

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



PREVALENCIA DE LAS PRINCIPALES PARASITOSIS EN ABEJAS, LA  
EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS, Y SU RELACIÓN CON LA PÉRDIDA DE  
COLONIAS EN LA COMARCA LAGUNERA

Tesis

Que presenta AZUCENA VARGAS VALERO

Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Torreón, Coahuila

Junio 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

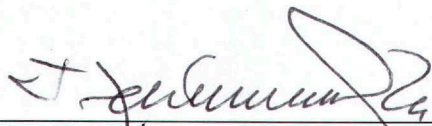


PREVALENCIA DE LAS PRINCIPALES PARASITOSIS EN ABEJAS, LA  
EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS, Y SU RELACIÓN CON LA PÉRDIDA DE  
COLONIAS EN LA COMARCA LAGUNERA

Tesis

que presenta AZUCENA VARGAS VALERO

como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Rafael Rodríguez Martínez  
Director UAAAN

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Octavio Gaspar Ramírez  
Director Externo CIATEJ

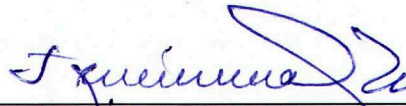
Torreón, Coahuila

Junio 2020

PREVALENCIA DE LAS PRINCIPALES PARASITOSIS EN ABEJAS, LA  
EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS, Y SU RELACIÓN CON LA PÉRDIDA DE  
COLONIAS EN LA COMARCA LAGUNERA

Tesis

Elaborada por AZUCENA VARGAS VALERO como requisito parcial para  
obtener el grado de Doctor en Ciencias en Producción Agropecuaria con la  
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



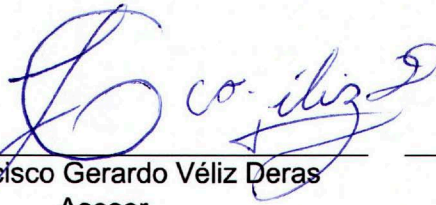
Dr. Rafael Rodríguez Martínez  
Asesor principal



Dr. José Luis Reyes Carrillo  
Asesor



Dr. Alejandro Moreno Reséndez  
Asesor



Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras  
Asesor



Dr. Octavio Gaspar Ramírez  
Asesor



Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán  
Jefa del Departamento de Posgrado



Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente  
Subdirector de Posgrado

## **Agradecimientos**

A Dios, por permitirme llegar a esta etapa de mi vida.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, por la oportunidad y el financiamiento para realizar el doctorado.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por permitir realizar el doctorado y el financiamiento otorgado para realizar la presente investigación.

Al Dr. José Luis Reyes Carrillo, por la confianza y amistad brindada, así también, en la revisión y sugerencias de los artículos y la tesis.

Al Dr. Rafael Rodríguez Martínez, por todo el apoyo brindado, en especial en la revisión y sugerencias de los artículos y tesis.

A mí comité de asesoría: Dr. Alejandro Moreno Reséndez, Dr. Francisco Véliz Deras y el Dr. Octavio Gaspar-Ramírez, por sus sugerencias y recomendaciones en los artículos y tesis.

A todos los profesores, por compartir sus conocimientos.

A los compañeros y amigos, por su amistad y confianza brindada.

A mi familia, por apoyarme en esta etapa de mi vida.

Muchas gracias.

# Carta de aceptación y envío de los artículos para su publicación

## Artículo 1. Aceptado



Sergio Martínez-González <abanicoveterinario@gmail.com>

Para: Azucena Vargas



sáb. 28 de mar a las 17:59



### FORMATO DE ARBITRAJE DE MANUSCRITOS CON FINES DE PUBLICACIÓN

#### FAVOR DE ENVIAR ESTE ARCHIVO EN WORD

Clave del artículo: 2020-7.

Título: **Residuos de plaguicidas en miel y cera de colonias de abejas de La Comarca Lagunera**

#### FUNDAMENTACIÓN

(Aquí escribir la fundamentación del dictamen)

En el texto del manuscrito hice algunas recomendaciones y sugerencias. Aprovecho para hacer unas más; en materiales y métodos no se hace referencia a la fecha de la toma de las muestras de cera y miel, y si se tuvieron repeticiones.

Es una investigación muy importante para el sector apícola nacional, no solo en La Comarca Lagunera, por lo que hago énfasis, en que se especifique el diseño estadístico de la investigación donde resalte que con base al análisis cromatográfico y procedimiento estadístico se llegó a las conclusiones mencionadas; de la identificación de Acetamiprid, ya que se percibe como si desde antes lo supieran, esto resta originalidad, ya que fue mucho el trabajo realizado.

Además, especificar cuál fue el procedimiento cromatógrafo por el cual se identificó cada uno de los plaguicidas reportados en la cera y miel. Se sugiere modificar los cuadros.

También, enriquecer la discusión esta algo corta. Así mismo, en el apartado de literatura citada, de las 37 CITAS, el 54.05% son de 5 años de actualizadas (2015-2019), se recomienda al menos el 80% de citas no mayores a 5 años.

En tanto, bajo la normativa de la presente revista "Abanico Veterinario", y en apego al rigor científico para el arbitraje del presente manuscrito titulado, "Residuos de plaguicidas en miel y cera de colonias de abejas de La Comarca Lagunera", ACEPTO bajo dictamen de CONDICIONADO con modificaciones mayores para su publicación si así lo desea la Revista.

Estamos en atención ante cualquier aclaración de lo antes determinado.

Dr Sergio Martínez González. Móvil Cel [52-311 1221626](tel:52-311-1221626)

ABANICO ACADEMICO

Editor en Jefe de las revistas ABANICO VETERINARIO (Index Conacyt) y ABANICO AGROFORESTAL.

Coordinador del Congreso Internacional Abanico Veterinario, Agroforestal, Pesquero y Acuicola.

<https://abanicoacademico.mx/>

<https://www.facebook.com/abanicoacademico/>

## Artículo 2. Recibido

---

- [RSEA] Envío recibido 2
- 



• **Dr. Santiago Plischuk** <santiago@cepave.edu.ar>

Para: buen día Azucena Vargas Valero

Estimado/a buen día Azucena Vargas Valero:

Hemos recibido su manuscrito "Características del apicultor y parasitosis de las abejas como causas en la pérdida de colonias de La Comarca Lagunera" enviado a la Revista de la Sociedad Entomológica Argentina. Gracias al sistema de gestión de revistas online que usamos podrá seguir su progreso a través del proceso editorial identificándose en el sitio web de la revista:

URL del manuscrito: <https://www.biotaxa.org/RSEA/author/submission/53135>

Nombre de usuario/o: azvava

Su manuscrito será asignado lo antes posible a un Editor. Por favor no dude en contactarnos ante cualquier consulta.

Gracias por tener en cuenta nuestra revista para difundir su trabajo.

Cordiales saludos

Dr. Santiago Plischuk

Revista de la Sociedad Entomológica Argentina

---

Revista de la Sociedad Entomológica Argentina

<http://biotaxa.org/RSEA>

## Índice General

<b>RESUMEN</b> .....	v
<b>ABSTRAC</b> .....	vi
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
<b>1. Importancia de las abejas melíferas como polinizadores</b> .....	3
<b>1.1. La importancia de las abejas para la vegetación silvestre</b> .....	3
<b>1.2. La importancia de las abejas para la agricultura</b> .....	4
<b>2. El Desorden del Colapso de las Colonias</b> .....	5
<b>3. Factores asociados al Desorden del Colapso de las Colonias</b> .....	6
<b>3.1. Reducción del hábitat</b> .....	6
<b>3.2. Cambio climático</b> .....	7
<b>3.3. Presencia de plaguicidas</b> .....	7
<b>3.4. Presencia de patógenos</b> .....	11
<b>REFERENCIAS</b> .....	19
<b>ARTÍCULOS</b> .....	28
<b>Artículo 1</b> .....	28
<b>Artículo 2</b> .....	44
<b>CONCLUSIÓN GENERAL</b> .....	60

## RESUMEN

Las abejas melíferas son importantes para la seguridad alimentaria y el mantenimiento de la biodiversidad. El objetivo fue identificar las causas que ocasionan la disminución de las abejas melíferas en La Comarca Lagunera. De 43 apicultores, se obtuvieron 132 muestras de abejas y de panal con miel y cera, se clasificaron con (CA) y sin (SA) antecedentes de colapso. A éstas se les determinaron las principales parasitosis y plaguicidas. Se utilizó Kruskal-Wallis para el nivel de infestación de las parasitosis, y  $X^2$  para las características y tipología del apicultor. Para los plaguicidas se analizaron cinco muestras de miel y cera de colonias CA y SA, así como dos de miel y de cera bajo colapso; las muestras fueron analizadas por LC-QTOF y GC-MS/MS. No hubo diferencia ( $p > 0,05$ ) en la prevalencia de *V. destructor* y *Nosema* entre colonias CA y SA, así también en los niveles de infestación. Se detectaron en total 24 plaguicidas en miel y cera. El acetamiprid se encontró en el 100% de las muestras. Los resultados reflejan que la presencia de plaguicidas y patógenos pueden contribuir afectando a las abejas. Sin embargo, se requieren más estudios para tener una mejor comprensión de los factores que afectan las pérdidas de colonias de abejas melíferas en la región.

**Palabras clave:** *Apis mellifera*, Desorden del Colapso de las Colonias, Patógenos, Plaguicidas, Prevalencia.



## ABSTRAC

Honey bees are important for food security and biodiversity preservation. The aim was to identify the causes that cause the decrease of honey bees in La Comarca Lagunera. From 43 beekeepers, 132 samples of bees and honeycomb were obtained with honey and wax, classified with (CA) and without (SA) antecedent of collapse. They were determined pathogen and pesticides. Using Kruskal-Wallis for the level of infestation of the pathogens, and  $X^2$  for the characteristics and typology of the beekeeper. For the pesticides, five honey and wax samples from CA and SA colonies were analyzed, as well as two honey and wax samples under collapse; the samples were analyzed by LC-QTOF and GC-MS / MS. There was no difference ( $p > 0.05$ ) in the prevalence of *V. destructor* and *Nosema* between colonies CA and SA, as well as, in the levels of infestation. 24 pesticides were detected in honey and wax analyzed. Acetamiprid was found in all samples. The results reflect that the presence of pesticides and pathogens can contribute affecting bees. However, more studies are required to have a better understanding of the factors that affect the loss of honey bee colonies in the region.

**Key words:** *Apis mellifera*, Colony Collapse Disorder, Pathogens, Pesticides Prevalence.

## INTRODUCCIÓN

Las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) son insectos polinizadores que tienen un papel importante en la actividad agropecuaria, ya que alrededor de un tercio de los cultivos dependen de forma directa de la polinización, aportando al año a la calidad y cantidad de éstos, un valor aproximado de 265 mil millones de dólares; por esta razón, son esenciales para la seguridad alimentaria y el mantenimiento de la biodiversidad (Lautenbach *et al.*, 2012).

Sin embargo, en los últimos años se ha observado un incremento en la disminución de las abejas melíferas debido a una gran diversidad de factores (Brutscher *et al.*, 2016). Estas pérdidas recientes que afectan la actividad apícola son consideradas como un síndrome llamado “*Colony Collapse Disorder*” o Desorden del Colapso de las Colonias (DCC), caracterizado por la pérdida masiva de éstas y en consecuencia la pérdida de miles de colmenas. Se ha mostrado que existen más de 60 factores asociados al DCC (VanEngelsdorp *et al.*, 2009), entre los cuales se tiene una alimentación deficiente, las prácticas de manejo inadecuadas, la reducción del hábitat, el impacto del cambio climático, el uso indiscriminado de plaguicidas y la presencia de patógenos (Staveley *et al.*, 2014; DeGrandi-Hoffman y Chen, 2015; McMenamin y Genersch, 2015).

Los patógenos impactan de diferente forma a las abejas, por ejemplo, *Varroa destructor* afecta el sistema inmunológico, el comportamiento, la orientación y la actividad de las abejas pecoreadoras, además de ser un vector mecánico y biológico de virus (Yang y Cox-Foster, 2007), mientras que *Nosema* spp. afectan el tracto digestivo de las abejas adultas, provocando en las obreras afectadas reducción en el desarrollo de las glándulas hipofaríngeas y menor acumulación de grasa corporal (Fries, 1993; Higes *et al.*, 2008). Por su parte, el ácaro *Acarapis woodi* provoca pérdidas económicas significativas en muchas áreas geográficas. Parasita el sistema respiratorio; vive y se reproduce principalmente en la tráquea protorácica de la abeja, aunque también puede encontrarse en la cabeza y en los sacos aéreos torácicos y abdominales. Este organismo se alimenta de la

hemolinfa de su hospedero y es vector de varios virus de las abejas (Garrido-Bailón *et al.*, 2012).

En cuanto a los plaguicidas, las abejas se exponen cuando buscan los recursos néctar-poliníferos, sobre todo si las colonias están ubicadas cerca de áreas agrícolas (O'Neal *et al.*, 2018). La exposición a dosis subletales de plaguicidas puede afectar el comportamiento de la abeja (El Hassani *et al.*, 2005; Balbuena *et al.*, 2015), el pecoreo (Cresswell y Thompson, 2012; Henry *et al.*, 2012), su longevidad (Wu *et al.*, 2011), la termorregulación (Tosi *et al.*, 2016) así como su aprendizaje olfativo y memoria (Williamson y Wright, 2013; Lu *et al.*, 2014). Los residuos de plaguicidas pueden acumularse en el pan de abeja, miel y cera (Johnson *et al.*, 2010; Lozano *et al.*, 2019) representando un riesgo para los consumidores.

Las pérdidas de colonias de abejas reportadas en regiones de Europa y América del Norte han sido superiores al 30% (VanEngelsdorp y Meixner, 2011). Para el caso de México, en La Comarca Lagunera, del 2010 al 2016 se presentó una disminución del 35 % de las colonias de abejas (SIAP, 2018). Debido, a la disminución de colonias, aunado a la falta de estudios sobre la presencia y niveles de infestación de las principales parasitosis, así como también, la detección de plaguicidas en bajas concentraciones en muestras de miel y cera (Alcantar-Rosales *et al.*, 2016). Por lo anterior, se requiere conocer cuáles pueden ser las causas predeterminantes en la región de La Comarca Lagunera ante la reciente disminución de las abejas melíferas.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### 1. Importancia de las abejas melíferas como polinizadores

Entre la gran diversidad de animales polinizadores que existen en el mundo las abejas son las primordiales, y la especie *Apis mellifera* es el grupo predominante y principal debido a su fácil manejo, su adaptación a diferentes ambientes, su capacidad de recolectar néctar y polen de una gran variedad de plantas, así como también, desde el punto de vista económico obtenido a través de los productos de la colmena (Martins *et al.*, 2015; Gaines-Day y Gratton, 2016; Saturni *et al.* 2016). No obstante, la contribución más importante es la polinización, es decir, la transferencia del polen que se encuentra en el estambre al pistilo, con este esencial papel llevado por las abejas se facilita y mejora la producción de alimentos, se mantiene la biodiversidad y los ecosistemas (Jones y Agrawal, 2017; FAO, 2018).

#### 1.1. La importancia de las abejas para la vegetación silvestre

La polinización es un servicio que las abejas brindan al ecosistema, sin esta función esencial, a través de la cual se transporta con eficacia el polen de una flor a otra, la polinización se vería gravemente afectada (Garantonakis *et al.*, 2016). Kremen *et al.* (2007) reportan que del 60 al 90 % de la vegetación silvestre dependen directa o indirectamente de los insectos polinizadores para su reproducción. Por lo tanto, una reducción de esta especie polinizadora se vería reflejada en una gran amenaza para la diversidad biológica.

El hábitat natural (vegetación silvestre) es primordial ya que proporciona a las abejas sitios de anidación y áreas de pecoreo sobre todo cuando los cultivos agrícolas no están en floración (Miñarro *et al.*, 2018; Simba *et al.*, 2018), con la conservación de estas áreas alrededor de los campos agrícolas se incrementa la diversidad y abundancia de las abejas (Alomar *et al.*, 2018) mejorando el servicio de polinización.

## 1.2. La importancia de las abejas para la agricultura

La abundancia y diversidad de las abejas aseguran una provisión sostenida de servicios de polinización a una gran diversidad de especies vegetales y una mejor alimentación humana (FAO, 2018). Sin embargo, la agricultura se ha extendido rápidamente a lo largo de las últimas décadas con la llamada agricultura intensiva, poniendo en peligro algunas especies de abejas y la incapacidad de polinizar adecuadamente grandes extensiones de cultivos (Klein *et al.*, 2007) en base a esto, Hass *et al.* (2018) mencionan que los sistemas agrícolas a pequeña escala pueden estimular a los polinizadores y mejorar la reproducción de las plantas.

Una estimación global sugiere que la producción de más del 87.5 % de las plantas angiospermas dependen principalmente de los insectos polinizadores como las abejas (Ollerton *et al.*, 2011; Ollerton, 2017) y un tercio de los cultivos agrícolas dependen de la polinización, por lo que para complementar esta actividad los agricultores rentan colmenas de abejas, del cual hay una mejora en la producción del 75 % (Kremen *et al.*, 2007). Sin lugar a dudas los productores agrícolas de los Estados Unidos de América y de Europa son quienes tienen claramente identificado el beneficio económico de la polinización y en ese sentido, ante la amenaza de la disminución de la diversidad de abejas como polinizadores a nivel mundial se le ha dado un valor económico a la polinización de 265 mil millones de dólares anuales (Lautenbach *et al.*, 2012), con esto se hace evidente la dependencia de las abejas como polinizadores en el sistema alimentario.

A pesar de que los cereales se autopolinizan o son polinizados por el viento se ha demostrado que con la polinización por insectos como las abejas, éstos tienden a incrementar la calidad y cantidad de la producción (Nicole, 2015), sin embargo, cultivos como las nueces, las frutas, las verduras, las oleaginosas y algunos forrajes utilizados para la producción de carne y derivados, serían gravemente afectados por el descenso de los polinizadores (Spivak *et al.*, 2011).

## 2. El Desorden del Colapso de las Colonias

La actividad apícola ha existido desde la antigüedad, no obstante, a finales del siglo XIX se empezó a tecnificar pasando a ser una actividad más intensiva, incrementando el número de colmenas y por consiguiente los problemas sanitarios se hicieron más visibles y frecuentes. A pesar de esto, el conocimiento sobre el manejo apícola ha establecido prácticas de manejo sanitario donde pueden coexistir las abejas y los problemas sanitarios (Kurze *et al.*, 2016).

Documentalmente las pérdidas de colonias de abejas han ocurrido hace más de 100 años. Desde 1869 se han registrado al menos 18 episodios de pérdidas de colonias, por ejemplo, en 1905 y 1919 el 90 % de las colonias de abejas murieron en la Isla de Wight en el Reino. Así también, en 1910 Australia reportó el 59 % de pérdidas y para 1975 volvió a reportar altas pérdidas (Underwood y VanEngelsdorp, 2007). Sin embargo, en las últimas décadas, los fenómenos de este tipo se han observado en mayor frecuencia (Brutscher *et al.*, 2016), el término empleado al fenómeno es el DCC (VanEngelsdorp *et al.*, 2009), expresión acuñada en EUA para definir un síndrome que se caracteriza por: a) la muerte de parte o toda la colonia, con presencia de abejas muertas dentro o cerca de la colmena; b) la desaparición de parte o toda la colonia, con abandono de las reservas de alimento y las crías; y c) el debilitamiento de la colonia, caracterizada por un lento desarrollo durante la primavera, bajo condiciones óptimas (Simon-Delso *et al.*, 2014).

El DCC fue notificado por primera vez en el 2006 en los Estados Unidos de América registrando pérdidas superiores a la tercera parte de sus colonias de abejas (VanEngelsdorp *et al.*, 2009; Spivak *et al.*, 2011; Brutscher *et al.*, 2015; Brutscher *et al.* 2016) de igual manera en el continente europeo se presentó una situación similar (Faucon *et al.*, 2002). Así también, se han reportado considerables pérdidas en Canadá, China y otras partes de Asia (Van der Zee *et al.*, 2012, 2014).

En México el DCC es considerado un problema emergente sin estadísticas oficiales sobre la afectación, así como también, la información sobre los factores

que favorecen el colapso de las colmenas es insuficiente. Algunos estudios reportan la presencia de plaguicidas en muestras de miel y cera (Pérez, 2012; Valdovinos-Flores *et al.*, 2017). Para el caso de la región de La Comarca Lagunera del 2010 al 2016 se presentó una disminución del 35 % de las colonias de abejas (SIAP, 2018) sin conocer las causas que originaron la disminución.

### **3. Factores asociados al Desorden del Colapso de las Colonias**

Existen diversos factores asociados al DCC ya sean bióticos o abióticos pero ninguno de ellos ha sido reconocido como el único responsable, se considera un problema multifactorial en el que varios factores interactúan ocasionando el colapso; entre los principales se encuentra una alimentación deficiente, prácticas de manejo inadecuadas, reducción del hábitat, cambio climático, exposición a plaguicidas, la presencia de patógenos como el ácaro *Varroa destructor* y el microsporidio *Nosema* spp., así como también, la sinergia entre los diversos factores (Staveley *et al.*, 2014; DeGrandi-Hoffman y Chen, 2015; McMEnamin y Genersch, 2015). A continuación, se presentan los principales factores que participan en la pérdida de las colonias.

#### **3.1. Reducción del hábitat**

La modificación del paisaje a través de la fragmentación, degradación y destrucción de hábitats naturales, la instauración de nuevos hábitats antropogénicos, las prácticas agrícolas intensivas, y las grandes extensiones de monocultivos influyen negativamente en la interacción planta-polinizador a escala individual, poblacional y comunitaria (Kremen *et al.*, 2007; Goulson *et al.*, 2015).

Las abejas alimentadas con las dietas poliflorales presentan mayor inmunidad en comparación con las dietas monoflorales, por tanto, la disponibilidad y abundancia de recursos néctar-poliníferos proporciona una nutrición adecuada y por efecto una mayor inmunidad impactando directamente la salud de las abejas melíferas (Alaux *et al.*, 2010), como resultado del cambio de uso de suelo está afectando gravemente a los polinizadores y en especial a las abejas.

### **3.2. Cambio climático**

A nivel mundial el cambio climático es aceptado como una de las mayores amenazas a la biodiversidad, las altas temperaturas, sequías, tormentas, inundaciones, entre otros eventos climáticos extremos, han provocado cambios fenológicos y desajustes entre las poblaciones de plantas y polinizadores que posteriormente pueden llevar a la extinción de ambos (Bellard *et al.*, 2012; FAO, 2018).

Con el incremento de los eventos climáticos extremos se espera que tengan un gran impacto en las comunidades locales de polinizadores como las abejas (Goulson *et al.*, 2015). Así como también, éste modificará los patrones de floración, desplazando el periodo de floración de la vegetación de importancia como fuente de alimento para las abejas. Se estima que del 17 al 50 % de las especies polinizadoras sufrirán escasez de alimento a causa de alteraciones en los patrones de floración de las plantas (Memmott *et al.*, 2007).

### **3.3. Presencia de plaguicidas**

Debido al uso indiscriminado de plaguicidas, éstos han sido señalados por las autoridades sanitarias, el sector apícola, y la opinión pública como los principales responsables en la mortalidad de los polinizadores principalmente las abejas (Hladik *et al.*, 2016), éstas se exponen a los plaguicidas cuando buscan el néctar, polen y el agua de la gutación de las plantas, sobre todo si las colonias están ubicadas cerca de áreas agrícolas (O'Neal *et al.*, 2018).

Los impactos de los plaguicidas sobre las abejas varían de acuerdo a las condiciones ambientales. Las bajas temperaturas y una dieta baja en proteínas aumentan la susceptibilidad de las abejas a la intoxicación (Archer *et al.*, 2014; Schmechl *et al.* 2014). Los efectos subletales observados para dosis bajas de plaguicidas en las abejas son diversos, por ejemplo, estudios han demostrado que la exposición a dosis subletales de plaguicidas pueden afectar el comportamiento de la abeja (El Hassani *et al.*, 2005; Balbuena *et al.*, 2015), el pecoreo (Cresswell y Thompson, 2012; Henry *et al.*, 2012), su longevidad (Wu *et*



*al.*, 2011), la termorregulación (Tosi *et al.*, 2016) así como su aprendizaje olfativo y memoria (Williamson y Wright, 2013; Lu *et al.*, 2014).

Los residuos de plaguicidas pueden acumularse en el pan de abeja, miel y cera (Johnson *et al.*, 2010; Lozano *et al.*, 2019). La cera de abejas presenta la capacidad de almacenamiento residual de plaguicidas (Benuszak *et al.*, 2017). Por tanto, de un panal contaminado los residuos pueden transferirse a la miel almacenada, presentando un riesgo para los consumidores, también, el consumo de “miel en panal” o como aditivo de alimentos en el tratamiento de frutas, suplemento alimenticio o como saborizante (Wilmart *et al.*, 2016).

Los plaguicidas más utilizados en la agricultura y por lo tanto lo de mayor presencia en el interior de la colmena son los herbicidas, acaricidas y fungicidas, aunque los que han sido señalados como los principales causantes de la mortalidad de las abejas son los insecticidas de la familia de los neonicotinoides (Botías y Sánchez-Bayo, 2018; Ostiguy *et al.*, 2019).

Los neonicotinoides se comercializaron por primera vez en 1991, su uso ha crecido rápidamente hasta convertirse en el insecticida más utilizado en todo el mundo. Su popularidad comenzó a incrementarse en los primeros años del 2000 registrándose en 120 países con más de 140 usos agrícolas (Jeschke *et al.*, 2011). Pertenecen a la familia de insecticidas sintéticos derivados de la nicotina del cual se debe su nombre, presentando un modo de acción similar con la desventaja que la nicotina para el mismo fin se degrada fácilmente, y es por ello, del surgimiento de los neonicotinoides, los cuales presentan mayor persistencia. La clasificación de estos insecticidas presenta variaciones entre generaciones, utilizado una variedad de términos para subdividir esta clase química basada en fragmentos estructurales, para tal caso se clasifican en tres generaciones diferentes. La primera generación formada por acetamiprid, imidacloprid, nitenpyram y tiacloprid, su característica estructural es un anillo heterociclo 6 cloro-3-piridilo. La segunda generación compuesta por clotianidina y tiametoxam, su característica es que contienen un anillo 2-cloro-5-tiazolil y la tercera

generación formada por dinotefuran, la cual presenta la característica de un anillo 3-tetrahidrofuranyl (Nauen y Jeschke, 2010; Jeschke *et al.* 2011).

Los insecticidas neonicotinoides son neurotoxinas que actúan interfiriendo sobre el sistema nervioso central del insecto, específicamente sobre el receptor de acetilcolina nicotínico post-sináptico impidiendo la transmisión de los impulsos nerviosos, causando en pocas horas modificación en su comportamiento llegando a la parálisis debido a la interrupción de los impulsos nerviosos y posteriormente la muerte (Jeschke *et al.*, 2011; Anderson *et al.*, 2015).

Su aceptación de los neonicotinoides en el mercado se debe a la presencia de un amplio espectro de eficacia en el control de insectos chupadores, como áfidos, moscas blancas, arañas, algunos microlepidópteros, coleópteros, y termitas entre otros. Presentan una acción sistémica y translaminar, son potentes a bajas dosis, proporcionan control a largo plazo y presentan con una pronunciada actividad residual (Jeschke *et al.*, 2011).

Otra de las ventajas atribuidas al éxito de los neonicotinoides, es su versatilidad en sus formas de aplicación, ya que pueden ser aplicados en irrigación de agua por goteo, en cultivos hidropónicos, por inyección en troncos, aplicación directa al suelo (gránulos), aplicación foliar con spray, dispersión de aceites y para tratar las semillas formando una capa de recubrimiento sobre el grano (Jeschke *et al.*, 2011). Los neonicotinoides más usados en la agricultura (imidacloprid, clotianidina y tiametoxam), son empleados principalmente para tratar semillas, aplicación sobre el suelo (gránulos) y en el tratamiento foliar de la mayoría de cultivos y cereales. Sin embargo, estos últimos tres neonicotinoides han sido temporalmente prohibidos por la Comisión Europea, debido a la creciente preocupación por el riesgo que llegan a ocasionar a las abejas melíferas y en general a todos los polinizadores (Brandt *et al.*, 2016). Sin embargo, su uso y aplicación en México es libre no teniendo restricción alguna.

Los neonicotinoide al tener la característica de ser sistémicos, es decir, al ser aplicados no se mantienen en el exterior de la planta, sino que, por su capacidad de traslocación, se distribuye en el tejido vascular de toda la planta

proporcionando protección contra los insectos herbívoros. Así también, se encuentran en la planta cuando alcanza el proceso de gutación que consiste en la excreción de gotas de agua desde el interior de la planta hasta la superficie de las hojas, finalmente los residuos de los neonicotinoides llegan a estar presentes en el polen y néctar (Douglas y Tooker, 2015). Sin embargo, dependiendo del método de aplicación y tipo de cultivo aproximadamente el 1.6 % al 28 % del ingrediente activo será absorbido por el cultivo (Robin y Stork, 2003), mientras que la mayor parte se dispersa en el medio ambiente, el suelo, el agua y otra parte se disipa. En base a esto se ha encontrado que los neonicotinoides representan un riesgo significativo para las aguas superficiales y la diversidad de la fauna acuática y terrestre (Anderson *et al.*, 2015; Morrissey *et al.*, 2015).

Recientemente, a nivel mundial se ha prestado especial atención a los efectos que estos insecticidas pueden tener sobre los insectos polinizadores como las abejas, existiendo controversias donde hay estudios que demuestran que las abejas no se ven afectadas por este tipo de compuestos (Cutler y Scott-Dupree 2007; Chauzat *et al.* 2009) mientras que otros demuestran su alta toxicidad ocasionando efectos sub-letales (Brandt *et al.*, 2016), contradicciones que pueden estar relacionadas con las diferentes formas de realizar los estudios, por ejemplo, experimentos llevados a cabo en laboratorios, en jaulas experimentales, en invernaderos o bajo condiciones de campo, así como también, con diferentes tiempos de exposición, sometiéndolos a condiciones extremas las cuales no reflejan las condiciones reales de exposición a los plaguicidas.

Por otro lado, además de la toxicidad y los efectos subletales para las abejas, es necesario mencionar que existe otro efecto asociado a los neonicotinoides, el cual consiste en el sinergismo entre los plaguicidas y la infección por *Nosema ceranae* haciendo que las colonias sean más susceptibles llegando a ocasionar el colapso (Van der Sluijs *et al.*, 2013). Los efectos sinérgicos de los plaguicidas no solo ocurren con los microsporidios de *N. cerana*, sino que también, se ha registrado con otros parásitos como el ácaro *Varroa* y la presencia de virus (Brutscher *et al.*, 2016), así como el efecto combinado de dos o más de estos

factores, los cuales afectan severamente y debilitan significativamente el sistema inmune, y las reservas energéticas de las obreras se ven afectadas en el rendimiento, de esta manera son altamente susceptibles a la pérdida de las colonias (Dainat *et al.*, 2012) favoreciendo el colapso de las colmenas (Sanchez-Bayo y Goka, 2014).

### **3.4. Presencia de patógenos**

La relación entre la presencia de patógenos y el colapso de las colonias no está bien definida, pero investigaciones reflejan una alta prevalencia de patógenos en colonias colapsadas perdiendo parte o la totalidad de la población de abejas (Smith *et al.*, 2013). Entre los principales patógenos se encuentra el ácaro *Varroa destructor* y el microsporidio *Nosema* spp.

#### **3.4.1. *Varroa destructor***

La varroosis es una parasitosis externa causada por el ácaro *Varroa destructor*, afecta a la cría y a las abejas adultas. Esta parasitosis causa grandes pérdidas económicas a la apicultura y es considerada como el problema sanitario más importante a nivel mundial (Dainat *et al.*, 2012; Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2012; Meixner *et al.*, 2014).

**Ciclo biológico de *V. destructor*.** Parasitosis la cual se caracteriza por presentar dos fases en el ciclo de vida de *V. destructor* la fase forética y reproductiva. La fase forética es la etapa durante la cual las hembras adultas de *Varroa* se encuentran parasitando a las abejas adultas, utilizándolas como medio de transporte y diseminación. La fase reproductiva sucede dentro de las celdas donde se desarrollan las crías. Los machos y las etapas ninfales son de corta duración, solo se pueden encontrar dentro de las celdas operculadas (Rosenkranz *et al.*, 2010).

El ciclo de *Varroa* comienza cuando los ácaros que parasitan a las abejas adultas se alimentan de la hemolinfa. El estrecho contacto entre las abejas permite que el ácaro infeste abejas nodrizas, mismas que al alimentar a las larvas, propician la entrada de ácaros hembras a las celdas poco tiempo antes de que sean

operculadas (15-20 h antes en celdas de obreras y 40-50 h antes en celdas de zánganos). Una vez que penetra a la celda, el ácaro se sumerge al fondo del alimento larval, para protegerse de la acción de remoción por parte de abejas obreras higiénicas. La tasa de infestación es de 8 a 10 veces mayor en la cría de zánganos en comparación con la cría de obreras (SAGARPA, 2010).

Aproximadamente 60 h después de que la celda es operculada, el ácaro sube al cuerpo de la prepupa e inicia su postura en ella. La postura de la hembra fundadora de *Varroa* es estimulada por la hemolinfa que succiona del cuerpo de la prepupa. En condiciones normales, del primer huevo se desarrolla un macho (que al igual que en las abejas se desarrolla partenogénicamente, sin necesidad de que el huevo sea fertilizado) y de los subsecuentes eclosionan hembras. Una vez depositado el primer huevo, los siguientes son puestos a intervalos de aproximadamente 30 h. En total, se generan un macho y tres a cuatro hembras en una cría de obrera, mientras que en una cría de zángano (que son preferidas por los ácaros, por tener un periodo de operculado más largo que el de las obreras), pueden generarse un macho y cinco a seis hembras, aunque no todos estos descendientes alcanzan la madurez reproductiva dentro del tiempo durante el que la celda se mantiene operculada. La viabilidad reproductiva de la progenie de *Varroa* depende de que los ácaros descendientes alcancen el estadio adulto y logren aparearse. Por ello, entre más dure el tiempo de operculado de la celda, más ácaros serán reproductivamente viables. En condiciones normales es factible que se desarrollen un macho adulto y hasta dos hembras reproductivamente viables dentro de una celda de obrera, mientras que en una celda con cría de zángano (que dura tres días más operculada) se podrían producir un macho y tres a cuatro hembras fecundas (SAGARPA, 2010).

Durante su desarrollo, el ácaro pasa por varios estadios secuenciales que son huevo, protoninfa, deutoninfa y adulto. Durante las primeras horas de la etapa adulta ocurre el apareamiento de los ácaros. Las hembras de *Varroa*, al igual que las abejas reinas, poseen una espermateca para almacenar los espermatozoides del macho, mismos que utilizan para fertilizar huevos que darán lugar a hembras.

Cuando las abejas alcanzan el estadio adulto emergen de las celdas junto con las hembras fecundas de *Varroa*; el macho y los estadios inmaduros quedan dentro de la celda y mueren poco tiempo después, o bien, salen de la celda junto con la abeja, pero también mueren en poco tiempo. El macho muere de inanición debido a que sus estructuras bucales le sirven como órgano copulador, por lo que no pueden usarlos para alimentarse. Después de salir de la celda, las hembras fecundas del ácaro pueden inmediatamente infestar otras celdas, o parasitar abejas adultas con las que pueden transportarse e infestar otras colonias. El ciclo completo (de huevo a adulto) dura aproximadamente seis a siete días. Una hembra de *Varroa* puede realizar 1.5 ciclos reproductivos en promedio en condiciones normales, pueden llegar a vivir de dos a ocho meses en el interior de la colmena. La población del ácaro aumenta rápidamente conforme aumenta la cantidad de cría en la colmena, porque ello favorece su reproducción (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2012).

**Mecanismos de transmisión.** La transmisión o dispersión de *V. destructor* entre colmenas sucede por factores internos y externos. Los factores internos son aquellos relacionados con la biología de las abejas (la deriva, el pillaje, el ingreso sin restricción de zánganos a diferentes colmenas, o la invasión de enjambres). Los factores externos, que favorecen su dispersión, son las prácticas inadecuadas de manejo (intercambio de panales con cría y abejas entre colonias infestadas y sanas, la introducción de reinas con obreras infestadas, el movimiento de colmenas infestadas a apiarios con bajos niveles de infestación) (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2012).

**Daños provocados por *V. destructor*.** La parasitosis se caracteriza por debilitar las colonias de abejas, debido a la desnutrición causada por la disminución del contenido proteico. Las abejas parasitadas presentan sintomatología nerviosa, pérdida de la habilidad en el vuelo, dificultad en la capacidad de aprendizaje, adelanto de la edad de pecoreo y comportamiento anormal, reflejado ausencias prolongadas a la colonia y en ocasiones no regresando (Fuchs *et al.*, 2006). Además la parasitosis provoca un estado de inmunosupresión que favorece la

acción sinérgica de otros agentes biológicos, principalmente virus como el Virus de las Alas Deformes (DWV), virus de la parálisis aguda israelí (IAPV), virus de la parálisis aguda (ABPV) y virus de la cría ensacada (SBV) (Rosenkranz *et al.*, 2010).

Todos los síntomas anteriormente mencionados, dependen del grado de infestación, a niveles elevados ocasionan que la cantidad de tejido graso de las abejas adultas disminuya incrementando su sensibilidad a ciertos plaguicidas (Le Conte y Mondet, 2017; Fries *et al.*, 2003), lo que puede llegar al colapso de la colonia (Di Prisco *et al.*, 2016) reflejándose un descenso repentino de la población adulta, malformaciones en las obreras restantes, cría salteada, alteración de la capacidad reproductiva, retraso en el reemplazo generacional, incremento y asociación a otras enfermedades (Fries *et al.*, 2003). Sin la aplicación de un tratamiento efectivo a tiempo, en contra a los altos niveles de infestación, la mayoría de las colonias se colapsan en un período de tiempo de 2-3 años (Spivak *et al.*, 2011).

#### **3.4.2. *Nosema spp.***

El microsporidio *Nosema spp.* y en especial *Nosema ceranae* se le atribuye al colapso de las colmenas, patógeno ampliamente extendido a nivel mundial y causante de numerosas pérdidas económicas tanto de forma individual como asociada a otros agentes. Afecta principalmente a las abejas adultas pecoreadoras (Paxton *et al.*, 2007; Higes *et al.*, 2008).

**Ciclo biológico de *Nosema spp.*** La infección por *Nosema spp.*, inicia por medio de la ingestión de esporas a través de alimentos contaminados (miel y polen), los cuales al llegar al ventrículo (estómago de las abejas) germinan por efecto del jugo digestivo y se expulsa el filamento polar enrollado dentro, permitiendo que penetre a las células epiteliales del ventrículo y el contenido de la espora pasa a través de este filamento inyectándose en el interior de las células (Fries, 1993).

Las esporas del protozoario presentan una forma ovalada de aproximadamente 4 a 6 micras de largo por 2 a 4 micras de ancho, bajo la luz del microscopio electrónico de barrido las esporas (*N. apis* y *ceranae*) pueden ser diferenciadas

(Ptaszyńska *et al.*, 2014), en su interior de la espora contiene un esporoplasma con dos núcleos haploides y dos vacuolas; una superior denominada polaroplasto y otra posterior que contiene una estructura enrollada en forma de hélice llamada filamento polar. En la parte anterior existe una estructura denominada micrópilo o casquete polar por donde se produce la apertura de la espora (Fries, 1993).

Una vez en el interior de la célula, el contenido de la espora pasa por un proceso de maduración, y en el citoplasma de la célula huésped los dos núcleos del esporoplasma se fusionan y se transforman en un meronte, conocido como célula madre. Posteriormente, éste se divide asexualmente, originando merozoítos o células hijas, proceso que se conoce como merogonia (existiendo dos ciclos merogónicos). Y en seguida inicia la fase de formación de esporas o esporogonia, donde los merozoítos se diferencian en esporontes, y cada uno produce dos esporoblastos, que una vez maduros originan las esporas. Cuando las esporas maduran, las células epiteliales del ventrículo se dilatan y rompen, las esporas son liberadas en la luz del intestino para llevar a cabo la reproducción y germinación de nuevas esporas, pueden reinfectar a otras células epiteliales y aumentar la infección en la abeja o salir al exterior con las heces. Para completar el ciclo biológico, la espora debe estar bajo condiciones óptimas de temperatura, durante las 48 a 60 hr posteriores a la infección. La temperatura es un factor importante para la multiplicación y germinación de las esporas, se puede encontrar una actividad limitada de las esporas por debajo de los 20 °C y por arriba de los 35 °C, presentando una temperatura óptima para su desarrollo y multiplicación entre los 30 y 35 °C (Fries, 1993).

**Mecanismos de transmisión.** Las esporas del patógeno *Nosema* se transmite de dos formas (indirecta y directa), la forma indirecta se presenta cuando una abeja sana entra en contacto con material o alimento contaminado con esporas, como sería el contacto con residuos fecales depositados en paredes, pisos y panales como resultado de la introducción de material biológico (reinas u obreras) infectado; prácticas de manejo inadecuado como el intercambio de panales de una colonia sana a una enferma o revisar primeramente las colonias infestadas



y posteriormente las sanas; y a través del pillaje de una colonia infestada a una colonia sana (Fries, 1993; Rangel *et al.*, 2016). La forma de transmisión directa es menos frecuente y se presenta a través de la trofalaxis (intercambio de alimento), por este medio, la infección se puede presentar en obreras, reinas y zánganos, los cuales presentan la misma sensibilidad como las obreras y la reina (Fries, 1993).

**Daños provocados de *Nosema spp.*** Se pueden observar varios síntomas de esta parasitosis, pero no todos pueden ser causados por la nosemosis ya que algunos se pueden relacionar con envenenamiento, presencia de virus u otra enfermedad. Los síntomas observados en las abejas adultas son parálisis en las abejas, alas temblorosas, incapacidad para volar, pérdida de pelos del tórax, manchas fecales dentro de la colmena, disentería, y también se pueden observar agrupaciones de abejas enfermas en el suelo o en la piquera y por lo general las obreras parasitadas presentan el abdomen inflamado (Fries, 1993).

En las obreras, se observa reducción en el desarrollo de las glándulas hipofaríngeas, menor acumulación de grasas en su cuerpo, no aprovecha bien el polen como alimento y la proteína almacenada en su cuerpo se consume con mayor rapidez, reduciendo el periodo de vida o longevidad de las abejas; en las reinas la presencia de esporas de nosema presentará una disminución de la postura de huevos (Fries, 1993), esta infección en la reina puede permanecer durante un largo periodo de tiempo, por lo que es recomendable realizar el cambio de reinas cada año y así evitar una mayor contaminación a otros individuos de la colonia (Simeunovic *et al.*, 2014).

### **3.4.3. *Acarapis woodi***

La acariosis traqueal o acarapisosis es una parasitosis causada por el ácaro microscópico *Acarapis woodi*, se encuentra en las tráqueas de las abejas adultas, en la cabeza y en los sacos aéreos torácicos y abdominales, se alimenta de la hemolinfa, es portador de virus y provoca importantes pérdidas económicas (Garrido-Bailón *et al.*, 2012).

**Ciclo biológico de *A. woodi*.** Las abejas jóvenes son infestadas por el ácaro hembra cuando entran en contacto físico con abejas parasitadas de mayor edad (las abejas transmisoras son mayores a los 14 días de edad). *A. woodi* pasa de los pelillos del tórax de la abeja enferma a los de la abeja susceptible, sujetándose a ellos con la ayuda de sus uñas. Posteriormente, y guiándose por las corrientes de aire producidas por la respiración de la abeja hospedadora, encuentra el espiráculo de una tráquea del protórax a través del cual penetra (SAGARPA, 2010).

Una vez en la tráquea de la abeja, la hembra de *A. woodi* se alimenta y ovoposita entre cinco y siete huevos. Los huevos eclosionan y dan lugar a ninfas a los tres a seis días. Las ninfas mudan y se convierten en adultos aproximadamente dos semanas después de puestos los huevos. Los adultos copulan en el interior de las tráqueas y las hembras fecundadas pueden dar lugar a la siguiente generación en la misma tráquea, o bien salen de ésta, para infestar a otras abejas (SAGARPA, 2010).

Tanto las ninfas como los ácaros adultos se alimentan de la hemolinfa de la abeja, misma que succionan de las paredes de las tráqueas, las cuales perforan con la ayuda de sus quelíceros, lo que origina las lesiones de queratinización y melanización que se consideran patognomónicas (típicas), para el diagnóstico en el laboratorio. La insuficiente provisión de oxígeno a los músculos de vuelo a consecuencia de la obstrucción de las tráqueas con ácaros, explica el porque las abejas pierden habilidad para volar; además, se observa un debilitamiento general del insecto hospedador como resultado del efecto de toxinas producidas por los parásitos y también por la hemolinfa perdida. El tiempo de vida de una abeja enferma es de aproximadamente 30 % más corto que el de una abeja sana (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2012).

**Mecanismos de transmisión.** El ácaro parásita el sistema traqueal y los sacos aéreos del tórax de las abejas; la infestación se inicia en abejas jóvenes de hasta seis días de edad; abejas de mayor edad son inmunes a la penetración del ácaro a sus tráqueas, posiblemente se debe al endurecimiento de los pelos que rodean

los espiráculos del primer par de tráqueas torácicas, por donde penetra el ácaro (SAGARPA, 2010).

Los niveles de infestación se elevan después de períodos largos de confinamiento. La transmisión se favorece con malos manejos del apicultor, con abejas pilladoras, con abejas en deriva y con los enjambres. La manera más frecuente en que la enfermedad llega a un apiario sano en zonas libres del problema, es a través de la migración de enjambres o por la compra de abejas reinas enfermas. Los ácaros no son capaces de sobrevivir sin un hospedador vivo por más de 12 h (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2012).

**Daños provocados por *A. woodi*.** Los signos clínicos de la acarapisosis no siempre se observan y generalmente sólo son evidentes cuando los niveles de infestación de las colonias son muy altos (> 50 % de las abejas de una colonia infestada). Entre las manifestaciones clínicas, se observan abejas con las alas “dislocadas,” abanicándolas sin conseguir volar, su abdomen se aprecia distendido, hay abejas muertas o moribundas frente a las piqueras; otras abejas presentan el tórax desprovisto de pelillos por lo que se ve negro y brillante; es notorio también que las abejas enfermas pierden el instinto de picar. Este síndrome suele aparecer en días con baja temperatura a la sombra, en colonias altamente infestadas que han pasado por un prolongado período de encierro, pero no es característico ni exclusivo de la acarapisosis, ya que puede también observarse en casos de hambre, envenenamiento por insecticidas, o por consumo de alimentos fermentados, cambios bruscos en la temperatura ambiental, o en casos de otras enfermedades como la nosemosis, la amebosis y la parálisis (Guzmán-Novoa y Correa-Benítez, 2012).

## REFERENCIAS

- Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D., y Le Conte, Y. (2010). Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology Letters*, 6(4), 562-565. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0986>
- Alcántar-Rosales, V. M., Heras-Ramírez, M. L., Valdovinos-Flores, C., Saldaña-Loza, L. M., Reyes-Carrillo, J. L., Dorantes-Ugalde, J. A., y Gaspar-Ramírez, O. (2016). Current Situation of Pesticide Use in Mexico and Its Relationship with Colony Collapse Disorder, “an Emerging Problem.” XVI International Congress of Toxicology. Mérida, México.
- Alomar, D., González-Estévez, M. A., Traveset, A., y Lázaro, A. (2018). The intertwined effects of natural vegetation, local flower community, and pollinator diversity on the production of almond trees. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 264, 34-43. <https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2018.05.004>
- Anderson, J. C., Dubetz, C., y Palace, V. P. (2015). Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. *Science of the Total Environment*, 505, 409-422. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.090>
- Archer, C. R., Pirk, C. W. W., Wright, G. A., y Nicolson, S. W. (2014). Nutrition affects survival in African honeybees exposed to interacting stressors. *Functional Ecology*, 28(4), 913-923. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12226>
- Balbuena, M. S., Tison, L., Hahn, M. L., Greggers, U., Menzel, R., y Farina, W. M. (2015). Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *PLoS ONE*, 10(10), 2799-2805. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140814>
- Bellard, C., Cleo Bertelsmeier, Paul Leadley, W. T., y Courchamp F. (2012). Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecology Letters*, 15, 365–377. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01736.x>
- Benuszak, J., Laurent, M., y Chauzat, M. P. (2017). The exposure of honey bees (*Apis mellifera*; Hymenoptera: Apidae) to pesticides: Room for improvement in research. *Science of The Total Environment*, 587-588, 423-438. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.02.062>
- Botías, C., y Sánchez-Bayo, F. (2018). Papel de los plaguicidas en la pérdida de polinizadores. *Ecosistemas*, 27(2), 34-41. <https://doi.org/10.7818/ECOS.1314>
- Brandt, A., Gorenflo, A., Siede, R., Meixner, M., y Büchler, R. (2016). The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology*, 86, 40-47. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.01.001>

- Brutscher, L. M., Daughenbaugh, K. F., y Flenniken, M. L. (2015). Antiviral defense mechanisms in honey bees. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 71-82. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.04.016>
- Brutscher, L. M., McMenamin, A. J., y Flenniken, M. L. (2016). The Buzz about Honey Bee Viruses. *PLoS Pathogens*, 12(8), 1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005757>
- Chauzat, M. P., Carpentier, P., Martel, A.C., Bougeard, S., Cougoule, N., Porta, P., Lachaize, J., Madec, F., Aubert, M., Faucon, J. P. Foster, D. L. (2009). Influence of pesticide residues on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony health in France. *Environmental Entomology*, 38(3), 514-523. <https://doi.org/10.1603/022.038.0302>
- Cresswell, J. E., y Thompson, H. M. (2012). Comment on “A Common Pesticide Survival in Honey Bees.” *Science*, 337, 1453-b. <https://doi.org/10.1126/science.1224618>
- Cutler, G. C., y Scott-Dupree, C. D. (2007). Exposure to clothianidin seed-treated canola has no long-term impact on honey bees. *Journal of Economic Entomology*, 100(3), 765-772. [https://doi.org/10.1603/0022-0493\(2007\)100\[765:ETCSCH\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-0493(2007)100[765:ETCSCH]2.0.CO;2)
- Dainat, B., Evans, J. D., Chen, Y. P., Gauthier, L., y Neumann, P. (2012). Predictive markers of honey bee colony collapse. *PLoS ONE*, 7(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032151>
- DeGrandi-Hoffman, G. y Chen, Y. (2015) Nutrition, immunity and viral infections in honey bees. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 170-176. doi: 10.1016/j.cois.2015.05.007.
- Di Prisco, G., Annoscia, D., Margiotta, M., Ferrara, R., Varricchio, P., Zanni, V., Caprio, E., Nazzi, F. y Pennacchio, F (2016). A mutualistic symbiosis between a parasitic mite and a pathogenic virus undermines honey bee immunity and health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(12), 1-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1523515113>
- Douglas, M. R., y Tooker, J. F. (2015). Large-scale deployment of seed treatments has driven rapid increase in use of neonicotinoid insecticides and preemptive pest management in U.S. Field crops. *Environmental Science and Technology*, 49(8), 5088-5097. <https://doi.org/10.1021/es506141g>
- El Hassani, A. K., Dacher, M., Gauthier, M., y Armengaud, C. (2005). Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 82(1), 30-39. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.07.008>
- FAO (2018). Food and Agriculture Organization of the United Nations. The importance of bees and other pollinators for food and agriculture. In *FAO*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/I9527EN/i9527en.PDF>

- Faucon, J. P., Mathieu, L., Ribiere, M., Martel, A. C., Drajnudel, P., Zeggane, S., Aurieres, C., y Aubert, M. F. A. (2002). Honey bee winter mortality in France in 1999 and 2000. *Bee World*, 83(1), 14-23. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2002.11099532>
- Fries, I. (1993). *Nosema Apis* - A Parasite in the Honey Bee Colony. *Bee World*, 74(1), 5-19. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1993.11099149>
- Fries, I., Ansen, H. H., Mdorf, A. I., y Osenkranz, P. R. (2003). Original article Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in Sweden. *Apidologie*, 34, 389-397. <https://doi.org/10.1051/apido>
- Fuchs, S., Kralj, J., Brockmann, A., y Fuchs, S. (2006). The parasitic mite *Varroa destructor* affects non-associative learning in honey bee foragers, *Apis mellifera* L. *Journal of Comparative Physiology*, <https://doi.org/10.1007/s00359-006-0192-8>
- Gaines-Day, H. R., y Gratton, C. (2016). Crop yield is correlated with honey bee hive density but not in high-woodland landscapes. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 218, 53-57. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.11.001>
- Garantonakis, N., Varikou, K., Birouraki, A., Edwards, M., Kalliakaki, V., y Andrinopoulos, F. (2016). Scientia Horticulturae Comparing the pollination services of honey bees and wild bees in a watermelon field. *Scientia Horticulturae*, 204, 138-144. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.04.006>
- Garrido-Bailón, E., Bartolomé, C., Prieto, L., y Botías, C., Martínez-Salvador, A., Meana, A., Martín-Hernández, R., y Higes, M. (2012). The prevalence of *Acarapis woodi* in Spanish honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental Parasitology*, 132(2012), 530-536. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.08.018>
- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., y Rotheray, E. L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347(6229), 1-11. <https://doi.org/10.1126/science.1255957>
- Guzmán-Novoa E., y Correa-Benítez A. (2012). Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas. Imagen Editorial Yire. México, DF.
- Hass, A. L., Kormann, U. G., Tschardtke, T., Clough, Y., Fahrig, L., Martin, J., Braudy, J., Bertrand, C., Bosch, J., Brotons, L., Burel, F., Georges, R., Giralt, D., Marcos-García, A. A., Ricarte, A., Siriwardena, G., y Batáry, P. (2018). Landscape configurational heterogeneity by small-scale agriculture, not crop diversity, maintains pollinators and plant reproduction in western Europe. *Proceedings of the Royal Society B*, 285(1872). <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.2242>
- Henry, M., Béguin, M., Requier, F., Rollin, O., Odoux, J., Aupinel, P., Aptel, J., Tchamitchian, S., y Decourtye A. (2012). A Common Pesticide Decreases

- Foraging Success and Survival in Honey Bees. *Science*, 336, 3-5.  
<https://doi.org/10.1126/science.1215039>
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Bailón, E. G., González-porto, A. V, Barrios, L., Nozal, J., Bernal, J. L., Jiménez, J. J., Palencia, G. P., y Meana, A. (2008). How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environmental Microbiology*, 1-11.  
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01687.x>
- Hladik, M. L., Vandever, M., y Smalling, K. L. (2016). Exposure of native bees foraging in an agricultural landscape to current-use pesticides. *Science of the Total Environment*, 542, 469-477.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.077>
- Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M., y Elbert, A. (2011). Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 2897-2908. <https://doi.org/10.1021/jf101303g>
- Johnson, R. M., Ellis, M. D., Mullin, C. A., y Frazier, M. (2010). Pesticides and honey bee toxicity—USA\*. *Apidologie*, 41, 312-331.  
<https://doi.org/10.1051/apido/2010018>
- Jones, P. L., y Agrawal, A. A. (2017). Learning in Insect Pollinators and Herbivores. *Annual Review of Entomology*, (62), 53-71.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-034903>
- Kurze C, Mayack C, Hirche F, Stangl GI, Le Conte Y, Kryger P, et al. (2016) *Nosema* spp. infections cause no energetic stress in tolerant honeybees. *Parasitology Research* 115: 2381-288.
- Klein, A. M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., y Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings. Biological Sciences/The Royal Society*, 274(1608), 66, 95-96, 191. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>
- Kremen, C., Williams, N. M., Aizen, M. A., Gemmill-Herren, B., LeBuhn, G., Minckley, R., Parcker, L., Potts, S. G., Roulston, T., Dewenter, I., Vázquez, P., Winfree, R., Adams, L., Greenleaf, S., Klein, M., Regetz, J., y Ricketts, T. H. (2007). Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: A conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters*, 10(4), 299-314. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01018.x>
- Lautenbach, S., Seppelt, R., Liebscher, J., y Dormann, C. F. (2012). Spatial and temporal trends of global pollination benefit. *PLoS ONE*, 7(4).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035954>
- Le Conte, Y., y Mondet, F. (2017). Natural Selection of Honeybees Against *Varroa* destructor (Y. L. C. and F. Mondet, ed.). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60637-8>

- Lozano, A., Hernando, M. D., Uclés, S., Hakme, E., y Fernández-Alba, A. R. (2019). Identification and measurement of veterinary drug residues in beehive products. *Food Chemistry*, 274, 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.055>
- Lu, C., Warchol, K. M., y Callahan, R. A. (2014). Sub-lethal exposure to neonicotinoids impaired honey bees winterization before proceeding to colony collapse disorder. *Bulletin of Insectology*, 67(1), 125-130. <https://doi.org/http://www.bulletinofinsectology.org>
- Miñarro, D. Garcia, R. y Martinez-Sastre, R. (2018). Los insectos polinizadores en la agricultura: importancia y gestión de su biodiversidad. *Ecosistemas*, 27(2), 81-90.
- Martins, K. T., Gonzalez, A., y Lechowicz, M. J. (2015). Pollination services are mediated by bee functional diversity and landscape context. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 200, 12-20. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.10.018>
- Meixner, M. D., Francis, R. M., Gajda, A., Kryger, P., Andonov, S., Uzunov, A., Topolska, G., Costa, C., Amiri, A., Berg, S., Bienkowska, M., Bouga, M., Büchler, R., Dyrba, W., Gurgulova, K., Hatjina, F., Ivanova, E., Janes, M., Kezic, N., Korpela, S., Le Conte, Y., Panasiuk, B., Pechhacker, H., Tsokouridis, G., Vaccari, G., y Wilde, J. (2014). Occurrence of parasites and pathogens in honey bee colonies used in a European genotype-environment interactions experiment. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 215-219. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.04>
- McMenamin, A. J. y Genersch, E. (2015) Honey bee colony losses and associated viruses. *Current Opinion in Insect Science*, (8), 121-129. doi: 10.1016/j.cois.2015.01.015.
- Memmott, J., Craze, P. G., Waser, N. M., y Price, M. V. (2007). Global warming and the disruption of plant-pollinator interactions. *Ecology Letters*, 10(8), 710-717. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01061.x>
- Morrissey, C. A., Mineau, P., Devries, J. H., Sanchez-Bayo, F., Liess, M., Cavallaro, M. C., y Liber, K. (2015). Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. *Environment International*, 74, 291-303. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.024>
- Nauen R, y Jeschke, P. The neonicotinoid insecticides. En: Insect control. *Biological and synthetic agents*. Jamestown Road, London, UK. Academic Press. 2010. ISBN 978-0-12-381449-4. P. 61-114
- Nicole, W. (2015). Pollinator Power: Nutrition Security Benefits of an Ecosystem Service. *Environmental Health Perspectives*, 123(8) 210-215.
- O'Neal, S. T., Anderson, T. D., y Wu-Smart, J. Y. (2018). Interactions between pesticides and pathogen susceptibility in honey bees. *Current Opinion in*



*Insect Science*, 26, 57-62. <https://doi.org/10.1016/J.COIS.2018.01.006>

- Ollerton, J. (2017). Pollinator Diversity : Distribution , Ecological Function , and Conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution and Sistematics*, 48, 353-376.
- Ollerton, J., Winfree, R., y Tarrant, S. (2011). How many fl owering plants are pollinated by animals ? *Oikos*, (321), 321-326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- Ostiguy, N., Drummond, F. A., Aronstein, K., Eitzer, B., Ellis, J. D., Spivak, M., y Sheppard, W. S. (2019). Honey bee exposure to pesticides: A four-year nationwide study. *Insects*, 10(1), 1-34. <https://doi.org/10.3390/insects10010013>
- Paxton, R. J., Klee, J., Korpela, S., Fries, I. (2007). *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie*, 38(6), 558-565.
- Pérez, P. A. (2012). Identification of toxic residues in honey from different sources in the central zone of the State of Veracruz. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropuecuarias* 1(2), 1-42.
- Ptaszyńska, A. A., Borsuk, G., Mułenko, W., y Demetraki, J. (2014). Differentiation of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* spores under Scanning Electron Microscopy (SEM). *Journal of Apicultural Research*, 53(5), 537-544. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.5.02>
- Rangel, J., Baum, K., Rubink, W. L., Coulson, R. N., Johnston, J. S., y Traver, B. E. (2016). Prevalence of *Nosema* species in a feral honey bee population: a 20-year survey. *Apidologie*, 47(4), 561-571. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0401-y>
- Robin, S. U. R., y Stork, A. (2003). Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants. *Bulletin of Insectology*, 56(1), 35-40.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., y Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, S96–S119. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>
- SAGARPA. (2010). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Manual de Patología Apícola. Programana Nacional para el control de la abeja africana. Coordinación General de Ganadería. SAGARPA, MEXICO.
- Sanchez-Bayo, F., y Goka, K. (2014). Pesticide residues and bees - A risk assessment. *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094482>
- Saturni, F. T., Jaffé, R., y Metzger, J. P. (2016). Landscape structure influences bee community and coffee pollination at different spatial scales. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 235, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.10.008>

- Schmehl, D. R., Teal, P. E. A., Frazier, J. L., y Grozinger, C. M. (2014). Genomic analysis of the interaction between pesticide exposure and nutrition in honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Physiology*, 71, 177-190. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.10.002>
- Staveley, J. P., Law, S. a, Fairbrother, A. y Menzie, C. (2014) A Causal Analysis of Observed Declines in Managed Honey Bees (*Apis mellifera*). *Human and ecological risk assessment: HERA*, 20(2), 566-591. doi: 10.1080/10807039.2013.831263.
- SIAP. (2018). Producción ganadera. Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera. (<https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>).
- Simba, L. D., Foord, S. H., Thébault, E., van Veen, F. J. F., Joseph, G. S., y Seymour, C. L. (2018). Indirect interactions between crops and natural vegetation through flower visitors: the importance of temporal as well as spatial spillover. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 253, 148-156. <https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2017.11.002>
- Simeunovic, P., Stevanovic, J., Cirkovic, D., Radojicic, S., Stanisic, L., y Stanimirovic, Z. (2014). *Nosema ceranae* and queen age influence the reproduction and productivity of the honey bee colony. *Journal of Apicultural Research*, 53(5), 545–554. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.5.09>
- Simon-Delso, N., Martin, G. S., Bruneau, E., Minsart, L. A., Mouret, C., y Hautier, L. (2014). Honeybee colony disorder in crop areas: The role of pesticides and viruses. *PLoS ONE*, 9(7), 1-16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103073>
- Smith, K. M., Loh, E. H., Rostal, M. K., Zambrana-Torrel, C. M., Mendiola, L., y Daszak, P. (2013). Pathogens, pests, and economics: Drivers of honey bee colony declines and losses. *EcoHealth*, 10(4), 434-445. <https://doi.org/10.1007/s10393-013-0870-2>
- Spivak, M., Mader, E., Vaughan, M., y Euliss, N. H. (2011). The plight of the bees. *Environmental Science and Technology*, 45(1), 34-38. <https://doi.org/10.1021/es101468w>
- Steinhauer, N., Rennich, K., Wilson, M. E., Tarpy, D. R., Caron, D. M., Rose, R., Skinner, A., Tarpy, D., Wilkes, J., y VanEngelsdorp, D. (2014). A national survey of managed honey bee 2012-2013 annual colony losses in the USA: results from the Bee Informed Partnership. *Journal of Apicultural Research*, 53(1), 1-18. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0356-z>
- Tosi, S., Démares, F. J., Nicolson, S. W., Medrzycki, P., Pirk, C. W. W., y Human, H. (2016). Effects of a neonicotinoid pesticide on thermoregulation of African honey bees (*Apis mellifera scutellata*). *Journal of Insect Physiology*, 93, 56-63. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.08.010>
- Underwood, R. M., y VanEngelsdorp, D. (2007). Colony Collapse Disorder : Have We Seen This Before? *Bee Culture*, 35(717), 13-18.

- Valdovinos-Flores, C., Alcantar-Rosales, V. M., Gaspar-Ramirez, O., Saldaña-Loza, L., y Dorantes-Ugalde, J. A. 2017. Agricultural pesticide residues in honey and wax combs from Southeastern, Central and Northeastern Mexico. *Journal of Apicultural Research*. 56(5):667-679. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1340798>.
- Van der Sluijs, J. P., Simon-Delso, N., Goulson, D., Maxim, L., Bonmatin, J. M., y Belzunces, L. P. (2013). Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 5(3-4), 293-305. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2013.05.007>
- Van der Zee, R., Brusbardis, V., Charrière, J., Chlebo, R., Coffey, M., Dahle, B., Drazic, M., Kauko, L., Kretavicius, J., Kristiansen, P., Mutinelli, F., Otten, C., Peterson, M., Raudmets, A., Santrac, V., Soroker, V., Topolska, G., y Gray, A. (2014). Results of international standardised beekeeper surveys of colony losses for winter 2012-2013: analysis of winter loss rates and mixed effects modelling of risk factors for winter loss. *Journal of Apicultural Research*, 53(1), 19-34. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.1.02>
- Van der Zee, R., Pisa, L., Andonov, S., Brodschneider, R., Charrière, J. D., Chlebo, R., Coffey, M., Crailsheim, K., Dahle, B., Gajda, A., Gray, A., Drazic, M., Higes, M., Kauko, L., Kence, A., Kence, M., Kezic, N., Kralj, J., Kristiansen, P., Hernandez, R., Mutinelli, F., Nguyen, K., Otten, C., Pernal, S., Peterson, M., Ramsay, G., Santrac, V., Soroker, V., Topolska, G., Uzunov, A., Wei, V., y Wilkins, S. (2012). Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008-9 and 2009-10. *Journal of Apicultural Research*, 51, 100-114. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.51.1.12>
- VanEngelsdorp, D., Evans, J. D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B. K., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., Chen, Y., Underwood, R., Tarpy, D., y Pettis, J. S. (2009). Colony collapse disorder: A descriptive study. *PLoS ONE*, 4(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006481>
- VanEngelsdorp, D., Meixner, D. (2011). A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(2010), S80–S95. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.011>
- VanEngelsdorp, D., Speybroeck, N., Evans, J. D., Nguyen, B. K., Mullin, C., Frazier, M., Cox-Foster, D., Chen, Y., Tarpy, D., Haubruge, E., Pettis, J., y Saegerman, C. (2010). Weighing Risk Factors Associated With Bee Colony Collapse Disorder by Classification and Regression Tree Analysis. *Journal of Economic Entomology*, 103(5), 1517-1523. <https://doi.org/10.1603/EC09429>
- Williamson, S. M., y Wright, G. A. (2013). Exposure to multiple cholinergic pesticides impairs olfactory learning and memory in honeybees. *The Journal of Experimental Biology*, 216(10), 1799-1807. <https://doi.org/10.1242/jeb.083931>

- Wilmart, O., Legre, A., Graaf, D. C. De, Steurbaut, W., Delahaut, P., Gustin, P., Nguyen B. K., y Saegerman, C. (2016). Residues in Beeswax : A Health Risk for the Consumer of Honey and Beeswas? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02813>
- Wu, J. Y., Anelli, C. M., y Sheppard, W. S. (2011). Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity. *PLoS ONE*, 6(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014720>
- Yang, X., y Cox-Foster, D. (2007). Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology*, 134(3), 405-412 (2007). <https://doi.org/10.1017/S0031182006000710>

# ARTÍCULOS

## Artículo 1

ABANICO VETERINARIO ISSN 2448-6132 [abanicoacademico.mx/revistasabanico/index.php/abanico-veterinario](http://abanicoacademico.mx/revistasabanico/index.php/abanico-veterinario)

Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2020; 10(1):1-16. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.7>  
Artículo Original. Recibido: 21/01/2020. Aceptado: 25/04/2020. Publicado: 03/05/2020.

### Residuos de plaguicidas en miel y cera de colonias de abejas de La Comarca Lagunera

Pesticides residues in honey and wax from bee colonies in La Comarca Lagunera

Vargas-Valero Azucena<sup>1,2\*</sup> Reyes-Carrillo José<sup>2</sup>, Moreno-Reséndez Alejandro<sup>2</sup>,  
Véliz-Deras Francisco<sup>2</sup> Gaspar-Ramírez Octavio<sup>3</sup>, Rodríguez-Martínez Rafael<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones, Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México. <sup>2</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna. México. <sup>3</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. México. \*Autor responsable y de correspondencia: Rodríguez-Martínez Rafael. Carretera a Sta. Fe y Periférico Raúl López Sánchez s/n C.P. 27054, Torreón, Coahuila, México. [azvalero@yahoo.com.mx](mailto:azvalero@yahoo.com.mx), [jlreyes54@gmail.com](mailto:jlreyes54@gmail.com), [alejamosa@hotmail.com](mailto:alejamosa@hotmail.com), [velizderas@gmail.com](mailto:velizderas@gmail.com), [ogramirez@ciatej.mx](mailto:ogramirez@ciatej.mx), [rafael.rdz.mtz@gmail.com](mailto:rafael.rdz.mtz@gmail.com)

#### RESUMEN

Las abejas melíferas son importantes para la seguridad alimentaria y el mantenimiento de la biodiversidad. Se ha presentado un colapso de las colonias ocasionado por la exposición a plaguicidas. El objetivo fue determinar y cuantificar la presencia de plaguicidas en miel y cera de colonias de abejas bajo colapso (BC), con (CA) y sin antecedentes de colapso (SA). Se analizaron cinco muestras de miel y cinco de cera de colonias CA y SA, así como dos de miel y de cera BC; las muestras fueron analizadas por LC-QTOF y GC-MS/MS. Se detectaron en total 24 plaguicidas en miel y cera. El acetamiprid se encontró en el 100% de las muestras. En las colonias BC, presentaron en promedio altos niveles de acetamiprid en cera y miel (0.402 y 0.633 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente). Para las colonias CA, los promedios de acetamiprid fueron 0.686 y 0.266 mg kg<sup>-1</sup> para cera y miel respectivamente, en las colonias SA, los promedios del acetamiprid en cera y miel fueron 0.234 y 0.404 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente. En conclusión, las colonias CA presentaron la mayor diversidad de plaguicidas seguidas por SA y BC. Estos resultados podrían sugerir la participación de los plaguicidas como causa del colapso de las colonias.

**Palabras clave:** *Apis mellifera*, Desorden del Colapso de las Colonias, México y QuEChERS.

#### ABSTRACT

Honeybees are important for food security and biodiversity preservation. There has been a collapse of the colonies caused by exposure to pesticides. The aim was to determine and quantify the presence of pesticides in honey and wax from bee colonies, under collapse (BC) and with (CA) and without antecedent of collapse (SA). Five honey samples and five colony wax samples were analyzed from colonies CA y SA, as well as two of honey and two wax from colonies CB; samples were analyzed by LC-QTOF and GC-MS/MS. 24 pesticides were detected in honey and wax analyzed. Acetamiprid was found in all samples. In colonies, CB the wax and honey had high averages levels of acetamiprid (0.402 and 0.633 mg kg<sup>-1</sup> respectively). For wax and honey from colonies CA, the averages of acetamiprid were 0.686 and 0.266 mg kg<sup>-1</sup> respectively. In wax and honey from colonies SA the averages of acetamiprid were 0.234 and 0.404 mg kg<sup>-1</sup> respectively. In conclusion, the colonies CA had the greatest diversity of pesticides, followed by the group SA and finally BC. Our results suggest the participation of pesticides as a cause of colony collapse.

**Keywords:** *Apis mellifera*, Colony Collapse Disorder, México and QuEChERS.

## INTRODUCCIÓN

Las abejas melíferas son importantes polinizadores de una gran diversidad de cultivos y plantas nativas, la polinización llevada a cabo por estos insectos es necesaria para el 35 % de los cultivos destinados a la alimentación humana (Ollerton, 2017); sin embargo, a nivel mundial han sufrido una disminución en sus poblaciones, fenómeno llamado el Desorden del Colapso de las Colonias (DCC) (Brutscher *et al.*, 2016). Las características de las colonias colapsadas, son: la muerte parcial o total de la colonia con presencia de abejas muertas dentro o cerca de la colmena, la desaparición parcial o total de la colonia, con el abandono de las reservas de alimento y las crías y el debilitamiento de la colonia mediante un lento desarrollo durante la primavera, bajo condiciones óptimas (Simon-Delso *et al.*, 2014).

Aunque se han reportado diversos factores como las probables causas del colapso de las colonias, uno de los más importantes es la exposición a plaguicidas (Calatayud-Vernich *et al.*, 2018; Sánchez-Bayo *et al.*, 2016; Traynor *et al.*, 2016). Las abejas se exponen a los plaguicidas cuando buscan los recursos néctar-poliníferos, sobre todo si las colonias están ubicadas cerca de áreas agrícolas (O'Neal *et al.*, 2018). Se ha demostrado que la exposición a dosis subletales de plaguicidas puede afectar el comportamiento de la abeja (Balbuena *et al.*, 2015), el pecoreo (Cresswell y Thompson, 2012), su longevidad (Wu *et al.*, 2011), la termorregulación (Tosi *et al.*, 2016); así como su aprendizaje olfativo y memoria (Lu *et al.*, 2014).

Los residuos de plaguicidas pueden acumularse en el pan de abeja, miel y cera (Johnson *et al.*, 2010; Lozano *et al.*, 2019); presentándose en esta última la capacidad de almacenamiento residual de plaguicidas (Benuszak *et al.*, 2017). Por tanto, de un panal contaminado, los residuos pueden transferirse a la miel almacenada, presentando un riesgo para los consumidores; también, el consumo de "miel en panal", como aditivo de alimentos en el tratamiento de frutas, suplemento alimenticio o como saborizante, representan un riesgo para la salud (Wilmart *et al.*, 2016).

En el semidesierto del norte de México, se ha encontrado la presencia de plaguicidas en bajas concentraciones en muestras de miel y cera (Alcántar-Rosales *et al.*, 2016), y se ha reportado para el periodo de 2010 al 2017 una disminución de hasta el 35% de las colonias de abejas (SIAP, 2018).

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue determinar y cuantificar la presencia de plaguicidas en muestras de miel y cera de colonias de abejas, con y sin antecedentes de colapso.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Muestreo de las matrices de las colmenas.** El muestreo se realizó en el semidesierto del norte de México (25° 05' y 26° 54' LN y 101° 40' y 104° 45' LO), entre los meses de

junio a septiembre de 2017, con base en el padrón de apicultores registrados en el Comité Sistema Producto Apícola de la Región Lagunera A.C., bajo el criterio de contar con al menos de 10 colonias; siendo seleccionados 43 apicultores, de los cuales, mediante un muestreo aleatorio del 20% de las colonias de cada apiario y bajo condiciones naturales. Se obtuvieron un total de 132 muestras de panal con miel y cera de aproximadamente 12 cm<sup>2</sup>; de éstas, para su análisis de plaguicidas, se seleccionaron al azar 12 muestras, de las cuales cinco se clasificaron como provenientes de colonias con antecedentes de colapso (CA); cinco como asintomáticas o provenientes de colonias sin antecedentes de colapso (SA), y dos muestras de apiarios que al momento del muestreo sufrieron el colapso (BC). La clasificación se realizó de acuerdo a los datos obtenidos del apicultor y con base en los criterios definidos por [Simon-Delso et al. \(2014\)](#).

Con un cúter desechable se cortó un pedazo de panal con miel y cera de aproximadamente 12 cm<sup>2</sup>, se colocó en una bolsa de plástico con su respectiva identificación y posteriormente fueron transportadas al laboratorio de Biología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna en Torreón, Coahuila, para almacenarlas a -20 °C, hasta su análisis en el laboratorio del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. (CIATEJ), Apodaca, Nuevo León. A cada una de las muestras (miel y cera) se les determinó 165 plaguicidas.

**Productos químicos y soluciones.** Los estándares analíticos de los plaguicidas se obtuvieron de ChemService, Inc. (West Chester, PA, USA): Sigma-Aldrich-Fluka (St. Louis, MO, USA), Sigma-Aldrich-Supelco (Bellefonte, PA, USA), Accustandard (New Haven, CT, USA), y ULTRA Scientific (N. Kingstown, RI, USA). El ácido fórmico (grado MS) y formiato de amonio (base metal traza) se adquirieron en Sigma-Aldrich. El Acetonitrilo grado HPLC y el agua grado HPLC fueron adquiridos en Tedia High Purity Solvents (Fairfield, OH). Las sales de extracción "Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe" (QuEChERS) (Método AOAC) y los kits SPE de dispersión (Bond Elut), fueron adquiridos en Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA).

**Preparación y extracción de muestras.** De cada muestra se tomaron 7 g de miel y 3 g de cera, las cuales previamente fueron descongeladas a temperatura ambiente. Se realizó la extracción de residuos de plaguicidas de acuerdo con una modificación del método analítico "QuEChERS" ([Valdovinos-Flores et al., 2017](#)), previamente validado en el Laboratorio de Servicios Analíticos de la Sede Noreste del CIATEJ. Este método consta de dos pasos: (1) la separación de plaguicidas de la matriz con acetonitrilo, y (2) el extracto de limpieza. Se utilizaron curvas de calibración en matriz (matrix-matched calibration), los analitos y el estándar interno se agregaron después de pesar las muestras, antes de agregar disolventes. Se transfirieron 300 µL de extracto a viales de 2 ml. Una muestra fue inyectada en un sistema de Cromatografía de líquidos, acoplado a un espectrómetro de masas en tiempo de vuelo (LC-QTOF); y otra en un Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo (GC-MS/MS).

**Extracción en miel.** De acuerdo al método analítico "QuEChERS" modificado por [Valdovinos-Flores et al. \(2017\)](#), en un tubo de plástico para centrifuga de 50 ml, se pesaron 7 g de miel, a los cuales se agregaron 10 ml de agua desionizada; se agitaron manualmente las muestras durante un minuto, se agregaron 15 ml de acetonitrilo acidificado al 1% con ácido acético (v/v) y se agitó nuevamente durante 1 min. Posteriormente se usaron 6 g de  $MgSO_4$  y 1.5 g de acetato de sodio. Todas las muestras fueron agitadas durante 1 min. y se centrifugaron a 4000 rpm por 5 min.

Para hacer la limpieza del extracto se utilizaron 8 ml del sobrenadante, y se transfirieron a un tubo de 15 ml, con 400 ml de amina primaria-secundaria (PSA), 1200 mg de  $MgSO_4$  y 400 mg de EC-C18; se agitaron durante 1 min. y se centrifugaron a 4000 rpm por 5 min.

**Extracción en cera.** Para la extracción de esta matriz fue utilizado el método de [Niell et al. \(2014\)](#). En un tubo de plástico para centrifuga de 50 ml se pesaron 3 g de cera, se agregaron 15 ml de acetonitrilo acidificado al 1% con ácido acético (v/v). Los tubos se colocaron en un baño de agua a 80 °C hasta la fundición de la cera. Una vez fundida la cera, se agitaron durante 20 seg. y se colocaron nuevamente en el baño para que se funda; se repitió el proceso de fundición y agitación tres veces más. Las muestras se colocaron a temperatura ambiente y luego se llevaron a un congelador a -20 °C durante dos horas.

Para hacer la limpieza del extracto, se extrajeron 8 ml del sobrenadante y se transfirieron a un tubo de 15 ml, con 400 ml de amina primaria-secundaria (PSA), 1200 mg de  $MgSO_4$  y 400 mg de EC-C18. Se agitaron durante 1 min. y se centrifugaron a 4000 rpm por 5 min.

**Cromatografía de líquidos acoplado a un espectrómetro de masas en tiempo de vuelo (LC-QTOF).** Para el análisis de LC, se utilizó un sistema HPLC de la serie 1200 de Agilent (Agilent Technologies), con una bomba binaria acoplada a un espectrómetro de masas G6530A Q-TOF (Agilent Technologies). La separación cromatográfica se logró utilizando una columna Eclipse Plus C18 (100 mm x 2.1 mm x 1.8  $\mu$ m, Agilent Technologies). Las fases móviles consistían en agua con 0.01% de ácido fórmico + 10 mM de formato de amonio (Disolvente A) y metanol con 0.01% de ácido fórmico + 10 mM formato de amonio (Disolvente B).

La inyección se realizó utilizando una disolución de automuestrador, en la que se mezclaron 3  $\mu$ L de extracto con 15  $\mu$ L de disolvente A. El gradiente de elución fue el siguiente: 20-50% B a 0-3.5 min, 50-90% B a 3.25-8.81 min, 90-100% B a 8.81-10 min, 100% B a 10-12.8 min y re-equilibración a condiciones iniciales de 12.9 min a 18 min. Para el análisis de espectrometría de masas, se utilizó una fuente de ionización por electropulverización Agilent Jet-Stream, que operaba en modo iónico positivo, con los siguientes parámetros de operación: modo de adquisición TOF MS, rango de adquisición de 50–950 m/z,  $N_2$  a 180 °C y 13 L/min como gas de secado, presión del nebulizador a



40 psi, tensión de la boquilla a 0 V, gas de vaina a 300 °C y 10 L/min, tensión capilar a 4000 V, voltaje skimmer a 65 V, voltaje fragmentador a 150 V, octapole RF at 750 V. Agilent Mass Hunter, Workstation se utilizó para la adquisición y análisis de datos.

**Cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo (GC-MS/MS).** Para la cromatografía de gases, se usó un cromatógrafo de gases 7890A, acoplado a un espectrómetro de masas cuadrúpedo triple 7000B, con ionización de impacto de electrones (EI), equipado con un automuestreador 7693A (Agilent Technologies). La separación cromatográfica se realizó utilizando dos columnas capilares DB-5 MS ultra interés (15 m × 0.250 mm × 0.25 µm de espesor de película; Agilent Technologies). Se utilizó una unión final purgada para conectar las dos columnas, y se realizó un lavado después de cada ejecución. Se inyectaron 2 µL del extracto en modo sin divisiones (5 min a 21.1 psi), con un flujo constante de 1.0 ml/min (columna 1) y 1.2 ml/min (columna 2).

El helio de alta pureza se utilizó como gas portador. La configuración del inyector fue de 65 °C (contener 0.2 min) a 310 °C a 600 °C/min; la temperatura del horno se programó de 60 °C (1 min) a 170 °C a 40 °C/min a 310 °C (4 min). El espectrómetro de masas fue operado en el modo de ionización de impacto de electrones (energía de ionización 70 eV); mientras que la línea de transferencia y las temperaturas de la fuente de iones se fijaron a 300 °C.

Para la selección y cuantificación de análisis se utilizó el modo de monitoreo de iones (SIM), seleccionado con un mínimo de tres iones para cada análisis. La velocidad de escaneo para cada segmento se estableció aproximadamente en dos escaneos, con el fin de obtener un mínimo de 10 puntos de datos por pico.

## RESULTADOS

**Cuadro 1. Plaguicidas encontrados en muestras de cera y miel en colonias de abejas melíferas bajo colapso (BC), con antecedentes de colapso (CA) y sin antecedentes de colapso (SA), por LC-QTOF y GC-MS/MS**

Grupo	Tipo de muestra	Insecticidas	Fungicidas	Acaricidas	Herbicidas	Total
BC	Cera	4	1	0	0	5
	Miel	2	1	0	0	3
CA	Cera	13	4	1	1	19
	Miel	5	2	0	0	7
SA	Cera	11	4	1	1	17
	Miel	5	0	0	0	5
	BC	6	2	0	0	8
	CA	18	6	1	1	26
	SA	16	4	1	1	22

**Plaguicidas detectados en cera y miel de colonias BC, CA y SA.** En la cera se encontró una mayor diversidad de plaguicidas (insecticidas, fungicidas, acaricidas y herbicidas), con respecto a las muestras de miel (insecticidas y fungicidas). Por otra parte, el mayor número de plaguicidas por grupos se encontró en las colonias con antecedentes de colapso (20), seguido por las colonias sin antecedentes (19) y finalmente con aquellas bajo colapso (7). Este mismo comportamiento se observó al separar los plaguicidas por categoría, encontrándose en todos los casos, una mayor diversidad en CA, seguido por SA y finalmente por BC (cuadro 1).

Con respecto a la cantidad de plaguicidas, el insecticida acetamiprid fue el único detectado en todas las muestras de cera analizadas y estuvo presente en una mayor cantidad en las colonias CA (0.686 mg kg<sup>-1</sup>), seguido por BC (0.402 mg kg<sup>-1</sup>), y finalmente por SA (0.234 mg kg<sup>-1</sup>) (cuadro 2). Este mismo insecticida se presentó en todas las muestras de miel, pero en mayor cantidad en las colonias BC (0.633 mg kg<sup>-1</sup>), seguido por las SA (0.404 mg kg<sup>-1</sup>), y finalmente las CA (0.266 mg kg<sup>-1</sup>) (cuadro 3).

Por otro lado, el insecticida malatión se encontró en 11 muestras de cera de las colonias CB, CA y SA; sin embargo, las cantidades fueron bajas. Cabe agregar que la permetrina cis se encontró únicamente en seis muestras de cera CA (0.087 mg kg<sup>-1</sup>) y SA (0.002 mg kg<sup>-1</sup>) (cuadro 2).

**Cuadro 2. Promedio de plaguicidas (mg kg<sup>-1</sup>) en cera de colonias de abejas melíferas bajo (BC), con (CA) y sin (SA) antecedentes de colapso, detectados por LC-QTOF y GC-MS/MS**

Plaguicida a	BC					CA					SA					Positiva b	BC (#)	CA (#)	SA (#)
	1	2	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5							
<b>A</b>	0.569	0.235	1.716	0.062	0.64	0.735	0.28	0.198	0.072	0.311	0.35	0.237	12	0.402	0.686	0.234			
	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL							
<b>B</b>			0.009	0.032	T	0.008							4						
			CL	CL	CL	CL													
<b>C</b>								0.006					1						
								CL- CG											
<b>D</b>			0.025	0.024	0.023	0.025	0.025		0.024	0.021	0.023	0.023	9		0.025	0.023			
			CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG		CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG							
<b>E</b>							T						1						
							CL												
<b>F</b>			0.018		0.008		0.008	0.006				0.008	5		0.012	0.007			
			CL		CL		CL	CL				CL							
<b>G</b>	0.004		0.004		0.007		0.006	0.01	0.022	0.025			7		0.006	0.019			
	CL- CG		CL- CG		CL- CG		CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG									
<b>H</b>							T				T		2						

I			0.011	0.013	0.059	T	0.02		0.004	0.01	0.008	0.003	9	0.026	0.006	
			CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG		CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG				
J					0.116			0.052					2			
					CL			CL								
K			T				T						2			
			CL				CL									
L	T	0.005	0.034	0.019	0.008	0.041	0.008	0.008	0.008		0.009	T	11	0.005	0.022	0.008
	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG		CL- CG	CL- CG				
M			0.015	0.018	0.007	0.013	0.014			0.028	0.015	0.01	8	0.013	0.018	
			CL	CL	CL	CL	CL			CL	CL	CL				
N						0.007				0.007			2			
						CL				CL						
R						T		T					2			
						CL		CL								
O	0.006		T	0.004	T		T		T	T	T	T	9			
	CL- CG		CL- CG	CL- CG	CL- CG		CL- CG		CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG				
P			0.323	0.012	0.002		0.01		0.001	0.003			6	0.087	0.002	
			CL- CG	CL- CG	CL- CG		CL- CG		CL- CG	CL- CG						
Q			0.206	0.007	0.001	T	0.003		0.001	0.001			7	0.054	0.001	
			CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG		CL- CG	CL- CG						
R			T				T						2			
			CL				CL									
S						0.005							1			
						CL										
T		T						T					2			
		CL						CL								
U								0.009					1			
								CL- CG								

A: Acetamiprid, B: Carbenfendazim, C: Carfentrazona etil, D: Clorpirifos, E: Clorantranilprole, F: Coumafós, G: Deltametrina, H: Dimetoato, I: Difenilamina, J: Fluoxastrobina, K: Imidacloprid, L: Malatión, M: Malaaxon, N: Metoxyfenozide, R: Propargita, O: Pentaclorofenol, P: Permetrina, cis-, Q: Permetrina, trans-, R: Pyraclostrobin, S: Tebutiuron, T: Tiofanato, U: Trifloxistrobina  
T: Trazas, CL: Cromatografía de líquidos CG: Cromatografía de gases

## DISCUSIÓN

**Diversidad de plaguicidas en cera y miel.** Las muestras de cera presentaron una mayor diversidad de plaguicidas (insecticidas, fungicidas, acaricidas y herbicidas), con respecto a las de miel. De la misma manera [Johnson et al. \(2010\)](#), reportan la presencia ocasional de residuos de plaguicidas en la miel, debido a que la mayoría de los plaguicidas son

hidrofóbicos y pueden transferirse con mayor facilidad a través de interacciones de las abejas melíferas hacia la cera de éstas (Calatayud-Vernich *et al.*, 2018). Por lo tanto, los plaguicidas se pueden encontrar con mayor frecuencia en la cera que en la miel; o bien, aunque los niveles de plaguicidas en la miel son bajos, éstos tienden a contaminar la cera por su naturaleza lipofílica (Valdovinos-Flores *et al.*, 2017); así como un bajo reemplazo de cera en la colmena y el reciclar para volver a introducir. Por tanto, los plaguicidas de alta hidrofobicidad y estabilidad, son los principales factores para el almacenamiento de plaguicidas en la cera (Calatayud-Vernich *et al.*, 2018).

**Cuadro 3. Promedio de plaguicidas (mg kg<sup>-1</sup>) en miel de colonias de abejas melíferas bajo (BC), con (CA) y sin (SA) antecedentes de colapso, detectados por LC-QTOF**

	Muestra	Plaguicidas en miel							
		A	B	C	D	E	F	G	H
BC	1	0.579	0.004				0.006		
	2	0.687	trazas						
CA	1	0.255				trazas	0.006		
	2	0.141	0.008		trazas	trazas			
	3	0.105						0.002	
	4	0.600						0.004	
	5	0.231		0.008				0.003	
SA	1	0.787				trazas	0.007	0.005	
	2	0.101						0.014	trazas
	3	0.290				trazas			
	4	0.487					0.009		
	5	0.353							
	<b>Positivas</b>	12	3	1	1	4	4	5	1
	<b>Promedio BC</b>	0.633							
	<b>Promedio CA</b>	0.266						0.003	
	<b>Promedio SA</b>	0.404						0.010	

A: Acetamiprid, B: Carbendazim, C: Imidacloprid, D: Fluoxastrobina, E: Dimetoato, F: Malaoxon, G: Metamidofos, H: Ometoato.

Del total de los plaguicidas, los insecticidas fueron los principales encontrados en las muestras de cera, con el 59.1%, lo que corresponden principalmente a organofosforados (clorpirifos, malatión, coumafós, dimetoato y malaoxon), piretroides (deltametrina, permetrina cis y trans), neonicotinoides (acetamiprid e imidacloprid), y organoclorados (pentaclorofenol). Asimismo, en la miel se encontró organofosforados (dimetoato malaoxon, metamidofos y ometoato), y neonicotinoides (acetamiprid e imidacloprid);

representando el 75.0% de las muestras. La presencia de insecticidas en la miel y cera de abejas representa el mayor riesgo para los insectos polinizadores (Botías y Sánchez-Bayo, 2018; Ostiguy *et al.*, 2019); por tanto, la detección y cuantificación de éstos en las muestras analizadas, reflejan su alta exposición de las abejas, ocasionando daños irreversibles en algunas colonias.

Los fungicidas en la cera (27.3%) y miel (25.0%), fueron la segunda clase de plaguicidas encontrados con mayor presencia. Botías y Sánchez-Bayo (2018) señalan que algunos fungicidas pueden aumentar la toxicidad de los insecticidas al reducir la capacidad de desintoxicación de las abejas. También se ha encontrado que los residuos de fungicidas en las colonias están relacionados con la prevalencia de enfermedades en las abejas (Simon-Delso *et al.*, 2014). Además, se sugiere que el efecto de los fungicidas en los polinizadores no es por toxicidad directa, sino por la alteración del microbioma presente en el polen y néctar de las plantas tratadas y/o contaminadas de las que se alimentan las abejas y de su propia flora bacteriana (VanEngelsdorp *et al.*, 2009); lo que tiene importantes consecuencias en la nutrición y estado de salud de las abejas.

Finalmente, los herbicidas (9.1%) y acaricidas (4.5%), son los plaguicidas con menor presencia en las muestras de cera analizadas. Los herbicidas no representan toxicidad aguda para los insectos polinizadores (Botías y Sánchez-Bayo, 2018); sin embargo, su uso afecta de manera indirecta a las abejas, porque eliminan gran cantidad de plantas silvestres y reducen la diversidad floral, que es la fuente principal de alimento (Bohnenblust *et al.*, 2016); a esto puede atribuirse la baja presencia de herbicidas en las muestras analizadas.

Para el caso de los acaricidas, los cuales son utilizados para el control de *Varroa destructor*, pueden actuar de manera aditiva o sinérgica con los residuos de insecticidas en las colonias de abejas (Johnson *et al.*, 2013); sin embargo, en nuestro caso, los acaricidas encontrados en las muestras fue del 4.5% del total de plaguicidas, por lo que posiblemente éstos ocasionan efectos adversos menores en las colonias de abejas.

**Diversidad de plaguicidas en cera y miel de colonias BC, CA y SA.** Las colonias Con Antecedentes de Colapso tuvieron mayor diversidad de plaguicidas (20), respecto a las colonias Sin Antecedentes (19), y las colonias Bajo Colapso (7); lo cual se refleja también al desagregar a los plaguicidas en insecticidas, fungicidas, acaricidas y herbicidas; excepto para el caso de estos dos últimos, en los que no hubo presencia en BC, y la diversidad fue similar en las colonias CA y SA.

Alcántar-Rosales *et al.* (2016), reportan en miel y cera datos similares en relación a la reducida diversidad de plaguicidas para las colonias que colapsaron, encontrando dos plaguicidas (neonicotinoides y organofosforados) en las muestras de miel, y cuatro (organofosforados, benzimidazol, piretroides y derivado de la piridina) en la cera; sin embargo, éstos se encuentran en bajas concentraciones. En relación a esto, la cera

contaminada con plaguicidas, al estar en contacto con el huevo en desarrollo hasta que emerge la abeja, pueden llegar a provocar efectos sub-letales en las abejas obreras, afectando principalmente el desarrollo larvario y la longevidad de las abejas (Wu *et al.*, 2011); pudiendo provocar efectos indirectos en la colonia, tales como cambios prematuros en el rol de las abejas y en la actividad de pecoreo. Para el presente caso, las colonias que colapsaron presentaron la menor diversidad de plaguicidas, pero en altas cantidades; lo que posiblemente demuestra que la presencia de insecticidas y fungicidas afectaron a las abejas, provocando el colapso.

Es importante resaltar además, que la presencia de plaguicidas se debe al manejo de las colmenas (estacionarias y migratorias), así como a la ubicación del apiario, entre otros factores (Ostiguy *et al.*, 2019). Para nuestro caso, en los tres grupos (CA, SA y BC), la mayoría de las colmenas son movilizadas, y se ha reportado que la movilización de colmenas destinadas para la polinización provoca una mayor exposición a plaguicidas (Traynor *et al.*, 2016). En nuestro caso, los apicultores las movilizan, debido a dos razones: la búsqueda de floración, y cuando son arrendadas para la polinización de cultivos; este manejo puede ocasionar estrés a las abejas, volviéndolas más susceptibles a la intoxicación por plaguicidas (Sánchez-Bayo *et al.*, 2016).

La ubicación de los apiarios también es un factor importante, debido al efecto que tendrá en las colmenas la vegetación circundante. Se ha demostrado que la intensificación de la agricultura provoca la pérdida de hábitats naturales; por tanto, los cultivos intensivos y en general la falta de biodiversidad vegetal limitan la cantidad de alimento, lo que provoca una disminución en abundancia y riqueza de polinizadores; así como un impacto en la salud de las abejas melíferas (Kovács-Hostyánszki *et al.*, 2017).

En nuestro caso, la vegetación circundante al momento del muestreo y los cultivos que mayormente se siembran, son los siguientes: para el grupo BC, la vegetación predominante fue de pinabete (*Tamarix* spp.); y los cultivos cercanos a los apiarios, fueron maíz (*Zea mays*), alfalfa (*Medicago sativa*) y algodón (*Gossypium* spp.). Para el grupo CA, la vegetación predominante fue pinabete (*Tamarix* spp.) y mezquite (*Prosopis laevigata*), con cultivos de maíz (*Z. mays*), sorgo (*Sorghum vulgare*), algodón (*Gossypium* spp.), alfalfa (*M. sativa*), sandía (*Citrullus lannatus*), melón (*Cucumis melo*), chile (*Capsicum annuum*), y calabaza (*Cucurbita pepo*). Finalmente, para el grupo SA, la principal vegetación predominante fue mezquite (*P. laevigata*) y pinabete (*Tamarix* spp.), con cultivos de alfalfa (*M. sativa*), maíz (*Z. mays*), sorgo (*S. vulgare*) y algodón (*Gossypium* spp.). Esto da evidencia que las colmenas de la región están ampliamente expuestas a plaguicidas, lo que significa que las zonas agrícolas contribuyen a la alta presencia de plaguicidas en los productos de la colmena (Traynor *et al.*, 2016).

Se encontró la mayor diversidad de residuos de plaguicidas en la miel y cera en las colonias CA, pudiera estar relacionada con la cantidad de cultivos cerca de las colonias donde fueron tomadas las muestras; sin embargo, la cantidad de plaguicidas fue menor

comparado a las colonias en colapso con presencia de altas cantidades de plaguicidas en miel y cera. Lo anterior, posiblemente se debió a que estas colonias presentaron mayor exposición a los cultivos tratados, o bien, debido a una aplicación reciente de plaguicidas durante la permanencia de las colonias con respecto a CA y SA; ya que presentaron menores niveles de plaguicidas, aún estando en la misma región.

Una exposición crónica de las abejas a los plaguicidas a dosis subletales pueden afectar las funciones neurológicas, como la memoria y el comportamiento; síntomas que pueden presentarse antes del colapso de la colmena (Lu *et al.*, 2014); aunado a esto, la exposición a plagas, enfermedades, una mala nutrición, o la interacción entre plaguicidas y patógenos, contribuyen a la mortalidad de las colonias de abejas (Broadrup *et al.* 2019), lo que posiblemente ocurrió en las colonias BC.

**Cantidad de plaguicidas en muestras de miel y cera.** El insecticida encontrado en la totalidad de las muestras de miel y cera fue acetamiprid, mismo que además fue el que en promedio tuvo la mayor cantidad, tanto en miel ( $0.385 \text{ mg kg}^{-1}$ ), como en cera ( $0.316 \text{ mg kg}^{-1}$ ); rebasando los Límites Máximos de Residuos (LMR) de la Unión Europea (UE) ( $0.05 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Datos reportados por Gawel *et al.* (2019) en miel difieren a los nuestros, cuyas concentraciones son bajas y van de  $0.001$  a  $0.13 \text{ mg kg}^{-1}$ . También, Da Silva *et al.* (2015), reportan un promedio de  $0.0025 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Estudios realizados por El Hassani *et al.* (2008) indican que el consumo de este plaguicida a dosis subletales de  $0.1 \mu\text{g}/\text{abeja}$  afecta su comportamiento y aprendizaje olfativo, debido a su efecto inmunosupresor (Di Prisco *et al.*, 2013), provocando una mayor susceptibilidad a la infección del microsporidio *Nosema* (Broadrup *et al.*, 2019). Además, el debilitamiento inmunológico favorece a la propagación del ácaro *Varroa* en las colonias de abejas melíferas, el cual es fuente de transmisión de virus (Di Prisco *et al.*, 2016); como el Virus de las Alas Deformes (DWV), el Virus de la Parálisis Aguda Israelí (IAPV), el Virus de la Parálisis Aguda (ABPV) y el Virus de Kashmir (KBV) (Belsky y Joshi, 2019; Brutscher *et al.*, 2016). La combinación de estas enfermedades con los insecticidas neonicotinoides, contribuyen al colapso de las colmenas (Sánchez-Bayo *et al.*, 2016). Además, el acetamiprid puede presentar efectos sinérgicos cuando es combinado con otros plaguicidas (Wang *et al.*, 2019), lo que posiblemente explica el colapso de las colonias en esta región; aunado a que éstas probablemente tenían mayor tiempo de exposición a los plaguicidas.

El segundo plaguicida en frecuencia fue el malatión, que se encontró en 11 muestras de cera con niveles desde  $0.005$  hasta  $0.041$ , y un promedio de  $0.015 \text{ mg kg}^{-1}$ ; cifra que no rebasa los LMR de la UE de  $0.05 \text{ mg kg}^{-1}$ . Para el norte de México Valdovinos-Flores *et al.* (2017), reportan la presencia de malatión en el 100% de las muestras de cera, con niveles que van de  $0.006$  a  $1.532 \text{ mg kg}^{-1}$ , con un promedio de  $0.018 \text{ mg kg}^{-1}$ . El malatión, utilizado en la agricultura como insecticida y acaricida y para el control de plagas urbanas, presenta baja persistencia y alta toxicidad en insectos (Toxnet, 2019).

Los resultados de este estudio demuestran una alta incidencia del organofosforado malatión en el norte de México, y aunque presenta baja persistencia, es de alta incidencia en las muestras analizadas. Lo anterior probablemente se explique por la aplicación del organofosforado cerca de las colmenas antes de que fueran recolectadas las muestras, y a que como anteriormente se mencionó, que la mayoría de las colmenas se movilizan en busca de floración y se ubican principalmente cerca de los cultivos agrícolas.

Finalmente, la permetrina cis se encontró en menor frecuencia (seis muestras de cera), pero en mayor cantidad ( $0.087 \text{ mg kg}^{-1}$ ); sin embargo, la UE no especifica su LMR. Datos similares son reportados por [Johnson et al. \(2010\)](#), con valores de  $0.133 \text{ mg kg}^{-1}$ . No obstante, este insecticida es altamente tóxico para las abejas, con una  $DL_{50}$  tópica de  $0.024 \text{ } \mu\text{g/abeja}$  ([Piccolomini et al., 2018](#)). La exposición prolongada de los piretroides pueden afectar la inmunidad celular y humoral; así como la disminución en la inmunidad en las abejas ([Qi et al., 2019](#)). La permetrina se utiliza principalmente como insecticida y acaricida para el tratamiento de semillas de uso forestal, y para el control de vectores ([Toxnet, 2019](#)); y su amplio uso puede ser la razón de su mayor cantidad y presencia en las muestras analizadas, ya que algunas muestras provenían de la cercanía de zonas agrícolas.

Es importante señalar que La Comarca Lagunera ha sido referente en cuanto a la siembra de algodón, cultivo de forrajes para el ganado bovino, y además la producción hortícola se encuentra en aumento ([SIAP, 2019](#)); por lo que es una región donde se han utilizado una gran diversidad de plaguicidas, muchos de los cuales presentan efecto residual ([Vargas-González et al., 2016](#)). Por lo tanto las prácticas agrícolas inadecuadas y el uso y manejo ineficiente de los plaguicidas ([Esquivel-Valenzuela et al., 2019](#)) han creado un serio problema de salud pública, debido a intoxicaciones por agroquímicos, así como para el medio ambiente; destacándose el daño ocasionado a la apicultura por su efecto en el colapso de las colmenas.

## CONCLUSIONES

La mayor cantidad de plaguicidas se encontraron en la cera de las colonias con antecedentes de colapso; así también presentan la mayor diversidad (insecticidas, fungicidas, acaricidas y herbicidas). La presencia de plaguicidas en la miel y cera de las colonias bajo, con, y sin antecedentes de colapso pueden ser la consecuencia de los tratamientos fitosanitarios utilizados en la agricultura, por lo que su presencia puede verse influida por el origen de la muestra, ya que el radio de acción de las abejas es de hasta diez kilómetros. Sin embargo, nuestros datos no nos permiten afirmar que la presencia de plaguicidas sea la principal o única causa del colapso de las colonias; y por lo tanto, se requiere continuar con este tipo de investigaciones para determinar los factores que afectan la salud de las abejas melíferas, como lo es la presencia de plaguicidas, parásitos y enfermedades en la región.



## AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias por la oportunidad de realizar el doctorado; a la UAAAN por el financiamiento de los proyectos No. 2834 y 2835; al CIATEJ A.C Sede Noreste y al QFB Víctor Alcántar Rosales por el apoyo en el proceso y análisis de las muestras; a los apicultores por las facilidades para la toma de las muestras y aplicación del cuestionario.

## LITERATURA CITADA

- ALCÁNTAR-ROSALES VM, Heras-Ramírez ML, Valdovinos-Flores C, Saldaña-Loza LM, Reyes-Carrillo JL, Dorantes-Ugalde JA, Gaspar-Ramírez O. 2016. Current Situation of Pesticide Use in Mexico and Its Relationship with Colony Collapse Disorder, an Emerging Problem. XVI International Congress of Toxicology. Mérida, México.
- BALBUENA MS, Tison L, Hahn ML, Greggers U, Menzel R, Farina WM. 2015. Effects of Sublethal Doses of Glyphosate on Honeybee Navigation. *Journal of Experimental Biology*. 218: 2799-2805. <https://doi.org/10.1242/jeb.117291>
- BELSKY J, Joshi NK. 2019. Impact of biotic and abiotic stressors on managed and feral bees. *Insect* 10 (233): 1-42. <https://doi.org/10.3390/insects10080233>.
- BENUSZAK J, Laurent M, Chauzat MP. 2017. The exposure of honey bees (*Apis mellifera*; Hymenoptera: Apidae) to pesticides: Room for improvement in research. *Science of The Total Environment*. 587-588:423-438. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.02.062>
- BOHNENBLUST EW, Vaudo AD, Egan JF, Mortensen DA, Tooker JF. 2016. Effects of the herbicide dicamba on nontarget plants and pollinator visitation. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 35(1):144-51. <https://doi.org/10.1002/etc.3169>
- BOTÍAS C, Sánchez-Bayo F. 2018. Papel de los plaguicidas en la pérdida de polinizadores. *Ecosistemas*. 27(2):34-41. <https://doi.org/10.7818/ECOS.1314>
- BROADRUP RL, Mayack C, Schick SJ, Eppley EJ, White HK, y Macherone A. 2019. Honey bee (*Apis Mellifera*) exposomes and dysregulated metabolic pathways associated with *Nosema ceranae* infection. *PLoS ONE* 14 (4): 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215166>
- BRUTSCHER LM, McMenamin AJ, Flenniken ML. 2016. The Buzz about Honey Bee Viruses. *PLoS Pathogens*. 12(8):1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005757>
- CALATAYUD-VERNICH P, Calatayud, F, Simó E, Picó Y. 2018. Pesticide residues in honey bees, pollen and beeswax: Assessing beehive exposure. *Environmental Pollution*. 241:106-114. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.062>
- CRESSWELL JE, Thompson HM. 2012. Comment on A Common Pesticide Survival in Honey Bees. *Science*. 337:1453-b. <https://doi.org/10.1126/science.1224618>
- DA SILVA PI, Oliveira FAS, Pedroza HP, Gadelha ICN, Melo MM, Soto-Blanco B. 2015. Pesticide exposure of honeybees (*Apis Mellifera*) pollinating melon crops. *Apidologie*. 46

(6): 703-15. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0360-3>

DI PRISCO G, Annoscia D, Margiotta M, Ferrara R, Varricchio P, Zanni V, Caprio E, Nazzi F, Pennacchio F. 2016. A mutualistic symbiosis between a parasitic mite and a pathogenic virus undermines honey bee immunity and health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113: 1-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1523515113>

DI PRISCO G, Cavaliere V, Annoscia D, Varricchio P, Caprio E, Nazzi F, Gargiulo G, Pennacchio F. 2013. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 110: 18466-18471. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314923110>

EL HASSANI AK, Dacher M, Gary V, Lambin M, Gauthier M, Armengaud C. 2008. Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 54(4):653-661. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9071-8>

ESQUIVEL-VALENZUELA B, Cueto-Wong JA, Valdez-Cepeda RD, Pedroza-Sandoval A, Trejo-Calzada R, Pérez-Veyna O. 2019. Prácticas de manejo y análisis de riesgo por el uso de plaguicidas en La Comarca Lagunera, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 35(1):25-33. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.01.02>

GAWEŁ M, Kiljanek T, Niewiadowska A, Semeniuk S, Goliszek M, Burek O, Posyński A. 2019. Determination of neonicotinoids and 199 other pesticide residues in honey by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*. 282: 36-47. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.003>

JOHNSON RM, Dahlgren L, Siegfried BD, Ellis MD. 2013. Acaricide, Fungicide and Drug Interactions in Honey Bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE*. 8(1):e54092. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054092>

JOHNSON RM, Ellis MD, Mullin CA, Frazier M. 2010. Pesticides and honey bee toxicity – USA. *Apidologie*. 41:312-331. <https://doi.org/10.1051/apido/2010018>

KOVÁCS-HOSTYÁNSZKI A, Espíndola A, Vanbergen AJ, Settele J, Kremen C y Dicks LV. 2017. Ecological intensification to mitigate impacts of conventional intensive land use on pollinators and pollination. *Ecology Letters*. 20: 673-89. <https://doi.org/10.1111/ele.12762>

LOZANO A, Hernando MD, Uclés S, Hakme E, Fernández-Alba AR. 2019. Identification and measurement of veterinary drug residues in beehive products. *Food Chemistry*. 274: 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.055>

LU C, Warchol KM, Callahan RA. 2014. Sub-lethal exposure to neonicotinoids impaired honey bees winterization before proceeding to colony collapse disorder. *Bulletin of Insectology*. 67(1):125-130. <https://doi.org/http://www.bulletinofinsectology.org>

NIELL S, Hepperle J, Doerk D, Kirsch L, Kolberg D. 2014. QuEChERS-Based Method for the Multiresidue Analysis of Pesticides in Beeswax by LC-MS/MS and GC×GC-TOF. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62:3675-3683.

<https://doi.org/10.1021/jf405771t>

O'NEAL ST, Anderson TD, Wu-Smart JY. 2018. Interactions between pesticides and pathogen susceptibility in honey bees. *Current Opinion in Insect Science*. 26: 57-62. <https://doi.org/10.1016/J.COIS.2018.01.006>

OLLERTON J. 2017. Pollinator diversity: distribution, ecological function, and conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 48: 353-76. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022919>

OSTIGUY N, Drummond FA, Aronstein K, Eitzer B, Ellis JD, Spivak M, Sheppard WS. 2019. Honey bee exposure to pesticides: A four-year nationwide study. *Insects*. 10(1):1-34. <https://doi.org/10.3390/insects10010013>

PICCOLOMINI AM, Whiten RS, Flenniken ML, O'Neill KM, Peterson RKD. 2018. Acute toxicity of permethrin, deltamethrin, and etofenprox to the alfalfa leafcutting bee. *Journal of Economic Entomology*. 111 (3): 1001-5. <https://doi.org/10.1093/jee/toy014>

QI S, Niu X, Wang DH, Wang C, Zhu L, Xue X, Zhang Z, Wu L. 2019. Flumethrin at sublethal concentrations induces stresses in adult honey bees (*Apis mellifera* L.). *Science of the Total Environment*. 700. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134500>

SÁNCHEZ-BAYO F, Goulson D, Pennacchio F, Nazzi F, Goka K, Desneux N. 2016. Are bee diseases linked to pesticides? A brief review. *Environment International*. 89-90:7-11. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.01.009>

SIAP. Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera. 2018. Abejas población apícola. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>.

SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) 2019. Coahuila Infografía agroalimentaria 2018. file:///E:/Plaguicidas/Coahuila-Infografía-Agroalimentaria-2018.pdf.

SIMON-DELSON N, Martin GS, Bruneau E, Minsart LA, Mouret C, Hautier L. 2014. Honeybee colony disorder in crop areas: The role of pesticides and viruses. *PLoS ONE*. 9(7):1-16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103073>

TOSI S, Démares FJ, Nicolson SW, Medrzycki P, Pirk CWW, Human H. 2016. Effects of a neonicotinoid pesticide on thermoregulation of African honey bees (*Apis mellifera scutellata*). *Journal of Insect Physiology*. 93:56-63. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.08.010>

TOXNET (Toxicology Data Network). 2019. <https://toxnet.nlm.nih.gov/newtoxnet/hsdb.htm>

TRAYNOR KS, Pettis JS, Tapy DR, Mullin CA, Frazier JL, Frazier M, vanEngelsdorp D. 2016. In-hive Pesticide Exposome: Assessing risks to migratory honey bees from in-hive pesticide contamination in the Eastern United States. *Scientific Reports*. 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep33207>

VALDOVINOS-FLORES C, Gaspar-Ramírez O, Dorantes-Ugalde JA. 2017. Agricultural pesticide residues in honey and wax combs from Southeastern, Central and Northeastern Mexico. *Journal of Apicultural Research*. 56(5):667-679. <https://doi.org/>

10.1080/00218839.2017.1340798

VANENGELSDORP D, Evans JD, Donovall L, Mullin C, Frazier M, Frazier J, Tarpay DR, Hayes J, Pettis JS. 2009. Entombed Pollen: A new condition in honey bee colonies associated with increased risk of colony mortality. *Journal of Invertebrate Pathology* 101 (2):147-149. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.03.008>

VARGAS-GONZÁLEZ G, Alvarez-Reyna P, Guigón-López V, Cano-Ríos P, Jiménez-Díaz F, Vásquez-Arroyo J, García-Carrillo M. 2016. Patrón de uso de plaguicidas de alto riesgo en el cultivo de melón (*Cucumis melo* L.) en La Comarca Lagunera. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 3(9):135 [https://doi.org/10.1007/978-3-540-71095-0\\_2550](https://doi.org/10.1007/978-3-540-71095-0_2550)

WANG Y, Cheng ZY, Li W. 2019. Interaction patterns and combined toxic effects of acetamiprid in combination with seven pesticides on honey bee (*Apis Mellifera* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 190. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2019.110100>

WILMART O, Legre A, Graaf DC, Steurbaut W, Delahaut P, Gustin P, Nguyen BK, Saegerman C. 2016. Residues in Beeswax: A Health Risk for the Consumer of Honey and Beeswas?. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02813>

WU JY, Anelli CM, Sheppard WS. 2011. Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity. *PLoS ONE*. 6(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014720>

Publica tus resultados de investigaciones en las revistas abanico.

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico>

## Artículo 2

Patógenos y pérdida de colonias de abejas

### **Características del apicultor y parasitosis de las abejas como causas en la pérdida de colonias de La Comarca Lagunera**

VARGAS-VALERO, Azucena<sup>1,2</sup>, RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, Rafael<sup>2\*</sup>, REYES-CARRILLO, José L<sup>2</sup>, MORENO-RESÉNDEZ, Alejandro<sup>2</sup>, VÉLIZ-DERAS, Francisco G<sup>2</sup> & GASPAR-RAMÍREZ, Octavio<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones, Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Edzná, Km. 15.5 Carretera Campeche-Pocuyaxun, Campeche, México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna, Carretera a Sta. Fe y Periférico Raúl López Sánchez s/n C.P. 27054, Torreón, Coahuila, México.

<sup>3</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Parque Piit, Vía de la Innovación 404, 66600 Cd Apodaca, N.L, México.

\*Correspondencia: [rafael.rdz.mtz@gmail.com](mailto:rafael.rdz.mtz@gmail.com)

### **Characteristics of the beekeeper and parasitosis of the bees as causes in the loss of colonies of the Comarca Lagunera**

**ABSTRACT.** To determine the role that varroosis, nosemosis, acarapisosis, and some aspects of the typology of the beekeeper as the cause of the colony losses, 132 bee samples of bees from 43 beekeepers were obtained from the same number of colonies and were classified with and without a antecedent of colony loss (APC). The characteristics of the management, the typology and colony loss were obtained by means of questionnaires applied to the beekeepers, and the infestation levels for each pathogen were classified by its severity. The effects on the colony loss were identified, using Kruskal-Wallis for the level of infestation of the pathogens, and a test of  $X^2$  for the characteristics and typology of the beekeeper. There was no difference ( $p > 0,05$ ) in the prevalence of *V. destructor* and *Nosema* between colonies with and without APC, whereas there was no presence of *A woodi*. Likewise, the colony loss was equal ( $p > 0,05$ ) for those with and without APC

in relation to the infestation level of *V. destructor* and *Nosema* infection, and to the characteristics and typology of the beekeeper. Our results discard the variables studied as the cause of the colony losses, and further studies are need to identify the causes of this phenomenon, such as the use of pesticides.

**Key words:** *Apis mellifera*. Diseases. Infestation. México. Prevalence.

**RESUMEN.** Para determinar el papel de la varroosis, nosemosis, acarapisosis y algunas características y tipología del apicultor como causa de la pérdida de las colonias, se obtuvieron de 43 apicultores, 132 muestras de abejas del mismo número de colonias y se clasificaron en con y sin antecedentes de pérdida de colonias (APC). Las características del manejo, la tipología y las pérdidas de colonias se obtuvieron a través de cuestionarios aplicados a los apicultores y los niveles de infestación para cada parasitosis se clasificaron por su severidad. Se identificaron los efectos sobre la pérdida de las colonias, utilizando Kruskal-Wallis para el nivel de infestación de las parasitosis, y  $X^2$  para las características y tipología del apicultor. No hubo diferencia ( $p > 0,05$ ) en la prevalencia de *V. destructor* y *Nosema* entre colonias con y sin APC, mientras que no hubo presencia de *A. woodi*. De igual manera, la pérdida de colonias fue igual ( $p > 0,05$ ) para aquellas con y sin APC en relación a los niveles de infestación de *V. destructor* e infección de *Nosema*, y a las características y tipología del apicultor. Nuestros resultados descartan a las variables estudiadas como causantes de la pérdida de las colonias, siendo necesarios más estudios para identificar las causas de este fenómeno, como el uso de plaguicidas.

**Palabras clave:** *Apis mellifera*. Enfermedades. Infestación. México. Prevalencia.

## INTRODUCCIÓN

Las abejas melíferas (*Apis mellifera* L) son insectos polinizadores que tienen un papel importante en la actividad agropecuaria, ya que alrededor de un tercio de los cultivos dependen de forma directa de la polinización, aportando al año a la calidad y cantidad de éstos un valor aproximado de 265 mil millones de dólares; por esta razón, son un

componente esencial para la seguridad alimentaria y el mantenimiento de la biodiversidad (Lautenbach et al., 2012).

En los últimos años se ha observado un incremento en la pérdida de abejas melíferas debido a diversos factores (Brutscher et al., 2016), lo que se ha nombrado como Desorden del Colapso de las Colonias (DCC). Varios estudios han mostrado que existen más de 60 factores asociados al DCC (VanEngelsdorp et al., 2009), entre otros, una alimentación deficiente, prácticas de manejo inadecuadas, reducción del hábitat, sequías o lluvias extremas, exposición a plaguicidas y la presencia de parásitos como el ácaro *Varroa destructor* y el microsporidio *Nosema* spp (Staveley et al., 2014; DeGrandi-Hoffman & Chen, 2015; McMenamin & Genersch, 2015; Dennis & Kemp, 2016).

Los patógenos afectan de diferente forma a las abejas, por ejemplo, *V. destructor* afecta el sistema inmunológico, el comportamiento, la orientación y la actividad de las abejas pecoreadoras, además de ser un vector mecánico y biológico de virus (Yang & Cox-Foster, 2007), mientras que *Nosema apis* y *Nosema ceranae*, afectan el tracto digestivo de las abejas adultas, provocando en las obreras afectadas reducción en el desarrollo de las glándulas hipofaríngeas y menor acumulación de grasa corporal (Fries, 1993; Higes et al., 2008). Por su parte, el ácaro *Acarapis woodi* provoca pérdidas económicas significativas en muchas áreas geográficas. Parasita el sistema respiratorio; vive y se reproduce principalmente en la tráquea protorácica de la abeja, aunque también puede encontrarse en la cabeza y en los sacos aéreos torácicos y abdominales. Este organismo se alimenta de la hemolinfa de su hospedero y es vector de varios virus de las abejas (Garrido-Bailón et al., 2012).

Las colonias con antecedentes de pérdida (APC) reúnen una serie de características, entre las que sobresalen: a) la muerte de parte o toda la colonia, con presencia de abejas muertas dentro o cerca de la colmena; b) la desaparición de parte o toda la colonia, con abandono de las reservas de alimento y las crías; y c) el debilitamiento de la colonia caracterizada por un lento desarrollo durante la primavera, bajo condiciones óptimas (Simon-Delso et al., 2014).

Las pérdidas de colonias de abejas reportadas en regiones de Europa y América del Norte han sido superiores al 30% (VanEngelsdorp & Meixner, 2011). Para el caso de México,

en La Comarca Lagunera, del 2010 al 2016 se presentó una disminución del 35% de las colonias de abejas (SIAP, 2017). La disminución de colonias, aunada a la falta de estudios sobre la presencia y niveles de infestación de las principales parasitosis, motivan la presente investigación, con el objetivo de determinar la prevalencia y niveles de infestación/infección de *V. destructor*, *Nosema* spp y *A. woodi*, evaluar el papel que los niveles de estas parasitosis y algunas características de manejo de las colonias y la tipología del apicultor, tienen en la pérdida de las colonias, así como también, cuantificar la pérdida de colonias de abejas melíferas de La Comarca Lagunera.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Localización.** El estudio se realizó en los municipios de Matamoros, Torreón, Francisco I. Madero, San Pedro y Viesca, del estado de Coahuila, y en los municipios de Lerdo y Gómez Palacio del estado de Durango, ubicados en La Comarca Lagunera (25° 05' y 26° 54' LN y 101° 40' y 104° 45' LO), la cual se caracteriza por una precipitación anual de 235 mm, altitud de 1139 msnm, clima seco semiárido, y temperatura promedio anual de 22 °C, con máximas y mínimas de 33 y 9 °C respectivamente (INEGI, 2017).

### **Factores analizados**

**Cuestionario.** Antes de la colecta de muestras cada apicultor respondió un cuestionario del cual se obtuvieron datos como su edad, su experiencia en la actividad apícola, la ubicación del apiario, el número de colonias (tipología) y su movilización, el estado sanitario de las colonias (con APC y asintomáticas o sin APC), y las pérdidas de colonias durante el periodo 2016 y 2017.

**Colecta de las muestras.** De 66 apicultores registrados en el Comité Sistema Producto Apícola de la Región Lagunera A.C., se seleccionaron 43 apicultores, bajo el criterio de contar con al menos de 10 colonias y disponibilidad de participar en el proyecto. La toma de muestras se realizó de junio a septiembre de 2017 mediante un muestreo aleatorio del 20% de las colonias de cada apiario, obteniendo un total de 132 muestras. Las muestras se clasificaron en provenientes de colonias con APC (n = 48; 36,4%) y asintomáticas o provenientes de colonias sin APC (n = 84; 63,6%) de acuerdo a los datos obtenidos de la



aplicación del cuestionario a cada apicultor y con base en los criterios definidos por Simon-Delso et al. (2014).

Las muestras fueron de aproximadamente 200 abejas adultas tomadas de los bastidores del alza en un frasco con alcohol al 70% (Traynor et al., 2016) y transportadas para su posterior análisis al laboratorio del Departamento de Biología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. En las muestras se analizaron los siguientes patógenos:

***Varroa destructor***. Las muestras fueron analizadas para detectar la presencia de ácaros de acuerdo a la técnica del agitado (Shimanuki & Knox, 2000) y el nivel de infestación se calculó con el número de ácaros por cada 100 abejas y se reportó como porcentaje de infestación (OIE, 2017), clasificándose en tres niveles: 1) 0,0-5,0%; 2) 5,1-10,0% y 3) 10,1-15,0%.

***Nosema spp.*** Las muestras se analizaron mediante la técnica de Cantwell, determinando la presencia y cuantificando el número de esporas. Se reporta la intensidad de infección en millones de esporas por abeja (OIE, 2017; Shimanuki & Knox, 2000), clasificándose en cuatro niveles: Ligerio (1-5), regular (> 5 -10), semisevero (> 10-20) y severo (más de 20) (Guzmán-Novoa & Correa-Benítez, 2012).

***Acarapis woodi***. El análisis de cada muestra se realizó en 20 abejas adultas con la técnica del disco mesotorácico (OIE, 2017; Shimanuki & Knox, 2000), para determinar la presencia del ácaro y su nivel de infestación.

**Características y tipología del apicultor**. La edad del apicultor se categorizó en tres grupos: 26-45; 46-65 y, mayor a 65 años (Chauzat et al., 2016); la experiencia del apicultor en la actividad se clasificó en dos grupos: menor a 30 años y mayor de 30 años; la tipología de la actividad se clasificó, con base al número de colonias de cada apicultor en tres categorías, pequeños apicultores ( $\leq 50$  colonias), intermedios (51 a 200 colonias) y comerciales (> 201 colonias) (Vélez et al., 2016); respecto a la práctica de movilización de las colonias se clasificaron en: sí y no.

**Pérdidas de colonias de abejas.** La pérdida de colonias de abejas se obtuvo a través del cuestionario aplicado a los apicultores, la información obtenida se categorizó en cuatro rangos (0-25%, 26-50%, 51-75% y más del 76%).

**Análisis estadístico.** Para determinar si los datos cumplían con criterios de normalidad se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Los niveles de infestación de *Varroa* se transformaron a raíz cuadrada y los niveles de infección de *Nosema* se transformaron en base  $\text{Log}_{10}$ . Para la prevalencia de los patógenos entre los grupos (con y sin APC) se realizó una prueba de  $X^2$ . La comparación de los niveles de infestación de *varroa* e infección de *nosema* entre los grupos se realizó mediante una prueba de Kruskal-Wallis. Para el efecto de las características y tipología del apicultor como causa de la pérdida de las colonias se realizó una prueba de  $X^2$ . Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS Statistics versión 20,0 (SPSS, 2018).

## RESULTADOS

**Prevalencia de *V. destructor*, *Nosema* spp y *A. woodi* en colonias con y sin APC.** No se encontró diferencia significativa en la prevalencia de *V. destructor* ( $X^2 = 0,127$ ; g.l. = 1;  $p = 0,722$ ) entre el grupo con APC (77%) y sin APC (86%), mientras que la prevalencia de *Nosema* spp fue del 100% en los dos grupos. *A. woodi* no se detectó en las muestras (Tabla I).

**Niveles de infestación/infección en colonias con y sin APC.** No se encontró diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) en los niveles de infestación para *V. destructor* y *Nosema* spp entre los grupos con y sin APC.

**Características y tipología del apicultor.** La edad, experiencia y tipología del apicultor, y la movilización de las colonias no tuvieron efecto ( $p > 0,05$ ) sobre la pérdida de colonias entre los grupos con y sin APC (Tabla II).

**Pérdidas de colonias.** Las pérdidas de colonias de abejas del 2016 al 2017 pueden ser consideradas de importancia económica para los apicultores, especialmente para dos de ellos, que representan el 45%, quienes sufrieron pérdida de más del 76% de sus colonias, mientras que, de manera contraria, nueve apicultores (21%) perdieron menos del 25% de

sus colonias. La mayoría de los apicultores ( $n = 32$ , 74%) sufrieron pérdidas del 25 al 75% de sus colonias.

## DISCUSIÓN

Este estudio arroja evidencias que una alta proporción de colonias aparentemente sanas tienen altas prevalencias y niveles de infestación/infección de *V. destructor* y *Nosema* spp respectivamente, aunque no existe diferencia entre los niveles de infestación de estos parásitos entre las colonias con antecedentes y sin antecedentes de pérdida. De la misma forma, ni las características ni la tipología del apicultor afectaron la pérdida de colonias entre uno y otro grupo.

**Prevalencia y nivel de infestación/infección de *V. destructor* y *Nosema* spp y *A. woodi* en colonias con y sin APC.** No se encontró diferencia estadística ( $p > 0,05$ ) entre los grupos con y sin APC para la prevalencia de Varroa y de Nosema. Para *V. destructor* la prevalencia en colonias con APC fue 77% y en colonias sin APC de 86%, resultados que difieren con los reportados por VanEngelsdorp et al. (2009) (64% y 53%) y con los reportados por Meana et al. (2017) (59% y 41%). La prevalencia elevada que se reporta en este estudio puede estar relacionada por la cercanía entre apiarios y la sobresaturación de colonias en un área (Herrera et al., 2017) y, con la aplicación inadecuada de tratamientos para su control (Meana et al., 2017). Además, puede deberse a la difícil erradicación del ácaro, sin embargo, las abejas melíferas pueden sobrevivir con Varroa hasta con el 17% de infestación (Currie & Gatién, 2006), nivel mayor a lo encontrado en el presente estudio (Tabla I).

El porcentaje promedio del nivel de infestación de *V. destructor* en colonias con y sin APC fue de  $3,59 \pm 0,54$  y  $3,06 \pm 0,54$  respectivamente; Genersch et al. (2010) reportan  $3,4 \pm 0,1$  para las colonias sin APC, nivel similar a lo encontrado en el presente estudio. Por otro lado, VanEngelsdorp et al. (2009) reportan 8,6% de prevalencia en colonias con APC, valor mayor a lo registrado en este estudio. Estas diferencias en la dinámica poblacional de *V. destructor* pueden tener diversas causas, como los factores ambientales que alteran las condiciones microclimáticas dentro de la colonia, la temperatura, humedad

y disponibilidad de polen o néctar (Rosenkranz et al., 2010) o el mejoramiento genético (que favorece la capacidad de eliminar las varroas adultas y detectar y remover las crías afectadas) (Meixner et al., 2015), así como también, el comportamiento higiénico, que afecta la supervivencia y éxito reproductivo de *Varroa* (Rosenkranz et al., 2010).

La prevalencia de *Nosema* spp. en ambos grupos fue del 100%, similar a lo reportado para *N. ceranae* en colonias con APC por Meana et al. (2017). Por otra parte, VanEngelsdorp et al. (2009) reportaron prevalencias del 35% para colonias sin APC. La prevalencia elevada puede deberse a la presencia de la especie *N. ceranae*, que a diferencia de *N. apis*, es más virulenta y resistente a altas temperaturas (Martín-Hernández et al., 2009), además, es catalogada como una de las principales causas en la pérdida de colonias (Higes et al., 2008). Sin embargo, en el presente estudio no se realizó un diagnóstico diferencial para *N. ceranae*, por lo que no se puede determinar si la prevalencia del microsporidio y los niveles de infección encontrados se deben a esta especie.

El nivel promedio de infección por *Nosema* para los dos grupos fue de nueve millones de esporas por abeja (Tabla I), el cual no influyó la condición sanitaria de las colonias (con y sin APC). Sin embargo, en el grupo sin APC, el 77% de las colonias presentaron niveles de infección de ligero a regular, mientras que el grupo con APC fue el 63%. Estos resultados contrastan con lo reportado por Traynor et al. (2016) quienes reportan niveles promedios de infección por debajo de 0,5 millones de esporas por abeja, al igual que con los 1,9 millones en colonias con APC y un millón en colonias sin APC reportados por VanEngelsdorp et al. (2009). Estas diferencias en los niveles de infección pueden deberse a los métodos de muestreo, áreas geográficas, especies de abejas y técnicas de diagnóstico, entre otros factores bióticos y abióticos (Papini et al., 2017). Además, se ha observado una coevolución huésped-patógeno gracias a la cual, las abejas obreras pueden lograr un desempeño adecuado, llegando a mantener la eficiencia y la productividad de la colonia (Kurze et al., 2016a).

El ácaro *A. woodi* no se encontró en las muestras analizadas. En efecto, este ácaro no presenta un problema sanitario para la apicultura en la región. En lugares donde está presente, se observa una prevalencia y nivel de infestación bajo (Garrido-Bailón et al., 2012; Figueroa & Arechavaleta-Velasco, 2018), ya que al parecer se ha establecido un

equilibrio entre el parásito y las abejas, debido probablemente a la aplicación de diversos métodos de control de *V. destructor*, los cuales tienen efecto indirecto sobre *A. woodi* (OIE, 2017).

**Características y tipología del apicultor.** No se encontró efecto de la edad, experiencia, tipología del apicultor y movilización con respecto a la pérdida de las colonias (Tabla II), de manera similar a lo reportado por Genersch et al. (2010) y Meana et al. (2017). Esto pudo deberse a que las abejas melíferas se han adaptado para resistir o tolerar parásitos de forma individual y que a nivel social pueden reducir o evitar la transmisión de parásitos en la colonia (Kurze et al., 2016b).

**Pérdida de colonias.** Publicaciones recientes confirman la pérdida de colonias de abejas en varios países (Van Der Zee et al., 2015; Chauzat et al., 2016; Meana et al., 2017; Jacques et al., 2017; Kulhanek et al., 2017; VanEngelsdorp et al., 2017). En el presente estudio se encontró que más de la mitad de los apicultores (56%) sufrieron pérdidas del 26 al 50% de sus colonias durante los años 2016 y 2017; resultados similares se encontraron en México con 33,4% (Medina-Flores et al., 2018) y Estados Unidos de América 40,5% (Kulhanek et al., 2017). La mayoría de los apicultores atribuyeron la pérdida a los plaguicidas aplicados en los cultivos y al cambio climático, sin descartar la nula aplicación de productos para el control de parasitosis y las prácticas inadecuadas de producción. El rango de las pérdidas de las colonias es muy variable que va del 4% (Van Der Zee et al., 2012) hasta el 85% (Neumann & Carreck, 2010). Esta variación puede ser atribuida a diversos factores como la diversidad genética de las abejas melíferas y la presencia de plagas y enfermedades, el uso excesivo de plaguicidas, la pérdida de vegetación y las prácticas de manejo (Neumann & Carreck, 2010).

Los resultados demuestran que la prevalencia y niveles de infestación/infección de los patógenos, así como las características y tipología del apicultor, no favorecen la pérdida de las colonias de abejas reportadas en los últimos años en La Comarca Lagunera. Se requieren más estudios de monitoreo longitudinal para tener una mejor comprensión de los factores que afectan las pérdidas de colonias de abejas melíferas, especialmente la presencia de plaguicidas y factores ambientales no considerados en esta investigación, por

lo que es importante realizar investigaciones que se enfoquen a evaluar estos elementos y su papel en las pérdidas de las colonias en la región.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias por la oportunidad de realizar el doctorado; a la UAAAN por el financiamiento de los proyectos No. 2834 y 2835; a los apicultores por las facilidades para la toma de las muestras y aplicación del cuestionario.

## **BIBLIOGRAFÍA CITADA**

- Brutscher, L.M., McMenamin, J.A., & Flenniken, L.M. (2016) The Buzz about Honey Bee Viruses. *Plos Pathogens*, 12, 1-7.
- Currie, R.W., & Gatién, P. (2006) Timing acaricide treatments to prevent *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) from causing economic damage to honey bee colonies. *The Canadian Entomologist*, 138, 238-252.
- Chauzat, M.P., Jacques, A., Laurent, M., Bougeard, S., Hendrikx, P., & Ribière-Chabert, M. (2016) Risk indicators affecting honeybee colony survival in Europe: one year of surveillance. *Apidologie*, 47, 348-78.
- DeGrandi-Hoffman, G., & Chen, Y. (2015) Nutrition, immunity and viral infections in honey bees. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 170-76.
- Dennis, B., & Kemp, W.P. (2016) How hives collapse: allee effects, ecological resilience, and the honey bee. *PLoS ONE*, 11, 1-17.
- Figuroa, G.C., & Arechavaleta-Velasco, M.E. (2018) Prevalence of honeybee tracheal mite disease and infestation levels of *Acarapis woodi* in honeybee colonies of Morelos, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 9(3), 1-9.
- Fries, Ingemar. (1993) *Nosema Apis* - a Parasite in the Honey Bee Colony. *Bee World*, 74 (1), 5-19.

- Garrido-Bailón, E., Bartolomé, C., Prieto, L., Botías, C., Martínez-Salvador, A., Meana, A., Martín-Hernandez, R., & Higes, M. (2012) The prevalence of *Acarapis woodi* in Spanish honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental Parasitology*, 132, 530-36.
- Genersch, E., Von der Ohe, W., Kaatz, H., Schroeder, A., Otten, C., Büchler, R., Berg, A., Ritter, W., Mühlen, W., et al. (2010) The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, 41, 332-52.
- Guzmán-Novoa, E., & Correa-Benítez, A. (2012) Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas. Imagen Editorial Yire. México, DF.
- Herrera, A., Smith-Herron, A., Traub, N., Yount, K., & Chapman, B.R. (2017) Prevalence of Honey Bee (*Apis Mellifera*) parasites across Texas. *The Southwestern Naturalist*, 62(4), 255-262.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Garrido-Bailón, E., González-Porto, A.V., Barrios, L., del Nosal, M.J., Bernal, J.L., & Jimenez, J.J. et al. (2008) How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environmental Microbiology*, 10, 2659-2669.
- INEGI (2017) Cuéntame de México. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (<http://cuentame.inegi.org.mx/>).
- Jacques, A., Laurent, M., Ribière-Chabert, M., Saussac, M., Bougeard, S., Budge, G.E., Hendrikx P., & Chauzat, P. (2017) A pan-European epidemiological study reveals honey bee colony survival depends on beekeeper education and disease control. *PLoS ONE*, 12(3), e0172591.
- Kulhanek, K., Steinhauer, N., Rennich, K., Caron, D.M., Sagili, R.R., Pettis, J.S., Ellis J.D., Wilson M.E., Wilkes, J.T., et al.(2017) A national survey of managed honey bee 2015-2016 annual colony losses in the USA. *Journal of Apicultural Research*, 56, 328-40.

- Kurze, C., Mayack, C., Hirche, F., Stangl, G.I., Le Conte, Y., Kryger, P., & Moritz, R.F.A. (2016a) *Nosema* spp. infections cause no energetic stress in tolerant honeybees. *Parasitology Research*, 115, 2381-88.
- Kurze, C., Routtu, J., & Moritz, R.F.A. (2016b) Parasite Resistance and Tolerance in Honeybees at the Individual and Social Level. *Zoology*, 119 (4), 290-297.
- Lautenbach, S., Seppelt, R., Liebscher, J., & Dormann C.F. (2012) Spatial and temporal trends of global pollination benefit. *PLoS ONE*, 7(4), e35954.
- Martín-Hernández, R., Antúnez, K., Prieto, L., Meana, A., Zunino, P., & Higes, M. (2009) Immune Suppression in the Honey Bee (*Apis Mellifera*) Following Infection by *Nosema Ceranae* (Microsporidia). *Environmental Microbiology*, 11(9), 2284-2290.
- McMenamin, A.J., & Genersch, E. (2015) Honey bee colony losses and associated viruses. *Current Opinion in Insect Science*, 8, 121-29.
- Meana, A., Llorens-Picher, M., Euba, A., Bernal, J.L, Bernal, J., García-Chao, M, Dagnac, T., Castro-Hermida, J.A. et al. (2017) Risk factors associated with honey bee colony loss in apiaries in Galicia, NW Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 15, 0501.
- Medina-Flores, C.A., Esquivel-Marín, N.H, López-Carlos, M., Medina-Cuellar, S.E., & Aguilera-Soto, J.I. (2018) Estimación de la pérdida de colonias de abejas melíferas en el altiplano y el norte de México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 5, 365-371.
- Meixner, M.D., Kryger, P., & Costa, C. (2015) Effects of genotype, environment, and their interactions on honey bee health in Europe. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 177-84.
- Neumann, P., & Carreck, N.L. (2010) Honey bee colony losses. *Journal of Apicultural Research*, 49, 1-6.
- OIE (2017). Manual de La OIE Sobre Animales Terrestres (<http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre>).



- Papini, R., Mancianti, F., Canovai, R., Cosci, F., Rocchigiani, G., Benelli, G., & Canale, A. (2017) Prevalence of the microsporidian *Nosema ceranae* in honeybee (*Apis Mellifera*) apiaries in central Italy. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24, 979-982.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., & Ziegelmann, B.(2010) Biology and Control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, S96-119.
- Shimanuki, H., & Knox, D.A. (2000) Diagnosis of honey bee diseases. Agriculture handbook No. 690. USDA. Washington D.C.
- SIAP (2017) Producción ganadera. Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera. (<https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>).
- Simon-Delso, N., Martin, S.G., Bruneau, E., Minsart, L.A., Mouret, C., & Hautier, L. (2014) Honeybee colony disorder in crop areas: the role of pesticides and viruses. *PLoS ONE*, 9(7), e103073.
- SPSS (2018) Statistical Product and Service Solutions. Versión 20. IBM SPSS.
- Staveley, J.P., Law, S.A., Fairbrother, A., & Menzie, C.A. (2014) A causal analysis of observed declines in managed honey bees (*Apis Mellifera*). *Human and Ecological Risk Assessment*, 20, 566-591.
- Traynor, K.S., Rennich, K., Forsgren, E., Rose, R., Pettis, J., Kunkel, G., Madella, S., Evans, J., Lopez, D., et al. (2016) Multiyear survey targeting disease incidence in US honey bees. *Apidologie*, 47, 325-347.
- Van Der Zee, R., Gray, A., Pisa, L., & De Rijk, T. (2015) An observational study of honey bee colony winter losses and their association with *Varroa destructor*, neonicotinoids and other risk factors. *PLoS ONE*, 10(7), e0131611.
- Van Der Zee, R., Pisa, L., Andonov, S., Brodschneider, R., Charrière, J.D., Chlebo, R., Coffey A.F., Crailsheim, K., Dahle, B., et al. (2012) Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008-9 and 2009-10. *Journal of Apicultural Research*, 51, 100-114.

- VanEngelsdorp, D., Evans, J.D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B.K., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., et al. (2009) Colony collapse disorder: a descriptive study. *PLoS ONE*, 4(8), e6481.
- VanEngelsdorp, D., & Meixner, M.D. (2011) A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, 80-95.
- VanEngelsdorp, D., Traynor, K.S., Andree, M., Lichtenberg, E.M., Chen, Y., Saegerman, C., & Cox-Foster, D.L. (2017) Colony Collapse Disorder (CCD) and bee age impact honey bee pathophysiology. *PLoS ONE*, 12(7), e0179535.
- Vélez, I.A., Espinosa G.J.A., Amaro GR., Miguel Enrique Arechavaleta V.M.E. (2016) Tipología y caracterización de apicultores del estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 7(4), 507-524.
- Yang, X., & Cox-Foster, D. (2007) Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology*, 134, 405-412.

**Tabla I.** Prevalencia y nivel de infestación/infección para *V. destructor* y *Nosema* spp, en colonias con y sin antecedentes de pérdida (APC).

APC	n	<i>V. destructor</i>			<i>Nosema</i> spp			
		Prevalencia (%)	Nivel de infestación (%)	Nivel Máximo (%)	Prevalencia (%)	Nº esporas por abeja	Nivel máximo	Nivel mínimo
Con	48	77 <sup>a</sup>	3,59 ± 0,54 <sup>a</sup>	13	100 <sup>a</sup>	9 678 x 10 <sup>3</sup> ± 0,949 x 10 <sup>3a</sup>	29 200 x 10 <sup>3</sup>	2 800 x 10 <sup>3</sup>
Sin	84	86 <sup>a</sup>	3,06 ± 0,34 <sup>a</sup>	15	100 <sup>a</sup>	9 180 x 10 <sup>3</sup> ± 1,184 x 10 <sup>3a</sup>	89 600 x 10 <sup>3</sup>	1 200 x 10 <sup>3</sup>

<sup>a</sup> No se encontraron diferencias estadísticas en la misma columna ( $p > 0,05$ ).

Promedio ± Error Estándar.

**Tabla II.** Efecto de las características de manejo de los apicultores en las pérdidas de las colonias.

	<i>V. destructor</i>						<i>Nosema spp</i>					
	Con		Sin		$X^2$	p	Con		Sin		$X^2$	p
	APC (n)	%	APC (n)	%			APC (n)	%	APC (n)	%		
<b>Edad (años)</b>												
26-45	6	42,9	8	57,1			6	40,0	9	60,0		
45-65	12	50,0	12	50,0	0,59	0,74	14	48,3	15	51,7	0,59	0,75
> 65	2	33,3	4	66,7			2	33,3	4	66,7		
<b>Experiencia (años)</b>												
< 30	14	45,2	17	54,8	0,98	0,32	14	43,8	18	56,2	0,00	0,96
30-45	8	61,5	5	38,5			8	44,4	10	55,6		
<b>Tipología</b>												
Pequeños < 50	7	35,0	13	65,0			11	45,8	13	54,2	0,32	0,85
Intermedios 50-200	8	44,4	10	55,6	0,44	0,80	9	45,0	11	55,0		
Comerciales > 200	2	33,3	4	66,7			2	33,3	4	66,7		
<b>Movilización</b>												
Si	14	45,2	17	54,8	1,89	0,17	15	54,5	18	54,5	0,83	0,77
No	3	23,1	10	76,9			7	41,2	10	58,8		

No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los grupos.

## **CONCLUSIÓN GENERAL**

La prevalencia y niveles de infestación infección de los principales patógenos, las características y tipología del apicultor, así como, la presencia de plaguicidas en la miel y cera no son las únicas causas que favorecieron la pérdida de las colonias de abejas reportadas en los últimos años en La Comarca Lagunera. Se requiere continuar con este tipo de investigaciones para determinar los factores que afectan la salud de las abejas melíferas, como lo es la presencia de plaguicidas, parásitos y enfermedades en la región.