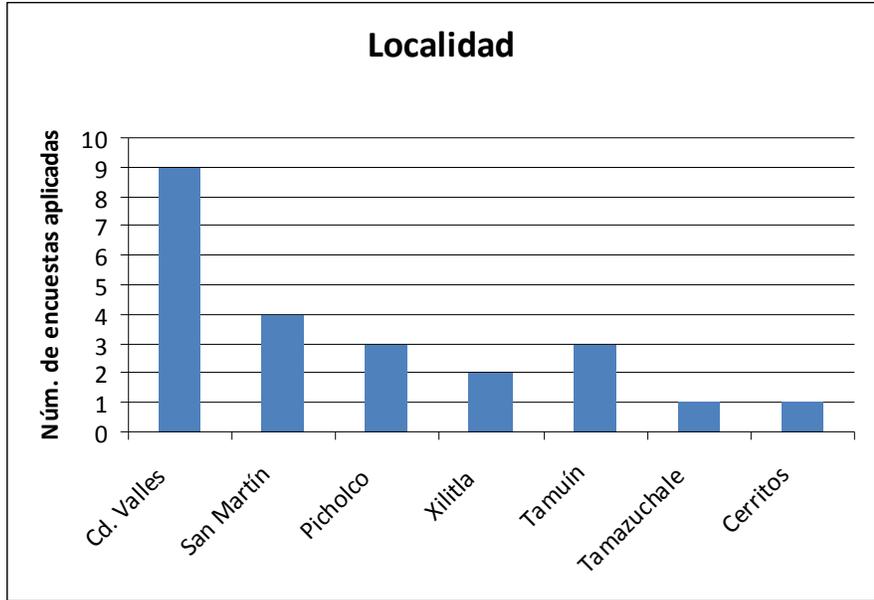
### **Región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2)**

Esta región se encuentra dentro de la segunda ruta de trashumancia en importancia del país (ruta de trashumancia 2). Se caracteriza por la movilización de las colmenas dentro de los estados de Tamaulipas, San Luis Potosí, Jalisco y Zacatecas. Esta forma de manejo permite que la apicultura sea una actividad más rentable, ya que los

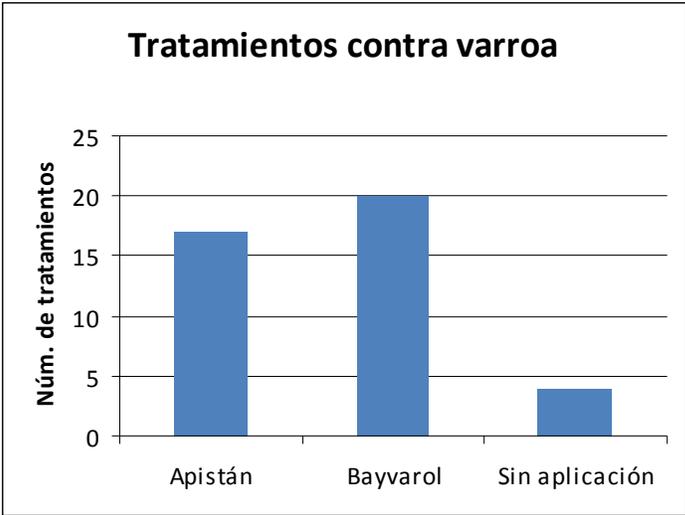
apicultores movilizan las colmenas siguiendo las floraciones dentro de un área mayor (SAGARPA y ASERCA, 2010).

Las épocas de floración en esta región y ruta de trashumancia abarcan los meses de marzo-abril y de septiembre-noviembre, con dos periodos cortos en donde deben preparar sus colmenas para llegar con colonias de abejas fuertes y sanas. Por tal motivo, es importante aplicar adecuadamente los tratamientos contra las enfermedades que afectan a las abejas, ya que bajo este esquema de manejo se corre el riesgo de que la miel pueda salir contaminada con algún plaguicida o antibiótico.

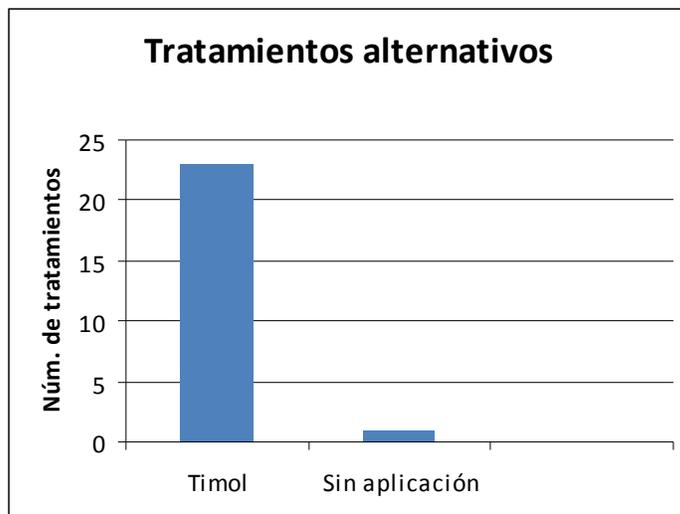
Los casos de estudio en esta región bajo la forma de manejo de apicultura trashumante, arrojaron los resultados que se muestran en las Figuras 22, 23, 24 y 25.



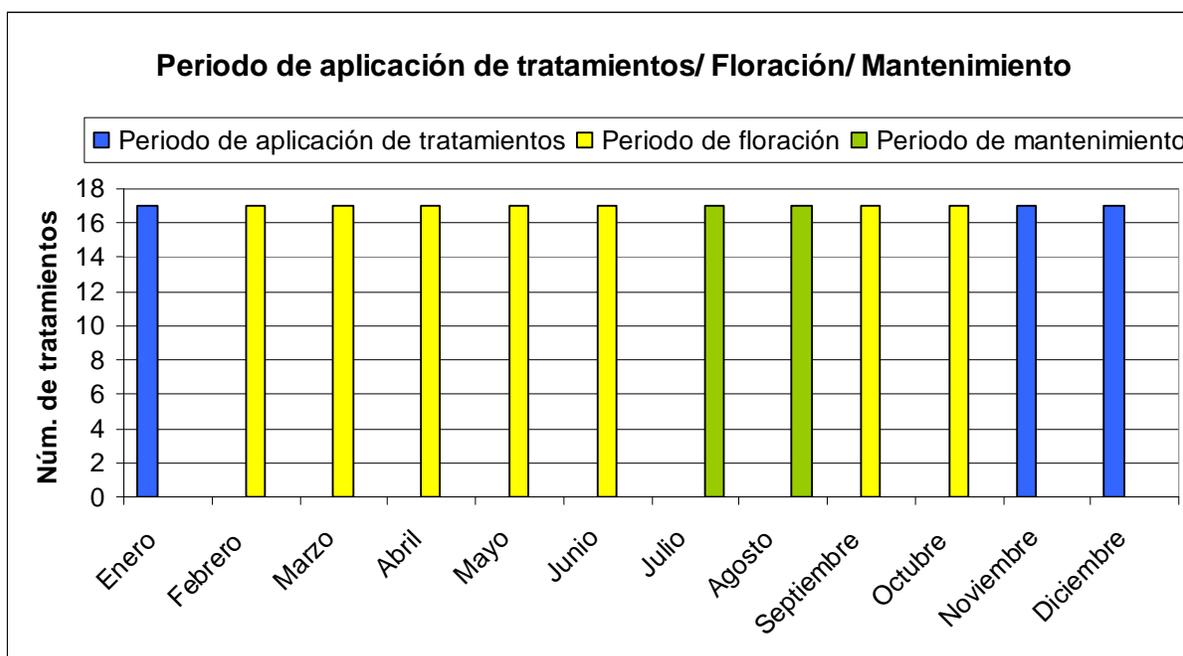
**Figura 22.** Localidades encuestadas en la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2).



**Figura 23.** Tratamientos con plaguicidas de síntesis utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Centro-Altiplano ruta de trashumancia 2.



**Figura 24.** Tratamientos alternativos utilizados por los apicultores en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2).



**Figura 25.** Período de aplicación de los tratamientos contra *Varroa destructor* en los casos de estudio de historia de uso de plaguicidas en la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2).

En el Cuadro 6 se resume la información que sirve de referencia para conocer los tratamientos utilizados en la región y su posible relación con los índices de resistencia de varroa en la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2).

**Cuadro 6.** Tratamientos utilizados contra *Varroa destructor* de la base de apicultores encuestados en la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2).

Tratamientos utilizados contra varroa	Grupo toxicológico	% utilizado
Bayvarol®	piretroides	83
Apistan® y Bayvarol®	piretroide	71
Timol, tratamiento alternativo	-	96
No aplican plaguicidas	-	17
No aplican tratamientos	-	4

Los resultados muestran que el uso de piretroides es la única opción como tratamiento de síntesis; sin embargo, se observa una marcada tendencia al uso de tratamientos alternativos, en especial con timol. En esta región tampoco se lleva el registro de los porcentajes de infestación de varroa antes ni después de los tratamientos, por lo que tampoco se puede evaluar su eficacia en campo.

Aquí, los apicultores también tienen identificados los periodos en los que deben realizar los tratamientos para evitar contaminar la miel.

### **Bioensayos**

Para determinar la CL<sub>50</sub> de varroa hacia flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en las regiones en estudio, primero se procedió a calcular la ventana de respuesta biológica (VRB). Se aplicaron las concentraciones presentadas en los Cuadros 7, 8, 9 y 10 para determinar las VRB para los plaguicidas estudiados en las regiones Golfo y Centro-

Altiplano (ruta de trashumancia 1), Península de Yucatán y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2).

**Cuadro 7.** Bioensayos para determinar la ventana de respuesta biológica de *Varroa destructor* para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Tejería, Veracruz, región Golfo (ruta de trashumancia 1).

<b>Región Golfo</b>	<b>Tamaño de muestra</b>	<b>Muertos</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
<b>flumetrina</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.0010	14	0	0.0
0.0100	14	1	7.0
0.1000	14	4	28.5
1.0000	14	6	42.8
10.000	14	14	100.0
<b>fluvalinato</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.010	14	0	0.0
0.050	14	1	7.0
0.500	14	3	21.4
4.000	14	2	14.3
50.00	14	14	100.0
<b>amitraz</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.05	14	0	0.0
0.10	14	1	7.1
0.50	14	3	21.4
5.00	14	11	78.5
10.00	14	14	100.0
<b>coumafós</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.100	14	0	0.0
1.000	14	3	21.4
10.00	14	9	64.2
60.00	14	14	100.0
100.0	14	14	100.0

**Cuadro 8.** Bioensayos para determinar la ventana de respuesta biológica de *Varroa destructor* para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Texcoco, México, región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1).

<b>Región</b> <b>Centro-Altiplano-1</b>	<b>Tamaño de muestra</b>	<b>Muertos</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
<b>flumetrina</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.01	14	0	0.0
0.40	14	4	28.6
1.00	14	10	71.4
10.00	14	14	100.0
<b>fluvalinato</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.01	14	0	0.0
10.00	14	4	28.6
100.00	14	12	85.7
400.00	14	14	100.0
<b>amitraz</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.05	14	0	0.0
0.50	14	3	21.4
10.00	14	13	92.8
50.00	14	14	100.0
<b>coumafós</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.10	14	0	0.0
4.00	14	5	35.7
10.00	14	8	57.1
80.00	14	14	100.0

**Cuadro 9.** Bioensayos para determinar la ventana de respuesta biológica de *Varroa destructor* para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Sabancuy, Campeche, región Península de Yucatán.

<b>Región Península de Yucatán</b>	<b>Tamaño de muestra</b>	<b>Muertos</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
<b>flumetrina</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.10	14	0	0.0
5.00	14	10	71.4
10.0	14	13	92.8
50.0	14	14	100.0
<b>fluvalinato</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.10	14	0	0.0
4.00	14	5	35.7
50.00	14	8	57.1
200.00	14	12	85.7
500.00	14	14	100.0
<b>amitraz</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.03	14	0	0.0
0.10	14	0	0.0
0.30	14	1	7.1
30.00	14	13	92.8
50.00	14	14	100.0
<b>coumafós</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.10	14	0	0.0
10.00	14	3	21.4
50.00	14	9	64.2
100.00	14	14	100.0

**Cuadro 10.** Bioensayos para determinar la ventana de respuesta biológica de *Varroa destructor* para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Cd. Valles, San Luis Potosí, región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2).

<b>Región</b> <b>Centro-Altiplano-2</b>	<b>Tamaño de muestra</b>	<b>Muertos</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
<b>flumetrina</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.001	14	0	0.0
0.50	14	4	28.6
1.00	14	10	71.4
50.00	14	14	100.0
<b>fluvalinato</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.01	14	0	0.0
0.50	14	7	50.0
5.00	14	9	64.3
70.00	14	14	100.0
<b>amitraz</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.001	14	0	0.0
1.00	14	7	50.0
10.00	14	10	71.4
50.00	14	14	100.0
<b>coumafós</b>			
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )			
0.01	14	0	0.0
4.00	14	3	21.4
20.00	14	7	50.0
50.00	14	14	100.0

De acuerdo a la respuesta concentración-mortalidad encontrada en la VRB de cada una de las regiones en estudio, se procedió a calcular las cinco concentraciones para realizar los bioensayos (Cuadros 11, 12, 13 y 14) y determinar la  $CL_{50}$  de varroa hacia flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós. Se utilizaron dosis con separaciones logarítmicas y se obtuvo la mortalidad corregida (M. C.) con respecto al testigo.

**Cuadro 11.** Bioensayos para determinar la  $CL_{50}$  de *Varroa destructor* para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Tejería, Veracruz, región Golfo (ruta de trashumancia 1).

<b>Región Golfo</b>	<b>Tamaño de muestra</b>	<b>M.C.</b>
<b>flumetrina</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.050	100	6
0.100	100	32
0.400	100	35
1.000	100	67
4.000	100	79
<b>fluvalinato</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.20	100	2
0.50	100	6
2.00	100	38
7.00	100	48
10.00	100	84
<b>amitraz</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.10	100	10
0.30	100	18
1.00	100	20
2.00	100	36
5.00	100	71
<b>coumafós</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.40	100	3
1.00	100	11
4.00	100	14
10.00	100	75
40.00	100	96

**Cuadro 12.** Bioensayos para determinar la  $CL_{50}$  de *Varroa destructor* para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Texcoco, México, región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1).

<b>Región Centro-Altiplano-1</b>	<b>Tamaño de muestra</b>	<b>M.C.</b>
<b>flumetrina</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.04	100	17
0.10	100	36
0.40	100	58
1.00	100	83
4.00	100	96
<b>fluvalinato</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.20	100	6
2.00	100	47
10.00	100	67
50.00	100	83
100.00	100	98
<b>amitraz</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.10	100	6
0.30	100	11
1.00	100	23
3.00	100	54
10.00	100	95
<b>coumafós</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.40	100	17
1.00	100	21
4.00	100	27
10.00	100	63
40.00	100	93

**Cuadro 13.** Bioensayos para determinar la  $CL_{50}$  de *Varroa destructor* para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Sabancuy, Campeche, región Península de Yucatán.

Región Península de Yucatán	Tamaño de muestra	M.C.
<b>flumetrina</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.30	100	7
1.00	100	13
3.00	100	27
5.00	100	70
10.00	100	84
<b>fluvalinato</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.50	100	11
10.00	100	33
50.00	100	50
300.00	100	61
400.00	100	92
<b>amitraz</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.30	100	3
1.00	100	10
3.00	100	23
5.00	100	42
30.00	100	92
<b>coumafós</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.40	100	4
4.00	100	6
10.00	100	30
40.00	100	79
70.00	100	89

**Cuadro 14.** Bioensayos para determinar la CL<sub>50</sub> de *Varroa destructor* para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en Cd. Valles, San Luis Potosí, región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2).

<b>Región Centro-Altiplano-2</b>	<b>Tamaño de muestra</b>	<b>M.C.</b>
<b>flumetrina</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.05	100	16
0.50	100	58
1.00	100	68
5.00	100	89
10.00	100	95
<b>fluvalinato</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.10	100	44
0.50	100	55
1.00	100	67
5.00	100	72
50.00	100	94
<b>amitraz</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.01	100	33
0.10	100	39
0.20	100	44
10.00	100	83
20.00	100	94
<b>coumafós</b>		
Concentración (mg L <sup>-1</sup> )		
0.04	100	15
1.00	100	25
4.00	100	35
20.00	100	40
40.00	100	90

### **Análisis Probit**

Los resultados del análisis Probit determinaron la  $CL_{50}$  de varroa para flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós (Cuadro 15 y 16) en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), Península de Yucatán y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2). Detalles de la forma como se estimó la  $CL_{50}$  mediante el análisis Probit utilizando el programa PC Probit, aparecen en los anexos B a P.

## **Susceptibilidad a plaguicidas en varroa de dos regiones apícolas, bajo dos formas de manejo (ruta de trashumancia 1 y apicultura fija)**

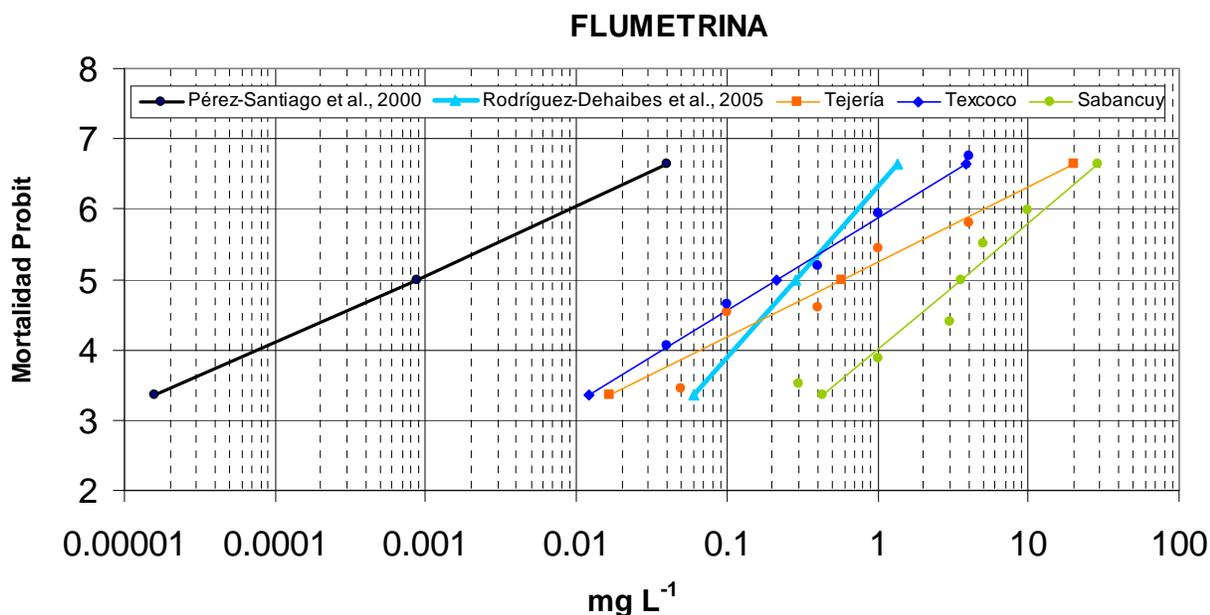
Para flumetrina es notable que las  $CL_{50}$  de las poblaciones de varroa de Tejería y Texcoco colectadas durante el presente estudio, así como las procedentes de Veracruz, colectadas por Rodríguez-Dehaibes *et al.* (2005), se encuentran desplazadas casi tres ciclos logarítmicos con respecto a Pérez-Santiago *et al.* (2000), considerada como línea base en este estudio (Figura 26), lo que indica un importante desarrollo de resistencia de varroa para la flumetrina. Se puede observar también que los índices de resistencia para estas dos regiones son muy elevados; sin embargo, hay una diferencia significativa para Tejería debido a que los intervalos de confianza al 95 % para la  $CL_{50}$  no se traslapan (Cuadro 15).

En la Península de Yucatán, representada por varroas colectadas en Sabancuy, Campeche, la  $CL_{50}$  de la flumetrina está desplazada cuatro ciclos logarítmicos con respecto a la línea base determinada por Pérez-Santiago *et al.* (2000), lo que ubica a la Península de Yucatán como la región con mayor desarrollo de resistencia a flumetrina (Figura 26); debe notarse que los intervalos de confianza al 95 % de su  $CL_{50}$  no se encuentran traslapados con los de las demás regiones en estudio (Cuadro 15).

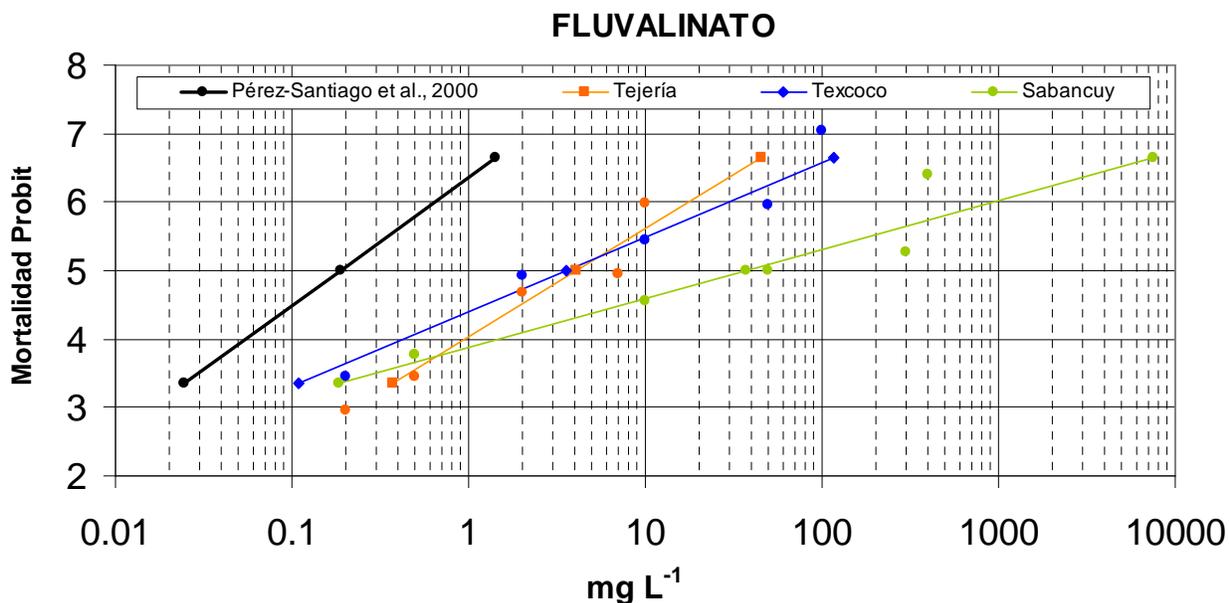
En el caso del fluvalinato, Tejería y Texcoco presentan similar  $CL_{50}$ , aunque la pendiente es mayor en las poblaciones de Tejería, lo que representa a una población más homogénea en su respuesta al plaguicida (Figura 27). Al compararlas con la línea base de Pérez-Santiago *et al.* (2000), se aprecian pendientes bastante similares entre las tres; no obstante, sus  $CL_{50}$  están desplazadas más de un ciclo logarítmico, lo que para el caso de piretroides significa que sus índices de resistencia muestran el inicio de la pérdida de susceptibilidad (Cuadro 15). Para Sabancuy se observa un alto índice de resistencia (Cuadro 15), con los intervalos de confianza al 95 % de su  $CL_{50}$  no traslapados, lo que refiere una diferencia significativa, y muestra que en esta región hay un desarrollo importante de resistencia a fluvalinato.

Para amitraz en Tejería y Texcoco, sus  $CL_{50}$  son muy similares entre sí (Cuadro 15), aunque la población de Tejería es ligeramente más heterogénea en su respuesta al tóxico. La  $CL_{50}$  para Sabancuy es más alta y sus intervalos de confianza al 95 % no se traslapan, lo que indica una diferencia significativa contra las demás regiones en estudio. La línea base reportada por Pérez-Santiago *et al.* (2000) presenta una pendiente más baja en comparación con la de Tejería, pero se separa de ambas poblaciones en su  $CL_{50}$  en un ciclo logarítmico, lo que sugiere el desarrollo de resistencia (Figura 28). Cabe aclarar que la línea encontrada por Rodríguez-Dehaibes *et al.* (2005) representa un eslabón intermedio en el desarrollo de la resistencia a amitraz en el tiempo; la mayor pendiente observada en el presente estudio representa una población más homogénea pero más resistente en cuanto a su respuesta al plaguicida.

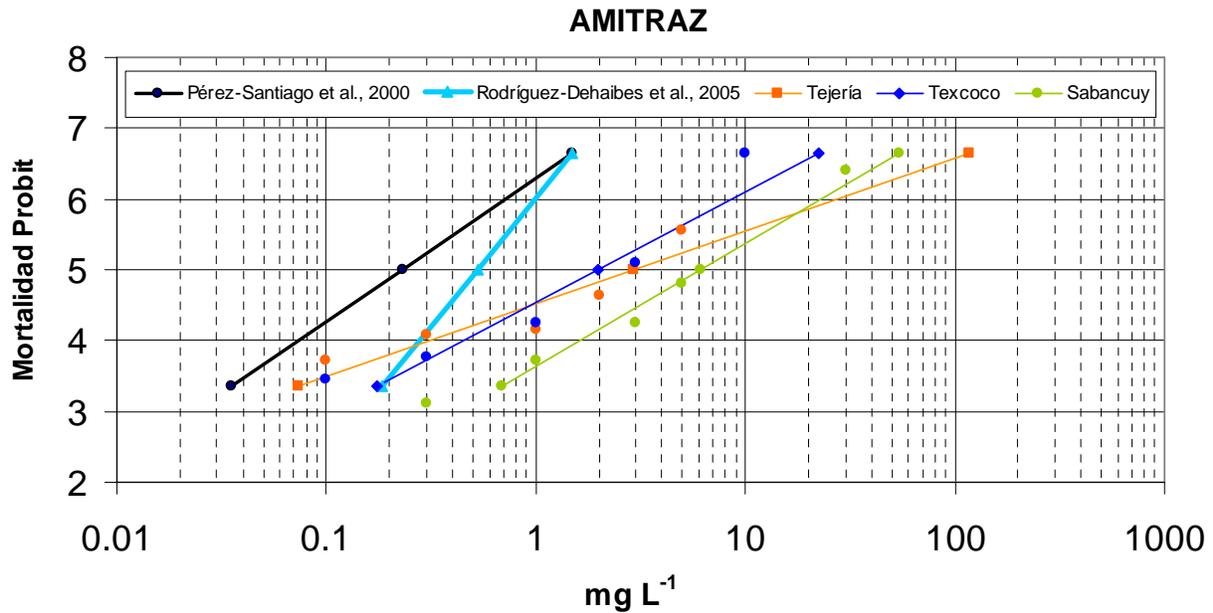
Para el caso del coumafós en Tejería y Texcoco, se puede identificar que las  $CL_{50}$  son similares a la línea base encontrada por Pérez-Santiago (1995) (Cuadro 15), lo que sugiere una susceptibilidad similar; sin embargo, sus pendientes son más bajas comparadas con la línea base; es decir, presenta una respuesta heterogénea de las poblaciones de varroa. Estos resultados sugieren el desarrollo incipiente de resistencia debido probablemente al frecuente uso de tratamientos artesanales a base de coumafós que el autor ha detectado en viajes anteriores, aunque lo anterior no pudo ser detectado en las encuestas realizadas en el presente estudio. Por su parte, la  $CL_{50}$  observada en Sabancuy está desplazada menos de un ciclo logarítmico (Figura 29), los intervalos de confianza al 95 % no se traslapan y su pendiente es similar a la de Tejería, lo que muestra nuevamente que en este sitio se ha avanzado más en el desarrollo de resistencia hacia el coumafós.



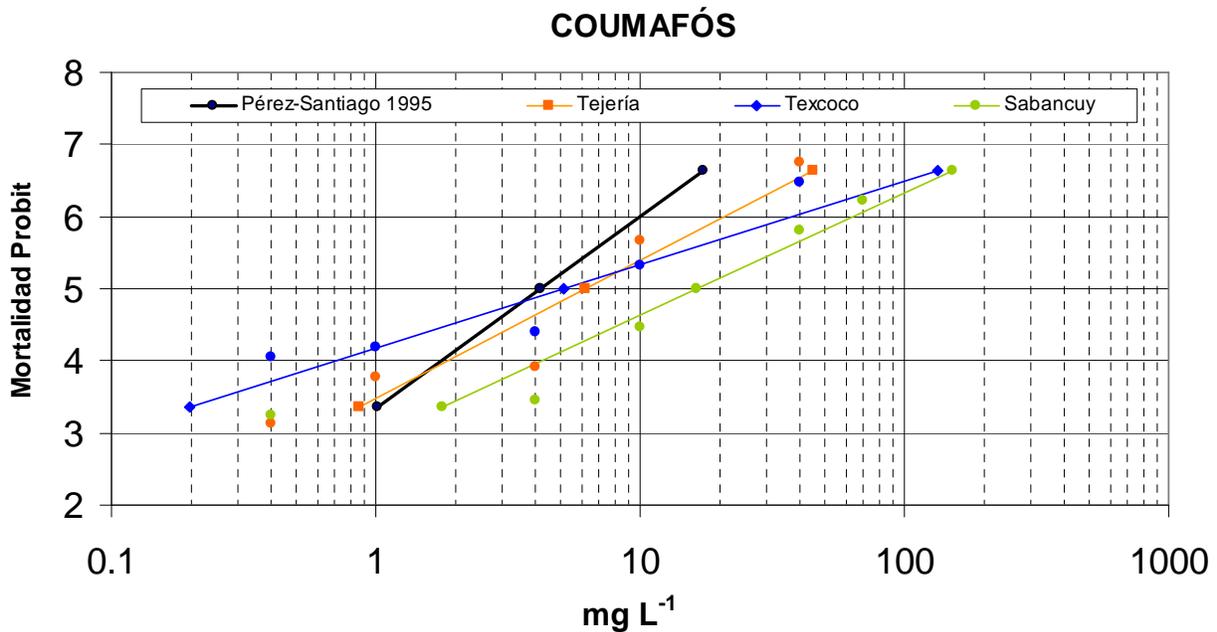
**Figura 26.** Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de *Varroa destructor* para flumetrina en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) y Península de Yucatán.



**Figura 27.** Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de *Varroa destructor* para fluvalinato en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) y Península de Yucatán.



**Figura 28.** Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de *Varroa destructor* para amitraz en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) y Península de Yucatán.



**Figura 29.** Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de *Varroa destructor* para coumafós en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) y Península de Yucatán.

**Cuadro 15.** Concentraciones letales medias e índices de resistencia de *Varroa destructor* a flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en las regiones apícolas Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), Golfo y Península de Yucatán.

Plaguicidas/regiones apícolas	CL <sub>50</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	Límites de confianza 95 % (CL <sub>50</sub> )	CL <sub>90</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	Límites de confianza 95 % (CL <sub>90</sub> )	Pendiente	Índice de resistencia CL <sub>50</sub>
<b>Flumetrina</b>						
<b>Golfo (Tejería 2006)</b>	0.577	0.4439 – 0.7648	9.190	5.443 – 18.963	1.0659	659.43 c
<b>Centro-Altiplano (Texcoco 2006)</b>	0.213	0.1689 – 0.2675	2.016	1.426 – 3.159	1.3153	243.43 b
<b>Península de Yucatán (Sabancuy 2007)</b>	3.550	3.0124 – 4.2098	18.194	13.522 – 27.154	1.8051	4,057.14 d
<b>Líneas base: Pérez-Santiago et al. 2000</b>	0.000875	0.0002 – 0.0065	0.016	0.003 – 28.000	0.4401	- a
<b>Fluvalinato</b>						
<b>Golfo (Tejería 2006)</b>	4.083	3.3593 – 5.0336	26.471	18.692 – 42.043	1.5788	21.83 b
<b>Centro-Altiplano (Texcoco 2006)</b>	3.560	2.6119 – 4.7461	53.9309	36.536 – 87.631	1.0857	19.04 b
<b>Península de Yucatán (Sabancuy 2007)</b>	37.320	24.947 – 55.294	2339.220	1151.6 – 6207.6	0.7131	199.57 c
<b>Líneas base: Pérez-Santiago et al. 2000</b>	0.187	0.1253 – 0.2893	0.910	0.520 – 2.608	0.8103	- a
<b>Amitraz</b>						
<b>Golfo (Tejería 2006)</b>	2.937	2.1527 – 4.4246	51.882	24.786 – 161.39	1.0276	12.77 b
<b>Centro-Altiplano (Texcoco 2006)</b>	1.969	1.6111 – 2.4331	13.035	9.304 – 20.175	1.5610	8.56 b
<b>Península de Yucatán (Sabancuy 2007)</b>	6.107	5.0600 – 7.5176	33.577	24.062 – 52.121	1.7313	26.55 c
<b>Líneas base: Pérez-Santiago et al. 2000</b>	0.23	0.1365 – 0.3668	0.971	0.558 – 2.741	0.8813	- a
<b>Coumafós</b>						
<b>Golfo (Tejería 2006)</b>	6.244	5.2373 – 7.4822	29.166	22.288 – 41.057	1.9144	1.49 a
<b>Centro-Altiplano (Texcoco 2006)</b>	5.115	4.0024 – 6.6175	64.725	41.162 – 118.787	1.1627	1.22 a
<b>Península de Yucatán (Sabancuy 2007)</b>	16.486	13.634 – 19.893	92.793	69.234 – 136.207	1.7078	3.93 b
<b>Líneas base: Pérez-Santiago 1995</b>	4.190	2.6305 – 6.6368	12.634	7.637 – 51.660	1.1621	- a

\* Índices de resistencia seguidos por diferente letra y en los que los límites de confianza de las CL<sub>50</sub> no se traslapan, se consideran significativamente diferentes.

## Discusión

Desde la primera detección de varroa en México en 1992, inicialmente sólo dos plaguicidas fueron utilizados y autorizados para su uso en colmenas en el control de dicho ácaro: el fluvalinato y la flumetrina, ambos plaguicidas pertenecientes al grupo toxicológico de los piretroides. Casi cinco años después fue autorizado el amitraz (SAGARPA, 2002). Sin embargo, los apicultores han preparado formulaciones caseras usando los plaguicidas anteriores, así como amitraz y coumafós, todos ellos obtenidos de plaguicidas para uso agrícola y pecuario. Por lo tanto, se ha ejercido presión de selección a esos plaguicidas de manera diferente de un sitio a otro.

De manera consistente se observó que la respuesta de varroa a los plaguicidas estudiados es muy similar en las regiones apícolas de Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), representadas por varroas colectadas en Tejería y Texcoco, respectivamente. Lo anterior es explicable porque ambas poblaciones se encuentran dentro de una misma ruta de trashumancia, donde las poblaciones de abejas (y sus parásitos) están en continuo intercambio. Las líneas base que presentan Pérez-Santiago *et al.* (2000) fueron obtenidas en 1995 en Córdoba, Veracruz, localidad comprendida en la región Golfo. Esto permite hacer las comparaciones de la evolución de la resistencia en tiempo y en la misma ruta de trashumancia.

El comportamiento de las poblaciones de varroa ante la flumetrina sugiere que el alto índice de resistencia encontrado a este plaguicida se pueda deber a su uso continuo y a las preparaciones artesanales que los apicultores elaboran a base de este plaguicida en su presentación comercial para ganado bovino, tal como ha sido observado directamente en este estudio (Cuadro 15).

El índice de resistencia encontrado para fluvalinato es menor que el observado para flumetrina. El fluvalinato fue el primer plaguicida utilizado en 1992 en su presentación comercial para abejas y los apicultores lo usaron también en formulaciones caseras. Sin embargo, desde 1998 no se comercializan en México plaguicidas de uso

agrícola o ganadero con fluvalinato como ingrediente activo, lo que probablemente retrasó el desarrollo de resistencia. Cabrera-Jiménez *et al.* (2008) consideraron como cepas susceptibles, tolerantes y resistentes al piretroide cipermetrina, aquellas garrapatas del ganado bovino que presentaron índices de resistencia con valores menores a 3, entre 3 y 5, y mayores a 5, respectivamente. En ese sentido, todas las poblaciones sometidas a los piretroides flumetrina y fluvalinato podrían considerarse resistentes al piretroide. Para las formamidinas, grupo toxicológico al que pertenece el amitraz, los índices de resistencia mayores a cinco representan un claro desarrollo del proceso de resistencia (Li *et al.*, 2002), a pesar de que este plaguicida se ha utilizado menos en comparación con los piretroides.

En contraste con los demás plaguicidas estudiados, los resultados encontrados en el presente estudio para coumafós en las regiones Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) no presentan diferencia significativa con los encontrados por Pérez-Santiago (1995). Los bajos índices de resistencia en las regiones apícolas en estudio son consistentes con el hecho de que este plaguicida ha sido poco usado, como pudo comprobarse en las encuestas realizadas, donde no pudo determinarse su uso. La presentación comercial para abejas no ha sido aprobada en México, y su uso en preparaciones artesanales en las regiones en estudio ha sido poco difundido.

Al comparar los índices de resistencia encontrados en la región Península de Yucatán, correspondiente a varroas colectadas en Sabancuy, Campeche, contra los encontrados en las regiones Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), se observan valores muy elevados para flumetrina y fluvalinato, lo que se atribuye a dos factores: el uso continuo de dichos plaguicidas en esa región y a que en aquella región no hay movilización de colmenas, por lo que resulta probable que los genotipos resistentes no se hayan diluido. Por tal motivo las poblaciones de varroa presentan un alto grado de genes de resistencia a flumetrina, fluvalinato y amitraz, plaguicidas que han sido usados con mayor intensidad. En contraste, para coumafós se observa un índice de resistencia

mayor en comparación con las otras regiones en estudio, indicando un desarrollo de resistencia moderado para este plaguicida.

La falta de un programa integral para el manejo de varroa se ha hecho evidente, debido a los altos índices de resistencia encontrados para flumetrina y amitraz, y en menor grado para fluvalinato. De seguirse usando dichos plaguicidas, éstos pueden llegar a ser inefectivos aun cuando se apliquen siguiendo la recomendación del fabricante, por lo que podría considerarse el uso de coumafós además de la aplicación de tratamientos alternativos, como opciones para el manejo de la resistencia siguiendo un programa de rotación de plaguicidas.

## **Susceptibilidad a plaguicidas en varroa de dos regiones apícolas bajo una misma forma de manejo y en dos rutas de trashumancia (rutas de trashumancia 1 y 2)**

Se presentan los resultados encontrados en la región Centro-Altiplano dentro de la ruta de trashumancia 1 con varroas colectadas en Tejería, Veracruz y Texcoco, México, y en la región Centro-Altiplano dentro de la ruta de trashumancia 2 con varroas colectadas en Cd. Valles, San Luis Potosí.

Para flumetrina se observa que las  $CL_{50}$  de las poblaciones de varroa de Tejería y Texcoco y las de Veracruz, colectadas por Rodríguez-Dehaibes *et al.* (2005), se encuentran desplazadas casi tres ciclos logarítmicos con respecto a Pérez-Santiago *et al.* (2000), que es la línea base en este estudio (Figura 30), lo que indica un importante desarrollo de resistencia de varroa para la flumetrina. Se observa también que los índices de resistencia para estas dos regiones son bastante elevados; sin embargo, existe una diferencia significativa para Tejería respecto a la línea base de Pérez-Santiago *et al.* (2000) y Texcoco, debido a que sus intervalos de confianza al 95 % para la  $CL_{50}$  no se traslapan (Cuadro 16).

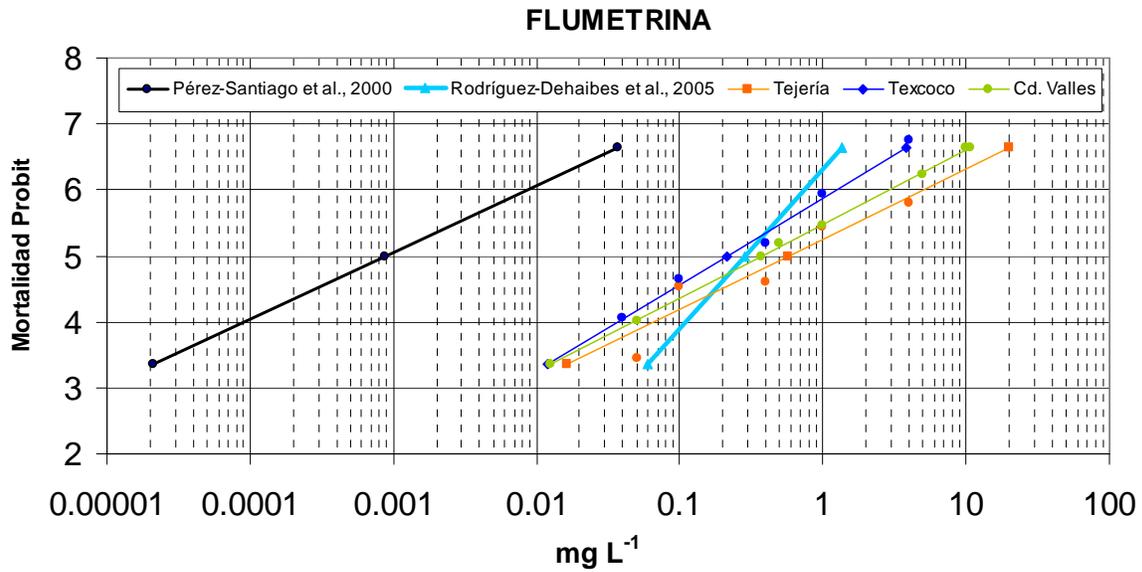
En San Luis Potosí, representada por varroas colectadas en Cd. Valles, la  $CL_{50}$  de flumetrina está desplazada más de dos ciclos logarítmicos con respecto a la línea base determinada por Pérez-Santiago *et al.* (2000), lo que indica que en San Luis Potosí hay resistencia a flumetrina (Figura 30); sin embargo los intervalos de confianza al 95 % de su  $CL_{50}$  se encuentran traslapados con la región Golfo (Cuadro 16).

En el caso del fluvalinato, Tejería y Texcoco, que se encuentran en la ruta de trashumancia 1, tienen una  $CL_{50}$  similar (Cuadro 16), pero observamos que la pendiente de su línea de respuesta logaritmo concentración-mortalidad es más alta en las poblaciones de Tejería, mostrando una población más homogénea en su respuesta al plaguicida (Figura 31). Cuando la comparamos con la línea base de Pérez-Santiago *et al.* (2000), se observa que las tres pendientes son similares entre sí, pero las  $CL_{50}$  están desplazadas más de un ciclo logarítmico (Figura 31), lo que muestra para el caso de

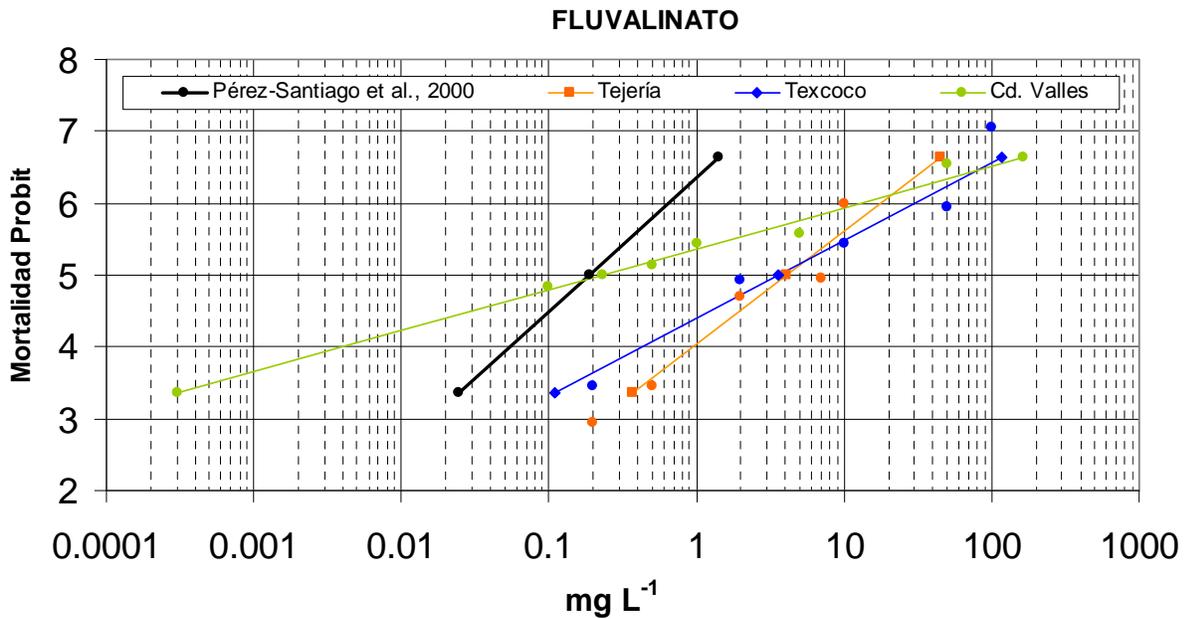
piretroides el inicio de la pérdida de susceptibilidad. Para Cd. Valles se observa una susceptibilidad significativa de varroa hacia el fluvalinato, su  $CL_{50}$  muestra gran similitud con la línea base de Pérez-Santiago *et al.* (2000) (Cuadro 16; Figura 31); se observa una pendiente baja con respecto a los otros casos de estudio. La línea de respuesta logaritmo dosis-mortalidad abarca casi cinco ciclos logarítmicos y se observan los intervalos de confianza al 95 % de su  $CL_{50}$  no traslapados con Tejería y Texcoco (Cuadro 16). Se muestra que en esta región es donde hay una susceptibilidad importante de varroa al fluvalinato, aunque existe una respuesta heterogénea en las poblaciones de varroa comparando las otras regiones de estudio, lo que se denota en el valor de su  $CL_{90}$  donde sus intervalos de confianza al 95% se encuentran traslapados con las regiones de Texcoco y Tejería pudiendo significar una posible pérdida de susceptibilidad de varroa para el fluvalinato en el tiempo.

Para amitraz, Tejería y Texcoco muestran  $CL_{50}$  muy similares (Cuadro 16; Figura 32), denotando una población ligeramente más heterogénea para Tejería en su respuesta al tóxico. La  $CL_{50}$  para Cd. Valles es menor que la línea base reportada por Pérez-Santiago *et al.* (2000) (Cuadro 16); presenta una pendiente baja y una respuesta heterogénea respecto a las demás regiones de estudio (Figura 32), mientras que las  $CL_{95}$  de Cd. Valles y Tejería son similares (Cuadro 16). En Cd. Valles existe una susceptibilidad significativa de varroa hacia el amitraz (Figura 32), sin embargo por la heterogeneidad mostrada en su pendiente baja, puede representar una pérdida de susceptibilidad de varroa para el amitraz en el tiempo.

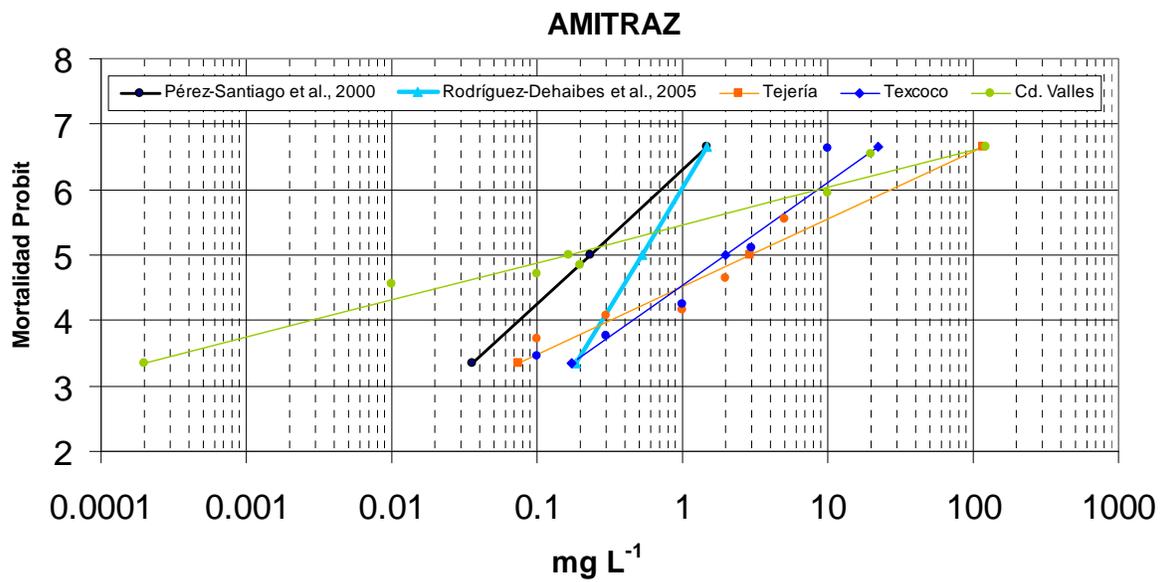
Para coumafós en Tejería y Texcoco se observa una similitud en sus  $CL_{50}$  a la línea base encontrada por Pérez-Santiago (1995) (Cuadro 16; Figura 33), lo que sugiere una susceptibilidad similar. Por su parte, la  $CL_{50}$  observada en Cd. Valles (Cuadro 16) es muy similar a las demás regiones en estudio, aunque presenta una pendiente baja, lo que muestra una respuesta heterogénea (Figura 33). Los intervalos de confianza al 95% de su  $CL_{50}$  (Cuadro 16) se traslapan con la línea base y con las demás regiones en estudio.



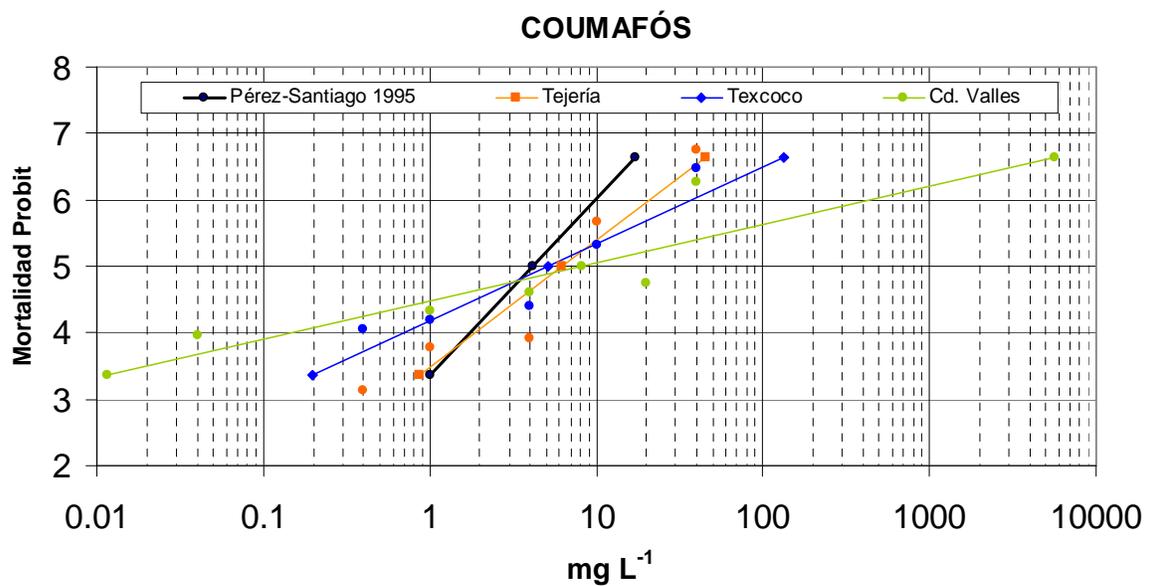
**Figura 30.** Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de *Varroa destructor* para flumetrina en las regiones Golfo, Centro-Altiplano en las dos rutas de trashumancia.



**Figura 31.** Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de *Varroa destructor* para fluvalinato en las regiones Golfo y Centro-Altiplano en dos rutas de trashumancia.



**Figura 32.** Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de *Varroa destructor* para amitraz en las regiones Golfo y Centro-Altiplano en dos rutas de trashumancia.



**Figura 33.** Líneas de respuesta logaritmo dosis-mortalidad de *Varroa destructor* para coumafós en las regiones Golfo y Centro-Altiplano en dos rutas de trashumancia.

**Cuadro 16.** Concentraciones letales medias e índices de resistencia de *Varroa destructor* a flumetrina, fluvalinato, amitraz y coumafós en las regiones apícolas Golfo y Centro-Altiplano, en dos rutas de trashumancia.

Plaguicidas/Regiones apícolas	CL <sub>50</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	Límites de confianza 95 % (CL <sub>50</sub> )	CL <sub>90</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	Límites de confianza 95 % (CL <sub>90</sub> )	Pendiente	Índice de resistencia CL <sub>50</sub>
<b>Flumetrina</b>						
<b>Golfo (Tejería 2006)</b>	0.577	0.44 – 0.76	9.190	5.443 – 18.964	1.0659	659.43 c
<b>Centro-Altiplano (Texcoco 2006)</b>	0.213	0.169 – 0.267	2.016	1.426 – 3.159	1.3153	243.43 b
<b>Centro-Altiplano (Cd. Valles 2009)</b>	0.367	0.268 – 0.484	5.084	3.519 – 8.141	1.1221	419.43 c
<b>Líneas base: Pérez-Santiago et al. 2000</b>	0.000875	0.0002 – 0.0065	0.016	0.0031 – 28.00	0.4401	- a
<b>Fluvalinato</b>						
<b>Golfo (Tejería 2006)</b>	4.083	3.359 – 5.033	26.471	18.693 – 42.044	1.5788	21.83 b
<b>Centro-Altiplano (Texcoco 2006)</b>	3.560	2.612 – 4.746	53.930	36.536 – 87.631	1.0857	19.04 b
<b>Centro-Altiplano (Cd. Valles 2009)</b>	0.234	0.112 – 0.400	38.613	16.785 – 142.599	0.5780	1.25 a
<b>Líneas base: Pérez-Santiago et al. 2000</b>	0.187	0.125 – 0.289	0.910	0.520 – 2.608	0.8103	- a
<b>Amitraz</b>						
<b>Golfo (Tejería 2006)</b>	2.937	2.152 – 4.424	51.882	24.787 – 161.392	1.0276	12.77 b
<b>Centro-Altiplano (Texcoco 2006)</b>	1.969	1.611 – 2.433	13.035	9.304 – 20.175	1.5610	8.56 b
<b>Centro-Altiplano (Cd. Valles 2009)</b>	0.164	0.095 – 0.268	28.416	12.545 – 87.050	0.5726	0.71 a
<b>Líneas base: Pérez-Santiago et al. 2000</b>	0.23	0.136 – 0.367	0.971	0.558 – 2.741	0.8813	- a
<b>Coumafós</b>						
<b>Golfo (Tejería 2006)</b>	6.244	5.237 – 7.482	29.166	22.288 – 41.057	1.9144	1.49 a
<b>Centro-Altiplano (Texcoco 2006)</b>	5.115	4.002 – 6.617	64.725	41.16 – 118.78	1.1627	1.22 a
<b>Centro-Altiplano (Cd. Valles 2009)</b>	8.096	5.051 – 13.874	1324.243	433.10 – 7204.15	0.5789	1.93 a
<b>Líneas base: Pérez-Santiago 1995</b>	4.190	2.630 – 6.637	12.634	7.637 – 51.660	1.1621	- a

\* Índices de resistencia seguidos por diferente letra y en los que los límites de confianza de las CL<sub>50</sub> no se traslapan, se consideran significativamente diferentes

## Discusión

Se observó que la respuesta de varroa a los plaguicidas estudiados es muy similar en las regiones apícolas Golfo y Centro Altiplano (ruta de trashumancia 1) por varroas colectadas en Tejería y Texcoco, respectivamente, lo que sugiere que hay intercambio de poblaciones de varroa que se encuentran en una misma ruta de trashumancia. Las líneas base de Pérez *et al.* (2000) fueron obtenidas en 1995 en Córdoba, Veracruz, lo cual nos permitió hacer una comparación en el comportamiento de las poblaciones de varroa en la línea de tiempo.

Para la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2), representada por varroas colectadas en Cd. Valles, San Luís Potosí, se encontró una respuesta muy similar de las poblaciones de varroa tanto para la flumetrina como para el coumafós. En el caso de la flumetrina, que es el plaguicida más utilizado (Cuadro 6), el índice de resistencia fue el más alto entre todas las regiones en estudio y separado más de dos ciclos logarítmicos de la línea base. La respuesta encontrada para el coumafós fue muy similar, pero en caso contrario a la flumetrina, los resultados encontrados sugieren una susceptibilidad significativa de las poblaciones de varroa para el coumafós. Esta respuesta encontrada en las poblaciones de estudio concuerda con el hecho de que éste es el plaguicida que ha sido menos utilizado, aún en tratamientos artesanales. Lo anterior sugiere que el uso del coumafós pudiera considerarse como una alternativa de tratamiento contra varroa en estas regiones de estudio.

Los resultados encontrados para fluvalinato y amitraz en Tejería y Texcoco muestran que sus  $CL_{50}$  son muy similares debido a que se encuentran en la misma ruta de trashumancia. Para las poblaciones de varroa de Cd. Valles observamos en el fluvalinato una respuesta heterogénea, donde la línea de respuesta logaritmo dosis-mortalidad abarca casi cinco ciclos logarítmicos y su  $CL_{50}$  es menor a la línea base, lo que sugiere que hay una susceptibilidad significativa de las poblaciones de varroa hacia este plaguicida. En el Cuadro 6 se observa que este plaguicida es el segundo en utilizarse

después de la flumetrina; sin embargo, los tratamientos alternativos a base de timol (Figura 24) son muy utilizados y posiblemente han influido para que las poblaciones de varroa mantengan la susceptibilidad a este plaguicida, aún mostrando una heterogeneidad en su respuesta.

La respuesta de las poblaciones de varroa para el amitraz en esta región muestra que la susceptibilidad es similar a la línea base, aunque la respuesta es más heterogénea abarcando su línea de respuesta logaritmo dosis-mortalidad más de cinco ciclos logarítmicos, con la  $CL_{95}$  similar a las poblaciones de Tejería.

El uso de amitraz en esta región constituye una alternativa viable de tratamiento contra varroa; de utilizar amitraz y coumafós, se recomienda monitorear la respuesta de las poblaciones de varroa hacia estos, con el fin de integrarlos al programa de rotación junto con otros tratamientos alternativos en el momento que se determine oportuno, para mantener la susceptibilidad de varroa hacia los plaguicidas en uso.

**Propuesta de un programa de rotación de plaguicidas y tratamientos alternativos contra *Varroa destructor* para un período de cinco años en las regiones Golfo, Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1), Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2) y Península de Yucatán**

El programa de rotación de plaguicidas, toma en cuenta los resultados encontrados en este estudio. Entre las medidas que deben aplicarse para un buen control de este ácaro, es importante realizar el monitoreo de poblaciones de varroa antes y después de cada tratamiento. Ello permite conocer los porcentajes de infestación de esta plaga, de tal forma que se pueda medir en campo la eficacia de los tratamientos, además de evaluar si se están aplicando correctamente. En el Cuadro 17 se muestran los tratamientos propuestos para el control de varroa para un periodo de cinco años.

En todas las regiones estudiadas se observó que no se realizan muestreos de varroa. Se propone que al inicio de cada época de descanso y antes de cada tratamiento, se realice esta práctica hasta hacerla parte rutinaria de la actividad apícola. También se propone que al inicio de cada floración se haga un monitoreo del nivel de infestación de varroa para conocer la eficacia de los productos en campo y el estado sanitario de las colonias. Para trabajos futuros, se propone medir el impacto que tienen los diferentes niveles de infestación de este ácaro en la productividad de las colonias de abejas en las diferentes regiones del país.

**Cuadro 17.** Esquema de rotación de plaguicidas, tratamientos alternativos y control etológico contra *Varroa destructor* para un periodo de cinco años.

<b>Región Golfo y Centro- Altiplano</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Año 1</b>	<b>Año 2</b>	<b>Año 3</b>	<b>Año 4</b>	<b>Año 5</b>
Diciembre-enero	Síntesis	coumafós**	amitraz	fluvalinato	flumetrina	amitraz
Julio-agosto	Alternativo	timol/ ácido fórmico				
Marzo-mayo	Etológico	Panal trampa				
<b>Región Centro- Altiplano Norte</b>						
Noviembre-enero	Síntesis	Amitraz	fluvalinato	coumafós**	flumetrina	amitraz
Julio-agosto	Alternativo	timol/ ácido fórmico				
Marzo-mayo	Etológico	Panal trampa				
<b>Región Península de Yucatán</b>						
Julio-septiembre	Síntesis	Coumafós**	amitraz	fluvalinato	coumafós**	flumetrina
Noviembre-diciembre	Alternativo	timol/ ácido fórmico				
Marzo-mayo	Etológico	Panal trampa				

\*\* Plaguicida no autorizado para uso en abejas en México.

## **DISCUSIÓN**

De acuerdo a los resultados obtenidos en las regiones en estudio, así como los casos de historia de uso de plaguicidas y su forma de utilizarlos, se estableció que:

1) En cuanto a los índices de resistencia encontrados en las regiones y rutas de trashumancia en estudio, la flumetrina obtuvo el índice más alto, sobre todo para la región Península de Yucatán seguida por la región Golfo, región Centro-Altiplano en la ruta de trashumancia 2 y en menor grado para la región Centro-Altiplano en la ruta de trashumancia 1.

Es evidente que el alto índice de resistencia encontrado en la región Península de Yucatán se debe en primer lugar a que se maneja una apicultura fija, donde no existe un intercambio de poblaciones de abejas y por consecuencia de las poblaciones de varroa, lo que ocasiona un incremento considerable en los genes de resistencia de varroa hacia la flumetrina (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1999). Otro factor importante que pudo contribuir al incremento de la resistencia a la flumetrina, corresponde al subsidio gubernamental para la aplicación del producto, el cual se distribuyó de manera importante en la región.

El factor detonante más importante puede deberse al uso de preparaciones artesanales preparadas con flumetrina de uso bovino, las cuales son muy evidentes a la hora de realizar inspecciones en los apiarios de la región. Este tipo de tratamientos puede generar que la varroa desarrolle resistencia al plaguicida en corto tiempo, sobre todo por no tener una metodología apropiada para la dosificación y liberación adecuada del ingrediente activo, que incluso llega a contaminar la cera y la miel. Los casos de historia de uso de plaguicidas en estas regiones nos dan una visión muy clara de que este producto en su presentación comercial para abejas ha sido el más utilizado por los apicultores.

El contenido de plaguicidas en la cera de abeja que se reutiliza para la elaboración de panales puede contribuir de manera importante a generar resistencia desde la fase reproductiva de la varroa dentro de las celdas. Investigaciones recientes comprueban el contenido de plaguicidas que puede acumularse en la cera de abeja, incluso por productos que no son utilizados directamente en la colmena (Mullin *et al.*, 2010).

2) Para el caso del fluvalinato, plaguicida perteneciente al grupo toxicológico de los piretroides, se observaron menores índices de resistencia, en contraste con la flumetrina en todas las regiones y rutas de trashumancia en estudio. Para la región Península de Yucatán el índice de resistencia encontrado fue el más elevado (199), lo que se atribuye al tipo manejo en esta región del país. Los índices de resistencia encontrados para la región Golfo y Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 1) son muy similares, lo que se atribuye al tipo de manejo que hay en estas regiones que pertenecen a la principal ruta de trashumancia del país, y que se comportan como una sola población. En contraste, para la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2) su índice de resistencia es el más bajo, similar a la línea base, por lo que se postula que esta región se encuentra en otra ruta de trashumancia donde no hay intercambio de poblaciones con la ruta de trashumancia principal.

En general, los bajos índices de resistencia encontrados en estas regiones y rutas de trashumancia, también responden a que el fluvalinato de uso apícola es un tratamiento costoso y el ingrediente activo no se puede conseguir en México para preparar tratamientos artesanales, como sucede con la flumetrina.

Los casos de historia de uso de plaguicidas en las regiones estudiadas proveen un marco de referencia, donde la región Centro-Altiplano (ruta de trashumancia 2), es donde más se ha utilizado el fluvalinato junto con tratamientos alternativos, y en segundo lugar la región Península de Yucatán, pero en una proporción mucho menor, siendo la Región Golfo donde no hay historia de uso de este plaguicida en los casos estudiados.

3) Para el caso del amitraz, las poblaciones de Tejería y Texcoco tuvieron una respuesta similar en ambas regiones, con  $CL_{50}$  muy parecidas, al igual que sus índices de resistencia. Estos resultados vuelven a sugerir que las poblaciones de abejas que se mueven en una ruta de trashumancia se comportan como una sola población. En caso contrario, los resultados encontrados en Sabancuy denotan una población aislada por la forma de manejo que se realiza en esta región del país. Las poblaciones de varroa en Sabancuy de igual forma a mostraron la  $CL_{50}$  más alta, al igual que su índice de resistencia, lo que sugiere que en esta región existe una menor susceptibilidad de varroa hacia el amitraz y donde hay casos de historia de uso de este plaguicida en forma artesanal (Figura 19).

Por su parte, las poblaciones de varroa en Cd. Valles mostraron una  $CL_{50}$  menor a la línea base, por lo que se sugiere que la respuesta diferente a las demás regiones en estudio, probablemente se debió a que se encuentra en otra ruta de trashumancia. Este plaguicida, en su forma comercial para abejas, podría considerarse junto con los tratamientos alternativos para el control de varroa en esta región estudiada.

4) El coumafós es un plaguicida no autorizado para su uso en abejas y no ocurrieron casos de historia de uso de este plaguicida en las regiones de estudio en forma artesanal, por lo que mostró los menores índices de resistencia en Tejería, Texcoco y Cd. Valles, muy cercanos a la línea base. En Sabancuy el índice de resistencia fue más alto para este plaguicida.

Los resultados encontrados en las regiones en estudio denotaron una respuesta similar de las poblaciones de varroa hacia los plaguicidas utilizados en las regiones que pertenecen a una misma ruta de trashumancia, por lo que las localidades de una misma ruta de trashumancia se comportaron como una sola población. En caso opuesto observamos que las poblaciones de varroa de la región Península de Yucatán se

comportan como una población aislada, donde se presume que los genes de resistencia se concentran.

Se ha demostrado la necesidad de contar con un programa para el control de varroa que incluya el diagnóstico en campo de este ácaro y conocer la prevalencia de esta enfermedad. Asimismo, los resultados del diagnóstico sirven como de marco de referencia para conocer la eficacia de los tratamientos aplicados y así poder desarrollar correctamente un programa integral de manejo, control y rotación de plaguicidas contra la principal enfermedad de las abejas en el mundo.

## **CONCLUSIONES**

No existe un plan nacional o regional para el control de varroa, en el cual se haya podido hacer un monitoreo regional de este ácaro que permitiera evaluar la eficacia de los productos autorizados en México y haber evitado el desarrollo de resistencia hacia dichos productos.

Realizar el diagnóstico de varroa antes y después de cada tratamiento ha sido una práctica poco difundida en las regiones en estudio, lo que ha contribuido a seguir haciendo uso de un solo plaguicida durante más de 15 años con el consecuente desarrollo de resistencia.

Las poblaciones de varroa que se encuentran en una misma ruta de trashumancia son similares en sus índices de resistencia por el constante intercambio de poblaciones de abejas. Esto sugiere que por más control de varroa o certificaciones de control de varroa que exige la autoridad sanitaria, no es posible evitar el intercambio de poblaciones de este ácaro junto con las poblaciones de abejas. Sin embargo, los índices de resistencia encontrados no son tan elevados cuando se comparan con la región Península de Yucatán donde la forma de manejo es apicultura fija, estando aislada de las rutas de trashumancia. Lo anterior sugiere que al no haber intercambio de poblaciones de abejas y por consecuencia de varroa, los genes de resistencia se concentran, dando como consecuencia índices de resistencia elevados, a diferencia de las rutas de trashumancia, que al tener un intercambio de poblaciones de varroa, pueden incluir poblaciones de varroa susceptibles, que se mezclan con poblaciones resistentes y atenúan el desarrollo del fenómeno de resistencia y en consecuencia muestran índices de resistencia mas bajos.

La resistencia a la flumetrina es evidente en todas las regiones estudiadas. Se encontró que el fluvalinato, que pertenece al mismo grupo toxicológico (piretroides), tiene índices de resistencia significativamente menores, hallazgo que difiere del obtenido por Milani (1995), al referirse al hallazgo de resistencia cruzada entre fluvalinato y flumetrina.

Para la región Centro-Altiplano, comprendida dentro de la ruta de trashumancia 2, se encontró una susceptibilidad significativa para el amitraz y el fluvalinato.

Los índices de resistencia para la Península de Yucatán fueron los más elevados en todos los casos y sólo el coumafós y el amitraz mostraron índices de resistencia significativamente más bajos, lo que sugiere que sólo estos dos plaguicidas pueden ser empleados para el control de varroa.

El coumafós mostró ser el plaguicida con menor índice de resistencia en todas las regiones, lo que sugiere una susceptibilidad significativa de varroa hacia este plaguicida que ha sido el menos utilizado y cuya presentación comercial para abejas no está autorizada en México.

De acuerdo a los resultados encontrados en este estudio, se propuso el esquema de rotación de plaguicidas y tratamientos alternativos, para utilizar racionalmente dichos productos y dar oportunidad a que las poblaciones de varroa resistentes a los plaguicidas en uso vuelvan a ser susceptibles, y promover que los plaguicidas a los que varroa muestra una susceptibilidad significativa, sigan siendo eficaces a largo plazo, mientras se continúan y desarrollan estudios de nuevas moléculas de plaguicidas y tratamientos alternativos para controlar esta plaga de las abejas melíferas.

## **PERSPECTIVAS**

Es necesario establecer un plan de control para varroa, el cual para su mayor efectividad deberá ser regional. No existe un programa zoonosanitario coordinado para controlar esta plaga y por tal motivo los apicultores aplican los tratamientos de acuerdo a sus posibilidades y a la disponibilidad de estos tratamientos en las localidades donde habitan. En todas las localidades donde se colectaron los especímenes de varroa y donde también se aplicaron las encuestas, se observó que los apicultores no realizan diagnóstico de varroa ni antes ni después de los tratamientos. Un área de oportunidad importante es la implementación de un programa de rotación de plaguicidas y tratamientos alternativos contra varroa, para tener poblaciones de abejas en mejores condiciones sanitarias que les permitan llegar a las floraciones con la fortaleza necesaria para tener una mejor productividad.

Al limitar los daños que este ácaro causa en las abejas melíferas, se puede mejorar notablemente la apicultura mexicana, sin descuidar los aspectos genéticos y nutricionales que esta especie necesita.

Se sugiere que este programa de rotación de plaguicidas y tratamientos alternativos sea presentado a las autoridades respectivas para su implementación.

## REFERENCIAS

- Abbott W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, **18**: 265-267.
- Anderson D. L., Trueman J. W. H. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, **24**: 165-189.
- Bayvet. 2005. La varroa, un enemigo a vencer. Bayvet revista trimestral diciembre 2004-febrero 2005. pp. 28-30.
- Bogdanov S., Kilchenmann V., Fluri P., Buhler U., Lavanchy P. 1999. Influence of organic acids and components of essential oils on honey taste. *American Bee Journal*, **139**(1): 61-63.
- Bos C., Masson, C. 1983. Analyse des effets, en particulier de la répulsivité, d'un pyrèthrinoïde de synthèse, la deltaméthrine, sur les abeilles, *Agronomie*, **3**: 545-553.
- Burgerjon A. 1956. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized fluids. *Annals of Applied Biology*, **39**: 1-28.
- Cabrera-Jiménez D., R. I. Rodríguez-Vivas, y J. A. Rosado-Aguilar. 2008. Evaluación de la resistencia a la cipermetina en cepas de campo de *Boophilus microplus* obtenidas de ranchos bovinos del estado de Yucatán, México. *Técnica Pecuaria México*, **46**(4): 439-448.
- Colin M. E., Ciavarella F., Otero-Colina G., Belzunces L. P. 1994. A method for characterizing the biological activity of essential oils against *Varroa jacobsoni*. New perspectives on Varroa. A. Matheson, *Intl. Bee Research Association*. pp. 109-114.

- De la Sota M. y Bacci M. 2004. Enfermedades de las abejas. Manual de procedimientos. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Dirección General de Sanidad Animal. Buenos Aires, Argentina.
- Dietz A. y Hermann H. R. 1988. Biology, detection and control of *Varroa jacobsoni*: a parasitic mite on honey bees. Lei-Act Publishers, USA. 80 p.
- Elbert A., Beckert, B., Hartwig, J., Erdelen, C. 1991. Imidacloprid – a new systemic insecticide, *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer*, **44**: 113–136.
- Eguaras M. y Ruffinengo, S. 2006. Estrategias para el control de Varroa. Ed. Martín, Mar del Plata, República Argentina.
- Elzen P. J., Baxter J. R., Spivak M., Wilson W. T. 1999a. Amitraz resistance in Varroa: New discovery in North America. *American Bee Journal*, **139**(5): 362.
- Elzen P. J., Eischen F. A., Baxter J. R., Elzen G. W., Wilson W. T. 1999b. Detection of resistance in US *Varroa jacobsoni* Oud (Mesostigmata: Varroidae) to the acaricide fluvalinate. *Apidologie*, **30**: 13-17.
- Elzen P., Westervelt D. 2002. Detection of coumaphos resistance in *Varroa destructor* in Florida. *American Bee Journal*, **142**: 291–292.
- EPPO. European and Mediterranean Plant Protection Organization. 2001. Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products, in: Hazards of pesticides to bees, Belzunces L.P., Pélissier C., Lewis G.B. (Eds.), INRA, Paris, Colloq. No. 98, pp. 279–286.
- FAO. Food and Agriculture Organization United Nations. 2010. FAOSTAT. [En línea] <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
- Flores J.S. 1990. The Flowering Periods of Leguminosae in The Yucatan Peninsula in Relation to Honey Flows. *Journal of Apicultural Research*. **29** (2): 82-88.

- González N. S., Zavala R., Sauri E. 2003. Evaluación del efecto de la forma de aplicación y la dosis de antibióticos adicionados a la colmena en el contenido residual en la miel de abeja. XVII Seminario Americano de Apicultura. Aguascalientes, Ags., Agosto 7-9. México.
- Guzmán-Novoa E., Vandame, R., Arechavaleta M. E. 1999. Susceptibility of European and Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) to *Varroa jacobsoni* Oud. in México. *Apidologie*, **30**: 173-182
- Henderson C. E., Steiner J., y Alexander B. 1986. *Varroa jacobsoni* life cycle. *American Bee Journal*, **126**: 117-119
- Imdorf A., Bogdanov S., Kilchenmann V., Maquelin C. 1995. Apilife Var, a new varroacide with thymol as a main ingredient. *Bee World* **76**: 77-83.
- Imdorf A., Charriere J.D., Kilchenmann V., Bogdanov S., Fluri, P. 2003. Alternative strategy in central Europa for the control of *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Apiacta*, **38**: 258-285.
- Koch H., Weisser P. 1997. Exposure of honey bee during pesticide application under field conditions, *Apidologie*, **28**: 439-447
- Lagunes T. A. 1982. Manejo de insecticidas piretroides. Colegio Posgraduados, Chapingo, México. pp. 5-14.
- Lagunes T. A. y Rodríguez J. C. 1992. Temas selectos de manejo de insecticidas agrícolas. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. pp. 59-60.
- Lagunes-Tejeda A. y Vázquez-Navarro M. 1994. El Bioensayo en el Manejo de Insecticidas y acaricidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo, México. pp. 18-20.
- Lagunes-Tejeda A. y Villanueva-Jiménez J. A. 1999. Toxicología y Manejo de Insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. México. pp. 115-126

- Lavet 2003. Laboratorios Lavet. COLMESAN LS" Antiparasitario externo de uso apícola para acción inmediata ó prolongada. [En línea] [http://www.apicultura.entupc.com/publicidad/lab\\_lavet/laboratorio\\_lavet.htm](http://www.apicultura.entupc.com/publicidad/lab_lavet/laboratorio_lavet.htm)
- Li A. Y., Davey R. B., Miller R. J., George J. E. 2002. Modification of the Food and Agriculture Organization Larval Packet Test to Measure Amitraz-Susceptibility Against Ixodidae. *Journal of Medical Entomology* **39**(4): 645-651
- Maggi M., Ruffinengo S., Damiani N., Sardella N., Eguaras M. M. 2009. First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos in Argentina. *Experimental & Applied Acarology*, **47**:317-320.
- Metcalf R. L. 1983. Implications and prognosis of resistance to insecticides. In: Georghiu, G. P. and T. Saito (eds). *Pest Resistance to Pesticides*. Plenum Press. New York. pp. 702-729.
- Milani N. 1995. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud to pyrethroids; a laboratory assay. *Apidologie*, **26**:415-424.
- Mozes-Koch R., Slabezki Y., Efrat H., Kalev H., Kamer Y., Yakobson, Dag A. 2000. First detection in Israel of fluvalinate resistance in the varroa mites using bioassay and biochemical methods. *Experimental & Applied Acarology*. **24**(1):35-43.
- Mullin C. A., M. Frazier, J. L. Frazier, S. Ashcraft, R. Simonds, D. vanEngelsdorp and J. S. Pettis. 2010. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLoS ONE* 5(3): e9754. doi:10.1371/journal.pone.0009754.
- Otero-Colina G. 1991. Control de *Varroa jacobsoni* mediante componentes de aceites esenciales. Avances en la investigación Centro de Entomología y Acarología Colegio de Postgraduados. pp. 5-6.

- Otero-Colina G. 1993. Distribución de *Varroa jacobsoni* en México, perspectivas y control. Memorias: aspectos socioeconómicos, técnicos y patológicos de las abejas, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. pp.100-103.
- Pérez-Santiago Gerardo. 1995. Susceptibilidad de *Varroa jacobsoni* Oudemans (Gamasida: Varroidae) a cinco plaguicidas. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. México.
- Pérez-Santiago G., Otero-Colina, G., Mota-Sanchez, D., Ramirez-Guzman M. E., 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*, **83**(4): 468-476.
- Pettis J. S., Shimanuki H., Feldlaufer M. F. 1998. An assay to detect fluvalinate resistance in Varroa mites. *American Bee Journal*, **138**(7): 538-541.
- Pettis J.F. 2004. A scientific note on *Varroa destructor* resistance to coumaphos in the United States. *Apidologie*, **35**:91-92.
- Prier K., Lighthart B., Bromenshenk J. 2001. Adsorption model of aerosolized bacterial spores (*Bacillus subtilis* variety *niger*) onto free-flying honey bees (Hymenoptera: Apidae) and its validation, *Environmental Entomology* **30**: 1188-1194.
- Robertson J. L. and H. K. Preisler. 1992. Pesticides bioassays with arthropods. CRC, Boca Raton, USA. 120 pp.
- Rodríguez-Dehaibes S. R., Moro J., Otero-Colina G. 1992. Varroa found in México. *American Bee Journal*, **132**(11):728-729.
- Rodríguez-Dehaibes S. R., Otero-Colina G., Pardo Seda V. y Villanueva-Jiménez J.A. 2005. Resistance to amitraz and flumethrin in *Varroa destructor* populations from Veracruz, México. *Journal of Apicultural Research*, **44**(3) 2005.

- SAGAR 2000. Situación actual y perspectiva de la producción apícola en México 2000. Centro de Estadística Agropecuaria, Dirección General de Ganadería, con apoyo del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA) [http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Paginas/Estudios\\_SAP.aspx](http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Paginas/Estudios_SAP.aspx)
- SAGARPA 2002. Manual de patología apícola. Programa Nacional para el Control de la Abeja Africana, México. 59 p.
- SAGARPA Y ASERCA 2010. Situación actual y perspectiva de la apicultura en México. Claridades Agropecuarias. No. 199 Marzo 2010.
- SAGARPA 2010a. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Miel. México 2010.
- SAGARPA 2010b. Manual de Buenas Prácticas de Producción de Miel. México 2010.
- SAGARPA 2010c. Notiabeja septiembre-octubre. Boletín informativo bimestral electrónico. México
- SIAP 2010. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Consulta base de datos 2008 [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=3&Itemid=29](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=3&Itemid=29)
- Thompson H. M., Brown M. A., Ball R. F., Bew M. H. 2002. First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in U.K. *Apidologie*, **33**: 357-366.
- Verde J. M., Chan V. S. 2005. Estrategia de lucha integrada para el control de varroa: Resultados y experiencia cubana. Revista electrónica de veterinaria. ISSN 1695-7504. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090905.html> REDVET **6** (10) 2005.
- Villa S.; Vighi, M., Finizio A., Serini G. 2000. Risk assessment for honeybees from pesticide-exposed pollen, *Ecotoxicology*, **9**: 287-297.

Vivas Rodríguez J. A., Otero-Colina G., Rodríguez D. 1996. Aplicación de tratamientos con ácido fórmico para el control de la varroasis. Memorias del X Seminario Americano de Apicultura. Veracruz, Ver., Agosto 2-4 pp. 3. México.

Wang R., Liu Z., Dong K., Elzen P.J., Pettis J., Huang Z.Y. 2002. Association of novel mutations in a sodium channel gene with fluvalinate resistance in the mite, *Varroa destructor*. *Journal of Apicultural Research*, **40**: 17-25.

## ANEXOS

### ANEXO A

ENCUESTA APÍCOLA  
(LOS DATOS PROPORCIONADOS SERÁN CONFIDENCIALES)

Nombre: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ Tel \_\_\_\_\_

Número total de colmenas: 20-50 ( ), 50-100 ( ), 100-200 ( ), mas de 200 ( )

Número de apiarios: \_\_\_\_\_

Localidades principales donde mantiene sus apiarios: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, / \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, / \_\_\_\_\_

Estados y localidades donde moviliza sus colmenas y en qué fechas:

Estado	Localidades	Fechas	Floración

¿En qué periodos aplica los tratamientos para el control de enfermedades? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

¿Qué tratamientos aplica para controlar Loque Americana y Europea? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

¿Qué tratamientos utiliza para controlar la varroasis?

a) con plaguicidas:

1) Apistán ( )

2) Bayvarol ( )

3) Colmesan ( )

4) Tactic ( )

5) Bayticol ( )

6) Asuntol ( )

7) Otros \_\_\_\_\_

b) tratamientos de tipo natural:

1) Timol ( )

2) Ac. Fórmico ( )

3) Ac. Oxálico ( )

4) Otros \_\_\_\_\_

## ANEXO B FLUMETRINA VERACRUZ

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	5.26726873	0.99889394	-0.04790425	0.80598600
2	5.25492105	1.06263303	-0.26756468	1.00110729
3	5.25468112	1.06591949	-0.23989566	0.94105864
4	5.25467798	1.06595919	-0.23893092	0.93815716
5	5.25467794	1.06595960	-0.23891907	0.93812222

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.019836
0.028938544	0.019691499	
0.003485921	0.052719066	

CHI-CUADRADA = 16.9466    CON 3 G.L.  
 NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS  
 POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD h= 5.65  
 ASEGURESE DE QUE P<0.10 EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA  
 SE VA A USAR UN VALOR DE t=2.57 PARA EL CALCULO DE  
 LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG (DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
		INFERIOR	SUPERIOR		INFERIOR	SUPERIOR
0.01	-2.421317	-2.880995	-2.095076	0.003790	0.001315	0.008034
0.02	-2.165586	-2.572371	-1.875575	0.006830	0.002677	0.013318
0.03	-2.003333	-2.376905	-1.735961	0.009924	0.004199	0.018367
0.04	-1.881276	-2.230098	-1.630702	0.013144	0.005887	0.023404
0.05	-1.781992	-2.110862	-1.544900	0.016520	0.007747	0.028517
0.06	-1.697486	-2.009527	-1.471717	0.020068	0.009783	0.033751
0.07	-1.623391	-1.920811	-1.407414	0.023802	0.012000	0.039137
0.08	-1.557047	-1.841500	-1.349716	0.027730	0.014405	0.044698
0.09	-1.496711	-1.769484	-1.297126	0.031863	0.017003	0.050451
0.10	-1.441170	-1.703303	-1.248608	0.036210	0.019801	0.056415
0.15	-1.211220	-1.430729	-1.046297	0.061487	0.037091	0.089888
0.20	-1.028462	-1.216443	-0.883159	0.093656	0.060751	0.130870
0.25	-0.871673	-1.035169	-0.740637	0.134378	0.092221	0.181704
0.30	-0.730871	-0.875310	-0.609717	0.185836	0.133257	0.245631
0.35	-0.600396	-0.730550	-0.485027	0.250959	0.185973	0.327321
0.40	-0.476589	-0.596978	-0.362917	0.333742	0.252943	0.433594
0.45	-0.356805	-0.471794	-0.240726	0.439739	0.337447	0.574479
0.50	-0.238919	-0.352636	-0.116431	0.576874	0.443980	0.764837
0.55	-0.121033	-0.237239	0.011625	0.756775	0.579110	1.027129
0.60	-0.001248	-0.123287	0.145048	0.997129	0.752857	1.396523
0.65	0.122559	-0.008309	0.285751	1.326046	0.981050	1.930861
0.70	0.253033	0.110518	0.436374	1.790740	1.289788	2.731329
0.75	0.393835	0.236769	0.600902	2.476479	1.724920	3.989350
0.80	0.550624	0.375623	0.785845	3.553238	2.374776	6.107233
0.85	0.733382	0.535869	1.003022	5.412300	3.434541	10.069833
0.90	0.963333	0.735847	1.277929	9.190362	5.443114	18.963956
0.91	1.018873	0.783947	1.344528	10.444139	6.080615	22.106913
0.92	1.079209	0.836131	1.416950	12.000778	6.856943	26.118616
0.93	1.145553	0.893432	1.496659	13.981471	7.824053	31.380432
0.94	1.219648	0.957343	1.585766	16.582429	9.064491	38.527068
0.95	1.304154	1.030138	1.687490	20.144393	10.718609	48.695583
0.96	1.403438	1.115549	1.807116	25.318497	13.048138	64.138146
0.97	1.525495	1.220404	1.954328	33.534717	16.611315	90.017672
0.98	1.687748	1.359585	2.150226	48.724545	22.886779	141.327301
0.99	1.943479	1.578575	2.459362	87.796833	37.894401	287.979545

## ANEXO C FLUVALINATO VERACRUZ

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	4.03312687	1.53394901	0.44572194	0.55736704
2	4.03575563	1.57744966	0.63031634	0.65191215
3	4.03525612	1.57878809	0.61126792	0.63393465
4	4.03524642	1.57880905	0.61106610	0.63339723
5	4.03524628	1.57880936	0.61106413	0.63338882

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS		VARIANZA ESTIMADA DE MU
INTERCEPTO	PENDIENTE	0.013217
0.060314227	-0.057653705	
-0.008515558	0.115402797	

CHI-CUADRADA = 20.3112 CON 3 G.L.  
 NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS  
 POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD h= 6.77  
 ASEGURESE DE QUE P<0.10 EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA  
 SE VA A USAR UN VALOR DE t=2.57 PARA EL CALCULO DE  
 LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	SUPERIOR
0.01	-0.862418	-1.141574	-0.656752	0.137272	0.072181	0.220419
0.02	-0.689757	-0.937617	-0.506071	0.204288	0.115447	0.311838
0.03	-0.580209	-0.808516	-0.410165	0.262900	0.155412	0.388897
0.04	-0.497801	-0.711600	-0.337818	0.317833	0.194268	0.459391
0.05	-0.430768	-0.632921	-0.278814	0.370879	0.232852	0.526243
0.06	-0.373712	-0.566082	-0.228462	0.422949	0.271593	0.590932
0.07	-0.323685	-0.507591	-0.184201	0.474586	0.310749	0.654333
0.08	-0.278892	-0.455321	-0.144468	0.526148	0.350493	0.717021
0.09	-0.238155	-0.407878	-0.108238	0.577890	0.390951	0.779403
0.10	-0.200656	-0.364296	-0.074799	0.630005	0.432219	0.841784
0.15	-0.045401	-0.184987	0.064779	0.900739	0.653151	1.160856
0.20	0.077991	-0.044249	0.177482	1.196715	0.903132	1.504812
0.25	0.183850	0.074691	0.275973	1.527038	1.187657	1.887873
0.30	0.278915	0.179603	0.366320	1.900705	1.512179	2.324446
0.35	0.367006	0.274809	0.452050	2.328126	1.882822	2.831718
0.40	0.450597	0.363060	0.535490	2.822259	2.307066	3.431551
0.45	0.531472	0.446339	0.618324	3.399943	2.794726	4.152641
0.50	0.611064	0.526260	0.701883	4.083797	3.359387	5.033652
0.55	0.690657	0.604280	0.787343	4.905198	4.020496	6.128343
0.60	0.771531	0.681834	0.875902	5.909235	4.806558	7.514527
0.65	0.855122	0.760460	0.968967	7.163441	5.760499	9.310369
0.70	0.943213	0.841960	1.068404	8.774320	6.949595	11.705880
0.75	1.038278	0.928688	1.176935	10.921399	8.485706	15.029158
0.80	1.144137	1.024133	1.298920	13.935979	10.571408	19.903068
0.85	1.267529	1.134280	1.442214	18.515238	13.623223	27.683083
0.90	1.422784	1.271678	1.623703	26.471855	18.692966	42.043934
0.91	1.460283	1.304714	1.667689	28.859126	20.170366	46.525248
0.92	1.501021	1.340548	1.715527	31.697174	21.905246	51.943012
0.93	1.545813	1.379891	1.768187	35.140946	23.982294	58.639093
0.94	1.595840	1.423764	1.827066	39.431211	26.531650	67.153136
0.95	1.652896	1.473727	1.894294	44.967193	29.766414	78.396005
0.96	1.719929	1.532335	1.973369	52.472149	34.067081	94.052113
0.97	1.802337	1.604270	2.070697	63.436249	40.204093	117.678469
0.98	1.911885	1.699729	2.200245	81.636698	50.087454	158.578771
0.99	2.084547	1.849876	2.404736	121.491681	70.774423	253.942929

## ANEXO D AMITRAZ VERACRUZ

TERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	4.52677157	1.00740530	0.18659035	0.92590136
2	4.51892656	1.02826629	0.46974979	0.99264914
3	4.51914172	1.02761007	0.46784908	0.97251073
4	4.51913120	1.02763896	0.46793846	0.97313176
5	4.51913166	1.02763765	0.46793555	0.97310440
6	4.51913164	1.02763771	0.46793570	0.97310565

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.032254
0.021591144	-0.003849208	
-0.000709226	0.073402906	

CHI-CUADRADA = 16.2820    CON 3 G.L.  
 NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS  
 POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD h= 5.43  
 ASEGURESE DE QUE P<0.10 EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA  
 SE VA A USAR UN VALOR DE t=2.57 PARA EL CALCULO DE  
 LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES	FIDUCIALES	95%	DOSIS	LIMITES	FIDUCIALES	95%
INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR					
0.01	-1.795846	-2.339811	-1.443162	0.016001	0.004573	0.036044		
0.02	-1.530579	-2.001669	-1.223316	0.029473	0.009962	0.059798		
0.03	-1.362275	-1.787617	-1.083342	0.043424	0.016307	0.082539		
0.04	-1.235667	-1.626939	-0.977701	0.058121	0.023608	0.105269		
0.05	-1.132681	-1.496520	-0.891490	0.073675	0.031877	0.128384		
0.06	-1.045023	-1.385759	-0.817864	0.090152	0.041138	0.152102		
0.07	-0.968165	-1.288869	-0.753083	0.107606	0.051420	0.176570		
0.08	-0.899347	-1.202329	-0.694866	0.126082	0.062758	0.201899		
0.09	-0.836761	-1.123830	-0.641714	0.145626	0.075192	0.228184		
0.10	-0.779149	-1.051775	-0.592585	0.166284	0.088762	0.255514		
0.15	-0.540623	-0.756298	-0.386325	0.287989	0.175268	0.410842		
0.20	-0.351051	-0.526650	-0.217208	0.445604	0.297406	0.606445		
0.25	-0.188414	-0.335915	-0.065839	0.648016	0.461407	0.859333		
0.30	-0.042361	-0.172036	0.077503	0.907065	0.672920	1.195371		
0.35	0.092978	-0.028081	0.218233	1.238734	0.937386	1.652849		
0.40	0.221402	0.101180	0.359110	1.664954	1.262351	2.286179		
0.45	0.345654	0.220266	0.501387	2.216429	1.660603	3.172392		
0.50	0.467936	0.332995	0.645876	2.937215	2.152757	4.424622		
0.55	0.590217	0.442495	0.793594	3.892400	2.770100	6.217192		
0.60	0.714469	0.551417	0.946035	5.181663	3.559729	8.831510		
0.65	0.842893	0.662250	1.105341	6.964552	4.594620	12.745033		
0.70	0.978233	0.777696	1.274580	9.511144	5.993710	18.818296		
0.75	1.124285	0.901177	1.458319	13.313291	7.964838	28.728932		
0.80	1.286922	1.037726	1.663875	19.360744	10.907523	46.118456		
0.85	1.476495	1.196002	1.904363	29.956760	15.703709	80.234873		
0.90	1.715021	1.394219	2.207883	51.882476	24.786736	161.392315		
0.91	1.772632	1.441979	2.281308	59.242300	27.668075	191.120773		
0.92	1.835219	1.493822	2.361116	68.425611	31.176085	229.676161		
0.93	1.904036	1.550780	2.448915	80.174487	35.545114	281.134749		
0.94	1.980895	1.614343	2.547022	95.696171	41.147444	352.389053		
0.95	2.068552	1.686779	2.658973	117.098664	48.615932	456.008663		
0.96	2.171538	1.771812	2.790571	148.435603	59.130498	617.405525		
0.97	2.298146	1.876259	2.952442	198.676478	75.207157	896.277182		
0.98	2.466450	2.014975	3.167752	292.718538	103.508302	1471.470855		
0.99	2.731718	2.233370	3.507345	539.160183	171.147227	3216.212494		

## ANEXO E COUMAFOS VERACRUZ

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	3.52930943	1.85769042	0.63788768	0.55073970
2	3.47525277	1.91560850	0.79167689	0.53830282
3	3.47723004	1.91429832	0.79595973	0.52202733
4	3.47707425	1.91447204	0.79547161	0.52238462
5	3.47708749	1.91446042	0.79548080	0.52233722
6	3.47708641	1.91446149	0.79547871	0.52234039
7	3.47708650	1.91446141	0.79547883	0.52234010

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.016321
0.181551371	-0.163961372	
-0.015349085	0.219855423	

CHI-CUADRADA = 32.0465    CON 3 G.L.  
 NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS  
 POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD h= 10.68  
 ASEGURESE DE QUE P<0.10 EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA  
 SE VA A USAR UN VALOR DE t=2.57 PARA EL CALCULO DE  
 LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
		SUPERIOR	INFERIOR		SUPERIOR	INFERIOR
0.01	-0.419666	-0.636544	-0.254179	0.380482	0.230917	0.556957
0.02	-0.277277	-0.471672	-0.127993	0.528109	0.337542	0.744744
0.03	-0.186935	-0.367335	-0.047664	0.650227	0.429205	0.896058
0.04	-0.118975	-0.289020	0.012939	0.760370	0.514020	1.030241
0.05	-0.063694	-0.225448	0.062366	0.863586	0.595048	1.154425
0.06	-0.016642	-0.171446	0.104544	0.962406	0.673835	1.272165
0.07	0.024614	-0.124190	0.141618	1.058313	0.751295	1.385536
0.08	0.061554	-0.081959	0.174895	1.152268	0.828020	1.495875
0.09	0.095149	-0.043627	0.205235	1.244941	0.904426	1.604112
0.10	0.126073	-0.008412	0.233231	1.336820	0.980818	1.710927
0.15	0.254108	0.136537	0.349998	1.795180	1.369422	2.238713
0.20	0.355866	0.250471	0.444068	2.269166	1.780210	2.780150
0.25	0.443166	0.347009	0.525979	2.774379	2.223353	3.357217
0.30	0.521563	0.432495	0.600745	3.323253	2.707044	3.987906
0.35	0.594210	0.510483	0.671254	3.928353	3.239540	4.690882
0.40	0.663145	0.583234	0.739414	4.604108	3.830308	5.487997
0.45	0.729841	0.652354	0.806626	5.368350	4.491111	6.406570
0.50	0.795479	0.719116	0.874034	6.244229	5.237399	7.482280
0.55	0.861117	0.784641	0.942679	7.263012	6.090328	8.763534
0.60	0.927812	0.850027	1.013624	8.468611	7.079903	10.318686
0.65	0.996747	0.916469	1.088092	9.925380	8.250285	12.248769
0.70	1.069394	0.985402	1.167657	11.732599	9.669446	14.711516
0.75	1.147792	1.058746	1.254565	14.053739	11.448440	17.970700
0.80	1.235091	1.139392	1.352368	17.182698	13.784527	22.509610
0.85	1.336850	1.232336	1.467428	21.719487	17.074010	29.337820
0.90	1.464885	1.348085	1.613394	29.166520	22.288722	41.057653
0.91	1.495809	1.375887	1.648805	31.319078	23.762222	44.545575
0.92	1.529404	1.406033	1.687330	33.837951	25.470237	48.677722
0.93	1.566344	1.439117	1.729754	36.842041	27.486374	53.672754
0.94	1.607599	1.475997	1.777205	40.513470	29.922469	59.869364
0.95	1.654652	1.517978	1.831404	45.149386	32.959306	67.827164
0.96	1.709932	1.567202	1.895178	51.278154	36.914922	78.555837
0.97	1.777893	1.627590	1.973708	59.964300	42.421918	94.125581
0.98	1.868234	1.707684	2.078281	73.830237	51.013347	119.751464
0.99	2.010624	1.833583	2.243439	102.476348	68.168386	175.161712

## ANEXO F FLUMETRINA TEXCOCO

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	5.87962166	1.31409454	-0.69241859	0.73941217
2	5.88098860	1.31528144	-0.66937472	0.76098026
3	5.88100513	1.31530129	-0.66980995	0.76029355
4	5.88100535	1.31530152	-0.66981241	0.76028208

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.002526
0.007916843	0.006412156	
0.006412156	0.011242145	

CHI-CUADRADA = 2.2520    CON 3 G.L.

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
		INFERIOR	SUPERIOR		INFERIOR	SUPERIOR
0.01	-2.438493	-2.804662	-2.167983	0.003643	0.001568	0.006792
0.02	-2.231241	-2.560355	-1.987172	0.005872	0.002752	0.010300
0.03	-2.099746	-2.405584	-1.872221	0.007948	0.003930	0.013421
0.04	-2.000827	-2.289307	-1.785596	0.009981	0.005137	0.016383
0.05	-1.920365	-2.194838	-1.715019	0.012013	0.006385	0.019274
0.06	-1.851879	-2.114524	-1.654854	0.014064	0.007682	0.022138
0.07	-1.791830	-2.044185	-1.602020	0.016150	0.009033	0.025002
0.08	-1.738063	-1.981277	-1.554642	0.018278	0.010441	0.027884
0.09	-1.689164	-1.924130	-1.511487	0.020457	0.011909	0.030797
0.10	-1.644153	-1.871588	-1.471702	0.022691	0.013440	0.033752
0.15	-1.457794	-1.654813	-1.306216	0.034850	0.022140	0.049406
0.20	-1.309682	-1.483702	-1.173519	0.049014	0.032832	0.067063
0.25	-1.182615	-1.338089	-1.058492	0.065673	0.045910	0.087399
0.30	-1.068505	-1.208603	-0.953914	0.085407	0.061858	0.111195
0.35	-0.962765	-1.090046	-0.855577	0.108952	0.081275	0.139452
0.40	-0.862428	-0.979178	-0.760632	0.137269	0.104911	0.173527
0.45	-0.765351	-0.873779	-0.666906	0.171652	0.133728	0.215325
0.50	-0.669812	-0.772160	-0.572557	0.213889	0.168982	0.267574
0.55	-0.574274	-0.672869	-0.475880	0.266517	0.212389	0.334287
0.60	-0.477197	-0.574455	-0.375169	0.333275	0.266407	0.421532
0.65	-0.376860	-0.475269	-0.268542	0.419894	0.334758	0.538837
0.70	-0.271120	-0.373241	-0.153676	0.535648	0.423408	0.701978
0.75	-0.157010	-0.265538	-0.027316	0.696610	0.542578	0.939040
0.80	-0.029943	-0.147901	0.115688	0.933377	0.711376	1.305232
0.85	0.118169	-0.013029	0.284625	1.312711	0.970445	1.925859
0.90	0.304528	0.154301	0.499555	2.016174	1.426596	3.159039
0.91	0.349539	0.194426	0.551757	2.236348	1.564682	3.562520
0.92	0.398438	0.237914	0.608571	2.502869	1.729475	4.060416
0.93	0.452205	0.285622	0.671150	2.832728	1.930285	4.689751
0.94	0.512254	0.338782	0.741162	3.252774	2.181634	5.510135
0.95	0.580740	0.399275	0.821149	3.808378	2.507695	6.624437
0.96	0.661203	0.470184	0.915285	4.583556	2.952460	8.227819
0.97	0.760121	0.557155	1.031216	5.756002	3.607072	10.745234
0.98	0.891616	0.672482	1.185612	7.791404	4.704160	15.332449
0.99	1.098868	0.853741	1.429470	12.556478	7.140700	26.882495

## ANEXO G FLUVALINATO TEXCOCO

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	4.41373061	0.99890700	0.46391239	0.74794324
2	4.40486832	1.07747375	0.58691089	1.00109420
3	4.40141782	1.08553845	0.55233984	0.92809686
4	4.40117323	1.08576752	0.55141500	0.92120183
5	4.40116585	1.08577442	0.55152393	0.92100748
6	4.40116563	1.08577463	0.55152722	0.92100162

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS

VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.004279
0.008650515	-0.005074732	
-0.005074732	0.006546470	

CHI-CUADRADA = 10.4489 CON 3 G.L.

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
		INFERIOR	SUPERIOR		INFERIOR	SUPERIOR
0.01	-1.591042	-2.017333	-1.267908	0.025642	0.009609	0.053963
0.02	-1.339978	-1.725716	-1.046451	0.045711	0.018805	0.089856
0.03	-1.180686	-1.540978	-0.905661	0.065965	0.028775	0.124262
0.04	-1.060857	-1.402186	-0.799570	0.086925	0.039611	0.158646
0.05	-0.963385	-1.289425	-0.713139	0.108796	0.051354	0.193580
0.06	-0.880421	-1.193555	-0.639463	0.131698	0.064039	0.229370
0.07	-0.807678	-1.109590	-0.574771	0.155712	0.077698	0.266213
0.08	-0.742546	-1.034491	-0.516766	0.180907	0.092365	0.304253
0.09	-0.683310	-0.966265	-0.463938	0.207343	0.108077	0.343607
0.10	-0.628784	-0.903532	-0.415241	0.235080	0.124873	0.384378
0.15	-0.403029	-0.644636	-0.212787	0.395340	0.226654	0.612651
0.20	-0.223607	-0.440118	-0.050638	0.597576	0.362979	0.889942
0.25	-0.069679	-0.265866	0.089677	0.851768	0.542168	1.229355
0.30	0.068554	-0.110636	0.216938	1.170991	0.775112	1.647926
0.35	0.196647	0.031853	0.336219	1.572703	1.076102	2.168796
0.40	0.318194	0.165558	0.450908	2.080627	1.464057	2.824283
0.45	0.435793	0.293228	0.563563	2.727678	1.964389	3.660688
0.50	0.551527	0.416964	0.676340	3.560634	2.611947	4.746133
0.55	0.667262	0.538560	0.791259	4.647952	3.455888	6.183845
0.60	0.784860	0.659744	0.910398	6.093409	4.568191	8.135762
0.65	0.906408	0.782429	1.036108	8.061354	6.059387	10.866956
0.70	1.034501	0.908995	1.171311	10.826821	8.109520	14.835818
0.75	1.172733	1.042745	1.320052	14.884469	11.034314	20.895482
0.80	1.326662	1.188754	1.488610	21.215912	15.443809	30.804236
0.85	1.506084	1.355874	1.688157	32.068894	22.692070	48.770499
0.90	1.731838	1.562722	1.942660	53.930962	36.536061	87.631383
0.91	1.786365	1.612248	2.004564	61.145520	40.949400	101.056413
0.92	1.845600	1.665895	2.071970	70.080995	46.333462	118.023979
0.93	1.910733	1.724714	2.146256	81.420354	53.053479	140.041270
0.94	1.983476	1.790219	2.229408	96.266690	61.690578	169.593187
0.95	2.066440	1.864715	2.324457	116.530572	73.234396	211.084626
0.96	2.163912	1.951987	2.436378	145.851772	89.533765	273.135274
0.97	2.283741	2.058959	2.574288	192.194492	114.540380	375.222099
0.98	2.443033	2.200711	2.758064	277.353100	158.749117	572.880695
0.99	2.694097	2.423327	3.048522	494.421186	265.049507	1118.205664

## ANEXO H AMITRAZ TEXCOCO

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	4.53200100	1.40659975	-0.02815329	0.62507282
2	4.53719987	1.55002270	0.33271654	0.71093429
3	4.54041383	1.56074109	0.29857636	0.64515184
4	4.54075420	1.56102063	0.29446663	0.64072126
5	4.54076025	1.56105060	0.29419586	0.64060652
6	4.54076121	1.56105093	0.29418633	0.64059422

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.013169
0.034360644	-0.017604124	
-0.002722949	0.093461737	

CHI-CUADRADA = 19.3953    CON 3 G.L.  
 NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS  
 POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD h= 6.47  
 ASEGURESE DE QUE P<0.10 EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA  
 SE VA A USAR UN VALOR DE t=2.57 PARA EL CALCULO DE  
 LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
		INFERIOR	SUPERIOR		INFERIOR	SUPERIOR
0.01	-1.196059	-1.459616	-0.997074	0.063671	0.034704	0.100676
0.02	-1.021434	-1.256227	-0.843068	0.095185	0.055434	0.143526
0.03	-0.910640	-1.127503	-0.745036	0.122846	0.074558	0.179872
0.04	-0.827293	-1.030880	-0.671079	0.148835	0.093136	0.213266
0.05	-0.759498	-0.952446	-0.610760	0.173981	0.111572	0.245042
0.06	-0.701793	-0.885820	-0.559285	0.198704	0.130071	0.275877
0.07	-0.651197	-0.827518	-0.514036	0.223256	0.148759	0.306171
0.08	-0.605895	-0.775419	-0.473417	0.247802	0.167719	0.336189
0.09	-0.564694	-0.728133	-0.436380	0.272462	0.187011	0.366117
0.10	-0.526769	-0.684695	-0.402198	0.297325	0.206683	0.396098
0.15	-0.369747	-0.505970	-0.259556	0.426828	0.311911	0.550103
0.20	-0.244952	-0.365634	-0.144480	0.568916	0.430889	0.717001
0.25	-0.137888	-0.246920	-0.044074	0.727967	0.566344	0.903495
0.30	-0.041742	-0.142029	0.047813	0.908360	0.721059	1.116382
0.35	0.047352	-0.046606	0.134733	1.115197	0.898243	1.363744
0.40	0.131893	0.042131	0.219021	1.354856	1.101872	1.655852
0.45	0.213688	0.126177	0.302379	1.635640	1.337142	2.006224
0.50	0.294186	0.207134	0.386173	1.968728	1.611143	2.433175
0.55	0.374684	0.286428	0.471630	2.369647	1.933871	2.962308
0.60	0.456478	0.365458	0.560005	2.860739	2.319839	3.630819
0.65	0.541020	0.445733	0.652755	3.475519	2.790827	4.495266
0.70	0.630114	0.529044	0.751788	4.266910	3.380990	5.646609
0.75	0.726260	0.617761	0.859848	5.324267	4.147254	7.241823
0.80	0.833323	0.715421	0.981308	6.812763	5.193038	9.578725
0.85	0.958119	0.828127	1.124014	9.080688	6.731735	13.304971
0.90	1.115140	0.968692	1.304815	13.035870	9.304475	20.175085
0.91	1.153065	1.002483	1.348644	14.225430	10.057346	22.317399
0.92	1.194266	1.039135	1.396315	15.641060	10.942971	24.906630
0.93	1.239569	1.079372	1.448796	17.360757	12.005285	28.105784
0.94	1.290164	1.124240	1.507479	19.505830	13.311904	32.172100
0.95	1.347869	1.175330	1.574490	22.277639	14.973738	37.539658
0.96	1.415665	1.235256	1.653318	26.041428	17.189215	45.010921
0.97	1.499011	1.308801	1.750353	31.550839	20.361077	56.279842
0.98	1.609805	1.406383	1.879526	40.719746	25.490797	75.775041
0.99	1.784430	1.559849	2.083457	60.873792	36.295147	121.187136

## ANEXO I COUMAFOS TEXCOCO

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	4.19452896	1.09781636	0.38739533	0.82306007
2	4.17526281	1.15974716	0.73370289	0.91089916
3	4.17581454	1.16254369	0.71113534	0.86225691
4	4.17581046	1.16269740	0.70895010	0.86018272
5	4.17581174	1.16270308	0.70885988	0.86006901
6	4.17581173	1.16270339	0.70885531	0.86006481

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.023934
0.060385310	-0.046758984	
-0.005893733	0.076146166	

CHI-CUADRADA = 23.8010    CON 3 G.L.  
 NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS  
 POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD h= 7.93  
 ASEGURESE DE QUE P<0.10 EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA  
 SE VA A USAR UN VALOR DE t=2.57 PARA EL CALCULO DE  
 LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
		INFERIOR	SUPERIOR		INFERIOR	SUPERIOR
0.01	-1.291954	-1.686543	-1.004250	0.051056	0.020581	0.099026
0.02	-1.057502	-1.408020	-0.800720	0.087599	0.039082	0.158227
0.03	-0.908749	-1.231636	-0.671257	0.123382	0.058663	0.213178
0.04	-0.796848	-1.099169	-0.573647	0.159644	0.079585	0.266903
0.05	-0.705825	-0.991587	-0.494079	0.196868	0.101956	0.320569
0.06	-0.628351	-0.900160	-0.426213	0.235315	0.125846	0.374789
0.07	-0.560420	-0.820120	-0.366583	0.275156	0.151314	0.429949
0.08	-0.499597	-0.748567	-0.313079	0.316521	0.178416	0.486319
0.09	-0.444281	-0.683596	-0.264315	0.359517	0.207207	0.544108
0.10	-0.393362	-0.623889	-0.219329	0.404239	0.237745	0.603491
0.15	-0.182545	-0.377954	-0.031807	0.656834	0.418838	0.929379
0.20	-0.014993	-0.184516	0.119253	0.966065	0.653859	1.315991
0.25	0.128750	-0.020694	0.250979	1.345087	0.953468	1.782294
0.30	0.257837	0.124074	0.371624	1.810660	1.330680	2.353009
0.35	0.377455	0.255598	0.486042	2.384815	1.801351	3.062262
0.40	0.490960	0.377512	0.597505	3.097136	2.385130	3.958265
0.45	0.600778	0.492390	0.708421	3.988212	3.107347	5.110007
0.50	0.708855	0.602328	0.820698	5.115112	4.002470	6.617555
0.55	0.816932	0.709268	0.935972	6.560426	5.119982	8.629221
0.60	0.926750	0.815182	1.055852	8.447924	6.534045	11.372402
0.65	1.040256	0.922213	1.182197	10.971237	8.360134	15.212388
0.70	1.159873	1.032877	1.317477	14.450186	10.786410	20.771946
0.75	1.288960	1.150430	1.465336	19.451804	14.139369	29.196835
0.80	1.432704	1.279647	1.631668	27.083436	19.039115	42.822064
0.85	1.600255	1.428667	1.827145	39.834080	26.832853	67.165364
0.90	1.811072	1.614498	2.074772	64.725027	41.162109	118.787731
0.91	1.861991	1.659175	2.134787	72.776480	45.622122	136.391314
0.92	1.917307	1.707639	2.200058	82.662285	51.008036	158.510604
0.93	1.978131	1.760847	2.271907	95.089095	57.656332	187.028300
0.94	2.046061	1.820185	2.352239	111.188742	66.097436	225.029403
0.95	2.123535	1.887759	2.443958	132.903207	77.225242	277.944739
0.96	2.214558	1.967032	2.551836	163.892166	92.689728	356.316476
0.97	2.326459	2.064335	2.684609	212.060157	115.967280	483.736554
0.98	2.475212	2.193469	2.861323	298.683897	156.123651	726.645843
0.99	2.709665	2.396606	3.140238	512.465376	249.233379	1381.141586

## ANEXO J FLUMETRINA SABANCUY

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	4.05295037	1.73601354	0.38692867	0.61648797
2	4.00577856	1.80720442	0.54553124	0.57603237
3	4.00734274	1.80494313	0.55014332	0.55334083
4	4.00721601	1.80513096	0.54996595	0.55403408
5	4.00722621	1.80511595	0.54997893	0.55397643
6	4.00722540	1.80511715	0.54997785	0.55398103
7	4.00722546	1.80511706	0.54997793	0.55398066

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.011554
0.088539022	-0.104024182	
-0.012017596	0.210040309	

CHI-CUADRADA = 25.9680    CON 3 G.L.  
 NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS  
 POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD h= 8.66  
 ASEGURESE DE QUE P<0.10 EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA  
 SE VA A USAR UN VALOR DE t=2.57 PARA EL CALCULO DE  
 LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
		INFERIOR	SUPERIOR		INFERIOR	SUPERIOR
0.01	-0.738774	-1.001744	-0.548490	0.182485	0.099599	0.282820
0.02	-0.587759	-0.821524	-0.417785	0.258369	0.150826	0.382133
0.03	-0.491945	-0.707399	-0.334639	0.322147	0.196156	0.462766
0.04	-0.419868	-0.621692	-0.271946	0.380305	0.238950	0.534631
0.05	-0.361239	-0.552088	-0.220839	0.435272	0.280486	0.601397
0.06	-0.311337	-0.492937	-0.177245	0.488274	0.321412	0.664898
0.07	-0.267582	-0.441155	-0.138940	0.540030	0.362114	0.726206
0.08	-0.228405	-0.394864	-0.104569	0.591011	0.402843	0.786015
0.09	-0.192774	-0.352833	-0.073242	0.641543	0.443779	0.844809
0.10	-0.159977	-0.314208	-0.044340	0.691868	0.485056	0.902943
0.15	-0.024186	-0.155118	0.076150	0.945832	0.699652	1.191653
0.20	0.083736	-0.029996	0.173229	1.212651	0.933263	1.490146
0.25	0.176324	0.075966	0.257896	1.500803	1.191148	1.810906
0.30	0.259470	0.169603	0.335449	1.817482	1.477756	2.164958
0.35	0.336518	0.254676	0.409010	2.170290	1.797530	2.564540
0.40	0.409629	0.333533	0.480680	2.568198	2.155427	3.024684
0.45	0.480364	0.407832	0.552019	3.022484	2.557596	3.564665
0.50	0.549978	0.478915	0.624263	3.547954	3.012419	4.209820
0.55	0.619592	0.548025	0.698483	4.164778	3.532031	4.994392
0.60	0.690327	0.616421	0.775724	4.901481	4.134477	5.966558
0.65	0.763438	0.685480	0.857192	5.800134	4.847081	7.197668
0.70	0.840486	0.756823	0.944483	6.926051	5.712455	8.800004
0.75	0.923632	0.832546	1.039950	8.387494	6.800575	10.963532
0.80	1.016220	0.915722	1.147403	10.380538	8.236106	14.041159
0.85	1.124142	1.011586	1.273740	13.308896	10.270358	18.781937
0.90	1.259933	1.131065	1.433841	18.194191	13.522736	27.154453
0.91	1.292730	1.159782	1.472651	19.621415	14.447140	29.692769
0.92	1.328360	1.190929	1.514862	21.299060	15.521344	32.723680
0.93	1.367538	1.225123	1.561330	23.309753	16.792813	36.419168
0.94	1.411292	1.263253	1.613287	25.780568	18.333821	41.047557
0.95	1.461195	1.306672	1.672613	28.919786	20.261501	47.055805
0.96	1.519824	1.357602	1.742395	33.099711	22.782512	55.257953
0.97	1.591901	1.420110	1.828286	39.075205	26.309363	67.341935
0.98	1.687715	1.503058	1.942609	48.720885	31.846233	87.621201
0.99	1.838730	1.633527	2.123065	68.981040	43.005758	132.759223

## ANEXO K FLUVALINATO SABANCUY

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	3.93776984	0.60243558	1.05203352	1.10316550
2	3.88525642	0.70565073	1.76322612	1.65992851
3	3.87900723	0.71305149	1.57973844	1.41713168
4	3.87903029	0.71310995	1.57210634	1.40242326
5	3.87902904	0.71311124	1.57194512	1.40230829
6	3.87902906	0.71311124	1.57194404	1.40230577

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS

VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.057160
0.115936073	-0.053231443	
-0.007005027	0.032571812	

CHI-CUADRADA = 22.7971 CON 3 G.L.

NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS

POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD  $h = 7.60$

ASEGURESE DE QUE  $P < 0.10$  EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA

SE VA A USAR UN VALOR DE  $t = 2.57$  PARA EL CALCULO DE

LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	SUPERIOR
0.01	-1.690307	-2.443420	-1.159701	0.020403	0.003602	0.069231
0.02	-1.308040	-1.980203	-0.832800	0.049199	0.010466	0.146960
0.03	-1.065504	-1.686705	-0.624993	0.086000	0.020573	0.237141
0.04	-0.883053	-1.466181	-0.468405	0.130902	0.034184	0.340091
0.05	-0.734644	-1.287003	-0.340831	0.184228	0.051641	0.456214
0.06	-0.608324	-1.134662	-0.232078	0.246420	0.073339	0.586033
0.07	-0.497566	-1.001235	-0.136577	0.318005	0.099716	0.730169
0.08	-0.398396	-0.881900	-0.050935	0.399580	0.131250	0.889335
0.09	-0.308205	-0.773491	0.027075	0.491808	0.168465	1.064328
0.10	-0.225183	-0.673815	0.098999	0.595411	0.211926	1.256027
0.15	0.118547	-0.262611	0.398261	1.313855	0.546247	2.501848
0.20	0.391734	0.061834	0.638473	2.464528	1.153012	4.349835
0.25	0.626103	0.337640	0.847091	4.227690	2.175905	7.032203
0.30	0.836574	0.582415	1.037345	6.863951	3.823091	10.897957
0.35	1.031607	0.805782	1.217097	10.754914	6.394135	16.485287
0.40	1.216674	1.013583	1.391815	16.469254	10.317708	24.649903
0.45	1.395728	1.209696	1.565795	24.873011	16.206746	36.795543
0.50	1.571944	1.397034	1.742682	37.320205	24.947918	55.294476
0.55	1.748160	1.578240	1.925701	55.996343	37.865213	84.275372
0.60	1.927214	1.756182	2.117852	84.569569	57.040302	131.175244
0.65	2.112281	1.934278	2.322276	129.503381	85.956376	210.027279
0.70	2.307314	2.116765	2.542907	202.914865	130.847452	349.065681
0.75	2.517785	2.309172	2.785529	329.446489	203.784778	610.279917
0.80	2.752154	2.519468	3.059657	565.137780	330.726009	1147.247743
0.85	3.025341	2.760997	3.382785	1060.084671	576.762653	2414.263134
0.90	3.369071	3.061319	3.792929	2339.220562	1151.645609	6207.678812
0.91	3.452093	3.133432	3.892415	2831.995330	1359.666334	7805.754809
0.92	3.542284	3.211627	4.000639	3485.651505	1627.897842	10014.730723
0.93	3.641454	3.297450	4.119795	4379.799975	1983.579585	13176.336197
0.94	3.752212	3.393128	4.253044	5652.127892	2472.455248	17907.874049
0.95	3.878532	3.502058	4.405209	7560.172845	3177.296122	25421.932806
0.96	4.026941	3.629809	4.584209	10639.988747	4263.921620	38389.163404
0.97	4.209392	3.786580	4.804550	16195.401434	6117.590236	63760.187126
0.98	4.451928	3.994585	5.097850	28309.222322	9876.080257	125270.903434
0.99	4.834195	4.321719	5.560835	68264.521449	20975.800832	363776.615493

## ANEXO L COUMAFOS SABANCUY

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	3.17442045	1.53049541	0.92102974	0.75340164
2	2.92386842	1.70714686	1.19280302	0.65338321
3	2.92105797	1.70808025	1.21614117	0.58577268
4	2.92135478	1.70782640	1.21712199	0.58545259
5	2.92131017	1.70785805	1.21712911	0.58553961
6	2.92131634	1.70785348	1.21713267	0.58552876
7	2.92131547	1.70785412	1.21713231	0.58553032

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.032288
0.667790979	-0.464863081	
-0.024565878	0.376657831	

CHI-CUADRADA = 56.7694    CON 3 G.L.

NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS  
POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD h= 18.92

ASEGURESE DE QUE P<0.10 EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA

SE VA A USAR UN VALOR DE t=2.57 PARA EL CALCULO DE

LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	SUPERIOR
0.01	-0.145014	-0.425685	0.061396	0.716120	0.375245	1.151849
0.02	0.014601	-0.236965	0.200500	1.034191	0.579475	1.586719
0.03	0.115871	-0.117456	0.288985	1.305783	0.763035	1.945291
0.04	0.192053	-0.027701	0.355695	1.556155	0.938208	2.268274
0.05	0.254021	0.045196	0.410072	1.794821	1.109674	2.570820
0.06	0.306766	0.107150	0.456446	2.026589	1.279823	2.860529
0.07	0.353012	0.161392	0.497188	2.254303	1.450080	3.141865
0.08	0.394421	0.209888	0.533737	2.479823	1.621394	3.417728
0.09	0.432080	0.253929	0.567043	2.704456	1.794440	3.690143
0.10	0.466745	0.294408	0.597762	2.929175	1.969734	3.960608
0.15	0.610269	0.461241	0.725704	4.076331	2.892286	5.317460
0.20	0.724338	0.592672	0.828552	5.300756	3.914463	6.738323
0.25	0.822198	0.704262	0.917952	6.640462	5.061302	8.278505
0.30	0.910080	0.803235	0.999474	8.129804	6.356753	9.987902
0.35	0.991516	0.893597	1.076369	9.806536	7.827024	11.922541
0.40	1.068790	0.977852	1.150823	11.716287	9.502818	14.152154
0.45	1.143554	1.057744	1.224484	13.917264	11.422060	16.768096
0.50	1.217132	1.134628	1.298719	16.486648	13.634144	19.893859
0.55	1.290711	1.209699	1.374766	19.530388	16.206872	23.700987
0.60	1.365475	1.284156	1.453862	23.199292	19.237846	28.435602
0.65	1.442749	1.359335	1.537393	27.717183	22.873649	34.466156
0.70	1.524185	1.436868	1.627116	33.433716	27.344371	42.375639
0.75	1.612066	1.518938	1.725542	40.932326	33.032211	53.154733
0.80	1.709927	1.608801	1.836668	51.277512	40.625749	68.654401
0.85	1.823995	1.712042	1.967707	66.679960	51.527789	92.833956
0.90	1.967519	1.840322	2.134202	92.793893	69.234421	136.207885
0.91	2.002185	1.871104	2.174618	100.504337	74.319645	149.492020
0.92	2.039844	1.904471	2.218597	109.608457	80.254854	165.423249
0.93	2.081252	1.941083	2.267032	120.573659	87.313724	184.940346
0.94	2.127499	1.981885	2.321213	134.121718	95.914595	209.513923
0.95	2.180244	2.028321	2.383106	151.441073	106.738437	241.604952
0.96	2.242212	2.082760	2.455940	174.667361	120.992829	285.719427
0.97	2.318394	2.149536	2.545629	208.158254	141.102891	351.260356
0.98	2.419664	2.238091	2.665067	262.823488	173.018080	462.452766
0.99	2.579279	2.377281	2.853702	379.558813	238.386342	714.005427

## ANEXO M AMITRAZ SABANCUY

1	3.68562749	1.67877589	0.62189957	0.60866770
2	3.63910640	1.73112227	0.78293507	0.59567212
3	3.63936298	1.73137103	0.78613373	0.57765995
4	3.63935509	1.73139517	0.78587258	0.57757695
5	3.63935553	1.73139523	0.78586618	0.57756890

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS

VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.001871
0.012509988	-0.012015533	
-0.012015533	0.019405487	

CHI-CUADRADA = 6.6296 CON 3 G.L.

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	
0.01	-0.557760	-0.794874	-0.380677	0.276847	0.160371	0.416220
0.02	-0.400316	-0.610287	-0.242343	0.397818	0.245309	0.572344
0.03	-0.300422	-0.493520	-0.154228	0.500701	0.320981	0.701087
0.04	-0.225276	-0.405912	-0.087711	0.595284	0.392725	0.817126
0.05	-0.164150	-0.334828	-0.033426	0.685251	0.462564	0.925920
0.06	-0.112123	-0.274474	0.012928	0.772462	0.531528	1.030214
0.07	-0.066505	-0.221685	0.053701	0.858015	0.600227	1.131621
0.08	-0.025660	-0.174536	0.090327	0.942628	0.669058	1.231194
0.09	0.011488	-0.131765	0.123744	1.026804	0.738304	1.329671
0.10	0.045682	-0.092495	0.154607	1.110917	0.808174	1.427602
0.15	0.187254	0.068804	0.283674	1.539055	1.171667	1.921649
0.20	0.299772	0.195027	0.388225	1.994214	1.566849	2.444696
0.25	0.396302	0.301386	0.479849	2.490586	2.001639	3.018905
0.30	0.482988	0.394968	0.564063	3.040804	2.482949	3.664904
0.35	0.563317	0.479765	0.644019	3.658616	3.018321	4.405738
0.40	0.639540	0.558365	0.721754	4.360542	3.617139	5.269316
0.45	0.713288	0.632653	0.798722	5.167587	4.291934	6.291040
0.50	0.785866	0.704153	0.876081	6.107534	5.060028	7.517622
0.55	0.858444	0.774211	0.954880	7.218451	5.945814	9.013223
0.60	0.932191	0.844124	1.036223	8.554434	6.984326	10.869838
0.65	1.008415	0.915262	1.121421	10.195652	8.227388	13.225763
0.70	1.088743	0.989230	1.212206	12.267140	9.755072	16.300690
0.75	1.175430	1.068145	1.311087	14.977185	11.698903	20.468525
0.80	1.271960	1.155163	1.422052	18.705104	14.294315	26.427234
0.85	1.384478	1.255737	1.552252	24.236928	18.019267	35.665781
0.90	1.526050	1.381334	1.717021	33.577642	24.062126	52.121991
0.91	1.560244	1.411547	1.756940	36.328233	25.795704	57.139948
0.92	1.597391	1.444325	1.800351	39.572319	27.817965	63.146749
0.93	1.638237	1.480317	1.848133	43.474727	30.221596	70.490890
0.94	1.683855	1.520460	1.901553	48.289725	33.148185	79.717396
0.95	1.735882	1.566179	1.962543	54.435492	36.828037	91.736627
0.96	1.797008	1.619815	2.034275	62.662494	41.669211	108.211847
0.97	1.872154	1.685655	2.122560	74.499565	48.490349	132.604944
0.98	1.972047	1.773034	2.240063	93.766421	59.297171	173.805415
0.99	2.129492	1.910485	2.425532	134.738598	81.373812	266.398891

## ANEXO N FLUMETRINA CD. VALLES

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	5.48878225	1.12176089	-0.43403213	0.87182964
2	5.48900221	1.12215647	-0.43572766	0.89145558
3	5.48900154	1.12215702	-0.43577008	0.89114133

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.004160
0.004609902	0.001127260	
0.001127260	0.008480999	

CHI-CUADRADA = 0.3173    CON 3 G.L.

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	
0.01	-2.508873	-2.981722	-2.162237	0.003098	0.001043	0.006883
0.02	-2.265949	-2.694118	-1.951088	0.005421	0.002022	0.011192
0.03	-2.111821	-2.511863	-1.816901	0.007730	0.003077	0.015244
0.04	-1.995877	-2.374900	-1.715817	0.010095	0.004218	0.019239
0.05	-1.901566	-2.263596	-1.633488	0.012544	0.005450	0.023255
0.06	-1.821292	-2.168944	-1.563328	0.015091	0.006777	0.027332
0.07	-1.750907	-2.086024	-1.501739	0.017746	0.008203	0.031496
0.08	-1.687886	-2.011844	-1.446529	0.020517	0.009731	0.035766
0.09	-1.630571	-1.944438	-1.396261	0.023411	0.011365	0.040155
0.10	-1.577812	-1.882445	-1.349934	0.026436	0.013109	0.044675
0.15	-1.359377	-1.626434	-1.157471	0.043714	0.023636	0.069587
0.20	-1.185772	-1.423957	-1.003517	0.065197	0.037674	0.099193
0.25	-1.036835	-1.251227	-0.870459	0.091868	0.056075	0.134754
0.30	-0.903084	-1.097152	-0.749929	0.125002	0.079956	0.177857
0.35	-0.779144	-0.955539	-0.637077	0.166286	0.110780	0.230634
0.40	-0.661537	-0.822503	-0.528652	0.218003	0.150486	0.296038
0.45	-0.547751	-0.695371	-0.422168	0.283301	0.201664	0.378297
0.50	-0.435769	-0.572144	-0.315483	0.366632	0.267828	0.483635
0.55	-0.323787	-0.451173	-0.206541	0.474474	0.353856	0.621526
0.60	-0.210001	-0.330918	-0.093179	0.616593	0.466747	0.806902
0.65	-0.092394	-0.209693	0.027057	0.808361	0.617031	1.064283
0.70	0.031545	-0.085352	0.157179	1.075339	0.821576	1.436082
0.75	0.165296	0.045183	0.301251	1.463175	1.109642	2.001017
0.80	0.314234	0.186756	0.465464	2.061740	1.537292	2.920548
0.85	0.487839	0.347883	0.660770	3.074956	2.227836	4.578990
0.90	0.706274	0.546438	0.910688	5.084798	3.519149	8.141201
0.91	0.759032	0.593885	0.971561	5.741592	3.925406	9.366156
0.92	0.816347	0.645251	1.037870	6.551601	4.418259	10.911126
0.93	0.879368	0.701541	1.110969	7.574753	5.029689	12.911283
0.94	0.949753	0.764200	1.192818	8.907443	5.810324	15.588999
0.95	1.030027	0.835431	1.286400	10.715860	6.845901	19.337495
0.96	1.124339	0.918845	1.396619	13.314923	8.295549	24.924063
0.97	1.240283	1.021055	1.532456	17.389328	10.496761	34.076580
0.98	1.394410	1.156460	1.713494	24.797640	14.337041	51.700448
0.99	1.637334	1.369054	1.999652	43.384484	23.391276	99.920012

# ANEXO Ñ FLUVALINATO CD. VALLES

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	5.35790955	0.56881568	-0.76112377	1.58228426
2	5.36428414	0.57768969	-0.62921886	1.75803875
3	5.36437358	0.57801695	-0.63058792	1.73103313
4	5.36437539	0.57802405	-0.63038564	1.73005308
5	5.36437543	0.57802420	-0.63038102	1.73003181

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	
		0.018197
0.003718829	-0.000173016	
-0.000173016	0.005392839	

CHI-CUADRADA = 3.9059 CON 3 G.L.

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	
0.01	-4.655036	-6.227337	-3.702423	0.000022	0.000001	0.000198
0.02	-4.183431	-5.601356	-3.322843	0.000066	0.000003	0.000476
0.03	-3.884213	-5.204433	-3.081770	0.000131	0.000006	0.000828
0.04	-3.659123	-4.906000	-2.900263	0.000219	0.000012	0.001258
0.05	-3.476029	-4.663366	-2.752504	0.000334	0.000022	0.001768
0.06	-3.320188	-4.456942	-2.626641	0.000478	0.000035	0.002362
0.07	-3.183546	-4.276032	-2.516200	0.000655	0.000053	0.003046
0.08	-3.061199	-4.114124	-2.417240	0.000869	0.000077	0.003826
0.09	-2.949929	-3.966943	-2.327171	0.001122	0.000108	0.004708
0.10	-2.847505	-3.831525	-2.244198	0.001421	0.000147	0.005699
0.15	-2.423443	-3.271665	-1.899869	0.003772	0.000535	0.012593
0.20	-2.086412	-2.827965	-1.624948	0.008196	0.001486	0.023717
0.25	-1.797269	-2.448639	-1.387761	0.015949	0.003559	0.040949
0.30	-1.537610	-2.109526	-1.173226	0.028999	0.007771	0.067108
0.35	-1.296997	-1.797178	-0.972535	0.050466	0.015952	0.106528
0.40	-1.068679	-1.503262	-0.779630	0.085373	0.031386	0.166100
0.45	-0.847779	-1.222291	-0.589594	0.141978	0.059939	0.257280
0.50	-0.630381	-0.950662	-0.397684	0.234217	0.112031	0.400235
0.55	-0.412983	-0.686284	-0.198524	0.386382	0.205928	0.633105
0.60	-0.192082	-0.428393	0.014591	0.642566	0.372912	1.034168
0.65	0.036236	-0.176841	0.249861	1.087015	0.665517	1.777711
0.70	0.276848	0.070005	0.516053	1.891683	1.174911	3.281351
0.75	0.536508	0.317961	0.821745	3.439597	2.079509	6.633530
0.80	0.825650	0.578277	1.177942	6.693453	3.786843	15.064046
0.85	1.162681	0.869177	1.605663	14.543917	7.399070	40.333255
0.90	1.586743	1.224914	2.154117	38.613884	16.784703	142.599062
0.91	1.689167	1.309795	2.287625	48.884068	20.407723	193.921091
0.92	1.800437	1.401680	2.432990	63.159247	25.216241	271.012621
0.93	1.922784	1.502380	2.593159	83.711252	31.796560	391.885423
0.94	2.059426	1.614497	2.772392	114.663751	41.162076	592.096137
0.95	2.215267	1.741992	2.977184	164.160030	55.206773	948.819535
0.96	2.398361	1.891363	3.218207	250.242383	77.868695	1652.749175
0.97	2.623451	2.074495	3.515014	420.195101	118.712203	3273.513340
0.98	2.922669	2.317277	3.910229	836.891366	207.623508	8132.594054
0.99	3.394274	2.698821	4.534245	2478.984771	499.828780	34217.262126

## ANEXO O AMITRAZ CD. VALLES

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	5.40684398	0.54274283	-1.27198267	1.65491149
2	5.44666837	0.57077038	-0.74960728	1.84249325
3	5.44917204	0.57253847	-0.78257103	1.75201803
4	5.44924934	0.57258645	-0.78452727	1.74660752
5	5.44925138	0.57258785	-0.78459653	1.74646116
6	5.44925144	0.57258788	-0.78459818	1.74645690

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.047730
0.016970475	0.005036061	
0.001324057	0.010690063	

CHI-CUADRADA = 11.4105    CON 3 G.L.

NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS  
POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD h= 3.80

ASEGURESE DE QUE P<0.10 EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA

SE VA A USAR UN VALOR DE t=2.57 PARA EL CALCULO DE

LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	SUPERIOR
0.01	-4.847464	-5.845575	-4.147418	0.000014	0.000001	0.000071
0.02	-4.371382	-5.267209	-3.741195	0.000043	0.000005	0.000181
0.03	-4.069323	-4.900673	-3.483040	0.000085	0.000013	0.000329
0.04	-3.842096	-4.625215	-3.288567	0.000144	0.000024	0.000515
0.05	-3.657264	-4.401359	-3.130172	0.000220	0.000040	0.000741
0.06	-3.499943	-4.210993	-2.995182	0.000316	0.000062	0.001011
0.07	-3.362003	-4.044226	-2.876674	0.000435	0.000090	0.001328
0.08	-3.238495	-3.895040	-2.770432	0.000577	0.000127	0.001697
0.09	-3.126169	-3.759482	-2.673687	0.000748	0.000174	0.002120
0.10	-3.022773	-3.634815	-2.584519	0.000949	0.000232	0.002603
0.15	-2.594684	-3.120104	-2.213897	0.002543	0.000758	0.006111
0.20	-2.254453	-2.713298	-1.917070	0.005566	0.001935	0.012104
0.25	-1.962565	-2.366675	-1.660036	0.010900	0.004299	0.021876
0.30	-1.700441	-2.058091	-1.426519	0.019932	0.008748	0.037452
0.35	-1.457544	-1.775334	-1.206938	0.034870	0.016775	0.062096
0.40	-1.227058	-1.510923	-0.994680	0.059285	0.030837	0.101232
0.45	-1.004060	-1.259918	-0.784501	0.099069	0.054964	0.164247
0.50	-0.784598	-1.018800	-0.571748	0.164211	0.095764	0.268072
0.55	-0.565136	-0.784705	-0.351972	0.272185	0.164171	0.444660
0.60	-0.342138	-0.554746	-0.120748	0.454843	0.278775	0.757272
0.65	-0.111653	-0.325360	0.126536	0.773299	0.472759	1.338246
0.70	0.131245	-0.091716	0.395229	1.352834	0.809625	2.484445
0.75	0.393369	0.152959	0.692656	2.473825	1.422195	4.927830
0.80	0.685257	0.418712	1.030558	4.844589	2.622480	10.728978
0.85	1.025488	0.722372	1.430533	10.604445	5.276814	26.948413
0.90	1.453576	1.098468	1.939770	28.416868	12.544929	87.050152
0.91	1.556973	1.188613	2.063459	36.055582	15.438795	115.733489
0.92	1.669299	1.286307	2.198068	46.698027	19.333357	157.785652
0.93	1.792807	1.393476	2.346328	62.059322	24.744335	221.987159
0.94	1.930747	1.512894	2.512184	85.260261	32.575721	325.224789
0.95	2.088068	1.648788	2.701647	122.480666	44.543830	503.091138
0.96	2.272899	1.808092	2.924594	187.455991	64.282409	840.609204
0.97	2.500127	2.003500	3.199116	316.319901	100.809230	1581.671601
0.98	2.802185	2.262658	3.564649	634.140489	183.087411	3669.852800
0.99	3.278268	2.670064	4.141833	1897.875898	467.803758	13862.226992

## ANEXO P COUMAFOS CD. VALLES

ITERACION	INTERCEPTO	PENDIENTE	MU	SIGMA
1	4.40207194	0.43951244	-0.05655935	1.29422754
2	4.47240247	0.57450153	1.36043490	2.27524847
3	4.47401931	0.57892601	0.91835705	1.74063941
4	4.47418453	0.57891420	0.90854562	1.72733646
5	4.47418069	0.57892054	0.90827876	1.72737168
6	4.47418106	0.57892028	0.90827544	1.72735278

MATRIZ DE VARIANZAS COVARIANZAS                      VARIANZA ESTIMADA DE MU

INTERCEPTO	PENDIENTE	0.195150
0.085644213	-0.042103262	
-0.002563629	0.068175829	

CHI-CUADRADA = 49.2699    CON 3 G.L.  
 NOTA LAS VARIANZAS Y COVARIANZAS HAN SIDO MULTIPLICADAS  
 POR EL FACTOR DE HETEROGENEIDAD h= 16.42

ASEGURESE DE QUE P<0.10 EN LA PRUEBA DE CHI-CUADRADA  
 SE VA A USAR UN VALOR DE t=2.57 PARA EL CALCULO DE

LIMITES FIDUCIALES

PROB	LOG(DOSIS)	LIMITES FIDUCIALES 95%		DOSIS	LIMITES FIDUCIALES 95%	
INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	INFERIOR	SUPERIOR	SUPERIOR
0.01	-3.110150	-4.175372	-2.417397	0.000776	0.000067	0.003825
0.02	-2.639275	-3.576647	-2.027323	0.002295	0.000265	0.009390
0.03	-2.340520	-3.197322	-1.779287	0.004565	0.000635	0.016623
0.04	-2.115779	-2.912342	-1.592328	0.007660	0.001224	0.025567
0.05	-1.932969	-2.680827	-1.439956	0.011669	0.002085	0.036311
0.06	-1.777368	-2.484023	-1.310013	0.016697	0.003281	0.048976
0.07	-1.640938	-2.311690	-1.195853	0.022859	0.004879	0.063701
0.08	-1.518780	-2.157593	-1.093429	0.030284	0.006957	0.080644
0.09	-1.407683	-2.017645	-1.000081	0.039113	0.009602	0.099981
0.10	-1.305417	-1.889012	-0.913965	0.049497	0.012912	0.121909
0.15	-0.882012	-1.359005	-0.554854	0.131216	0.043752	0.278706
0.20	-0.545502	-0.942230	-0.264987	0.284772	0.114227	0.543266
0.25	-0.256807	-0.589990	-0.010991	0.553596	0.257046	0.975010
0.30	0.002450	-0.280379	0.223818	1.005658	0.524349	1.674241
0.35	0.242691	-0.002042	0.449966	1.748600	0.995308	2.818163
0.40	0.470655	0.251565	0.675066	2.955665	1.784698	4.732233
0.45	0.691214	0.485153	0.904632	4.911494	3.056000	8.028462
0.50	0.908275	0.703392	1.142205	8.096088	5.051174	13.874110
0.55	1.125337	0.911475	1.389934	13.345560	8.155965	24.543350
0.60	1.345895	1.114828	1.649736	22.176613	13.026510	44.641198
0.65	1.573860	1.318855	1.924416	37.485203	20.837943	84.026500
0.70	1.814100	1.529196	2.218560	65.177887	33.821751	165.409474
0.75	2.073357	1.752545	2.539630	118.401574	56.564656	346.441865
0.80	2.362053	1.998274	2.900138	230.172086	99.603419	794.580100
0.85	2.698562	2.282080	3.322975	499.530633	191.460734	2103.656158
0.90	3.121968	2.636589	3.857583	1324.243527	433.100838	7204.155559
0.91	3.224233	2.721907	3.987014	1675.842398	527.116689	9705.416784
0.92	3.335331	2.814486	4.127731	2164.365227	652.357610	13419.325299
0.93	3.457488	2.916166	4.282571	2867.398574	824.453470	19167.749387
0.94	3.593919	3.029601	4.455630	3925.715971	1070.534820	28551.576190
0.95	3.749519	3.158830	4.653148	5617.187652	1441.552547	44993.303875
0.96	3.932329	3.310490	4.885375	8557.146680	2044.041199	76802.428650
0.97	4.157071	3.496722	5.171082	14357.231079	3138.499837	148279.742726
0.98	4.455826	3.743985	5.551180	28564.435743	5546.061677	355779.053166
0.99	4.926700	4.133157	6.150807	84469.602444	13588.032953	1415165.700995

## SUSCEPTIBILITY OF *Varroa destructor* (GAMASIDA: VARROIDAE) TO FOUR PESTICIDES USED IN THREE MEXICAN APICULTURAL REGIONS UNDER TWO DIFFERENT MANAGEMENT SYSTEMS

Sóstenes R. Rodríguez-Dehaibes<sup>1,2</sup>, Gabriel Otero-Colina<sup>3</sup>, Juan A. Villanueva-Jiménez<sup>4</sup> and Pablo Corcuera<sup>1</sup>

1. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No.186, Col. Vicentina, C.P. 09340, Del. Iztapalapa, México, Distrito Federal, Mexico (e-mails: pcmr@xanum.uam.mx and Sostenes.Rodriguez@citrofrut.com.mx); 2. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana., Circunvalación Esq. Yáñez s/n, Col. Unidad Veracruzana, C.P. 91710, Veracruz, Veracruz, Mexico; 3. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Km. 36.5 Carretera México-Texcoco, C.P. 56230, Texcoco, México, Mexico (e-mail: gotero@colpos.mx); 4. Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, Veracruz, México, Km. 88.5 carretera Xalapa – Veracruz, Predio Tepetates, C.P. 91700, Veracruz, Veracruz, MEXICO (e-mail: javj@colpos.mx).

(Received 11 March 2010; accepted 09 September 2010)

**ABSTRACT** – Mexico has five apicultural regions which are defined according to their blooming period and geography. *Varroa destructor* Anderson and Trueman is controlled with pesticides and alternative treatments in all these regions. To determine the concentration-mortality response lines of *V. destructor*, bioassays with four pesticides that are used for its control in the Gulf of Mexico, Yucatan Peninsula and Central-Highland regions were conducted. The Burgerjon spraying tower was used to apply known concentrations of flumethrin, fluvalinate, amitraz and coumaphos. Lethal concentrations 50 (LC<sub>50</sub>) and resistance indexes were calculated with Probit analyses. In the Gulf region, the resistance indexes were: flumethrin, 659.43; fluvalinate, 21.83; amitraz, 12.77; coumaphos, 1.49x. In the Central-Highland region: flumethrin, 243.43; fluvalinate, 19.04; amitraz, 8.56; coumaphos, 1.22 x. In the Yucatan Peninsula region: flumethrin, 4057.32; fluvalinate, 199.57; amitraz, 26.55; coumaphos, 3.93x. These results suggest a resistance to flumethrin, fluvalinate and amitraz, with similar values in migratory beekeeping regions, and higher values in the non-migratory region. Coumaphos remained effective in *V. destructor* populations of the Gulf and Central-Highland regions.

**Key words** – Resistance, Mexico, flumethrin, fluvalinate, amitraz, coumaphos, Burgerjon, migratory, transhumance, *Apis mellifera*.

### INTRODUCTION

Varroosis is a parasitic disease caused by the mite *Varroa destructor* Anderson and Trueman (hereafter Varroa). It is the most damaging disease affecting honey bees (*Apis mellifera* L.) throughout the world (Dietz and Hermann, 1988; Guzmán-Novoa *et al.*, 1999). Since its detection in Mexico in 1992, several chemical treatments have been used to control it, including fluvalinate, flumethrin and amitraz in specific presentation for bees. Home-made treatments

with flumethrin-, coumaphos- and amitraz-based pesticides used for livestock protection, and alternative treatments containing formic acid, oxalic acid or thymol, among others, are also used by beekeepers (Otero-Colina, 1991, 1993; Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 1992; Colin *et al.*, 1994; SAGARPA, 2002).

Inappropriate use of pesticides has resulted in resistant Varroa populations in several countries including Italy, France, USA and Argentina (Colin *et al.*, 1994; Milani, 1995; Elzen *et al.*, 1999a, b; Thompson *et al.*, 2002; Pettis, 2004; Rodríguez-Dehaibes *et al.*,

50 2005; Maggi *et al.*, 2009). In Mexico, resistance to  
 51 flumethrin and amitraz was documented in 2005  
 52 (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005).

53 Mexico has five apicultural regions: North,  
 54 Central-Highland, Pacific, Gulf, and Yucatan  
 55 Peninsula. Each of these is characterized by different  
 56 types of bloom, climate and two management systems:  
 57 fixed or sedentary beekeeping, practiced all year  
 58 round in the same area, and migratory or transhumant  
 59 beekeeping, the most profitable and intensive  
 60 one, in which hives are moved depending on the flowering  
 61 seasons. There are two important transhumant routes  
 62 in Mexico. The first one covers the states of  
 63 Tamaulipas, San Luis Potosí, Jalisco and Zacatecas in  
 64 the North and Pacific apicultural regions, while the second  
 65 and most important one – in the Central-Highland  
 66 and the Gulf regions – covers the states of Veracruz,  
 67 Tlaxcala, Puebla, Mexico, Oaxaca and Morelos, all of  
 68 them renowned for their honey production. Fixed  
 69 beekeeping takes place mainly in the states of Campeche,  
 70 Yucatan and Quintana Roo in the Yucatan Peninsula.  
 71 Almost 50% of Mexican beekeepers belong to this  
 72 region, and contribute more than 35% of the national  
 73 honey production (SAGAR, 2000).

74 All this leads to our first hypothesis: Varroa  
 75 should have similar susceptibility levels to those  
 pesticides used for its control in the apicultural regions

located on the same migratory route due to the intense  
 exchange of bees and, therefore, of mites. We also  
 stated as hypothesis that there must be differences in  
 the susceptibility levels from the Yucatan Peninsula  
 region where beekeeping is sedentary, and has no  
 population exchange, compared to those of the transhumant  
 routes mentioned above.

When estimating levels of resistance, it is important  
 to use the same method to obtain an adequate  
 comparison over time. Pérez Santiago *et al.* (2000) and  
 Rodríguez-Dehaibes *et al.* (2005) used aspiration with  
 the Burgerjon tower to determine lethal concentrations  
 50 (LC<sub>50</sub>) for Varroa. The aim of this research was  
 to determine the LC<sub>50</sub> for Varroa to flumethrin,  
 fluralinate, amitraz and coumaphos in three apicultural  
 regions in order to estimate the resistance in time with  
 respect to geographical variation and management  
 systems.

## MATERIALS AND METHODS

Adult females of Varroa were used in all bioassays.  
 Mites were obtained from bee apiaries in Tejería,  
 Veracruz (Gulf region), Texcoco, Mexico (Central-  
 Highland region) and Sabancuy, Campeche (Yucatan  
 Peninsula region) (Fig. 1); one apiary per region,

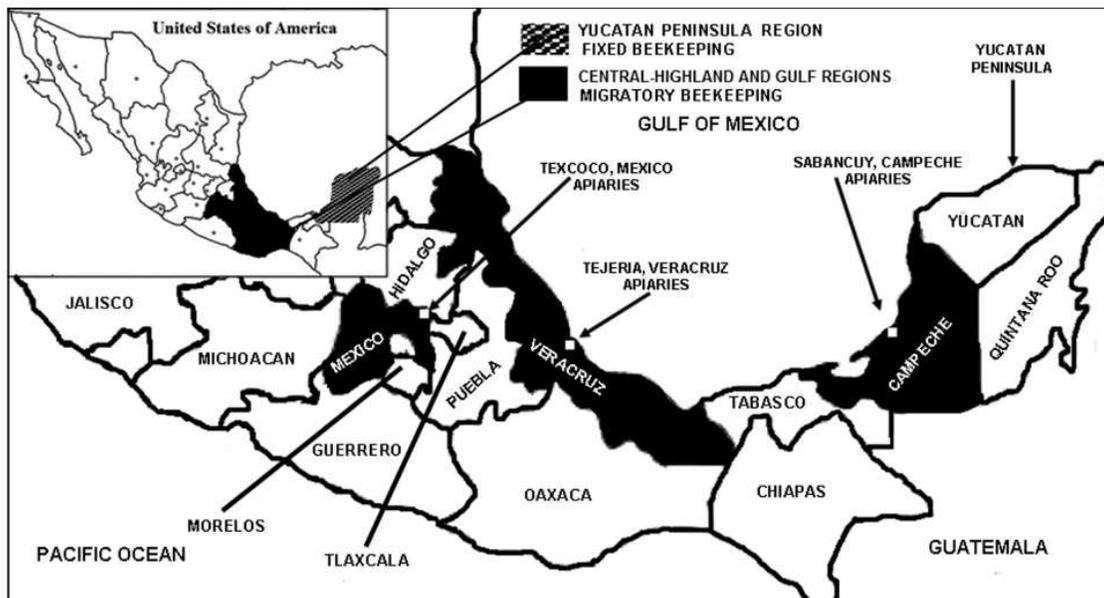


Fig. 1. Location of apiaries, source of Varroa females used in the bioassays, from two of the most important apicultural regions in Southeastern Mexico.

30 hives each one. There is an intense migration or transhumance in the first two regions; beehives are moved between the states of Veracruz, Puebla, Mexico, Tlaxcala, Oaxaca and Morelos, but not in the Yucatan Peninsula region. Mites were collected with a fine brush from capped cells occupied by drone pupae. They were kept in modified disposable Petri dishes (with a ventilation hole) in an incubator chamber at 33°C and 60% R.H, supplied with drone pupae as food for a maximum of 24 h before the bioassays.

The Burgerjon tower (Burgerjon, 1956) was used for bioassays with amitraz (Taktic®, liquid, 12.5%, Hoechst, Frankfurt, Germany), flumethrin (Bayticol®, concentrated emulsion 3%, Bayer, Leverkusen, Germany), fluvalinate (Mavrik® Perimeter 22.3%, flowable liquid, Wellmark, Schaumburg, IL, USA) and coumaphos (Asuntol® liquid 20%, Bayer, Leverkusen, Germany). Pesticide dilutions were prepared with double distilled water as solvent immediately before each bioassay. Pesticides were administered according to the method described by Pérez Santiago *et al.* (2000) and Rodríguez-Deahibes *et al.* (2005). The study was conducted at the Laboratorio de Apicultura de la Posta Zootécnica Torreón del Molino, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, in Veracruz, Mexico.

The interval between the highest concentration that does not kill any Varroa and the lowest concentration that kills an entire population was calculated. Subsequently, five logarithmically separated concentrations within this response range were prepared. Fourteen mites were used per replicate, with four replicates for each dilution. A control, which was sprayed with double distilled water, was also included.

Once treated, mites were placed in modified disposable Petri dishes with three drone pupae as food and a small cotton ball moistened with double distilled water. Specimens were kept in the incubator for 24 h. Mortality was subsequently determined with a stereoscopic microscope. A Varroa was considered dead when it did not move in response to the contact with a fine brush.

Mortality obtained from each dilution of each pesticide per replicate was corrected against the control mortality with Abbott's formula (Abbott, 1925). The logarithmic concentration-mortality lines and the LC<sub>50</sub> were calculated with Probit analysis. Resistance indexes were obtained by dividing the current LC<sub>50</sub> by the lowest LC<sub>50</sub> obtained by Pérez Santiago (1995), Pérez Santiago *et al.* (2000) or Rodríguez-Dehaibes *et al.* (2005). The LC<sub>50</sub> 95% confidence limits overlap was used to determine if a population had a similar response to the toxic (Robertson and Preisler, 1992).

## RESULTS

In the case of the LC<sub>50</sub> of flumethrin from Veracruz and Texcoco obtained in this assay, as well as those from Veracruz collected by Rodríguez-Dehaibes *et al.* (2005), response lines were displaced almost three logarithmic cycles compared to those of Pérez Santiago *et al.* (2000), which are considered the baseline for this study. This finding indicates the development of resistance of Varroa to flumethrin, as shown by high resistance indexes (Table 1). The 95% confidence intervals for Veracruz and Texcoco did not overlap, indicating a significantly higher level of resistance in the first place. The LC<sub>50</sub> found in the Yucatan Peninsula was displaced four logarithmic cycles in relation to the baseline, placing the Yucatan Peninsula as the region with the highest development of resistance to flumethrin.

Populations from Veracruz and Texcoco showed similar LC<sub>50</sub> for fluvalinate, although the slope was steeper in the Varroa population from Veracruz, which means that the population could be more homogeneous in its response to the pesticide. Nevertheless, the 95% confidence limits of these two LC<sub>50</sub> overlapped, suggesting that there is no significant difference between the two Varroa populations. The three slopes were similar when compared to the baseline, although the LC<sub>50</sub>'s in this study were displaced more than one logarithmic cycle which, in the case of fluvalinate, could mean that those Varroa populations are beginning the process of susceptibility loss (Table 1). The slope in the Yucatan Peninsula was less steep, indicating a more heterogeneous response to the toxic. Furthermore, the confidence limits 95% of LC<sub>50</sub> did not overlap, suggesting that resistance level in the Varroa population from Yucatan Peninsula is significantly higher from the baseline and also from the two other populations.

The Veracruz and Texcoco Varroa populations LC<sub>50</sub> for amitraz were very similar (Table 1), and their 95% confidence limits overlapped, indicating that they are not significantly different. On the other hand, LC<sub>50</sub> for the Yucatan Peninsula had a steeper slope compared to that of Veracruz, with no overlap in their confidence limits, indicating a significant difference. The baseline showed a similar slope to that of Veracruz, but was separated from both populations by one logarithmic cycle on its LC<sub>50</sub>, suggesting the development of moderate resistance at Veracruz and Texcoco, and even more at the Yucatan Peninsula.

For coumaphos, Varroa from Veracruz and Texcoco showed similar LC<sub>50</sub>'s and slopes to the baseline (Table 1) and their confidence limits overlap, suggesting similar susceptibility. These results suggest

Table 1. *Varroa destructor* mean lethal concentrations (LC<sub>50</sub>) and resistance indexes to flumethrin, fluvalinate, amitraz and coumaphos, obtained from the Central-Highland, Gulf and Yucatan Peninsula apicultural regions, Mexico. Compared to the baselines and shown by the resistance indexes, significantly higher LC<sub>50</sub>'s of all pesticides were found, except coumaphos in the Gulf and Central-Highland regions. The highest resistance indexes were consistently found in the Yucatan Peninsula.

Pesticides/apicultural regions	LC <sub>50</sub>	Confidence limits 95% (LC <sub>50</sub> )	Slope	Resistance index	
<b>Flumethrin</b>					
Gulf (Tejería, Veracruz, 2006)	0.577	0.4439–0.7648	1.0659	659.43 b	
Central-Highland (Texcoco, Mexico, 2006)	0.213	0.1689–0.2675	1.3153	243.43 b	
Yucatan Peninsula (Sabancuy, Campeche, 2007)	3.550	3.0124–4.2098	1.8051	4,057.14 c	
Baselines: Pérez Santiago <i>et al.</i> , 2000	0.000875	0.0002–0.0065	0.4401	–a	AQ2
<b>Fluvalinate</b>					
Gulf (Tejería, Veracruz, 2006)	4.083	3.3593–5.0336	1.5788	21.83 b	
Central-Highland (Texcoco, Mexico, 2006)	3.560	2.6119–4.7461	1.0857	19.04 b	
Yucatan Peninsula (Sabancuy, Campeche, 2007)	37.320	24.9479–55.2944	0.7131	199.57 c	
Baselines: Pérez Santiago <i>et al.</i> 2000	0.187	0.1253–0.2893	0.8103	–a	
<b>Amitraz</b>					
Gulf (Tejería, Veracruz, 2006)	2.937	2.1527–4.4246	1.0276	12.77 b	
Central-Highland (Texcoco, Mexico, 2006)	1.969	1.6111–2.4331	1.5610	8.56 b	
Yucatan Peninsula (Sabancuy, Campeche, 2007)	6.107	5.0600–7.5176	1.7313	26.55 c	
Baselines: Pérez Santiago <i>et al.</i> 2000	0.23	0.1365–0.3668	0.8813	–a	
<b>Coumaphos</b>					
Gulf (Tejería, Veracruz, 2006)	6.244	5.2373–7.4822	1.9144	1.49 a	
Central-Highland (Texcoco, Mexico, 2006)	5.115	4.0024–6.6175	1.1627	1.22 a	
Yucatan Peninsula (Sabancuy, Campeche, 2007)	16.486	13.6341–19.8938	1.7078	3.93 b	
Baselines: Pérez Santiago <i>et al.</i> , 2000	4.190	2.6305–6.6368	1.1621	–a	

Note: <sup>a</sup>Resistance indexes are significantly different when baselines and compared pesticide LC<sub>50</sub> confidence limits do not overlap.

AQ3

210 that susceptibility levels to the pesticide are either maintained or are very similar to the baselines. The LC<sub>50</sub> seen for the Yucatan Peninsula was displaced less than 1 logarithmic cycle with respect to the baseline, with a resistance index of 3.96.

## DISCUSSION

215

Right after *Varroa* was discovered, two pesticides were authorized in Mexico for their use to protect honey bees: fluvalinate and flumethrin (both from the

220 toxicological group of pyrethroids). Five years later,  
the formamidine pesticide amitraz was authorized  
(SAGARPA, 2002). In addition, beekeepers from several  
regions have prepared homemade products using  
the above mentioned pesticides as well as coumaphos,  
225 an organophosphate, which is used in agriculture and  
livestock protection. The use of these pesticides has  
caused selection pressure and differed from place to  
place (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005).

Varroa's response to the studied pesticides has  
been consistently similar in the Gulf and Central-  
230 Highland beekeeping regions, represented by mites  
collected from Tejería, Veracruz, and Texcoco, Mexico,  
respectively. The reason might be that both popula-  
tions are found within the same migratory route,  
where bee populations and their parasites are constan-  
tly interchanging. The baselines were obtained in  
235 1995 in Córdoba, Veracruz, in the Gulf region, and  
enabled us to compare the evolution of resistance in  
time and in the same migratory route.

Varroa's high rate of resistance to flumethrin  
240 could be due to the beekeepers continuous use of  
homemade preparations with this pesticide (acquired  
from commercial pesticides sold for use in cattle  
regions, as personally seen by the authors). The resis-  
tance index of fluvalinate is relatively lower compared  
245 to that found for flumethrin. Fluvalinate was the  
first pesticide used in 1992 in commercial formulation  
for bees, and beekeepers also used it in homemade  
treatments (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005). Since  
1998, however, there are no agricultural pesticides  
250 in Mexico with fluvalinate as active ingredient, thus  
delaying the development of resistance. Thompson  
*et al.* (2002) found decreased efficacy of flumethrin  
and fluvalinate (2–5%) on Varroa strains presenting  
LC<sub>50</sub> values 13 and 11 times higher than that of a  
255 susceptible strain. Populations in this study subjected  
to flumethrin and fluvalinate had resistance indexes  
from 19 to 4057×, thus are considered resistant to  
these pyrethroids. Extremely high resistance indexes  
have been associated to target site insensitivity, often  
260 associated with other resistance mechanisms. In this  
case, up to four amino acid mutations in the sodium  
channel (Wang *et al.*, 2002) alone, or associated with  
increased monooxygenases (Hillesheime *et al.*, 1996;  
Mozes-Koch *et al.*, 2000), might be responsible for this  
265 exacerbated case of pyrethroid resistance. In the case  
of formamidines (amitraz), resistance indexes above five  
clearly show the development of resistance (Li *et al.*,  
2004), although compared to the pyrethroids, this  
pesticide has been less used. Resistance indexes above  
270 five in the case of formamidines (amitraz), clearly  
show the development of resistance (Li *et al.*, 2004),  
although compared to the pyrethroids this pesticide  
has been less used. It is worth notice that the LC<sub>50</sub>

found by Rodríguez-Dehaibes *et al.* (2005) represents  
275 an intermediate link in the development of resistance  
to amitraz in time, although probably with a more  
homogeneous response to the pesticide.

Compared with all pesticides studied, our results  
regarding coumaphos do not differ from those found  
280 by Pérez in 1995, with a slight increment in the Yucatan  
Peninsula. The low resistance levels in the beekeep-  
ing regions in our study match the scarce use of this  
pesticide. Mexico has not approved the registration of  
coumaphos for bees, and its use as homemade prepara-  
285 tions in our studied regions has been uncommon.

When the resistance indexes of mites collected  
in the Yucatan Peninsula are compared against those  
from the Gulf region and Central-Highland, we  
obtained very high values for flumethrin and fluvali-  
290 nate, possibly due to a couple of factors: the contin-  
uous use of these pesticides, as well as the fact that there  
is no bee hive mobilization in this region, so bee pa-  
rasites are easily selected and have a high degree of genes  
resistant to the used pesticides. Furthermore, both  
295 products are pyrethroids, being more likely to share  
resistance mechanisms (enzymatic or point mutations).  
Likewise, resistance to amitraz and coumaphos is less  
pronounced, although seemingly, there is a resistance  
development for amitraz and incipient in coumaphos.

The continuous presence of various pesticides  
300 accumulated in the wax and pollen in the hive also  
could be responsible of future losses in susceptibility  
of Varroa to this and other pesticides (Mullin *et al.*,  
2010), and must be taken into consideration.

The lack of a comprehensive management pro-  
305 gram for Varroa is evident, and it is supported by  
the resistance indexes found, in a higher degree for  
flumethrin and fluvalinate, and to a lesser extent  
for amitraz. Most ideas to decrease the develop-  
ment of resistance include the rotation of acaricides.  
310 Milani (1999) suggested that rotating chemical and  
non-chemical products, combined with bees resistant  
to Varroa, should delay the onset of resistance. In  
Minnesota, USA, fluvalinate-resistant mites were also  
315 resistant to amitraz, but not to coumaphos (Elzen  
*et al.*, 2000). Thompson *et al.* (2002) did not show cross  
resistance between any of these two pyrethroids and  
amitraz or coumaphos; however they suggested cross  
resistance between flumethrin and fluvalinate, as well  
320 as did Rodríguez-Dehaibes *et al.* (2002) in Veracruz,  
Mexico. Coumaphos as well as alternative treatments  
with different modes of action must be an option in a  
resistance management program for Varroa in Mexico.

#### ACKNOWLEDGMENTS

To the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología  
325 (CONACYT), CITROFRUT S.A de C.V., and

Fundación Produce de Veracruz A.C., for the funding and facilities provided.

This work is part of the PhD thesis carried out by the first author at the Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

#### REFERENCES

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265–267.
- Burgerjon, A. 1956. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized fluids. *Ann. Appl. Biol.* 39: 1–28.
- Colín, 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*. pp. 109–114. *In: Matheson, A. (Ed.). New Perspectives on Varroa*. IBRA, Cardiff, UK.
- Dietz, A. and H. R. Hermann. 1988. *Biology, detection and control of Varroa jacobsoni: a parasitic mite on honey bees*. Lei-Act Publishers, USA. 80 pp.
- Elzen, P. J., J. R. Baxter, M. Spivak and W. T. Wilson. 1999a. Amitraz resistance in varroa: new discovery in North America. *Amer. Bee J.* 139(5): 362.
- Elzen, P. J., G. W. Baxter, M. Spivak and W. T. Wilson. 2000. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos. *Apidologie* 31: 437–441.
- Elzen, P. J., F. A. Eischen, J. R. Baxter, G. W. Elzen and W. T. Wilson. 1999b. Detection of resistance in US *Varroa jacobsoni* Oud (Mesostigmata: Varroidae) to the acaricide fluvalinate. *Apidologie* 30: 13–17.
- Guzmán-Novoa, E., R. Vandame and M. E. Arechavaleta. 1999. Susceptibility of European and Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) to *Varroa jacobsoni* Oud. in Mexico. *Apidologie* 30: 173–182.
- Hillesheim, E., W. Ritter and D. Bassand. 1996. First data on resistance mechanisms of *Varroa jacobsoni* (OUD.) against tau-fluvalinate. *Exp. Appl. Acarol.* 20(5): 283–296.
- Li, Y. A., R. B. Davey, R. J. Miller and J. E. George. 2004. Detection and characterization of amitraz resistance in the Southern cattle tick, *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 41(2): 193–200.
- Maggi, M. D., S. R. Ruffinengo, N. Damiani, N. H. Sardella and M. J. Eguaras. 2009. First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos in Argentina. *Exp. Appl. Acarol.* 47(4): 317–320.
- Milani, N. 1995. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud to pyrethroids; a laboratory assay. *Apidologie* 26(6): 415–424.
- Milani, N. 1999. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud to acaricides. *Apidologie* 30(2–3): 229–234.
- Mozes-Koch, R., Y. Slabezki, H. Efrat, H. Kalev, Y. Kamer, B. A. Jakobson and A. Dag. 2000. First detection in Israel of fluvalinate resistance in the varroa mite using bioassay and biochemical methods. *Exp. Appl. Acarol.* 24(1): 35–43.
- Mullin, C. A., M. Frazier, J. L. Frazier, S. Ashcraft, R. Simonds, D. vanEngelsdorp and J. S. Pettis. 2010. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLoS ONE* 5(3): e9754. doi:10.1371/journal.pone.0009754.
- Otero-Colina, G. 1991. Control de *Varroa jacobsoni* mediante componentes de aceites esenciales. *Avances en la Investigación*. Centro de Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, México. 5–6 pp.
- Otero-Colina, G. 1993. Distribución de *Varroa jacobsoni* en México, perspectivas y control. pp. 100–103. *In: Memorias: aspectos socioeconómicos, técnicos y patológicos de las abejas*, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México.
- Pérez Santiago, G. 1995. Susceptibilidad de *Varroa jacobsoni* Oudemans (Gamasida: Varroidae) a cinco plaguicidas [Master of Science Thesis]. Colegio de Postgraduados, México.
- Pérez Santiago, G., G. Otero-Colina, D. Mota-Sánchez, M. E. Ramírez-Guzmán and R. Vandame. 2000. Comparing effects of three acaricides on *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) using two application techniques. *Fla. Entomol.* 83(4): 468–476.
- Pettis, J. F. 2004. A scientific note on *Varroa destructor* resistance to coumaphos in the United States. *Apidologie* 35(1): 91–92.
- Robertson, J. L. and H. K. Preisler. 1992. *Pesticides bioassays with arthropods*. CRC, Boca Raton, USA. 120 pp.
- Rodríguez-Dehaibes, S. R., J. Moro and G. Otero-Colina. 1992. Varroa found in Mexico. *Amer. Bee J.* 132(11): 728–729.
- Rodríguez-Dehaibes, S. R., G. Otero-Colina, V. Pardio Sedas and J. A. Villanueva-Jiménez. 2005. Resistance to amitraz and flumethrin in *Varroa destructor* populations from Veracruz, Mexico. *J. Apic. Res.* 44(3): 124–125.
- SAGAR (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural). 2000. Situación actual y

- 435 perspectivas de la producción apícola en México  
2000. Centro de Estadística Agropecuaria,  
Dirección General de Ganadería, SAGAR,  
México. 26 pp.
- 440 SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería,  
Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2002.  
Manual de patología apícola. Programa Nacional  
para el Control de la Abeja Africana, México.  
59 pp.
- Thompson, H. M., M. A. Brown, R. F. Ball and M. H.  
Bew. 2002. First report of *Varroa destructor* resis- 445  
tance to pyrethroids in UK. *Apidologie* 33(4):  
357–366.
- Wang, R., Z. Liu, K. Dong, P. J. Elzen, J. Pettis and  
Z. Y. Huang. 2002. Association of novel muta-  
tions in a sodium channel gene with fluvalinate 450  
resistance in the mite, *Varroa destructor*. *J. Apic.  
Res.* 40(1–2): 17–25.

El jurado designado por la Comisión del Doctorado en Ciencias Biológicas  
de la UAM (Unidades Cuajimalpa, Iztapalapa y Xochimilco)

aprobó la Tesis que presentó

**SÓSTENES RAFAEL RODRÍGUEZ DEHAIBES**

El día 6 de enero de 2011

**Sinodales:**

Dr. Pablo Corcuera Martínez del Río (Presidente)



Dra. Ma. Teresa Santillán Galicia (Secretaria)



Dr. Gabriel Otero Colina (Vocal)



Dr. Juan Antonio Villanueva Jiménez (Vocal)



Dra. Laura Guadalupe Espinosa Montaña (Vocal)



Dra. Laura Guadalupe Espinosa Montaña

Profesor Asociado "C" T. C.

F. M. V. Z.- Departamento de Producción Animal:

Abejas, Conejos y Organismos Acuáticos

Universidad Nacional Autónoma de México