

## Parasitosis y residuos de plaguicidas en miel y cera en colonias de abejas

### Parasitosis and pesticide residues in honey and wax in bee colonies

Azucena Vargas-Valero<sup>1</sup> ,  
José Luis Reyes-Carrillo<sup>2\*</sup> ,  
Octavio Gaspar-Ramírez<sup>3</sup> ,  
Alejandro Moreno-  
Reséndez<sup>4</sup> 

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

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

<sup>3</sup> Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Parque de Investigación e Innovación Tecnológico I Apodaca, Nuevo León. C.P. 666296.

<sup>4</sup> Miembro de la Red Académica de Innovación en Alimentos y Agricultura Sustentable (RAIAS) del Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología (COECYT) y La Comunidad de Instituciones de Educación Superior de la Laguna (CIESLAG).

\* Autor de correspondencia:  
jlreyes54@hotmail.com

#### Artículo científico

Recibido: 29 de enero 2021  
Aceptado: 02 de julio 2021

**Como citar:** Vargas-Valero A, Reyes-Carrillo JL, Gaspar-Ramírez O, Moreno-Reséndez A (2021) Parasitosis y residuos de plaguicidas en miel y cera en colonias de abejas. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 8(2): e2827. DOI: 10.19136/era.a8n2.2827

**RESUMEN.** Se ha observado un síndrome llamado Desorden del Colapso de las Colonias, siendo los principales factores causantes los plaguicidas y la presencia de plagas y enfermedades. El objetivo de este trabajo fue determinar y cuantificar la presencia de plaguicidas en muestras de miel y cera, y determinar la prevalencia y niveles de infestación/infección de las principales parasitosis en las colonias de abejas melíferas que pudieran asociarse a esta pérdida de colmenas. Durante dos años consecutivos se obtuvieron 132 y 125 muestras de abejas, panal con miel y cera del mismo número de colonias. Para determinar los plaguicidas, del primer año, se analizaron 12 muestras de miel y cera; los patógenos fueron analizados en todas las muestras de los dos años. La mayor diversidad de plaguicidas se detectó en la cera, el parásito intestinal *Nosema* spp presentó una prevalencia del 100%, con diferencias significativas en el nivel de infección, mientras que el ácaro *Varroa* presentó prevalencias del 82.6 y 79.2% sin diferencias significativas en los niveles de infestación. El ácaro traqueal *Acarapis woodi* no estuvo presente en las muestras analizadas. Los resultados indican que la presencia de plaguicidas y patógenos contribuyeron de forma sinérgica en la afectación de las abejas. Por lo que se requieren más estudios para saber la importancia individual de cada factor que afecta a las colonias de abejas melíferas en la región.

**Palabras clave:** Apicultura, *Apis mellifera*, desorden del colapso de las colonias, patógenos, prevalencia.

**ABSTRACT.** In recent years, a syndrome called Colony Collapse Disorder has been observed and among the main causative factors being pesticides and the presence of pests and diseases. The purpose of this work was to determine and quantify the presence of pesticides in honey and wax samples, as well as to determine the prevalence and levels of infestation/infection of the main parasites in honey bee colonies that could be associated with this colonies losses. For two consecutive years, 132 and 125 samples of bees and honeycomb with honey and wax were obtained from the same number of colonies. To determine the pesticides in the first year, 12 samples of honey wax were analyzed; the pathogens were analyzed in all the samples of the two years. The greatest diversity of pesticides was detected in the wax. The intestinal parasite *Nosema* spp presented a 100% prevalence, with significant differences in the infection level, while the *Varroa* mite presented prevalences of 82.6% and 79.2% and not finding significant differences in the levels of infestation. The tracheal mite *Acarapis woodi* was absent in the analyzed samples. The results indicate that the presence of pesticides and pathogens contributed synergistically to the affectation of bees. So, more studies are required to know the individual importance of each factor that affects bee colonies in the region.

**Key words:** *Apis mellifera*, colony collapse disorder, pathogens, prevalence.

## INTRODUCCIÓN

Las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) son el ser vivo más importante del planeta, debido a la relevancia que tienen como polinizadores en la seguridad alimentaria y la biodiversidad de los ecosistemas (Giglioli 2019). En los últimos años se ha observado un síndrome llamado Desorden del Colapso de las Colonias (DCC) que consiste en que un considerable número de obreras de una colmena de abejas desaparecen de forma súbita (Evans y Chen 2021), entre los principales factores causantes se encuentra la exposición a plaguicidas (Abati *et al.* 2021), la presencia de plagas y enfermedades (Stanimirović *et al.* 2019).

Las abejas expuestas a plaguicidas presentan una alteración en el comportamiento (Bommuraj *et al.* 2021), como reducción del pecoreo (Bloom *et al.* 2021), disminución de la longevidad (Bird *et al.* 2021), alteraciones en la termorregulación (Saleem *et al.* 2020), el aprendizaje (Colin *et al.* 2020) y la muerte (Bommuraj *et al.* 2021). La presencia de éstos plaguicidas se pueden encontrar en los productos de la colmena como es la miel y cera (Calatayud-Vernich *et al.* 2018) en el noreste del México se ha reportado la presencia de neonicotinoides y organofosforados en miel y cera de colmenas (Valdovinos-Flores *et al.* 2017).

En cuanto a los principales patógenos se encuentran los parásitos varroa, nosema y acariosis; el ácaro *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) que afecta el sistema inmunológico, el comportamiento, la orientación y la actividad de las abejas pecoreadoras, además es un vector mecánico y biológico de virus (McInnis *et al.* 2020). Mientras que el microsporidio *Nosema* spp, afecta el tracto digestivo de las abejas adultas, presentando una reducción en el desarrollo de las glándulas hipofaríngeas y menor acumulación de grasa corporal (Grupe y Quandt 2020). Por su parte, el ácaro *Acarapis woodi* (Rennie) que parasita el sistema respiratorio; vive y se reproduce principalmente en la tráquea protoráctica de la abeja, puede encontrarse también en la cabeza y en los sacos aéreos torácicos y abdominales, se alimenta de la hemolinfa y es vector de virus (Sakamoto *et al.* 2020).

En relación al DCC se ha reportado en casi todo el mundo, pero en Europa y América del Norte las pérdidas de colonias de abejas han sido superiores al 30% (VanEngelsdorp y Meixner 2011, López-Uribe y Simone-Finstrom 2019). Para el caso de México, en La Comarca Lagunera, del 2010 al 2016 se presentó una disminución del 35% en el número de las colonias de abejas (SIAP 2018). Debido a la disminución de colonias de abejas asociado a la presencia de plaguicidas en los cultivos y la falta de estudios sobre la presencia y niveles de infestación de las principales parasitosis. El objetivo de este trabajo fue determinar y cuantificar la presencia de plaguicidas en muestras de miel y cera, así como, determinar la prevalencia y niveles de infestación/infección de las principales parasitosis en las colonias de abejas melíferas de La Comarca Lagunera.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización

El estudio se realizó en cinco municipios del estado de Coahuila, y dos del estado de Durango, ubicados en la región conocida como Comarca Lagunera (25° 05' y 26° 54' LN y 101° 40' y 104° 45' LO), caracterizada por una precipitación anual de 235 mm, altitud de 1 139 msnm, clima seco semiárido, y temperatura promedio anual de 22 °C, con máximas y mínimas de 33 y 9 °C, respectivamente (INEGI 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 10 colonias y disponibilidad de participar en el proyecto. Las muestras de las abejas adultas y el panal con miel y cera fueron tomadas del alza de las mismas colonias, realizándose de junio-septiembre de 2017 y mayo-julio de 2018 mediante un muestreo aleatorio del 20% de las colonias de cada apiario, obteniendo un total de 132 muestras para el primer año (2017) y 125 para el segundo año (2018).

Para obtener el panal con miel y cera, se cortó un pedazo de panal de aproximadamente de 12 cm<sup>2</sup> con un cíter desechable y se colocó en una bolsa de plástico con su respectiva identificación. Para la obtención de las abejas, se realizó de los bastidores del alza en un frasco con alcohol al 70%, cada muestra fue de aproximadamente 200 abejas adultas (Traynor *et al.* 2016). Las muestras identificadas se trasladaron al laboratorio de Biología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna en Torreón, Coahuila para su análisis. Otra parte de las muestras de miel y cera se conservaron a -20 °C hasta su análisis en el laboratorio de servicios Analíticos del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. (CIATEJ) sede Noreste, ubicado en Apodaca, Nuevo León. Para el análisis de plaguicidas, solo se tomaron las muestras del primer año, elegidas al azar se seleccionaron 12 muestras de miel y 12 de cera, a las cuales se les determinó la posible presencia de plaguicidas.

### Productos químicos y estándares analíticos

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 espectrometría de masas) y formiato de amonio (base metal traza) se adquirieron en Sigma-Aldrich. El acetonitrilo, agua y metanol, todos en 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 dSPE de dispersión (Bond Elut), fueron adquiridos en Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA). El helio de ultra alta pureza (99.999%) se obtuvo de grupo INFRA (Méjico).

### Preparación y extracción de muestras

De cada muestra se tomaron 7 g de miel y 3 g de cera. La extracción se realizó de residuos de plaguicidas con una modificación del método analítico

“QuEChERS” (Valdovinos-Flores *et al.* 2017) validado en el Laboratorio de Servicios Analíticos de la Sede Noreste del CIATEJ. El cual consta de dos pasos: (1) la partición de plaguicidas de la matriz con acetonitrilo acidificado al 1% (v/v) con ácido acético, acetato de sodio y sulfato de magnesio (estos dos últimos contenidos en las sales QuEChERS método AOAC), y (2) limpieza de una alícuota del extracto con sorbentes en fase sólida dispersiva, que contienen amina primaria-secundaria (PSA) y sulfato de magnesio. Los extractos resultantes de cada paso se sedimentaron con una centrifuga de mesa de trabajo Hermle Z 206 (Hermle Labortechnik, Alemania). Se prepararon curvas de calibración en matrices de cera y miel, libres de residuos de plaguicidas; los analitos y el estándar interno (trifenilfosfato) se agregaron después de pesar las muestras, antes de añadir solvente de extracción. Se transfirieron 300 µL del extracto final a viales de 2 mL con insertos, inyectándose todos los extractos tanto 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). La extracción específica para cada matriz se detalla a continuación.

### Extracción de plaguicidas en miel

Para el paso de partición, en un tubo de polipropileno para centrifuga de 50 mL se pesaron 7 g de miel, a los cuales se agregaron 10 mL de agua desionizada, para luego agitar de forma manual las muestras durante un minuto, se agregaron 15 mL de acetonitrilo acidificado al 1% con ácido acético (v/v) y se agitó nuevamente durante un minuto. Posteriormente se agregaron 6 g de MgSO<sub>4</sub> y 1.5 g de acetato de sodio a las muestras y agitaron durante un minuto y se centrifugaron a 4 000 rpm por 5 minutos.

Para hacer la limpieza del extracto en fase sólida dispersa 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 MgSO<sub>4</sub> y 400 mg de EC-C18 para luego agitar durante un minuto y se centrifugar a 4000 rpm por 5 minutos.

### Extracción de plaguicidas en cera

Para la extracción de esta matriz se utilizó el método de Niell *et al.* (2014). En un tubo de polipropileno para centrifuga de 50 mL se pesaron 3 g de cera y se agregaron 15 mL de acetonitrilo acidificado al 1% con ácido acético (v/v). No se utilizaron sulfato de magnesio y acetato de sodio para el paso de partición en esta matriz. Los tubos se colocaron en un baño de agua a 80 °C hasta la fundición de la cera, una vez fundida la cera se agitó de forma manual por 20 s y se colocó nuevamente en el baño para que se fundiera, 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. Una vez removidas del congelador las muestras se centrifugaron a 4000 rpm por 5 minutos. Para hacer la limpieza del extracto se trajeron 8 mL del sobrenadante y se transfirieron a tubos de 15 mL con 400 mg de amina primaria-secundaria (PSA), 1200 mg de MgSO<sub>4</sub> y 400 mg de EC-C18, se agitaron durante un minuto y se centrifugaron a 4 000 rpm por 5 minutos.

### Análisis cromatográfico acoplado a espectrometría de masas

Debido a la gran variedad química de sustancias plaguicidas empleadas hoy en día, con un rango muy amplio en propiedades fisicoquímicas, además de su origen (biológico o sintético), no es posible el uso de una sola técnica cromatográfica, volviéndose necesario el uso complementario de técnicas como cromatografía de gases (CG) y cromatografía de líquidos (CL); como ejemplos de dicho uso complementario se encuentran el método multirresidual QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) (Anastassiades *et al.* 2003) o el método SweEt (Swedish Ethyl Acetate) (Pihlström *et al.* 2007). En general, considerando la detección por espectrometría de masas (EM), se utiliza cromatografía de líquidos para compuestos de media a alta polaridad y de bajo a alto peso molecular (que tienden a ser menos volátiles), mientras que la cromatografía de gases se utiliza para compuestos de bajo a medio peso molecular (que tienden a ser más volátiles) y de

baja polaridad. Utilizando ambas técnicas cromatográficas se evita la derivatización y se disminuye el procesamiento de las muestras (Stachniuk y Fornal 2016). En el presente estudio, la detección y cuantificación de plaguicidas se realizó por medio de curvas de calibración en matriz, preparadas por fortificación con mezclas de estándares analíticos.

### CL-Q-TOF

Para el análisis de cromatografía de líquidos, se utilizó un sistema HPLC de la serie 1200 de Agilent (Agilent Technologies) con una bomba binaria acoplada a un espectrómetro de masas 6530A Q-TOF (Agilent Technologies). La separación cromatográfica se realizó en una columna Eclipse Plus C18 (100 mm x 2.1 mm x 1.8 μm, Agilent Technologies). Las fases móviles consistieron en agua con 0.01% de ácido fórmico + 10 mM de formato de amonio (fase A) y metanol con 0.01% de ácido fórmico + 10 mM formato de amonio (fase B). La inyección se realizó programando en el automuestreador una mezcla de 3 μL de extracto con 15 μL de fase A. El gradiente de elución se corrió a 0.35 mL/min de la siguiente manera de 0-3.25 minutos se partió con 80:20 (fase A: fase B) hasta llegar a una relación 50:50 de ambas fases 50:50 (desde 3.25 minutos) hasta 10:-90 (a 8.81 minutos de tiempo de corrida), llegando a 100% fase B (a 10 minutos de tiempo de corrida), se mantuvo 100% B de 10-12.8 minutos (tiempo de corrida) y re-equilibró a condiciones iniciales (80:20 A:B) desde 12.9 minutos hasta finalizar la corrida (18 minutos tiempo total). Para el análisis de espectrometría de masas, se utilizó una fuente de ionización por electrospray Agilent Jet-Stream que operó en modo polaridad positiva con los siguientes parámetros de operación: modo de adquisición TOF MS, rango de adquisición de 50-950 m/z, N2 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, voltaje de capilar a 4000 V, voltaje de skimmer a 65 V, voltaje fragmentador a 150 V, octapole RF at 750 V. El software Agilent MassHunter, Workstation se utilizó para la adquisición y análisis de datos cromatográficos.

## CG-EM/EM

Para la cromatografía de gases, se usó un cromatógrafo de gases 7890A acoplado a un espectrómetro de masas triple cuadrúpedo 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 UI (15 m x 0.250 mm x 0.25  $\mu$ m de espesor de película; Agilent Technologies). Se utilizó una unión purgada para conectar las dos columnas y se realizó un contraflujo después de cada inyección, al final de la elución. Se inyectaron 2  $\mu$ L 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). Se utilizó helio de ultra pureza (99.9995) como gas portador. Para mejorar la volatilización de las muestras en el inyector y disminuir la degradación de analitos, se utilizó una rampa de temperatura en el puerto de inyección, partiendo de 65 °C (manteniendo por 0.2 minutos) y llegando hasta 310 °C a 600 °C/minuto. La temperatura del horno se programó iniciando de 60 °C (mantenida por 1 minuto) hasta 170 °C, a 40 °C/minuto a 310 °C, a una velocidad de 10 °C/minuto, manteniendo la temperatura final por 4 minutos. El espectrómetro de masas se operó 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 monitoreo de reacciones múltiples (MRM), seleccionando de dos a tres transiciones por segundo, con el fin de obtener un mínimo de 10 puntos de muestreo por pico. El software Agilent MassHunter Workstation se utilizó para la adquisición y análisis de datos cromatográficos.

## Determinación de patógenos

Para determinación de *Nosema* spp. las muestras se analizaron mediante la técnica de Cantwell, determinando la presencia y cuantificando el número de esporas. Para reportar la intensidad de infección en millones de esporas por abeja (OIE 2017, Shimanuki y Knox 2000). Mientras que la presencia del ácaro (*Varroa destructor*), se determinó de acuerdo

a la técnica del agitado (Shimanuki y 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). En tanto que la presencia y nivel de infestación de *Acarapis woodi* se realizó en 20 abejas adultas con la técnica del disco mesotorácico (OIE 2017, Shimanuki y Knox 2000).

## Análisis estadístico

Para determinar si los datos cumplían con criterios de normalidad se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (Pirk *et al.* 2013). 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 comparación entre años de los niveles de infestación de *Varroa* e infección de *Nosema*, se realizó un ANOVA seguido por una prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS versión 9.0.

## RESULTADOS

### Residuos de plaguicidas en miel y cera

En la cera se encontraron 22 residuos de plaguicidas: insecticidas (59.1%), fungicidas (27.3%), herbicidas (9.1%) y acaricidas (4.5%). En la miel ocho: insecticidas (75.0%) y fungicidas (25.0%). El neonicotinoide acetamiprid se encontró en todas las muestras de cera y miel, observándose en mayor cantidad en la miel con rango 0.101 a 0.787 y promedio 0.385 mg kg<sup>-1</sup>, mientras que en la cera el rango fue de 0.062 a 0.735 y promedio de 0.316 mg kg<sup>-1</sup> (Tabla 1). Mientras que el insecticida malatión se encontró en el 92% de las muestras, sin embargo, las cantidades fueron bajas con un promedio de 0.015 mg kg<sup>-1</sup>; Asimismo, en un 75% de las muestras de cera se encontró en la presencia de pentaclorofenol con un promedio del 0.005 mg kg<sup>-1</sup>; y en 50% de las muestras de cera se encontró la permetrina cis con un promedio de 0.058 mg kg<sup>-1</sup>.

### Presencia de patógenos en las abejas

El microsporido *Nosema* spp presentó una prevalencia del 100% para los dos años de estu-

**Tabla 1.** Plaguicidas detectados en miel y cera de colonias de abejas melíferas de La Comarca Lagunera.

Plaguicida	Sistema	Clasificación	Uso	Casos positivos (%)	Rango (mg kg <sup>-1</sup> )	Media	LOQ
Cera							
Acetamiprid	CL	Neonicotinoide	Insec	12 (100.0)	0.062 - 0.735	0.316	0.005
Malatión	CG	Organofosforado	Insec/acar	11 (91.6)	<LOQ - 0.041	0.015	0.005
Clorpirifos	CG	Organofosforado	Insec	9 (75.0)	0.021 - 0.025	0.024	0.005
Difenilamina	CG	Difenil	Fung	9 (75.0)	<LOQ - 0.059	0.016	0.025
Pentaclorofenol	CG	Organoclorado	Insec/biocida	9 (75.0)	<LOQ - 0.006	0.005	0.01
Malaoxon	CL	Organofosforado	Insec	8 (66.6)	0.007 - 0.028	0.015	0.005
Deltafmetrina	CG	Piretroide	Insec	7 (58.3)	0.004 - 0.025	0.011	0.005
Permetrina, trans-	CG	Piretroide	Insec	7 (58.3)	<LOQ - 0.206	0.037	0.004
Permetrina, cis-	CG	Piretroide	Insec/acar	6 (50.0)	0.001 - 0.323	0.058	0.003
Coumafós	CL	Organofosforado	Insec/acar	5 (41.6)	0.006 - 0.018	0.010	0.005
Carbendazim	CL	Bencimidazol	Fung	4 (33.3)	<LOQ - 0.032	0.016	0.005
Dimetoato	CL	Organofosforado	Insec	2 (16.6)	<LOQ	<LOQ	0.005
Fluoxastrobina	CL	Estrobilurinas	Fung	2 (16.6)	0.052 - 0.116	0.084	0.005
Imidacloprid	CL	Neonicotinoide	Insec	2 (16.6)	<LOQ	<LOQ	0.005
Metoxyfenozide	CL	Agonistas de la hormona muda	Insec	2 (16.6)	0.007 - 0.007	0.007	0.005
Propargita	CL	Éster sulfito	Acar	2 (16.6)	<LOQ	<LOQ	0.005
Pyraclostrobin	CL	Estrobilurinas	Fung	2 (16.6)	<LOQ	<LOQ	0.005
Tiofanato	CL	Carbamato	Fung	2 (16.6)	<LOQ	<LOQ	0.005
Carfentrazona etil	CG	Triazolinonas	Herb	1 (8.3)	0.006	0.006	0.01
Clorantraniliprole	CL	Diamidas antranílicas	Insec	1 (8.3)	<LOQ	<LOQ	0.005
Tebutíuron	CL	Ureas	Herb	1 (8.3)	0.005	0.005	0.005
Trifloxistrobina	CG	Estrobilurina	Fung	1 (8.3)	0.009	0.009	0.005
Miel							
Acetamiprid	CL	Neonicotinoide	Insec	12 (100.0)	0.101 - 0.787	0.385	0.005
Metamidofos	CL	Organofosforado	Insec	5 (41.6)	0.002 - 0.014	0.006	0.001
Dimetoato	CL	Organofosforado	Insec	4 (33.3)	<LOQ	<LOQ	0.005
Malaoxon	CL	Organofosforado	Insec	4 (33.3)	0.006 - 0.009	0.007	0.005
Carbendazim	CL	Benzimidazol	Fung	3 (25.0)	<LOQ - 0.008	0.006	0.005
Fluoxastrobina	CL	Estrobilurinas	Fung	1 (8.3)	<LOQ	<LOQ	0.005
Imidacloprid	CL	Neonicotinoide	Insec	1 (8.3)	0.008	0.008	0.005
Ometoato	CL	Organofosforado	Insec	1 (8.3)	<LOQ	<LOQ	0.005

Sistema: Sistema de instrumentación analítica, CL: Cromatografía líquida CG: Cromatografía de gases; Clasificación según al grupo químico al cual pertenece: Insec: insecticida, Fung: fungicida, Herb: herbicida, Acar: acaricida; LOQ: Límite de cuantificación.

dio, con un promedio de infección de nueve y ocho millones de esporas por abeja, respectivamente, con diferencias significativas entre los años, siendo el segundo año el de menor cantidad de esporas ( $p = 0.004$ ). Para el ácaro *Varroa* la prevalencia del primer año fue de 82.6% y el segundo año de 79.2%. Pero, para el nivel de infestación no se encontraron diferencias significativas ( $p = 0.266$ ) entre los años (Tabla 2); mientras que el ácaro *Acarapis woodi* no se encontró presente en las muestras analizadas.

## DISCUSIÓN

### Residuos de plaguicidas en miel y cera

La mayor diversidad de residuos de plaguicidas detectados fueron los insecticidas, los cuales representaron en las muestras de miel (75.0%) y cera

(59.1%). Lo que coincide con Ostiguy *et al.* (2019) quienes mencionan que éstos representan el mayor riesgo para los insectos polinizadores. La cera presentó la mayor cantidad de plaguicidas comparado con la miel, el cual se debe que la mayoría de los plaguicidas son hidrofóbicos con alta estabilidad y pueden transferirse con mayor facilidad a la cera de abejas (Calatayud-Vernich *et al.* 2018), todo esto agravado a un manejo inadecuado de la cera por parte de los apicultores, como el bajo reemplazo y el reciclarla para volverla a introducir a la colmena.

En lo referente al insecticida neonicotinoide acetamiprid fue detectado en todas las muestras en niveles bajos en la cera (0.062 mg kg<sup>-1</sup>) y altos niveles en la miel (787 mg kg<sup>-1</sup>), valores similares también se han encontrado en muestras de miel (Gawel *et al.* 2019). Mientras que las concentraciones de

**Tabla 2.** Prevalencia y nivel de infestación/infección para *Varroa destructor* y *Nosema* spp.

Año	Muestras total	<i>Varroa</i>			<i>Nosema</i> spp.		
		Positivas	Prevalencia (%)	Infestación (%)	Positivas	Prevalencia (%)	Infeción (Esporas/abeja)
2017	132	109	82.57	$3.25 \pm 0.29$ a	132	100	$9.358 \times 10^3 \pm 831 \times 10^3$ b
2018	125	99	79.20	$2.80 \pm 0.24$ a	125	100	$8.012 \times 10^3 \pm 763 \times 10^3$ a

Diferentes letras en la misma columna para la infestación de *Varroa* e infección de *Nosema* representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

acetamiprid detectadas en la miel y cera rebasó el Límite Máximo de Residuo (LMR) de la Unión Europea (UE) de  $0.05 \text{ mg kg}^{-1}$ , el cual al consumirse a dosis subletales de  $0.1 \mu\text{g}$  por abeja puede afectar su comportamiento (El Hassani *et al.* 2008), lo que causa debilitamiento inmunológico, deterioro de la fortaleza de la colmena y favorece la infección de *Nosema* (Pettis *et al.* 2012), la propagación de *Varroa* y por consiguiente la transmisión de virus (Di Prisco *et al.* 2016). Además, el acetamiprid puede presentar efectos sinérgicos cuando se combina con otros plaguicidas (Wang *et al.* 2019), todos estos efectos posiblemente fueron la causa de la disminución masiva del número de colonias de abejas en la región.

El malatión fue el segundo insecticida encontrado en el 92% de las muestras de cera, con niveles de 0.005 hasta 0.041 y promedio de  $0.015 \text{ mg kg}^{-1}$ , cifra que no rebasa los LMR de la UE de  $0.05 \text{ mg kg}^{-1}$ . En cambio, Valdovinos-Flores *et al.* (2017) para el norte de México reportan la presencia del insecticida en el 100% de las muestras de cera, con niveles que van de 0.006 a  $1.532 \text{ mg kg}^{-1}$ , con promedio de  $0.018 \text{ mg kg}^{-1}$ . El malatión, se utiliza como insecticida, acaricida y para el control de plagas urbanas, presenta baja persistencia y alta toxicidad en insectos (NLM 2021). Los resultados de este estudio demuestran alta incidencia del organofosforado malatión en la Región Lagunera donde fueron recolectadas las muestras, y aunque presenta baja persistencia, es de alta incidencia en las muestras analizadas. Lo anterior posiblemente se explique por la aplicación del organofosforado cerca de las colmenas ya que la mayoría son movilizadas en busca de floración y se ubican principalmente cerca de los cultivos agrícolas.

En cuanto al organoclorado pentaclorofenol es un insecticida que se encontró con alta frecuencia en 75% de las muestras de cera con un promedio

de  $0.005 \text{ mg kg}^{-1}$ , sin embargo, su uso se encuentra restringido en México y otros países, la Agencia de Protección del Medio Ambiente de EE. UU (EPA) menciona que el uso del pentaclorofenol como plaguicida se encuentra restringido en todas sus formulaciones y usos, debido al daño para la salud humana y el medio ambiente. No se encontró la presencia de LMR en cera de abeja en el agua potable, el nivel máximo de contaminante es de  $0.001 \text{ mg L}^{-1}$  (NCBI 2021). Aun cuando su uso se restringió al público en general como plaguicida, está autorizado en México para uso forestal, urbano e industrial como preservador de madera en el alumbrado público, rieles de ferrocarriles y en pilotes de muelles (INECC 2018). Por lo tanto, no debería encontrarse en las muestras de cera de abeja, lo que indica que el pentaclorofenol posiblemente se utiliza para otros fines.

La permetrina se encontró en el 50% de las muestras de cera, con promedio de  $0.058 \text{ mg kg}^{-1}$ , sin embargo, la UE no especifica su LMR. De igual manera Johnson *et al.* (2010), reportan valores similares en cera de  $0.133 \text{ mg kg}^{-1}$ . No obstante, este insecticida piretroide es altamente tóxico para las abejas, con una  $DL_{50}$  tópica de  $0.024 \mu\text{g}$  por abeja (Piccolomini *et al.* 2018). La exposición prolongada de los piretroides puede afectar la inmunidad celular y humoral en las abejas, además de que están relacionados con la pérdida de movimiento y coordinación ocasionando parálisis y convulsiones en las abejas (Qi *et al.* 2019). Debido al amplio uso de la permetrina en lo agrícola y forestal (NLM 2021) puede ser la razón de la presencia en las muestras de cera analizadas.

En cuanto a los fungicidas, fue el segundo grupo de plaguicidas que se encontraron tanto en la cera como en la miel, los cuales pueden aumentar la toxicidad de los insecticidas al reducir la

capacidad de desintoxicación de las abejas (Botías y Sánchez-Bayo 2018). Además están relacionados con la prevalencia de enfermedades infecciosas (Simon-Delso *et al.* 2014) con importantes consecuencias para la nutrición y estado de salud de las abejas.

Mientras que los herbicidas y acaricidas se encontraron en menor presencia en las muestras de cera analizadas. El uso de los herbicidas afecta de manera indirecta a las abejas al eliminar gran cantidad de plantas silvestres y reducir la diversidad floral utilizada como fuente principal de alimento (Bohnenblust *et al.* 2016). En lo referente a los acaricidas, estos se utilizan en su mayoría dentro de la colmena para el control del ácaro *V. destructor*, además pueden actuar de manera sinérgica con los residuos de insecticidas en las colonias de abejas (Johnson *et al.* 2013). Al respecto La Comarca Lagunera es referente en siembra de algodón, y actualmente, predomina el cultivo de forrajes para el ganado bovino y la producción de hortalizas (SIAP 2019), por lo que es una región donde se han utilizado y se utiliza una gran diversidad de plaguicidas muchos de los cuales presentan efecto residual prolongado (Vargas-González *et al.* 2016). Por lo que las prácticas agrícolas inadecuadas y, el uso y manejo ineficiente de los plaguicidas (Esquivel-Valenzuela *et al.* 2019) han creado un serio problema a la apicultura por su relación con el colapso de las colmenas.

### Presencia de patógenos en las abejas

La prevalencia de *Nosema* en ambos años fue del 100%, similar a lo reportado por Tapia-González *et al.* (2017) en colmenas de México, lo que demuestra que es una enfermedad presente en la región. En cuanto a los niveles de infección presentaron diferencias significativas para los dos años ( $p \leq 0.05$ ) con promedio para 2017 y 2018 de 9.358 y 8.012 millones de esporas por abeja, respectivamente, y un rango de 1.2 a 89.6 millones y de 1.6 a 55.2 millones de esporas por abeja, respectivamente. Al respecto, Papini *et al.* (2017) reportaron un promedio de 2.07 millones de esporas por abeja y un rango de 125,000 a 4.1 millones de esporas por abeja, así mismo Smart y Sheppard (2012) reportan un promedio de 2.38

millones y un rango de 0 hasta 87 millones de esporas por abeja. Las altas prevalencias y niveles de infección encontrados en el presente estudio pueden deberse a la presencia de la especie *N. ceranae*, que a diferencia de *N. Apis* es más virulenta, presenta mayor gasto de energía, supresión inmunológica y es 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, las colmenas infectadas con *Nosema* pueden mantener la eficiencia y la productividad de la colonia (Kurze *et al.* 2016), pero tendrán mayor probabilidad de daño al estar expuestas a plaguicidas (Broadrup *et al.* 2019).

La presencia del ácaro *V. destructor* se encontró con una alta prevalencia en los dos años de estudio en proporciones del 82.6 y 79.2%, respectivamente; con niveles de infestación del 3.2 y 2.8%, respectivamente (Tabla 2). Prevalencias similares son reportadas por Traynor *et al.* (2016) con valores de 82.4 hasta 94.3%, y niveles de infestación de 3.3 a 5.8%. También, Genersch *et al.* (2010), reportan niveles de infestación que van de 3.1% a 5.1%. La alta prevalencia encontrada 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 el control de este ácaro (Meana *et al.* 2017); además de su difícil erradicación. En cuanto a la dinámica poblacional de *V. destructor*, esta puede variar por diversas causas, como los factores ambientales que alteran las condiciones microclimáticas dentro de la colonia (Rosenkranz *et al.* 2010); o la genética y el detectar y remover las crías afectadas (Meixner *et al.* 2015). Por lo que la combinación de éstas enfermedades con los neonicotinoides contribuyen al colapso de las colmenas (Sánchez-Bayo *et al.* 2016), lo que posiblemente ocasionó el colapso de las colonias en esta región.

El ácaro traqueal *A. woodi* no se encontró en las muestras analizadas, lo que indica que no se encuentra presente. Al respecto, se reporta que en lugares donde está presente, se observa una prevalencia y nivel de infestación bajo (Figueroa y Arechavaleta-Velasco 2018), al parecer se ha establecido un equilibrio entre el parásito y las abejas,

debido a la aplicación de diversos métodos de control de *V. destructor*, los cuales tienen efecto indirecto sobre *A. woodi* (OIE 2017).

## CONCLUSIONES

La mayor cantidad y diversidad de plaguicidas se encontró en la cera, mientras que en la miel se encontró la menor diversidad y cantidad. La alta prevalencia y niveles de infección de *Nosema* y *Varroa* fueron generalizados en los apiarios donde se colectaron las muestras; por lo tanto, la presencia de plaguicidas en las muestras analizadas y los efectos que éstos ocasionan, aunado a las parasitosis, fueron los factores que posiblemente contribuyeron a la pérdida de colmenas de abejas en la región. Se requieren más estudios para saber la importancia in-

dividual de cada factor que afectó a las colonias de abejas en la región.

## AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias por el financiamiento para realizar el doctorado; a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por el financiamiento de los proyectos de investigación No. 2834 y 2835; a los apicultores de La Laguna por las facilidades para la toma de las muestras y colaboración en el estudio. Al CIATEJ A.C. Sede Noreste y al QFB Víctor Alcántar Rosales por el apoyo en el proceso y análisis de las muestras.

## LITERATURA CITADA

- Abati R, Sampaio, Maciel AR, Colombo RMA, Libardoni FC, Battisti GL, Lozano ER, de Castilhos- Ghisi N, Costa-Maia FM, Potrich M (2021) Bees and pesticides: the research impact and scientometrics relations. Environmental Science and Pollution Research 28: 32282-32298
- Anastassiades M, Lehotay SJ, Štajnbaher D, Schenck FJ (2003) Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. Journal of AOAC International 8: 412-431.
- Bird G, Wilson AE, Williams GR, Hardy NB (2021) Parasites and pesticides act antagonistically on honey bee health. Journal of Applied Ecology 58: 997-1005.
- Bloom EH, Wood TJ, Hung KLJ, Ternest JJ, Ingwell LL, Goodell K, Kaplan I, Szendre Z (2021) Synergism between local-and landscape-level pesticides reduces wild bee floral visitation in pollinator-dependent crops. Journal of Applied Ecology 58: 1187-1198.
- 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: 144-151.
- Bommuraj VY, Chen M, Birenboim S, Barel J, Shimshoni A (2021) Concentration- and time-dependent toxicity of commonly encountered pesticides and pesticide mixtures to honeybees (*Apis mellifera* L.). Chemosphere 266: 128974. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.128974.
- Botías C, Sánchez-Bayo F (2018) Papel de los plaguicidas en la pérdida de polinizadores. Ecosistemas 27: 34-41.
- Broadrup RL, Mayack C, Schick SJ, Eppley EJ, White HK, Macherone A (2019) Honey bee (*Apis mellifera*) exposomes and dysregulated metabolic pathways associated with *Nosema ceranae* infection. PLoS ONE 14: e0215166. DOI: 10.1371/journal.pone.0215166.
- 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.

Colin T, Plath JA, Klein S, Vine P, Devaud J-M, Lihoreau M, Meikle WG, Barron AB (2020) The miticide thymol in combination with trace levels of the neonicotinoid imidacloprid reduces visual learning performance in honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie* 51: 499-509

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: 3203-3208.

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: 653-661.

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 Contaminacion Ambiental* 35: 25-33.

Evans JD, Chen Y (2021) Colony collapse disorder and honey bee health. In: Kane RT, Faux MC (ed). Wiley Blackwell. Hoboken, USA. pp 229-234.

Figueroa GC, Arechavaleta-Velasco ME (2018) Prevalence of honeybee tracheal mite disease and infestation levels of *Acarapis woodi* in honeybee colonies of Morelos, Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 9(3): DOI: 10.22319/rmcp.v9i3.4194.

Gawel M, Kiljanek T, Niewiadowska A, Semeniuk S, Goliszek M, Burek O, Posyniak 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.

Genersch E, Von der Ohe W, Kaatz H, Schroeder A, Otten C, Büchler R (2010) The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie* 41: 332-352.

Giglioli EM (2019) Bee safe - The effects of pollination of bees and other pollinating insects on the environment, health and food safety. *European Food & Feed Law Review* 5: 445-452.

Grupe AC II, Quandt CA (2020) A growing pandemic: A review of Nosema parasites in globally distributed domesticated and native bees. *PLoS Pathog* 16: e1008580. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008580.

Herrera A, Smith-Herron A, Traub N, Yount K, Chapman BR (2017) Prevalence of honey bee (*Apis mellifera*) parasites across Texas. *The Southwestern Naturalist* 62: 255-262.

Higes M, Martín-Hernández R, Botías C, Garrido BE, González-Porto AV, Barrios L, Del Nosal MJ, Bernal J, Jimenez JJ, Palencia GP, Meana A (2008) How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environmental Microbiology* 10: 2659-2669.

INECC (2018) Guía para que los países introduzcan alternativas químicas y no químicas más seguras al pentachlorofenol, incluyendo los aspectos relacionados con los residuos. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. <http://chm.pops.int/Portals/0/download.aspx?d=UNEP-POPS-REF-PCP-Report-MX-BRS-SSC-SSFA-1740-2018.Sp.pdf>. Fecha de consulta: 26 de junio de 2021.

INEGI (2017) Cuéntame de México. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. <http://cuentame.inegi.org.mx/>. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2018.

Johnson RM, Dahlgren L, Siegfried BD, Ellis MD (2013) Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE* 8: e54092. DOI: 10.1371/journal.pone.0054092.

- Johnson RM, Ellis MD, Mullin CA, Frazier M (2010) Pesticides and honey bee toxicity - USA. *Apidologie* 41: 312-331.
- Kurze C, Mayack C, Hirche F, Stangl GI, Le Conte Y, Kryger P, Moritz RA (2016) *Nosema* spp. infections cause no energetic stress in tolerant honeybees. *Parasitology Research* 115: 2381-2388.
- López-Uribe MM, Simone-Finstrom M (2019) Special Issue: Honey Bee Research in the US: Current State and Solutions to Beekeeping Problems. *Insects* 10(1): 22. DOI: 10.3390/insects10010022.
- 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: 2284-2290.
- McInnis JL, Williams T, Chuang Ch, Gregg DA (2020) Replication of Invertebrate Iridescent Virus 6 (IIV-6) in European Honey Bees - Potential Involvement in Colony Collapse Disorder? *Southwestern Entomologist* 45: 335-340.
- Meana A, Llorens-Picher M, Euba A, Bernal JL, Bernal J, García-Chao M, Dagnac T, Castro-Hermida JA, González-Porto AV, Higes M, Martin-Hernández R (2017) Risk factors associated with honey bee colony loss in apiaries in Galicia, NW Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research* 15: e0501. DOI: 10.5424/sjar/2017151-9652.
- Meixner MD, Kryger P, Costa C (2015) Effects of genotype, environment, and their interactions on honey bee health in Europe. *Current Opinion in Insect Science* 10: 177-184.
- NCBI (2021) PubChem Compound Summary for CID 992, Pentachlorophenol. National Center for Biotechnology Information. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pentachlorophenol>. Fecha de consulta: 27 de junio de 2021.
- 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 x GC-TOF. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 3675-3683.
- NLM (2021) National Library of Medicine. <https://toxnet.nlm.nih.gov/newtoxnet/hsdb.htm>. Fecha de consulta: 27 de junio de 2021.
- OIE (2017) Manual de la OIE sobre animales terrestres. Organización Mundial de Sanidad Animal. [http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/2.02.04\\_NOSEMOSIS\\_FINAL.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.02.04_NOSEMOSIS_FINAL.pdf). Fecha de consulta: 20 de noviembre de 2018.
- 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): 13. DOI: 10.3390/insects10010013.
- 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.
- Pettis JS, VanEngelsdorp D, Johnson J, Dively G (2012) Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften* 99: 153-158.
- 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: 1001-1005.
- Pirk CWW, De Miranda JR, Kramer M, Murray TE, Nazzi F, Shutler D, Van Dooremalen C (2013) Statistical guidelines for *Apis mellifera* research. *Journal of Apicultural Research* 52: 1-24.

- Pihlström T, Blomkvist G, Friman P, Pagard U, Österdahl BG (2007) Analysis of pesticide residues in fruit and vegetables with ethyl acetate extraction using gas and liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 389: 1773-1789.
- 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: 134500. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.134500.
- Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S96-S119.
- 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.
- Sakamoto Y, Maeda T, Yoshiyama M, Konno F, Pettis JS (2020) Differential autogrooming response to the tracheal mite *Acarapis woodi* by the honey bees *Apis cerana* and *Apis mellifera*. *Insectes Sociaux* 67: 95-102.
- Saleem MS, Huang ZY, Milbrath MO (2020) Neonicotinoid pesticides are more toxic to honey bees at lower temperatures: Implications for overwintering bees. *Frontiers in Ecology and Evolution* 8: 556856. DOI: 10.3389/fevo.2020.556856.
- Shimanuki H, Knox DA (2000) Diagnosis of Honey Bee Diseases. Agriculture handbook No. 690. USDA. Washington DC. USA. 61p.
- SIAP (2018) Producción ganadera. Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>. Fecha de consulta: 20 de febrero de 2018.
- SIAP (2019) Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2018.
- Simon-Delso 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: e103073. DOI: 10.1371/journal.pone.0103073.
- Smart MD, Sheppard WS (2012) Nosema ceranae in age cohorts of the western honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology* 109: 148-151.
- Stachniuk A, Fornal E (2016) Liquid chromatography-mass spectrometry in the analysis of pesticide residues in food. *Food Analytical Methods* 9: 1654-1665.
- Stanimirović Z, Glavinić U, Ristanić M, Aleksić N, Jovanović N, Vejnović B, Stevanović J (2019) Looking for the causes of and solutions to the issue of honey bee colony losses. *Acta Veterinaria-Beograd* 69: 1-31.
- Tapia-González JM, Alcazar-Oceguera G, Macías-Macías JO, Contreras-Escareño F, Tapia-Rivera JC, Chavoya-Moreno F, Martínez-González JC (2017) Nosemosis en abejas melíferas y su relación con factores ambientales en Jalisco, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 8: 325-330.
- Traynor KS, Pettis JS, Tarpy 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: 33207. DOI: 10.1038/srep33207.
- Valdovinos-Flores C, Alcántar-Rosales VM, 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: 667-679.
- VanEngelsdorp D, Meixner MD (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.

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: 367-378.

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. 110100. DOI: 10.1016/J.ECOENV.2019.110100.