



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACION PARA EL DESARROLLO
INTEGRAL REGIONAL**

Determinación de parasitosis y agroquímicos en abejas *Apis mellifera L.* en zonas
de importancia apícola del estado de Durango

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS EN GESTIÓN AMBIENTAL

PRESENTA:

NANCY NOHEMI RODARTE RODRIGUEZ

DIRECTORES:

DR. GERARDO PÉREZ SANTIAGO

DR. MIGUEL M. CORREA RAMÍREZ

Victoria de Durango, Dgo., México. Julio del 2018



SIP-13-BIS

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTORES DE TESIS

México, D.F. a 04 de mayo del 2018

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR-IPN Durango en su sesión ordinaria No. 4 celebrada el día 04 del mes de mayo conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

RODARTE

RODRÍGUEZ

NANCY NOHEMÍ

Apellido paterno

Apellido materno

Nombre (s)

Con registro:

B	1	6	0	7	9	1
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de: Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

Determinación de parasitosis y agroquímicos en *Apis mellifera* L. en zonas de importancia apícola del estado de Durango

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

2.- Se designan como Directores de Tesis a los Profesores:

Dr. Gerardo Pérez Santiago y Dr. Miguel Mauricio Correa Ramírez

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en: El CIIDIR-IPN Unidad Durango

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

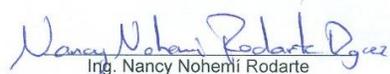
Directores de Tesis

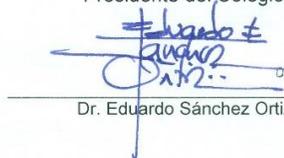

Dr. Gerardo Pérez Santiago

Aspirante


Dr. Miguel Mauricio Correa Ramírez

Presidente del Colegio


Ing. Nancy Nohemí Rodarte Rodríguez


Dr. Eduardo Sánchez Ortiz UNIDAD DURANGO I.P.N.



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.D.I.R.
UNIDAD DURANGO
I.P.N.



SIP-14-BIS

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Durango, Dgo. siendo las 14:00 horas del día 01 del mes de octubre del 2018 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del: CIIDIR-IPN Unidad Durango para examinar la tesis titulada:

Determinación de parasitosis y agroquímicos en abejas *Apis mellifera* L. en zonas de importancia apícola del estado de Durango

Presentada por el alumno:

RODARTE

RODRÍGUEZ

NANCY NOHEMÍ

Apellido paterno

Apellido materno

Nombre(s)

Con registro:

B	1	6	0	7	9	1
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN GESTIÓN AMBIENTAL

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis


 Dr. Gerardo Pérez Santiago

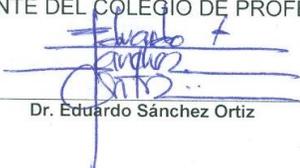

 Dr. Miguel Mauricio Correa Ramírez


 M. en C. Rebeca Álvarez Zagoya


 Dra. Yolanda Herrera Arrieta


 Dra. Norma Almaraz Abarca

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


 Dr. Eduardo Sánchez Ortiz



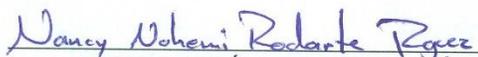


INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Durango, Dgo., el día **28** del mes de **junio** del año **2018**, la que suscribe **Nancy Nohemí Rodarte Rodríguez** alumna del Programa de **Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental**, con número de registro **B160791**, adscrito al **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. CIIDIR-IPN Unidad Durango**, manifiesta que es la autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del **Dr. Gerardo Pérez Santiago** y del **Dr. Miguel Mauricio Correa Ramírez** y cede los derechos del trabajo titulado **“Determinación de parasitosis y agroquímicos en *Apis mellífera* L. en zonas de importancia apícola del estado de Durango”**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso de la autora y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones n.rodarte.r@hotmail.com, gperezs@yahoo.com y miguel.m.correa.ramirez@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


NANCY NOHEMÍ RODARTE RODRÍGUEZ

A:

Mi hijo Adrián Rojas Rodarte.

Agradecimientos:

A CONACyT por aportar el recurso económico para realizar la presente tesis.

A mis profesores Dr. Gerardo Pérez y Dr. Miguel Correa por su apoyo.

A mi familia y a mis amigos Génesis, Heberto y Saúl por hacer con su compañía mucho más amena mi estancia por esta etapa de mi vida.

A Adan por estar conmigo siempre que lo necesité.

A mi hijo Adrián, por el tiempo que no le di para poder realizar todos los muestreos y análisis necesarios, por a pesar de mi ausencia ser un niño maravilloso.

ACRÓNIMOS

ABPV	Acute Bee Paralysis Virus
ACE	Acetilcolinesterasa
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
CICOPLAFEST	Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas y Sustancias Tóxicas
COLOSS	Colony Losses
EFSA	European Food Safety Authority
EPA	Environmental Protection Agency
LMR	Límite Máximo De Residuos
MBPP	Manuales De Buenas Prácticas De Producción
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal
OMS	Organización Mundial De La Salud
PCR	Polymerase Chain Reaction
SAGADER	Secretaría De Agricultura, Ganadería Y Desarrollo Rural
SAGARPA	Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación

INDICE

INDICE DE FIGURAS.....	I
INDICE DE CUADROS.....	II
RESUMEN.....	III
ABSTRACT.....	IV
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Clasificación taxonómica de las abejas.....	3
2.2 Biología y hábitat	3
2.2.1 Ciclo de vida.....	3
2.2.3 Organización en la colmena.....	4
2.3 Características generales de la apicultura en el mundo.....	5
2.4 Características generales de la apicultura en México	6
2.5 Generalidades de la apicultura en Durango	7
2.6 Principales factores causantes de mortandad en abejas.....	8
2.6.1 Agroquímicos.....	9
2.6.1.1 Carbamatos	10
2.6.1.2 Organoclorados	11
2.6.1.3 Organofosforados.....	12
2.6.1.4 Piretroides	13
2.6.2 Patógenos con mayor presencia.....	14
2.6.2.1 Acariosis (<i>Acarapsis woodi</i> Rennie).....	15
2.6.2.2 Cría de cal (<i>Ascosphaera apis</i> Maassen clausen)	16
2.6.2.3 Nosemiosis (<i>Nosema spp</i>)	17
2.6.2.4 <i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman (<i>Varroasis</i>).....	18
2.6.2.5 Pequeño escarabajo de la colmena (<i>Aethina tumida</i> Murray)	19
2.6.2.6 Loque americana (<i>Paenibacillus larvae</i> White).....	20
2.6.2.7 Loque europea (<i>Melissococcus plutonius</i> Plutón).....	21
2.6.2.7 Virus de las alas deformadas (<i>DWV</i>)	22
2.7 Sanidad en apiarios y Buenas prácticas de producción	23

III. JUSTIFICACIÓN	24
IV. HIPOTESIS	25
V. OBJETIVOS.....	25
5.1 Objetivo general	25
5.2 Objetivos Particulares.....	25
VI. MATERIALES Y METODOS.....	26
6.1 Planeación	26
6.1.1 Identificación y caracterización del área de estudio.	26
6.1.2 Inventarios.....	31
6.1.3 Encuestas.....	31
6.2 Trabajo en campo.....	31
6.2.1 Aplicación de encuestas	31
6.2.2 Toma de muestras para determinación de parasitosis.....	32
6.2.3 Revisión de apiarios y salas de extracción.....	32
6.3Trabajo de laboratorio.....	32
6.3.1 Determinación de factores bióticos.....	32
6.3.1.1 Protozoarios.....	32
6.3.1.2 Hongos y bacterias.....	39
6.3.2 Determinación de factores abióticos.....	39
6.3.2.1 Agroquímicos.....	39
VII. RESULTADOS Y DISCUSION.....	40
7.1 Datos generales y características de los apicultores del estado.....	40
7.1.1 Aplicación de los MBPP en campo.....	42
7.1.1.1 Uso de bitácora.....	42
7.1.1.2 Orientación de colmenas.....	42
7.1.1.3 Alimentación de colmenas.....	42
7.1.1.4 Bases para colmenas	43
7.1.1.5 Renta para polinización.....	44
7.1.1.6 Sanidad Apícola.....	44
7.1.1.7 Manejo de colmenas.....	45

7.1.1.8 Tipo de material apícola	45
7.1.1.9 Temporada y forma de cosecha.....	46
7.2 Parasitosis	48
7.3 Presencia de Agroquímicos.	57
VIII. CONCLUSIONES.....	67
8.1 Aspectos sociales.....	67
8.2 Parasitosis	68
8.3 Presencia de Agroquímicos	68
IX. RECOMENDACIONES	70
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	71

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Municipios con mayor actividad apícola, seleccionados en el presente estudio para realizar muestreos.....	27
Figura 2	Fuentes hidrológicas de las áreas de estudio.....	28
Figura 3	Clima predominante en el área de estudio.....	29
Figura 4	Precipitación anual del área de estudio.....	30
Figura 5	Uso de bitácora y actividades calendarizadas.....	42
Figura 6	Tipo de alimentador en campo.....	43
Figura 7	Tipo de bases usadas para colmenas.....	44
Figura 8	Porcentaje del cumplimiento de las Buenas Prácticas de Producción por apicultor.....	47
Figura 9	Porcentaje del cumplimiento de las Buenas Prácticas de Producción en colmenas por estrato.	48
Figura 10	Geles de electroforesis con un positivo para la determinación de presencia de <i>N. cerane</i> mediante oligonucleótidos específicos para esta especie.	49
Figura 11	Parasitosis encontrada en el muestreo 1, sitio 1 (Canatlán y Nuevo Ideal en enero-febrero 2017)	50
Figura 12	Parasitosis encontrada en el muestreo 2, sitio 1 (Canatlán y Nuevo Ideal en abril-mayo 2017).....	51
Figura 13	Parasitosis encontrada en el muestreo 3, sitio 1 (Canatlán y Nuevo Ideal de septiembre-octubre 2017)	51
Figura 14	Parasitosis encontrada en el muestreo 1, sitio 2 (Durango enero-febrero 2017).....	52
Figura 15	Parasitosis encontrada en el muestreo 2, sitio 2 (Canatlán y Nuevo Ideal de abril-mayo 2017).	53
Figura 16	Parasitosis encontrada en el muestreo 3, sitio 2 (Canatlán y Nuevo Ideal de septiembre-octubre 2017)	53
Figura 17	Parasitosis encontrada en el muestreo 1, sitio 3 (Nombre de Dios de enero-febrero 2017).....	54
Figura 18	Parasitosis encontrada en el muestreo 2, sitio 3 (Nombre de Dios de abril-mayo 2017).....	54
Figura 19	Parasitosis encontrada en el muestreo 3, sitio 3 (Nombre de Dios de septiembre-octubre 2017)	55
Figura 20	Parasitosis encontrada en el muestreo 1, sitio 4(Poanas de enero-febrero 2017)	56
Figura 21	Parasitosis encontrada en el muestreo 2, sitio 4 (Poanas de abril-mayo 2017).....	56
Figura 22	Parasitosis encontrada en el muestreo 3, sitio 4 (Poanas de septiembre-octubre 2017).....	57

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Secuencia de oligonucleótidos usados en PCR.....	35
Cuadro 2.	Estratos de apicultores y respectivo porcentaje de cumplimiento de los manuales de buenas prácticas de producción.....	47
Cuadro 3.	Parásitos encontrados.....	49
Cuadro 4.	Agroquímicos encontrados en el Grupo 1 (Nuevo Ideal y Canatlán).....	57
Cuadro 5.	Agroquímicos encontrados en el Grupo 2 (Durango).....	58
Cuadro 6.	Agroquímicos encontrados en el Grupo 3 (Poanas y Nombre de Dios).....	58
Cuadro 7.	Comparación de dosis letales. SITIO 1. Canatlán y Nuevo Ideal.....	59
Cuadro 8.	Comparación de dosis letales. SITIO 2. Durango.....	61
Cuadro 9.	Comparación de dosis letales. SITIO 3. Nombre de Dios y Poanas.....	63
Cuadro 10.	Criterios de Toxicidad de insecticidas para abejas según la OMS.....	65

RESUMEN

En la presente tesis se describe la situación actual de la apicultura en el estado de Durango y los principales parásitos y agroquímicos presentes en las zonas de importancia apícola del estado. Se realizaron encuestas a apicultores para conocer las prácticas apícolas que se están llevando a cabo en el estado y se tomaron muestras de abejas para determinar los principales parásitos y agroquímicos presentes en las zonas muestreadas. Las muestras de abejas fueron analizadas para detectar la presencia de parásitos y agentes patógenos, por métodos tradicionales con microscopio estereoscópico y técnicas de biología molecular para noseemiasis. Adicionalmente, se tomaron muestras de abejas para análisis de agroquímicos en un laboratorio externo, para determinar la presencia de plaguicidas presentes en las abejas. Los resultados de las encuestas y entrevistas indicaron que es necesaria la implementación de buenas prácticas de producción en la región para mejorar la producción de miel y disminuir la presencia de parásitos en las abejas. Dentro de los principales agentes patógenos y parasitarios se encontró a los ácaros *Varroa destructor* y *Acarapis woodi*, y los patógenos *Paenibacillus larvae*, *Melissococcus plutonius* y *Nosema apis*. En cuanto a agroquímicos, se determinó que los grupos toxicológico de los piretroides (deltametrina y permetrina) y de los carbamatos (carbofurano) se encontraron en dosis superiores a las DL_{50} para los muestreos de abejas en relación con la literatura consultada, sin embargo, no se encontró presencia de los neonicotinoides en las muestras de abejas de las regiones estudiadas del estado de Durango.

ABSTRACT

This thesis describes the current situation of apiculture in the state of Durango and the main parasites and agrochemicals present in the most important beekeeping areas in the estate. Surveys were conducted to beekeepers in order to know the beekeeping practices carried out in the state and bees samples were taken to determine the main parasites and agrochemicals present in the sampled areas. The samples of bees were analyzed to detect the presence of parasites and pathogens, by traditional methods with a stereoscope microscope and molecular biology techniques for nose miasis. Bees samples were taken for (to) analyze agrochemicals in an external laboratory, to determine the presence of pesticides present in bees. The results of the surveys and interviews indicated that it is necessary to implement good production practices in the region to improve honey production and reduce the presence of parasites in bees. The main pathogens and parasitic agents were the mites *Varroa destructor* and *Acarapis woodi*, and the pathogens *Paenibacillus larvae*, *Melissococcus plutonius* and *Nosema apis*. With respect to agrochemicals, it was determined that the toxicological groups of the pyrethroids (deltamethrin and permethrin) and the carbamates (carbofuran) were found in doses higher than the LD50 for bees samplings in relation to the literature consulted, however, not The presence of neonicotinoids was not found in bee samples from the studied regions of the state of Durango.

I. INTRODUCCIÓN

La muerte constante de abejas alrededor del mundo es un tema que ha preocupado a la comunidad científica, a los apicultores, y a la población en general, generando constantes debates acerca de las posibles causas de los decesos masivos que se han presentado en las últimas décadas (Kim-Kaplan, 2008).

Actualmente, se conoce que las muertes y/o desapariciones de abejas se deben a causas multifactoriales que incluyen principalmente condiciones genéticas, contingencias climáticas, diversos agentes patógenos como virus, hongos, bacterias, parásitos, agroquímicos, pérdida de cobertura vegetal y mal manejo de las colmenas por parte de los apicultores (Pietropaoli y Formato, 2017).

Por su indispensable labor de polinización y beneficio económico, las abejas han sido objeto de estudios en diversos países, con resultados particulares en cada sitio que no pueden ser generalizados hacia cualquier parte del mundo, ya que corresponden a características propias de cada área de estudio, donde los diversos microclimas y variabilidad genética de las abejas influyen su comportamiento ante las adversidades que se pudieran presentar (Guzmán, 2015).

En México, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) aporta a los apicultores diversos manuales de prácticas apícolas, los cuales se encuentran diseñados principalmente para la zona apícola más importante del país (región sureste), la cual cuenta con un clima y condiciones muy diferentes a las del estado de Durango.

En Durango, no se cuenta con registros actualizados ni precisos acerca del tema, únicamente se tiene registro por parte de asociaciones civiles de apicultores, de una disminución de un 30 a un 100% de colmenas de abejas desde 2011, lo cual se atribuye a la fuerte sequía que comenzó en ese año.

Por lo tanto, el estudio de las condiciones apícolas de una región determinada es de suma importancia para entender la situación específica de cada lugar y poder hacer los cambios necesarios para mejorar la actividad apícola y reducir los factores presentes o potenciales que contribuyan a la mortandad de abejas. Atender esta problemática en el estado, no solo contribuye a disminuir los decesos, sino que también fortalece el desempeño de la apicultura de pequeños y grandes apicultores, abriendo la visión hacia el óptimo desempeño en los apiarios e incrementando beneficios ambientales, económicos y sociales.

En el presente trabajo se realizaron entrevistas a apicultores y agricultores de las zonas de mayor importancia apícola del Estado de Durango, con el objetivo de conocer su situación socioeconómica actual, sus formas de trabajo dentro de los apiarios y las condiciones en que éstos se encuentran para determinar las carencias y las malas prácticas existentes. Además, se determinaron las problemáticas que han detectado los apicultores en sus apiarios y la percepción que tienen acerca de este tema, así como los agroquímicos empleados en las zonas agrícolas cercanas a los apiarios estudiados. También, se realizaron muestreos de abejas en diferentes áreas escogidas estratégicamente para abarcar la mayor proporción de áreas dentro de los municipios elegidos como área de estudio. Por medio de diferentes técnicas de campo y de laboratorio se determinó la problemática parasitaria y la incidencia de agroquímicos. Con todo lo anterior, se obtuvo un panorama general sobre la situación en la que se encuentran las colmenas de los lugares seleccionados respecto a la mortandad por diferentes factores.

II. ANTECEDENTES

2.1 Clasificación taxonómica de las abejas

Las abejas son insectos eusociales taxonómicamente clasificados de la siguiente manera:

- **Clase:** Insecta
- **Orden:** Hymenoptera
- **Suborden:** Apocrita
- **Superfamilia:** Apoidea
- **Familia:** Apidae
- **Subfamilia:** Apinae
- **Tribu:** Apini
- **Género:** *Apis*
- **Especies:** *Apis florea* (Fabricius, 1787), *Apis dorsata* (Fabricius, 1793) y *Apis cerana* (Fabricius, 1793), *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758).
- **Subespecies** de *Apis mellifera*: *Apis mellifera scutellata adonsoni*, *Apis mellifera caucasica*, *Apis mellifera mellifera*, *Apis mellifera ligustica* y *Apis mellifera carniola* (Ruttner, 1986).

Estas especies, distribuidas alrededor del mundo, son utilizadas para la obtención de miel y la polinización de distintos cultivos (Ruttner, 1986).

2.2 Biología y hábitat

2.2.1 Ciclo de vida

El desarrollo holometábolo de las abejas consiste en cuatro etapas antes de emerger de la celda operculada. La primera es el huevo, con duración de tres días; en esta etapa se alcanza un peso de 0.12 a 0.22 mg. La segunda etapa es la de larva, la duración del estado larvario varía de entre tres a siete días, dependiendo de si se trata de una reina, un zángano o una obrera; además, las medidas también varían debido a este factor. La tercera etapa es la pupa, este estado tiene una duración de cuatro a cinco días para la pupa destinada a ser reina, y de ocho a nueve días en las demás abejas. El último estado es el de adulto, una vez formados completamente las abejas jóvenes emergen al romper

con la mandíbula el opérculo de la celda, este proceso dura de 12 a 24 horas y en él se completa la quitinización de la cutícula. La longevidad, una vez fuera del opérculo, varía entre cada casta; las obreras llegan a vivir de 15 a máximo 300 días, los zánganos, de 14 a 43 días, la reina, de uno a tres años, estos extremos dependen principalmente de la estación del año (Roubik y Hanson, 2004).

2.2.3 Organización en la colmena

Las abejas viven en colonias formadas por una reina, miles de obreras y cientos de zánganos. La reina y los zánganos realizan funciones reproductivas, mientras que las obreras son las responsables de las labores de mantenimiento y de supervivencia de la colonia. Las hembras (reinas y obreras) se desarrollan a partir de huevos fecundados, en consecuencia, son individuos diploides. La diferencia entre reinas y obreras está determinada por el tipo de alimento consumido durante el estado larvario, el cual determina la formación de castas dentro de la colmena. En cambio, los machos provienen de huevos no fecundados, son individuos haploides (Kauhausen-Keller *et. al.*, 1997).

La abeja *A. mellifera* es solo una de aproximadamente 20,000 especies diferentes de abejas descritas hasta el momento. Todas se caracterizan por suministrar a sus crías proteína de origen vegetal (polen). Las abejas dependen exclusivamente de polen y néctar para su alimentación, mientras que las plantas angiospermas dependen de éstas para su polinización cruzada, es decir, el transporte de gameto masculino (polen) de una flor a otra y así permitir la producción de semillas fértiles (Quezada y Ayala, 2010).

Las subespecies de *A. mellifera* usadas en nuestro país para apicultura fueron introducidas de Europa, Asia y África. Las únicas abejas endémicas utilizadas para la apicultura antes de la colonización europea en América, corresponden a las especies *Melipona beecheii* (Bennett, 1831) y *Scaptotrigona mexicana* (Guérin, 1845) (Quezada y Ayala, 2010).

2.3 Características generales de la apicultura en el mundo

El total de exportaciones mundiales de miel en el año 2015 fue de US\$2.3 billones, alcanzando un promedio de 38.3% más que en los últimos cinco años, desde 2011, cuando se alcanzaron US\$1.7 billones. El valor de las exportaciones globales de miel cayó un 0.6% de 2014 a 2015.

En lo que a continentes se refiere, los países europeos alcanzaron la suma más alta de miel natural exportada durante 2015. Este monto fue de US \$ 826.4 millones, cantidad que representó el 35.2% de las ventas mundiales. Asia exportó el 28.7% de las ventas totales, Latinoamérica y el Caribe, el 15.6%. Tanto Oceanía como América del Norte exportaron el 9.9% cada uno, mientras que África exportó solo un 0.4% (USDA-NASS, 2017).

Los principales países productores de miel son China, Argentina, Ucrania, Vietnam, India, México, España, Brasil, Alemania, Bélgica y Canadá (COLOSS, 2016).

A nivel global se han documentado casos de cómo la gradual reducción en la producción melífera, el calentamiento global, la carencia de agua, los problemas de salud de las abejas, la reducción de las áreas silvestres debido a la urbanización, la tecnificación de los cultivos con uso de plaguicidas y agroquímicos tóxicos para las abejas, manejo inadecuado para la producción, y mala calidad en la selección de abejas de acuerdo con su actividad como acopiadoras de néctar, polen, propóleos, etc., han afectado a la actividad apícola de diferentes regiones (González-Acereto y Quezada 2006; Abad *et al.*, 2015).

En el invierno de 2014-2015, las abejas sufrieron una mortalidad media de 17.4% mundialmente, y la tasa de mortalidad entre los países varió desde un 5% en Noruega hasta un 25% en Austria, y también fueron evidentes diferencias regionales significativas en la mayoría de los países (COLOSS, 2016).

Van der Zee *et al.* (2012) aseguran en sus investigaciones que los países del norte de Europa tienen menos pérdidas que en el oeste y países de Europa Central

porque el inicio de la temporada de reproducción se retrasa, lo que limita el número de ciclos de cría del ácaro Varroa, sin embargo, la pérdida de colonias es un problema multifactorial (COLOSS, 2016).

2.4 Características generales de la apicultura en México

En México, la apicultura es una de las principales actividades pecuarias generadoras de ingresos y prestadora del servicio ambiental de polinización, vital para cerca de 280 especies de plantas comestibles cultivadas y silvestres (Martínez *et al.*, 2011).

México, se ha posicionado entre los primeros lugares de países exportadores de miel a nivel mundial, consolidándose entre 2013 y 2014 como el sexto productor mundial de miel con 56,883 t y el tercer exportador con 25,000 t. La apicultura ha sido un importante generador de divisas para México, éstas han superado los 150 millones de dólares. Los principales importadores de miel mexicana son los países del continente europeo (SAGARPA, 2011).

Además, es importante mencionar que la apicultura mexicana ha alcanzado esos niveles de producción a pesar de estar constituida principalmente por pequeños y medianos productores. En 2017, el número de productores ascendió a 200 mil, con una participación de más del 50 por ciento de mujeres (SAGARPA, 2010). La apicultura es compatible prácticamente con todo tipo de ecosistema terrestre, se tiene un importante potencial de crecimiento en la mayor parte del territorio nacional (Pérez, 1992).

Sin embargo, la producción de miel en el país ha sido afectada en los últimos años a causa del deceso de abejas. En 2009 fue de 52,778 ton, presentándose altibajos en los siguientes años de producción, traduciéndose en una caída de 1.2 % por año a partir de ese año (SAGARPA, 2010).

La apicultura tiene un gran impacto socioeconómico y ecológico en México y no está exenta de los efectos que conlleva la globalización actual de los mercados, ya que se ve afectada tanto económicamente como en la aparición constante de nuevas problemáticas que contribuyen a la mortandad de *A. mellifera*. Por ello, es

vital para todos los sectores contar con información precisa para mantener en concordancia con las nuevas condiciones de compraventa y efectuar una adecuada planeación de sus actividades, previniendo en todo lo posible la transmisión de enfermedades (Magaña y Leyva, 2010).

2.5 Generalidades de la apicultura en Durango

El estado de Durango es parte de la región norte del país. La miel que se produce en este estado, en la cosecha de primavera, se caracteriza por ser principalmente de mezquite (*Prosopis* sp.), la cual es una miel ámbar extra clara. El precio de esta miel es uno de los mejores a nivel nacional (Pérez, 1992; SAGARPA, 2006).

Durango cuenta con aproximadamente 1.8% del total de apicultores del país, con aproximadamente 300 apicultores, de los cuales el 70 % se concentran en la zona sur y sureste del estado (SAGARPA, 2011). Sin embargo, la actividad apícola en Durango no es del todo satisfactoria, ya que el estado se encuentra entre los últimos lugares de producción de miel en comparación con otros estados de la República, con aproximadamente del 2 al 3% de la producción total (SAGARPA, 2010). El incremento de la apicultura en el estado es importante, ya que además del valor de los productos de la colmena, en las regiones productoras de frutas (principalmente manzana y melón) del estado de Durango, se requiere de tres colmenas por hectárea para satisfacer la demanda de polinización (Levin, 1986), demanda que difícilmente se atiende completamente (Pérez, 1992).

En los últimos 10 años, en el estado de Durango ha prevalecido una mortandad importante de abejas, principalmente a causa de la falta de agua que se registró en el periodo del 2012 al 2015, que provocó un descenso del 99 por ciento en el volumen de producción; además, esa situación provocó que muchos apicultores abandonaran la actividad. Ni la producción, ni el número de apicultores, han podido alcanzar los niveles de antes de 2012 (SAGARPA, 2010).

El sector apícola ha enfrentado problemas como la invasión de la abeja africanizada, el cambio climático global, falta de capacitación y organización de los apicultores, enfermedades provocadas por los ácaros *Varroa destructor* (Anderson y Trueman) y la de las tráqueas *Acarapis woodi* (Rennie), y otros patógenos como *Paenibacillus larvae* (Genersch), *Melissococcus plutonius* (White), y el protozooario *Nosema* spp. (Zander) (Guzmán, 2012).

2.6 Principales factores causantes de mortandad en abejas

La población de abejas disminuye mundialmente desde hace 15 años, teniendo una tasa de mortalidad de 30% cada año desde 2007, la cual se ha asociado a plaguicidas y disminución de la diversidad de la flora; sin embargo, se considera un problema multifactorial que involucra además una conjunción de infecciones relacionadas con parásitos, hongos y virus como principales causas del declive de las abejas productoras de miel, la cual puede empeorar, si la situación sanitaria de las colmenas por parte del apicultor es inadecuada (Hamiduzzaman, 2012).

En países como Estados Unidos, Argentina, China, y Brasil han tenido pérdidas asociadas a contingencias climáticas; sin embargo, se reexaminan los efectos que pueden tener los plaguicidas en las abejas y otros polinizadores, ya que se considera a estos como uno de los principales causantes de pérdidas importantes en sus poblaciones en los últimos años (Hunt *et al.*, 2015).

Además, en algunos países se atribuye a la mortandad de insectos, incluidas las abejas, factores como las plantaciones de alimentos transgénicos o modificadas genéticamente, ya que su uso disminuye la calidad de la miel y el polen transgénico tiene menor contenido de nutrientes (Kim-Kaplan, 2008).

También, factores como la diversidad y cambios genéticos derivados de la llegada de distintos tipos de abejas europeas y africanas han ocasionado diferentes desventajas para el hombre en el comportamiento de los híbridos resultantes, como cambio en la cantidad de producción de miel, cambio de comportamiento,

entre otros, que pueden llegar a causar mortandad por mal manejo de parte del apicultor, o de las interacciones de la crusa con un ambiente al que no se han adecuado (Martínez, 2004).

2.6.1 Agroquímicos

Con la finalidad de prevenir plagas, acelerar el crecimiento de cultivos, proporcionar nutrientes a la tierra, entre otras actividades de mejora agrícola, se recurren a distintos químicos que cumplen con funciones específicas como plaguicidas, fertilizantes, etc., los cuales pueden ser nocivos tanto para la salud humana, como para la flora y fauna de los alrededores, entre ellos las abejas (Espinosa-Montaña *et al.*, 2006).

En algunos países como Argentina, y miembros de la Unión Europea, la mayoría de las semillas de cultivos anuales están recubiertas con insecticidas como neonicotinoides, químicos derivados de la nicotina, para protección después de la siembra. Todas las semillas de maíz y aproximadamente la mitad de las semillas de soya se tratan. Los recubrimientos son pegajosos y en las sembradoras se mezclan con un talco. El exceso de talco utilizado en el proceso se libera durante la siembra y en la rutina del procedimiento de limpieza (Krupke *et al.*, 2012).

Se ha encontrado un vínculo entre la continua disminución de las poblaciones de abejas en el continente americano y los insecticidas aplicados a la soya y semilla de maíz, además, análisis realizados de las abejas encontradas muertas en y alrededor de colmenas de varios apiarios durante dos años en países de Latinoamérica, mostraron la presencia de insecticidas del tipo neonicotinoides, lo cual mostró que los insecticidas estuvieron presentes en altas concentraciones en residuos de talco que queda en la maquinaria agrícola durante la siembra (Krupke *et al.*, 2012).

En Europa, se prohibieron en el 2014, los plaguicidas clotianidina, tiametoxam e imidacloprid, con el fin de limitar su empleo en cultivos de cereales de invierno y a

otras plantaciones que atraigan a insectos polinizadores, y en un plazo de dos años se revisaron nuevamente las condiciones de uso de los agroquímicos observados. Estos tres plaguicidas pertenecen al grupo toxicológico de insecticidas neonicotinoides con efectos nocivos para las abejas; sin embargo, aún son vendidos en todos los países del mundo, incluso en algunas regiones de México (Arechavaleta, 2015).

Los insecticidas pertenecientes al grupo toxicológico de los neonicotinoides son los principales responsables del colapso de colonias de abejas en todo el mundo, estos agroquímicos interfieren los circuitos cerebrales de los insectos, mermando su capacidad de aprendizaje y memoria, causando pérdidas de sus funciones (EFSA, 2014).

En 2011 se demostró que los insectos expuestos a neonicotinoides olvidan asociaciones importantes para su supervivencia, como la relación entre el aroma floral y la comida, no asimilan nuevos conocimientos y cumplen mal algunas pruebas de memoria tras un periodo de tiempo de cuatro días (Williamson y Wright, 2015).

Algunos otros grupos toxicológicos se describen a continuación.

2.6.1.1 Carbamatos

Presentan una persistencia y toxicidad intermedia entre los organoclorados y los organofosforados, se utilizan principalmente como insecticidas, herbicidas y fungicidas. Los carbamatos, actúan igual que los organofosforados, inhibiendo a la acetilcolinesterasa (ACE) en las sinapsis nerviosas. Los insecticidas carbámicos se distinguen por su carácter de selectividad, ya que pequeñas modificaciones en su estructura hacen que el producto tenga actividad contra algunas especies de insectos (Bohmont, 1990).

El carbarilo está autorizado para uso agrícola pecuario y urbano, el cual de acuerdo con el manual CICOPALFEST menciona que es altamente tóxico para abejas y está autorizado con este mismo manual, en la mayoría de los cultivos de hortalizas y para ciertos frutales, entre ellos el manzano el cual es importante para en los municipios de Canatlán y Nuevo Ideal, Durango (CICOPALFEST, 1993).

El carbofurano es un plaguicida de uso agrícola, el cual de acuerdo con el manual CICOPALFEST es tóxico para peces, abejas, y vida silvestre, el cual no está autorizado para manzano, principal cultivo de importancia económica para los municipios de Canatlán y Nuevo Ideal. Pero sí está autorizado para otros cultivos agrícolas, como el maíz y sorgo; de acuerdo con el manual CICOPALFEST no hay datos del límite máximo de residuos (LMR) disponibles (Jiménez y Cure, 2016).

El metomilo de acuerdo con el manual CICOPALFEST está señalado como tóxico para las abejas, pero sí está autorizado para el empleo en el manzano y otras hortalizas y ciertos cultivos como el sorgo. El límite, de acuerdo con este mismo manual, es de 1.0 ppm (Bohmont, 1990).

2.6.1.2 Organoclorados

El grupo de insecticidas organoclorados presenta en su molécula átomos de carbono, hidrogeno, cloro y ocasionalmente de oxígeno, contienen anillos cíclicos y heterocíclicos de carbono, son apolares y lipofílicos y tienen poca reactividad química, por lo cual son altamente estables. Estas características los hacen valiosos por su acción residual contra insectos y a la vez peligrosos, debido a su prolongado almacenamiento en la grasa de los mamíferos. Son de bajo costo y se han usado de manera intensiva en el control de plagas agrícolas (Díaz-Meraz, 2015).

El endosulfán es un insecticida y acaricida organoclorado de uso agrícola para el control, por contacto o ingestión, de una amplia gama de insectos y una variedad de cultivos tales como alfalfa, algodón, cereales, girasol, lino, maní, maíz, soya, y

sorgo, entre otros. Asimismo, tiene acción selectiva para parásitos y predadores de insectos dañinos.

En el manual CICOPLAFEST se presenta como ligeramente tóxico para las abejas, muy tóxico para las aves y extremadamente tóxico para los peces (Lagunes-Tejeda y Villanueva, 1994).

Está autorizado su empleo para el cultivo del manzano con un límite máximo de residuos (LMR) de 2.0 partes por millón (ppm), así como para otras hortalizas y cultivos de maíz, de ahí su probable presencia en las muestras de abejas. A pesar de que este producto representa un grupo toxicológico que prácticamente está en desuso es de llamar la atención su presencia y esto indica que se comercializa aun en las zonas de donde provienen las muestras (CICOPLAFEST, 1993).

2.6.1.3 Organofosforados

Los insecticidas organofosforados son más tóxicos para vertebrados que los organoclorados y no son persistentes en el medio ambiente. Actúan como insecticidas de contacto, fumigantes y de acción estomacal. Su toxicidad en insectos y mamíferos está asociada con la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (Tasei, 2002).

El malatión encuentra aplicación en la agricultura principalmente como plaguicida de contacto (insecticida y acaricida), para combatir insectos succionadores. Sus niveles de toxicidad para peces, organismos acuáticos en general y para plantas acuáticas son altos. En seres humanos y mamíferos, es un neurotóxico que afecta al sistema nervioso central (inhibe la enzima acetilcolinesterasa) (Bohmont, 1990).

En el organismo de los insectos, el malatión se oxida formando malaoxono, mediante la hidrólisis resultan, además, derivados del ácido succínico y de otros ácidos carboxílicos, así como ácido fosfórico y O, O-dimetiltiofosfórico (Krupke *et al.*, 2012).

El malatión es uno de los plaguicidas agrícolas más utilizados en los países en desarrollo. Dada su alta y aguda toxicidad para el ser humano y para los organismos acuáticos, es necesario tomar precauciones especiales cuando se aplica. Se debe prestar especial atención a los residuos contenidos en las sustancias alimenticias (CICOPLAFEST, 1993).

El paratión afecta la función del sistema nervioso y la exposición a niveles altos puede causar la muerte, se ha encontrado en por lo menos 210 de los 1,832 sitios de la Lista de Prioridades Nacionales identificados por la Agencia de Protección Ambiental (EPA).

Paratión es el nombre común de un insecticida organofosforado que se usó en el pasado en los Estados Unidos y que aún se usa en otros países, para controlar insectos y ácaros que chupan o mastican las plantas en una extensa variedad de cosechas (CICOPLAFEST, 1993).

El etión es un insecticida y acaricida cuyo modo de acción es por contacto, no sistémico. Se usa para el control de ácaros, escamas, áfidos, trips, larvas de lepidópteros y salta-hojas en algodón, cítricos, cucurbitáceas, maíz, ornamentales y hortalizas. Es resistente a la hidrólisis (excepto a pH muy alcalino) y fotólisis en el agua y en el suelo. Está sujeto a degradación microbiana. Tiene bajo potencial de lixiviación. Se acumula en el suelo y no es persistente en el suelo tropical.

Muestra toxicidad extrema en peces y crustáceos, mientras que en aves y abejas es mediana (CICOPLAFEST, 1993).

2.6.1.4 Piretroides

Este grupo de compuestos se han sintetizado a partir de las piretrinas naturales, con las que comparten características toxicológicas. La actividad insecticida de los piretroides muestra un coeficiente de temperatura negativo, ya que a menor temperatura las moléculas se hacen más firmes, lo cual permite un mejor taponeo de los poros de la membrana neuronal, por lo que éstos se aplican muy temprano por la mañana (Tasei, 2002). Pequeñas alteraciones en la estructura y

configuración de los piretroides influyen considerablemente en su potencia como insecticidas.

En general los piretroides afectan al sistema nervioso central y al periférico de los insectos tratados, y en concentraciones mayores hay un bloqueo total de la transmisión del impulso nervioso (CICOPLAFEST, 1993).

La deltametrina es una sustancia activa de la familia de los piretroides con un intenso y rápido efecto insecticida y acaricida, tanto por contacto directo como por ingestión. Pasa a través del tegumento de los parásitos y actúa a nivel del sistema nervioso central, causando falta de coordinación, parálisis y, finalmente, la muerte de los parásitos. Estimula las células nerviosas, produciendo repetidas descargas y eventuales casos de parálisis. Se producen cambios de permeabilidad en la membrana neuronal, a nivel del axón a los iones Na^+ y K^+ . Se genera hiperexcitación y posterior bloqueo del impulso eléctrico, parálisis, postración y la muerte del insecto. Es de rápida acción, persistente y posee gran actividad a dosis baja. Es muy eficaz contra Hemípteros, Homópteros, Lepidópteros, Dípteros y Coleópteros (CICOPLAFEST, 1993).

Entre las numerosas plagas que controla están los cultivos de aguacate, algodón, apio, berenjena, brócoli, calabaza, chile, col, coliflor, durazno, espárrago, espinaca, frijol, jitomate, lechuga, maíz, manzano, melón, papa, pastos, pepino, peral, pimienta, sandía, sorgo, y soya. De acuerdo con el manual CICOPLAFEST, la deltametrina daña abejas, peces y formas de vida acuática (Lagunes-Tejeda y Villanueva, 1994).

2.6.2 Patógenos con mayor presencia

La abeja *Apis mellifera* es originaria de Europa, el Oriente Medio y África. Una de las ventajas iniciales de una especie introducida es que generalmente está libre de por lo menos una parte de las enfermedades de las abejas que existían en el país de origen. Las abejas no llegaron con toda la variedad de patógenos que encontramos en Europa. Debido al intercambio comercial y a la globalización ha

ocurrido transferencia de material biológico de un sitio contaminado a otro no contaminado, provocando la introducción de las enfermedades que todavía no habían llegado (Guzmán, 2015).

Las abejas que llegaron a América originalmente eran resistentes a las enfermedades prevalentes en su lugar de origen, pero después de muchos años sin la presión selectiva de dichos patógenos y parásitos, perdieron su resistencia natural. Solamente con la presencia de una presión selectiva (en este caso del patógeno o parásito), se da la posibilidad de lograr y mantener una resistencia. El hombre, al transportar sus colonias para Asia, permitió una interacción entre las abejas occidentales *Apis mellifera* y otras especies del mismo género, incluyendo *Apis dorsata*, *Apis cerana* y *Apis florea*; todas estas especies de *Apis* asiáticas tienen ácaros parasitarios de la cría, y pudieron haber contaminado a la abeja europea *Apis mellifera* (Martínez *et al.*, 2011).

A continuación, se describen algunos de los parásitos más frecuentes en abejas melíferas.

2.6.2.1 Acariosis (*Acarapsis woodi* Rennie)

La acariosis, es una enfermedad parasitaria de la abeja adulta de la miel *Apis mellifera* y de otras especies de *Apis*. Está causada por el ácaro Tarsonémido, *Acarapsis woodi*, conocido como ácaro traqueal. El ácaro tiene un tamaño aproximado de 150 μm y es un parásito interno del sistema respiratorio, que vive y se reproduce sobre todo en la gran tráquea protorácica de las abejas. A veces, se encuentra también en los sacos aéreos de la cabeza y en los torácicos y abdominales. Los ácaros se alimentan de la hemolinfa de su hospedero (Morse, 1993).

Los efectos patológicos en las abejas infectadas dependen del número de parásitos en la tráquea y se deben tanto a daños mecánicos como a disfunciones fisiológicas derivadas de la obstrucción de los conductos aéreos, lesiones en las paredes traqueales y descenso de la hemolinfa. A medida que aumenta la población de parásitos, las paredes traqueales, que normalmente son blancas y

traslúcidas, se vuelven opacas y descoloridas con manchas eruptivas negras, probablemente debidas a incrustaciones de melanina (Furgala *et al.*, 1989).

La mortandad puede variar de moderada a alta. Las primeras manifestaciones de la infección suelen pasar desapercibidas, y sólo cuando la infección es masiva se hace aparente. Ésta, suele ocurrir a principios de primavera mientras que la infección se extiende por contacto directo (OIE, 2004).

2.6.2.2 Cría de cal (*Ascosphaera apis* Maassen clausen)

El hongo *Ascosphaera apis* (Maassen clausen), mejor conocido como cría de cal, es una enfermedad infectocontagiosa, cuya forma contaminante es mediante la formación de esporas, que son de color oscuro. La enfermedad puede presentarse en las larvas de las tres castas de abejas melíferas, pero suele ser recurrente en la cría de zánganos. Es más recurrente en época de lluvia y frío y el hongo por sí solo no causa grandes estragos. Propician su proliferación la humedad, las bajas temperaturas, mala ventilación dentro de la colmena y la debilidad de las colmenas débiles, así como el abuso de antibióticos. Las colonias de abejas consanguíneas parecen ser más susceptibles a esta enfermedad (Gilliam *et al.*, 1988).

Las larvas presentan mayor susceptibilidad a enfermarse entre los tres y cuatro días de edad. El agente ingresa a la colmena transportado por las abejas pecoreadoras. Se ha comprobado que los ácaros *Varroa* serían portadores de esporas fúngicas. Sin embargo, la sola presencia del hongo en las colmenas no significa que se desarrollará la enfermedad. Para que la cría yesificada se manifieste, hace falta que se presenten los factores predisponentes, principalmente humedad y temperatura que favorezca el crecimiento del hongo (entre 20 y 30°C) (Morse, 1993). Las esporas llegan al tracto digestivo de la larva con los alimentos o bien se adhieren a su piel cuando están presentes en las celdas de cría, con la influencia de factores predisponentes, los micelios del hongo empiezan a crecer a partir de la espora en el intestino de la larva o en su piel. Para su desarrollo requieren de oxígeno por lo que rompen el extremo posterior de la

larva. En el intestino penetran en las paredes digestivas y atraviesan los tejidos corporales de la cría hasta envolverla completamente como si fueran raíces en desarrollo, a partir de la piel también envuelven a la larva dándole un aspecto de momia. La cría puede morir en una celda abierta o también operculada, así como en el suelo enfrente de las piqueras después de morir se seca y endurece, adquiriendo la consistencia y color de un pedazo de yeso o tiza. La mortalidad de las crías generalmente es baja, pero puede llegar a sobrepasar hasta un 30% (Albo y Reynaldi, 2010). Puede hacerse el diagnóstico además de la observación, mediante laboratorio.

2.6.2.3 Nosemiosis (*Nosema spp*)

Nosema apis Zander es un parásito protozoo del sistema digestivo de la abeja adulta que se caracteriza por la formación de esporas que son estadios de resistencia. Aunque la abeja *A. mellifera* tiene alguna resistencia a *N. apis*, hay otra especie de *Nosema*, que afecta a *A. mellifera* como *Nosema ceranae* (Morse, 1993).

La nosemiosis es altamente contagiosa y los daños que ocasiona pueden ser muy graves cuando el nivel de infección es elevado. La enfermedad se encuentra latente durante todo el año dentro de las colmenas, y se hace aparente después de periodos de encierro de las abejas dentro de su colmena, es por ello que esta enfermedad es muy importante en países con inviernos muy fríos y prolongados (Boot *et al.*, 1988). Los panales contaminados con excretas de abejas enfermas son los focos de infección más importantes, además favorecen la transmisión de nosemiosis, el empleo de equipo contaminado en las colmenas, el pillaje y la adquisición de reinas de un criadero enfermo. Dado que la nosemiosis puede confundirse con otras enfermedades, la ayuda del laboratorio es fundamental para establecer un diagnóstico. Se considera a esta enfermedad como la más diseminada por el mundo y se ha encontrado en todos los países donde se practica la apicultura (Higes *et al.*, 2006).

En la apicultura, técnicas de biología molecular han sido aplicadas con diferentes fines, logrando identificar segmentos de ácido desoxirribonucleico (ADN), que

presentan diferencias en la secuencia de bases del genoma de las abejas. Esas diferencias en secuencia constituyen marcadores moleculares que se han incorporado junto a las características morfométricas, evolutivas, ecológicas y de comportamiento de las abejas, para clasificar a las abejas melíferas en razas, haplotipos y ecotipos (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005).

Dentro de la patología y parasitología, las técnicas de biología molecular se han utilizado para identificar agentes patógenos de las abejas. En la actualidad, es posible diagnosticar enfermedades virales (parálisis aguda y la enfermedad causada por el virus Kasmir), bacterianas (loque europea y loque americana), las causadas por protozoarios (nosemiosis) y el ácaro *V. destructor*, utilizando métodos moleculares (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005).

2.6.2.4 *Varroa destructor* Anderson & Trueman (*Varroasis*)

Varroa destructor (antes *Varroa jacobsoni*) es un parásito natural de *Apis cerana*.

El ácaro *Varroa destructor* es considerado el problema más importante para la apicultura mundial, viene de la especie *Apis cerana*, y puede provocar la muerte de colmenas de *Apis mellifera*. Existen casos de adaptación de las abejas *A. mellifera* a esta especie de ácaro, como las abejas Africanizadas en Brasil y en algunas regiones de México e inclusive en regiones donde hay abejas europeas; sin embargo, cuando estas abejas son llevadas a otras regiones, pierden la resistencia y se presenta pérdida de colonias. Dicha pérdida puede ser porque no hay una pronta adaptación de las abejas a las nuevas condiciones ambientales del sitio, o porque el patógeno es diferente y tiene una virulencia diferente en otra región (Rosenkranz *et al.*, 2010).

La presencia del ácaro ha sido asociada con el desarrollo de enfermedades bacterianas, vírales y al colapso y baja población de las colonias de abejas. En un estudio realizado en México por la UNAM se demostró que *V. destructor* reduce hasta un 65% la producción de miel (Guzmán, 2015).

En la actualidad, las colonias son tratadas con productos químicos para controlar al ácaro; sin embargo, *V. destructor* ha desarrollado resistencia a algunos de los principales productos autorizados para su control. En México, existen informes de resistencia de los ácaros al fluvalinato, flumetrina y amitraz. Los acaricidas, en general son tóxicos para las abejas y para el hombre, y se sabe que si no son empleados adecuadamente pueden dejar residuos en la miel y cera (Yue y Genersch, 2005).

Los ácaros del género *Varroa* diseminan un virus mortal para las abejas domésticas en todo el mundo, al aumentar el número de ácaros se eleva también la prevalencia de una cepa del virus que provoca la deformación de las alas (OIE, 2016).

Actualmente la varroasis se encuentra presente y sin erradicación total en ninguna estación del año en la mayoría de los apiarios en México (Guzmán, 2015).

2.6.2.5 Pequeño escarabajo de la colmena (*Aethina tumida* Murray)

Aethina tumida (Murray), mejor conocido como pequeño escarabajo de la colmena, (Coleoptera: Nitidulidae), es un parásito carroñero de las colonias de abejas melíferas que pueden causar el hundimiento estructural del nido y hacer que las abejas melíferas adultas se dispersen (Neumann y Elzen, 2004).

El Pequeño Escarabajo de la colmena, *A. tumida* es residente de África y nativo de Sudáfrica. El insecto convive con las abejas africanas *Apis mellifera adonsoni* y no causa problemas. El escarabajo adulto encuentra muy atrayente los olores de la colmena, entran a la colmena en números de miles, siempre escondiéndose de la luz. El escarabajo adulto entra a la colmena y pone sus huevecillos en las celdas de las abejas donde se alimentan de las larvas. Durante esta época de desarrollo las larvas se alimentan de polen, miel y larvas de abeja (Hood, 2004).

Las larvas del escarabajo se pueden encontrar en términos de millones en los panales y dejan los panales con un líquido aceitoso. Cuando estas larvas están listas para salir de la colmena buscan la luz, salen sobre la piquera y se entierran en el suelo frente de la colmena donde se convierten en pupas de tres a cuatro semanas. Las pupas emergen como adultos e inmediatamente salen a buscar

colonias y pareja para fecundar. Los daños secundarios son a los panales de cera, ya que las larvas hacen túneles en los panales con miel y polen, dañándolos; y en la miel, ya que defecan en ella, causando decoloración y fermentación (Elzen *et al.*, 1999). Este escarabajo afectó gravemente a las abejas en Estados Unidos y en 2007 se reportó por primera vez su presencia en México (Rivera-Gomis *et al.*, 2016). A la fecha no hay un producto químico que pueda ser aprovechado y avalado por la SAGARPA, que pueda ser utilizado en la colmena sin dejar residuos tóxicos, sin afectar la miel y las abejas, ni se cuenta con una norma oficial para el uso de productos químicos para el manejo del escarabajo (SAGARPA, 2016).

2.6.2.6 Loque americana (*Paenibacillus larvae* White)

Paenibacillus larvae (White), mejor conocida como loque americana, es una bacteria que puede producir más de mil millones de esporas en cada larva infectada. Esta bacteria ampliamente propagada causa una enfermedad en las abejas melíferas en sus estadios de larva y de pupa. Las esporas son muy longevas y sumamente resistentes al calor y a los agentes químicos, y son las únicas capaces de ocasionar la enfermedad. Las esporas pueden permanecer viables durante más de 30 años en una colmena infectada, siendo capaces de contaminar nuevas colonias. La loque americana es muy grave, afecta rápidamente a las colonias y se contagia mucho de unas a otras llegando a eliminar totalmente las colonias más sensibles con relativa rapidez. Las esporas se vuelven activas en el tracto digestivo de las larvas jóvenes (OIE, 2016).

El inicio de los síntomas depende de la cantidad de esporas, debe haber por lo menos 50 millones de esporas para que la enfermedad aparezca en una colonia de abejas. Una larva de abeja que muere por la loque americana contiene cerca de 3 billones de esporas. Esto explica porque es tan difícil de eliminar y controlar la propagación de la loque americana. Las colonias afectadas se caracterizan por una elevada mortalidad de larvas y el panal aparece irregularmente operculado, más oscuro, y con olor desagradable (Formato *et al.*, 2007).

Los signos clínicos característicos de la enfermedad se pueden diagnosticar en el terreno mediante varias técnicas (prueba de palillo, kit de detección rápida o determinación visual.). No obstante, las infecciones subclínicas son comunes y necesitan un diagnóstico de laboratorio (OIE, 2004).

2.6.2.7 Loque europea (*Melissococcus plutonius* Plutón)

Melissococcus plutonius, mejor conocida como loque europea, es una bacteria no esporulante, que es bastante resistente a condiciones ambientales adversas (por ejemplo, permanece viable durante varios meses en el polen). Esta es una enfermedad de las abejas melíferas. La bacteria se desarrolla en las crías de las abejas. Esta enfermedad se propaga por vía oral en la colmena por las abejas nodrizas que, en el intento de limpiar las celdas de las larvas muertas, se contaminan con las esporas y las transmiten a la cría cuando van a alimentarla. La enfermedad puede ser transmitida de colmena a colmena o de apiario a apiario por las abejas (especialmente cuando las abejas roban una colmena enferma) y por el apicultor (con el uso de miel infectada para alimentar las colonias sanas, moviendo colonias enfermas durante la apicultura trashumante, con el comercio de herramientas infectadas, el uso de equipos contaminados, y trasladando panales de una colmena a otra, etc.) (Forsgren *et al.*, 2005).

La transmisión de la loque europea de la abeja adulta a la larva se lleva a cabo por vía oral. Después de la infección, las larvas mueren en pocos días (independientemente de que las larvas sean abejas obreras, zánganos o reinas). A diferencia de la loque americana, *M. plutonius* mata a las larvas antes de la operculación de las celdas. La muerte de las larvas ocurre con celdas abiertas y ésta es una de las características que permite diferenciar la loque europea de la loque americana. Sólo en el caso de infección grave de la loque europea, las larvas pueden morir en celdas operculadas (Budge *et al.*, 2010).

La cría aparece dispersa, con celdas que contienen larvas muertas amarillentas. Dependiendo de las bacterias presentes, las larvas muertas pueden desprender olores de diferente intensidad. El *Melissococcus plutonius* conduce a un olor agrio, con larvas flácidas, pero intactas, cuando se asocia con *Bacillus alvei*, la cría

adquiere un olor pútrido con larvas fundidas (pero no fibrosas como con la loque americana). También hay formas intermedias en las cuales los panales no desprenden ningún olor (Budge *et al.*, 2010).

Para el diagnóstico de campo es suficiente examinar la cría y buscar cría dispersa, larvas muertas amarillentas en celdas abiertas, olor agrio, etc., que se pueden combinar con el uso de un botiquín de diagnóstico rápido. Para la confirmación de la enfermedad, se puede enviar una muestra de las larvas muertas a laboratorios especializados. La infección es enzoótica debido a la contaminación mecánica de los panales de miel y puede por lo tanto volver a aparecer los años siguientes (OIE, 2016).

2.6.2.7 Virus de las alas deformadas (DWV)

La mayoría de los virus presentes en colmenas de abejas son transmitidos mediante parásitos que las contagian, produciendo enfermedades y muerte en las colmenas. Todos estos virus tienen diferente sintomatología y nivel de agresión, a continuación, se describe el virus de las alas deformes ya que es uno de los que más afectan, actualmente; a colmenas de todo el mundo, por ser transmitido principalmente por el ácaro varroa, parásito que se encuentra generalizado en las colmenas del mundo. Además, su sintomatología es de fácil identificación en el campo (Martin *et al.*, 2010).

El virus de las Alas Deformes (DWV) de la familia *Iflaviridae* es el género *Iflavirus*. Está relativamente generalizado en los colmenares, aunque a menudo se presenta en forma subclínica si no es asociado con la varroa (ya que no hay síntomas visibles). Sin embargo, en combinación con la varroa, este virus puede causar la muerte de la cría y de las abejas adultas. Este virus afecta a las abejas inmaduras durante su desarrollo en las celdas. A diferencia del virus de parálisis aguda de la abeja (ABPV por sus siglas en inglés), se caracteriza por un ciclo de replicación muy lento, en general, permitiendo a las abejas volar a pesar de las graves deformaciones de las alas, el tamaño corporal reducido y la esperanza de vida muy corta (Chaves *et al.*, 2016).

2.7 Sanidad en apiarios y Buenas prácticas de producción

Una de las situaciones que también ponen en riesgo a las abejas de los apiarios en México y que contribuyen a su muerte y/o desaparición en masa son las malas prácticas de los apicultores, ya que éstas dejan a las colmenas propensas a sufrir una o varias enfermedades y parásitos. (OIE, 2016).

III. JUSTIFICACIÓN

El uso inapropiado de agroquímicos y/o su uso cercano a zonas apícolas, así como las enfermedades y parásitos se encuentran dentro de factores reportados a nivel mundial causante de la muerte masiva y disminución de abejas *A. melífera*.

Por ello, es de vital importancia identificar el tipo de productos que se utilizan en zonas próximas a apiarios, así como las principales enfermedades que afectan a las colmenas regiones de importancia apícola en el estado de Durango.

Actualmente, se reporta una disminución de hasta 80% de poblaciones de abejas en las colmenas en el país, y dada su labor tan importante en la polinización es necesario conocer a fondo la situación en el estado.

Atender este tema beneficia a los apicultores y a la población en general, ya que la polinización contribuye a más de un tercio de la generación de alimentos de consumo humano.

Si la mortandad de las abejas sigue creciendo, el colapso o encarecimiento de la producción agrícola es inminente.

La importancia económica del servicio de polinización a nivel mundial reside en los tipos de cultivos de mayor presencia en cada región, por lo cual, ante la creciente pérdida de abejas a nivel mundial, también se observa una creciente pérdida económica por la disminución de cultivos que dependen de la polinización de abejas.

Las asociaciones civiles de apicultores en Durango aseguran que las producciones más afectadas han sido en la región Lagunera y en el municipio de Canatlán, donde, ante el incremento en costos de renta de colmenas, aunado a otros gastos y a una deserción considerable de fruticultura, alrededor de un 20% de los cultivos han disminuido y los apicultores han optado por comenzar otra actividad económica para su manutención.

IV. HIPOTESIS

El empleo inadecuado de agroquímicos, o el abuso en el empleo de éstos, la falta de una correcta ejecución de los Manuales de Buenas Prácticas de Producción proporcionados por SAGARPA y los problemas de sanidad debido a agentes causantes de parasitosis en abejas son los probables causantes de decesos masivos de abejas en las regiones apícolas del estado de Durango.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Analizar la influencia de agroquímicos y presencia de patógenos sobre la mortandad de abejas en regiones apícolas específicas del estado de Durango.

5.2 Objetivos Particulares

- Determinar las áreas de mayor desarrollo apícola con importancia notable en el uso de abejas para polinizar en el estado de Durango.
- Determinar las características socioeconómicas de los apicultores.
- Determinar el grado de implementación y manejo de manuales de buenas prácticas de producción por parte de los apicultores.
- Identificar los tipos de parásitos presentes y asociados a la pérdida de colmenas en zonas de importancia apícola del estado de Durango.
- Identificar los agroquímicos presentes en colmenas de *A. mellifera* y su relación con la pérdida de colmenas en zonas de importancia apícola del estado de Durango.

VI. MATERIALES Y METODOS

6.1 Planeación

6.1.1 Identificación y caracterización del área de estudio.

Con base en datos de la Oficina de Actividades Pecuarias de SAGARPA del estado Durango y del Sistema Producto Apícola de Durango se determinaron los municipios del estado que son más importantes por su producción de miel. Esos municipios fueron Durango, Poanas, Nombre de Dios y Canatlán. Posteriormente, se realizó un agrupamiento de los apicultores en 4 estratos: los que tenían de 1 a 50 colmenas, los de 51 a 100 colmenas, los de 101 a 500 colmenas, y los de 501 o más colmenas. Los municipios muestreados y en los que se realizaron las entrevistas cuentan con un total de 106 apicultores y 17200 colmenas.

Los municipios seleccionados tienen características climáticas diferentes, por lo tanto, podemos encontrar microclimas distintos en los diversos apiarios muestreados y por lo tanto calidades de miel y problemas de parasitosis cambiantes en cada uno de estos.

Además, el uso de suelo del área seleccionada nos proporciona información de importancia acerca de los agroquímicos utilizados en la zona que pudiesen estar afectando las actividades de pecoreo de las abejas e inclusive la muerte de estas. Para el desarrollo de la apicultura es importante contar con conocimiento de la región donde se instalarán los apiarios, es decir, conocer las fuentes de agua cercanas, clima, uso de suelo, tipo de vegetación, cercanía a animales y zonas pobladas, cercanía con otros apiarios entre otros que se mencionan en diferentes manuales de apicultura desarrollados por SAGARPA.

Los municipios seleccionados fueron y se encuentran al sureste del estado (Figura 1), dentro de ellos podemos encontrar diversas fuentes de agua (Figura 2), y su clima es predominantemente semiárido y subhúmedo (Figura 3). La precipitación anual se considera regular para la actividad apícola, la del área de estudio se muestra en la Figura 4, la precipitación en esa área ha disminuido en años recientes. El uso de suelo se destina principalmente a la ganadería, siembra de frijol, maíz, avena, manzana, chile y forrajes.

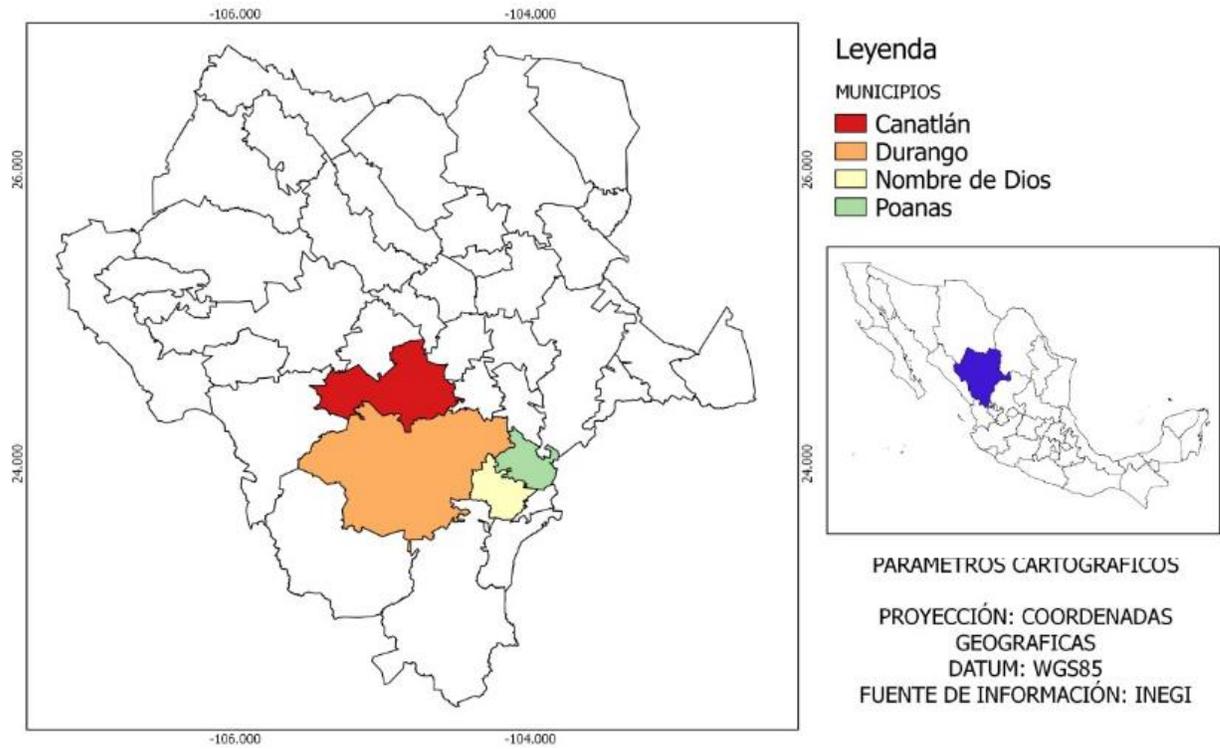


Figura 1. Municipios con mayor actividad apícola, seleccionados en el presente estudio para realizar muestreos.

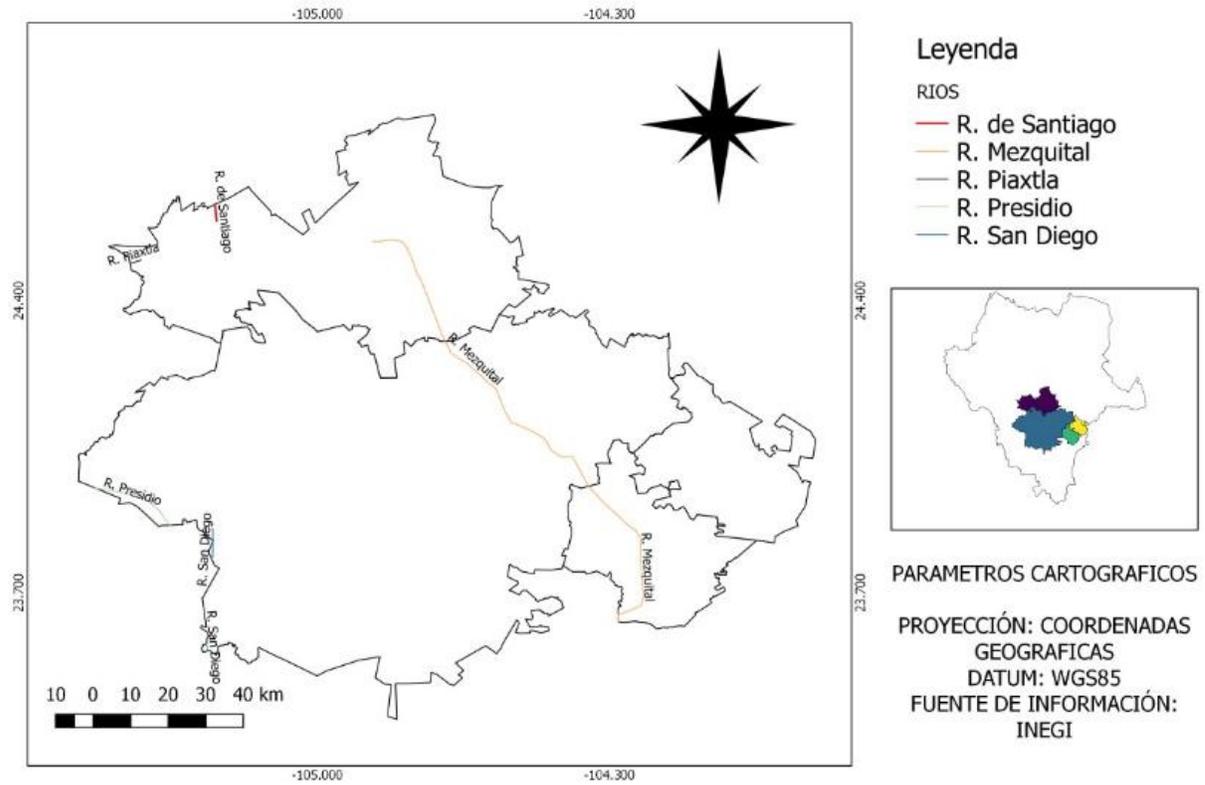


Figura 2. Fuentes hidrológicas de las áreas de estudio.

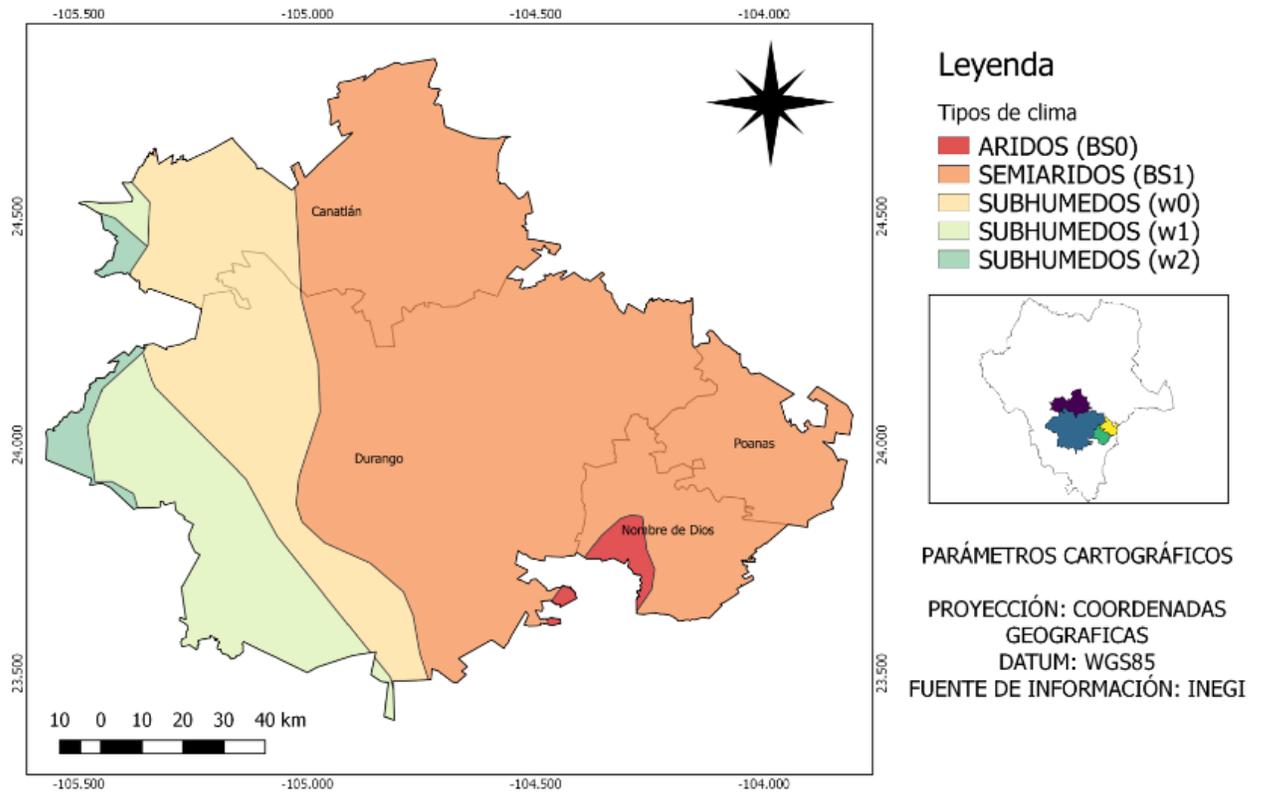


Figura 3. Clima predominante en el área de estudio.

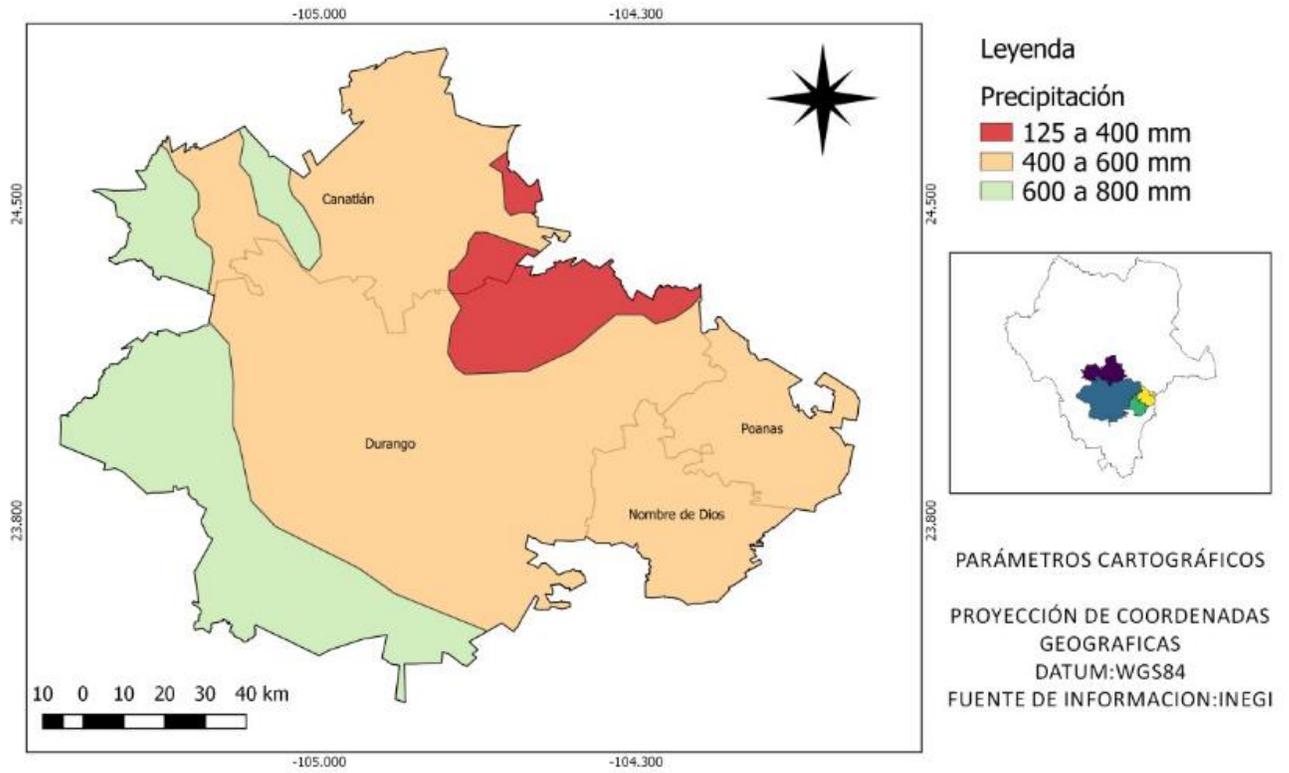


Figura 4. Precipitación anual del área de estudio.

6.1.2 Inventarios

Se realizaron los inventarios del total de apicultores, colmenas y apiarios de cada uno de los municipios del estado de Durango. Tomando como referencia las bases de datos de SAGARPA, SAGADER y Sistema Producto Apícola del Estado de Durango y la Asociación de Apicultores de Canatlán.

6.1.3 Encuestas

Se diseñó la encuesta que se llevó a cabo dentro de los municipios que resultaron ser los de mayor actividad apícola del estado, la cual se diseñó mediante la identificación y caracterización de las posibles variables a encontrar en cada uno de los municipios. La validación de dicha encuesta se realizó mediante la aplicación de una encuesta piloto a 15 apicultores, obteniendo un α de Cronbach de 0.79.

Los datos que se obtuvieron a partir de las entrevistas en la zona de estudio fueron género, edad, cantidad de colmenas, actividad económica principal, nivel de estudios, alimentación y tipo de alimentador, destino y forma de comercialización de la miel, prácticas de sanidad, problemas de mortandad en los últimos 5 años, ubicación e instalación de apiarios, orientación de colmenas, uso de bases para colmenas, renta para polinización, manejo de colmenas, y temporada y forma de cosecha de miel.

Se describe a continuación el trabajo llevado a cabo para determinar condiciones socioeconómicas de los apicultores, aplicación de Buenas Prácticas de Producción por parte de los apicultores, parasitosis y agroquímicos presentes.

6.2 Trabajo en campo

6.2.1 Aplicación de encuestas

La encuesta se realizó a 100 apicultores, que representan el 95.2% del total registrados en los municipios estudiados. La encuesta consistió en la aplicación, por apicultor, de un cuestionario, mediante entrevista, durante las reuniones de las asociaciones de apicultores. Además, se llevaron a cabo reuniones de trabajo en

las cabeceras municipales para planear las visitas a los apiarios y realizar los muestreos en los mismos.

6.2.2 Toma de muestras para determinación de parasitosis

Se tomaron muestras de abejas a tres colmenas por apiario y a un total de diez apiarios por región, considerando que el área de estudio se dividió en cuatro regiones, el total fue de 120 muestras durante tres temporadas diferentes del año 2017. Las variables fundamentales asociadas al muestreo fueron la severidad en daños a la colmena por los patógenos encontrados y el deterioro por malas prácticas de producción.

6.2.3 Revisión de apiarios y salas de extracción

Se realizó una inspección trimestral durante el año 2017 para observar y determinar la aplicación de las Buenas Prácticas de Producción de miel en campo y salas de extracción de los sitios seleccionados para muestreo, corroborando de esta manera las respuestas de los apicultores en las encuestas, resumiendo los resultados en graficas de barras donde se muestran los porcentajes de apiarios encontrados en condiciones inapropiadas.

6.3 Trabajo de laboratorio

6.3.1 Determinación de factores bióticos

6.3.1.1 Protozoarios

Detección de Nosema spp por medio de estereoscopio.

La determinación de presencia de *Nosema* spp se realizó mediante análisis microscópico tradicional (Técnica de Caldwell) con ayuda de la Cámara de Neubauer y mediante la técnica molecular de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), siendo este último el más recomendado debido a su mejor precisión y confiabilidad. Las muestras para ambos estudios fueron tomadas de la piquera, para asegurar que fueran abejas adultas, otorgando así mayor confiabilidad de los resultados.

Ante una infestación grave de *Nosema* spp es posible diferenciar entre abejas sanas y enfermas removiendo el tubo digestivo y examinando su aspecto y color; sin embargo, se hace un mejor diagnóstico mediante el análisis microscópico, para el cual se realizó la trituración de abdómenes de 20 a 25 abejas por colmena obtenidas de la piquera y se observó una alícuota de 0.015ml (15µl) del macerado, la que se depositó sobre un portaobjeto. Luego de dejar reposar la muestra, con el objeto de que los elementos en solución no se desplacen, se realizaron las observaciones en estereoscopio, recorriendo la muestra lentamente de forma horizontal y vertical, para observar la máxima área posible y así encontrar las esporas de resistencia. En esta etapa del estudio los resultados fueron expresados como presencia o ausencia de esporas de *Nosema* spp. (Shimanuki y Knox, 1991).

Para las muestras positivas se utilizó un hemocitómetro o cámara de Neubauer que reemplazó al portaobjeto convencional, requerido en la etapa previa de observación.

Para determinar el grado y nivel de infección se tomó una nueva alícuota de 15µl de aquellas muestras con presencia de esporas (muestras positivas) y se observó en el hemocitómetro o cámara de Neubauer para realizar el conteo y posteriormente el nivel de infestación con las tablas establecidas por SAGARPA. Este procedimiento se realizó en tres colmenas por apiario y se analizaron muestras de abejas provenientes de diez apiarios de los cuatro municipios seleccionados.

Ya que el método de observación al estereoscopio no es 100% confiable cuando se tiene un nivel medio o bajo de infestación de nosema se utilizó un método de PCR para determinar la presencia de este parásito, encontrando la presencia de *Nosema ceranea*.

Detección de Nosema spp por PCR.

En el presente trabajo se realizó determinación molecular de nosemosis, una de las enfermedades que poseen sintomatología que suele confundirse con otras enfermedades y tratarse de manera incorrecta.

El estudio comenzó con la colecta de abejas para extracción de ADN, las cuales se obtuvieron de la piquera, ya que son las abejas pecoreadoras las que tienen más probabilidad de infestación por nosemosis debido a su exposición constante con otras abejas fuera de la colmena.

Una colecta y manejo apropiado de la muestra permite obtener ADN de tamaño molecular y pureza adecuados para análisis de PCR (Alejos, 2010).

Las abejas fueron colectadas vivas directamente en un frasco con alcohol al 90% e introducidas inmediatamente en refrigeración a -4°C .

Posteriormente en el laboratorio, se partió al individuo en fragmentos de aproximadamente 1 mm para facilitar el contacto con las soluciones de lisis que ayudan a liberar el material genético (Alejos, 2010).

Luego se procedió a quitar el alcohol de los organismos y ponerlos a secar en microtubos por separado a 59°C durante aproximadamente tres horas.

Una vez los individuos están sin alcohol, se añadió 10 μl de 2-mercaptoetanol, 800 μl de CTAB 2% y se puso en agitación a 800 rpm a 59°C para agregar 40 μl de proteinasa K. Una vez terminada la adición de lo mencionado se dejó en digestión por 16 horas.

En la siguiente etapa se retiraron los fragmentos restantes de la abeja después de la digestión, se añadieron 350 μl de cloroformo alcohol isoamílico (24-1) y se centrifugó la mezcla para posteriormente separar la fase orgánica y recuperar la fase acuosa en tubos de 1.5 ml.

Enseguida, se agregaron 80 μl de acetato de sodio (3 molar, pH 5) y 750 μl de isopropanol.

A continuación, ésta mezcla se puso a -80°C por 30 min (para desnaturalizar las proteínas que pudieran quedar del pipeteo donde se separaron las fases orgánica y acuosa. Una vez transcurridos los 30 min se dejaron a -20°C durante 12 horas.

Una vez transcurrido ese tiempo se centrifugan las muestras a una temperatura de -4°C por 25 minutos a 12700 rpm y se procedió a hacer un doble lavado del pelet de ADN con etanol al 80%. Una vez terminado este procedimiento se pusieron a secar y posteriormente se añadió 10 μl de buffer Te (1x) y 50 μl de agua molecular estéril.

Se utilizó la extracción de ADN de un individuo completo para cada PCR realizada. El ADN extraído se almacenó a 4°C .

Con el fin de identificar presencia de *Nosema* spp, se preparó una mezcla para un volumen total de 25 μl para cada reacción o muestra, constituida por 2,5 μl de Buffer PCR 10X, 1,75 μl de MgCl_2 , 0,2 μl de Taq DNA polimerasa, 2,5 μl de desoxirribonucleótidos trifosfato dNTPs (dATP, dGTP, dCTP y dTTP) y 9,4 μl de PVP pasándose por vortex. Una vez depositados 1 μl de ADN de cada muestra en un microtubo de 0,2ml, se le agregó la mezcla antes mencionada hasta completar el volumen final de 25 μl . Cada muestra se procesó en duplicado, agregándose en una de ellas la mezcla con el set de partidores para detectar *N. apis* y, en la otra, la mezcla con el set de partidores para detectar *N. ceranae*.

El ensayo de PCR múltiple involucró la amplificación de secuencias de ARNr de subunidades pequeñas (ARNr 16S) de *Nosema apis* y *Nosema ceranae*. La secuencia de cebadores de ADN se obtuvo del Manual Terrestre de la OIE.

Las secuencias del cebador para la reacción estudiada son presentadas en el cuadro 1.

Cuadro 1. Secuencia de oligonucleótidos usados en PCR

	SECUENCIA DE PRIMERS
<i>Nosema ceranae</i>	5'-CGGCGACGATGTGATATGAAAATATTAA-3' 218 5'-CCCGGTCATTCTCAAACAAAAACCG-3'
<i>Nosema apis</i>	5'-GGGGGCATGTCTTTGACGTACTATGTA-3' 321 5'-GGGGGGCGTTTAAAATGTGAAACA ACTATG-3

Las PCR se realizaron por duplicado para cada muestra, ya que se usaron oligonucleótidos para identificar por separado *Nosema apis* y *Nosema cerane*.

Las especificaciones del termociclador para PCR fueron de acuerdo a Michalczyk, *et al*, 2011.

- Desnaturalización inicial: 95° C por 5 minutos
- Desnaturalización 94 ° C por 45 segundos
- Alineación 55 ° C por 45 segundos
- Extensión 72 ° C por 1 minuto.

Se verificó la presencia de producto de amplificación mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1,5% peso/volumen (p/v), es decir, se pesaron 1,5g de agarosa por 100ml de tampón TBE 0,5X cuando se usó un molde doble y 0,75g de agarosa por cada 50ml de tampón TBE 0,5X cuando se usó un molde simple. El tamaño del molde dependió del número de muestras procesadas en cada ocasión. La agarosa se disolvió con el tampón calentando en un vaso precipitado al microondas durante 45seg a 1min, hasta llegar al punto de ebullición. Antes de verterlo sobre el molde, se agregaron 4µl de bromuro de etidio (molde doble) o 2µl (molde simple) y se agitó suavemente. Este es un colorante fluorescente altamente mutagénico por lo que la manipulación en esta etapa fue muy cuidadosa. Se dejó reposando y gelificando durante 15min, hasta que estuvo suficientemente firme para no dañar los pocillos al sacar el peine y el molde. Cuando se utilizó un peine de 24 pocillos (pocillos pequeños), estos fueron cargados con 4µl de producto PCR más 2µl de tampón de carga (60% glicerol, 0,12% azul de bromofenol, 0,12% de xilen cianol). El primer y último pocillo fue llenado con 2µl de marcador de peso de 50pb, para comparar las bandas resultantes y estimar sus pesos. En tanto, cuando se utilizó un peine de 12 pocillos (pocillos grandes) se cargaron con 8µl de producto PCR más 4µl de tampón de carga. Una vez cargado, el gel fue cuidadosamente sumergido en una cubeta con tampón TBE 0,5X y se programó para correr por 30min a 85 volts y 16 mini amperes. Pasado este tiempo, las bandas se visualizaron en un transiluminador UV donde se registraron fotográficamente y por escrito las muestras positivas, especialmente aquellas en que las bandas se mostraron más tenues. Si el ADN

está íntegro, se debe observar una banda estrecha cercana al pozo en que se colocó la mezcla de ADN. Si está fragmentado, se observará una banda de más de un cm de ancho o un sendero luminoso en el carril de la muestra.

*Detección de *Acarapis woodi* (Rennie)*

La presencia o ausencia de acariosis se determinó mediante el método de disección de abejas para revisión de aparato respiratorio en estereoscopio, tomando de 10 a 15 abejas por colmena muestreada.

Este método consiste en retirar la cabeza de la abeja dejando expuesto el aparato respiratorio para observar las tráqueas y verificar si están obstruidas por el ácaro *Acarapis woodi*.

*Detección de *Varroa destructor* (Anderson & Truman)*

El nivel de infestación de varroasis se midió mediante 3 diferentes métodos para lograr cuantificar el problema en cada una de las etapas de vida de la abeja.

El primero es el método de Charola. Se dejó una lámina engrasada de 35 cm por 50 cm, en el fondo de la colmena por un lapso de siete días, para posteriormente retirarla y hacer un conteo de los ácaros *V. destructor* caídas al fondo de la colmena y que se quedan pegadas en ella. Para el conteo de ácaros se utilizó la fórmula:

$$\text{Individuos muertos por día} = \text{Número de individuos encontradas/días de exposición de la charola en la colmena.}$$

Para luego contrastar el resultado por los siguientes criterios:

Menos de 5 varroas por día = infestación baja,

De 6 a 10 varroas por día = infestación media,

Más de 10 varroas por día = infestación alta (SAGARPA, 2016).

Sin embargo, al no saber si la varroa caída es debido a muerte por su ciclo natural de vida o por el comportamiento de defensa de las abejas de acicalamiento, no se

consideró como un método certero para medir el porcentaje de nivel de infestación, sino que nos arroja una estimación del nivel de la población de *V. destructor* en la colmena. Este método se suele utilizar junto a otros métodos como una técnica para determinar el comportamiento de la colmena frente a este parásito o como un indicador de la eficacia de productos usados contra la varroasis en la medicación cotidiana o en bioensayos.

El método de conteo de cría nos indica el nivel de infestación en las larvas aún sin emerger de la celda y se determina contando el número de varroas presentes en las celdas con cría. Para este método se destapó la colmena y se extrajo un bastidor con cría operculada, luego se rompió el opérculo con pinzas de disección para hacer el conteo. Esta técnica requiere de un mínimo de 50 celdas operculadas y se utiliza la siguiente fórmula para la determinación de infestación:

$$\% \text{ de infestación} = (\text{No. De celdas con varroa} / \text{No. De celdas desoperculadas} = x / 100)$$

Y por último la prueba de David de Jong, ésta es la más usada actualmente para la determinación rápida del nivel de infestación de una colmena. Se realizó capturando directamente de la piquera aproximadamente 100 abejas en un frasco con jabón, donde, al morir dejaron en el fondo del recipiente las varroas que tenían en pegadas, esto se pasa por una malla blanca y se cuenta el número de varroas, utilizando la siguiente fórmula para determinar el porcentaje de infestación:

$$\% \text{ de infestación} = \text{no. De ácaros colectados} / \text{No. De abejas en la muestra} \times 100.$$

Lo recomendable es mantener la infestación lo más cercana a cero posible. De acuerdo a la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-057-ZOO-1997, en estudios de efectividad de acaricidas es conveniente utilizar los tres métodos a la vez.

6.3.1.2 Hongos y bacterias

Ascosphaera apis (Morse) o *cría de cal* y *Paenibacillus larvae* (White) o *loque americana*

Se realizó su presencia por determinación visual por sintomatología externa en las colmenas con presencia de sintomatología asociada a éstos patógenos.

6.3.2 Determinación de factores abióticos

6.3.2.1 Agroquímicos

Se tomaron tres muestras compuestas de diferentes colmenas para completar un kilogramo de abejas muertas en condiciones que se pudieran relacionar a un mal uso de agroquímicos en zonas aledañas por región y se enviaron a un laboratorio externo para análisis denominado Servicio Integral a la Agroindustria, S.A. de C.V. (SIASA), que tiene capacidad para identificar 320 compuestos por el método de cromatografía de gases bajo la norma NOM-AA-103-1988. Las muestras correspondieron a los siguientes sitios:

Sitio 1. Canatlán y Nuevo ideal.

Sitio 2. Durango y Nombre de Dios.

Sitio 3. Poanas.

Posteriormente, una vez que se obtuvieron los resultados del laboratorio de agroquímicos, se pesaron 10 grupos de 100 abejas muertas y secas en una balanza analítica para calcular el número total de abejas presentes en un kilogramo de abejas, y a su vez obtener el peso promedio de una abeja, ya que los resultados del laboratorio de agroquímicos proporcionaron datos de los productos en unidades de $\mu\text{g}/\text{kg}$ de abeja.

Este procedimiento se realizó para poder comparar los resultados proporcionados por dicho laboratorio contra valores de CL_{50} o DL_{50} , presentes en la literatura.

El peso promedio individual de una abeja fue de 150 μg .

VII. RESULTADOS Y DISCUSION

7.1 Datos generales y características de los apicultores del estado

El estudio se basó en un enfoque deductivo y se utilizaron herramientas cualitativas y cuantitativas para el análisis de los datos. La información indirecta se obtuvo de las bases de datos de SAGARPA y del Sistema Producto Apícola del Estado. La información de campo se obtuvo, a principios del 2017, por medio de una encuesta estructurada como método de investigación, por muestreo estadístico, y entrevista directa en las zonas apícolas y en reuniones efectuadas en instalaciones del CIIDIR Unidad Durango.

La edad promedio de los apicultores fue de 45 años, lo que, de acuerdo con Magaña *et al.*, 2016, permite suponer poco interés por la actividad por parte de los jóvenes. La edad se considera un factor importante en términos de la capacidad de gestión presente y futura de los apicultores, pues los de mayor edad tienen menor disposición al cambio en su forma tradicional de producción, y el aprendizaje de nuevas técnicas, tanto en el ámbito productivo como de gestión, así mismo trabajar en proyectos con apicultores jóvenes presenta mayor inestabilidad por la migración temporal o definitiva, debido a la falta de fuentes de trabajo en el campo o bien por razones de estudio (Contreras-Escareño *et al.*, 2014). La participación de la mujer en la apicultura en Durango fue del 10%, esto contrasta con el promedio nacional de mujeres ocupadas en los sectores de actividad económica que fue en 2016 de un 31%. Respecto al nivel de escolaridad, se observó que el 38 % de apicultores tenía una escolaridad de nivel secundaria, lo que limita su posibilidad de manejar la información correspondiente, por ejemplo, llevar un sistema de trazabilidad y tener ventajas competitivas, es solo de esta manera que el apicultor se encuentra ante la posibilidad de obtener los costos y beneficios reales de su producción (Magaña y Leyva, 2010).

En Durango, el 75% de los productores lleva a cabo la apicultura como segunda actividad económica y para algunos incluso se practica como un pasatiempo.

De acuerdo con los esquemas bajo los cuales los apicultores llevan a cabo su actividad en México, se identifican tres grupos: tecnificado, semitecnificado y tradicional (Güemes y Pat 2004). En el primer grupo están los productores con

más de 100 colmenas, que incorporan adelantos tecnológicos e incluso generan tecnología propia (innovación endógena) acorde a las características de su región (Magaña y Leyva, 2010). Dentro de este nivel se observó el 35% de los productores en las zonas de estudio. El segundo grupo lo conforman apicultores con diferentes grados de tecnificación, que generalmente poseen entre 60 y 100 colmenas (en el presente estudio, constituyeron el 25%). Por último, el tercer grupo, que formó el 40 %, dentro del cual se practica una apicultura como una actividad complementaria a otras labores, en la mayoría de los casos, los apicultores de este grupo utilizan técnicas rudimentarias.

Respecto al destino de la miel, la gran mayoría de los apicultores comercializan toda o una buena parte de su producción en el mercado local y los productores con mayor número de colmenas abarcan los dos, local y nacional. Solo el 1.2% tiene marca y etiqueta en su producto. Uno de los principales propósitos de la mayor parte de los apicultores con más de 100 colmenas es la adquisición de equipo de acero inoxidable para usar en el proceso de extracción de la miel. Cabe mencionar que a mayor número de colmenas los productores poseen salas de extracción equipadas con instalaciones de agua corriente y equipos de acero inoxidable (extractor y tanque de sedimentación), requisito indispensable dentro de las buenas prácticas de manejo de la producción de miel.

Los municipios con mayor número de apicultores fueron Canatlán, Durango y Nombre de Dios, mientras que los que presentaron mayor número de colmenas fueron Canatlán, Durango, Nombre de Dios y Poanas. En Canatlán y Nuevo Ideal se produce la mayor cantidad de miel y se encuentra una actividad importante de servicio de polinización del árbol de manzano, ya que la producción de manzana es una actividad importante en el aspecto económico y cultural de Canatlán y Nuevo Ideal.

7.1.1 Aplicación de los MBPP en campo.

7.1.1.1 Uso de bitácora

La calendarización de las actividades apícolas y el uso de bitácoras ayuda a los apicultores a organizar de manera eficiente su trabajo y en consecuencia mejora su manejo de plagas y productividad (Contreras-Escareño *et al.*, 2014). En la Figura 5, se observa que en el estado de Durango el 50% de los productores de miel la utiliza siempre, lo que indica que no se lleva el control de actividades deseado en el Estado.

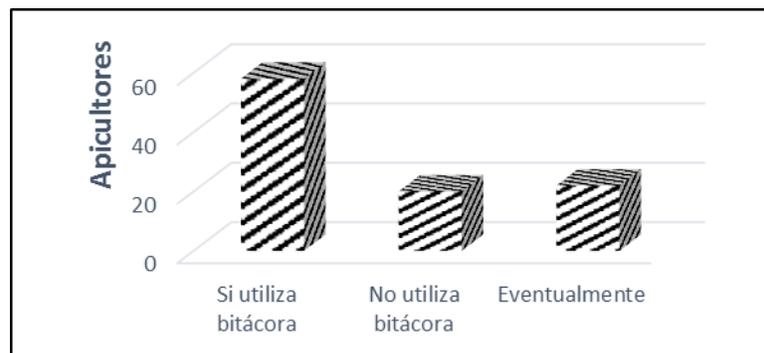


Figura 5. Uso de bitácora y actividades calendarizadas

7.1.1.2 Orientación de colmenas

El 100 % de los entrevistados estuvieron de acuerdo en que la mejor orientación de las colmenas es con las piqueras dirigidas hacia el oriente, que es la salida del sol, debido a que las abejas salen más temprano a realizar sus vuelos, ya que las abejas como insectos requieren un intervalo adecuado de temperatura, luminosidad y humedad relativa.

7.1.1.3 Alimentación de colmenas

El 100 % de todos los entrevistados proporcionaron alimentación rica en proteínas y jarabe en todos sus apiarios y un gran porcentaje de ellos lo realizó antes de la floración, con una frecuencia de 15 días aproximadamente.

La mitad de los apicultores utilizan el tipo exterior Boardman (botella) y la otra mitad utiliza el alimentador interno Doolittle, Figura 6. De acuerdo con Güemes-Ricalde y Pat-Fernández (2004), la práctica de alimentación ya sea de

sostenimiento o de estimulación, es una técnica necesaria para apoyar o fomentar la producción de individuos en las colonias de abejas para un aprovechamiento más oportuno del recurso florístico y consecuentemente la producción de miel, pero también si esta práctica no se realiza de manera adecuada o con buenos métodos de higiene puede favorecer el desarrollo de microorganismos infecciosos a las colonias de abejas. En los apiarios revisados se observó un mal manejo de alimentadores por parte de pequeños productores y un mejor manejo de aquellos que tienen mayor número de colmenas, lo que se atribuye a las normas que se tienen que cumplir para la venta por mayoreo de miel, las cuales no se acatan para la venta local.

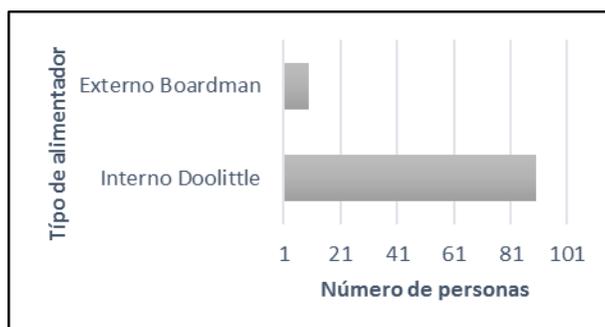


Figura 6. Tipo de alimentador en campo.

7.1.1.4 Bases para colmenas

La mayoría de los apicultores indica que 48% utiliza bases de block de cemento o ladrillos, seguido indica que 30% de bases de metal y piedras para la colocación de colmenas en sus apiarios debido a que se requiere tener en alto a las colmenas para evitar que estén en contacto directo con el suelo (Figura 7).

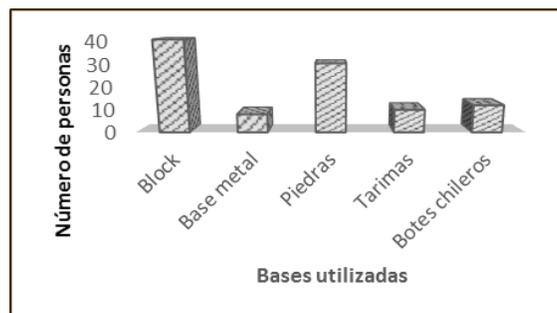


Figura 7. Tipo de bases usadas para colmenas.

7.1.1.5 Renta para polinización

Actualmente, 46 apicultores realizan la práctica de prestar el servicio para la polinización con una remuneración económica, preferentemente en el municipio de Nuevo Ideal y Canatlán, donde se encuentran las huertas de manzana y perón. Si bien los cultivos agrícolas requieren del servicio de polinización, no todos los productores agrícolas están conscientes del beneficio que proveen las abejas a la agricultura. Esta actividad representa un ingreso por colmena al apicultor de \$400 a \$600 pesos por colmena para polinización del cultivo de manzana y de \$200 a \$400 pesos por colmena para cultivo de melón y sandía, ésta renta de colmenas mejora considerablemente la calidad y producción al agricultor, sin embargo representa un riesgo de pérdida total de la colmena debido a la aplicación de agroquímicos en las huertas a polinizar, dicha pérdida es considerada dentro del contrato de polinización entre apicultor y agricultor y suele pagarse \$1000 al apicultor por cada colmena que haya presentado pérdida total de población de abejas durante la renta, con la aclaración de que la miel obtenida y la colmena siguen siendo en su totalidad del apicultor.

7.1.1.6 Sanidad Apícola

El problema de ataque por el ácaro parásito que provoca la enfermedad de las abejas conocida como varroasis se presentó en todos los apiarios estudiados. Los resultados de la encuesta indicaron que todos los apicultores realizan el diagnóstico de la enfermedad mediante un análisis visual en campo. La mayoría realiza un tratamiento para la varroasis de preferencia en verano e invierno, consistiendo en un control químico o de aceites esenciales de plantas, pero sin tener una programación adecuada y uso racional de productos para el control de este parásito ni de otros problemas que se detectaron, como el ataque por hongos conocido como cría de cal, lo cual puede llegar a ocasionar que se presente resistencia a las sustancias usadas. El 70% de los apicultores no realiza las medicaciones de manera organizada, es decir no se respeta un calendario apícola ni se tienen fechas ni horas específicas para la aplicación, a pesar de que la mayoría de los productos cuentan con indicaciones para su uso. En las reuniones con apicultores se señalaron las principales enfermedades presentes en los

apiarios y los métodos adecuados para su control o medidas de prevención que se deben observar, ya que un uso inadecuado o irracional de medicamentos puede representar una fuente de contaminación a los productos de las colmenas. Esto es importante sobre todos para aquellos productores que aspiran a exportar sus productos y deben observar las buenas prácticas de producción, en materia de inocuidad alimentaria.

7.1.1.7 Manejo de colmenas

Se preguntó a las personas sobre el equipo de protección que utilizan para el manejo de colmenas y todos coincidieron que el equipo que utilizan es overol, guantes, velo y ahumador, el cual es lavado cada 2 meses en promedio. Las medidas para desinfectar sus utensilios son flamear la cuña y limpiar su equipo con agua y jabón. Los productos que algunos utilizan para la conservación de panales, alzas o cámara de cría son el paradiclorobenceno y el azufre. El combustible más utilizado para el ahumador es la viruta y la leña del lugar y en menor proporción se utiliza el cartón, ya sea de cajas o el de huevo.

7.1.1.8 Tipo de material apícola

Otro punto de relevancia es la fabricación o compra del material apícola que se utiliza en la apicultura del Estado de Durango. Los resultados de la encuesta indicaron que la mitad de las personas compran sus equipos y la otra mitad los fabrica, para lo cual la totalidad de los apicultores que los fabrican dicen utilizar pintura acrílica libre de plomo para pintar alzas y cámaras de cría. Sobre la utilización de bitácora para llevar sus notas de trabajo en campo el 30% de las personas dicen no utilizarla, el 40% la usa rigurosamente y el 30% dice utilizarla eventualmente, mencionando que todavía no dominan esta clase de herramientas indispensables para la práctica de la apicultura.

7.1.1.9 Temporada y forma de cosecha

Del total de las personas entrevistadas, el 33% contestó que las personas que colaboran en la cosecha son tres y otro 33 % dice que son cuatro las personas que ayudan en esta práctica. Otro 33 % cuenta solo con la ayuda de dos personas. La totalidad de las personas participan en la extracción de miel dentro de un local.

La mayoría de los apicultores utilizan para el transporte de sus alzas una camioneta y utilizan lona o malla-sombra para la protección de las alzas durante su traslado a la sala de extracción. Muy pocos apicultores, el 12%, realizan la extracción en los apiarios. La extracción debe realizarse siempre en local cerrado con entrada y salida de agua para hacerlo de manera higiénica (SAGARPA, 2010).

Sobre el lavado del equipo de la sala de extracción, el 69% de los apicultores menciona que lo realiza cada temporada es decir dos veces al año, solo cuando es utilizado, pocas personas lo realizan antes y después de cada temporada.

A medida que los apicultores cuenten con mayor equipamiento, el trabajo se realizará de manera más profesional y acercándose a las buenas prácticas de producción de miel. Para ello requerirán de apoyos e incentivos económicos que pueden estar disponibles en organismos federales y estatales que apoyan el sector agropecuario, para lo cual pueden obtener información con representantes gubernamentales y no gubernamentales de este sector.

A este respecto, el Centro *Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional*, Unidad Durango, del Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR IPN Durango) ha propiciado y asistido a reuniones con estos representantes y con los apicultores a través de sus asociaciones locales y estatales para brindar información y asesorías.

En general, el porcentaje en que se cumplen las buenas prácticas de producción se resume en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Estratos de apicultores y respectivo porcentaje de cumplimiento de los manuales de buenas prácticas de producción.

Estrato de apicultores	Porcentaje en que se cumplen las buenas prácticas de producción.
1	0-25
2	26-50
3	51-75
4	76-99
5	100

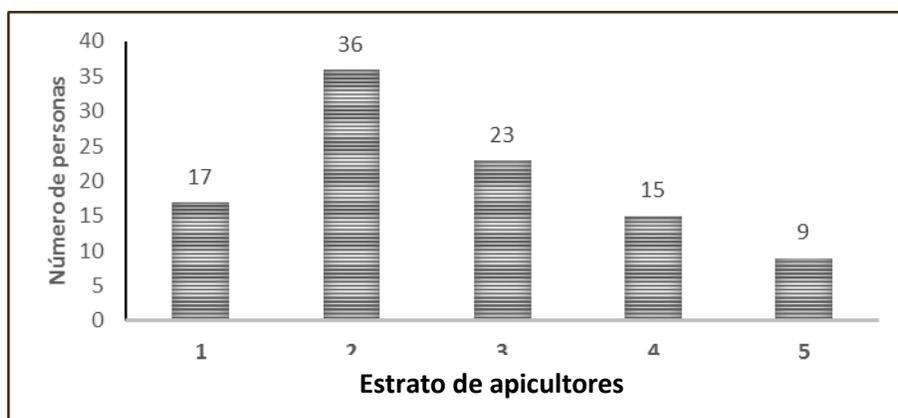


Figura 8. Porcentaje del cumplimiento de las Buenas Prácticas de Producción por apicultor.

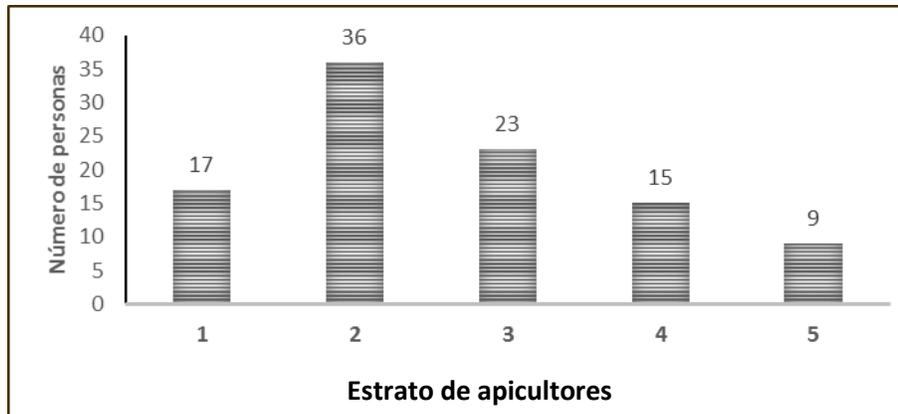


Figura 9. Porcentaje del cumplimiento de las Buenas Prácticas de Producción en colmenas por estrato.

7.2 Parasitosis

Con el método de charola, se determinó que la infestación de varroa era entre media y baja en el 80% de los apiarios, mientras que solo un 20% de los apiarios mostraron una infestación alta con más de 11 varroas por día en la charola en temporada invernal, la cual fue la temporada con mayor infestación debido a que hay aglomeración de abejas para guardar la temperatura adecuada para la colmena y el contacto entre ellas es mayor, aumentando así el riesgo de contagio. Además, al retirar las charolas se observó la presencia de residuos fecales de ratones en 8 apiarios y más de 100 abejas muertas en cada charola en cada uno, lo que indica una plaga de ratones que están atacando esas colmenas.

El parásito causante de la nosemiosis fue determinado mediante observación de esporas en la cámara de Neubauer y mediante el uso de PCR, lo cual permitió hacer una aseveración certera acerca de la presencia o ausencia de este parásito en colmenas que, aunque no obtuvieron un diagnóstico positivo en la observación de la cámara de Neubauer en el estereoscopio, si presentaba la sintomatología, y se confirmó su presencia mediante amplificación en PCR. La especie encontrada fue *Nosema ceranea* y se concluyó, que la enfermedad se presentaba en la primera fase de desarrollo, pudiendo de esta manera tratar correctamente y a tiempo este problema (Figura 10).

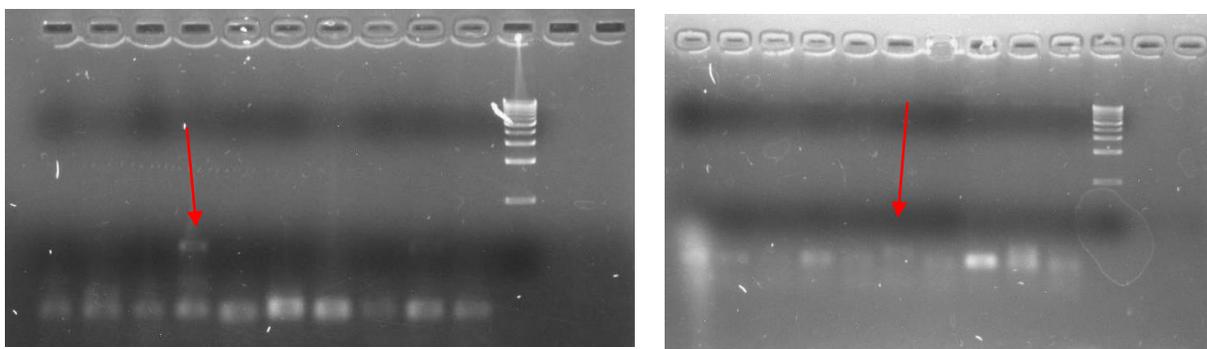


Figura 10. Geles de electroforesis con un positivo para la determinación de presencia de *N. ceranae* mediante oligonucleotidos específicos para esta especie.

La importancia de hacer un diagnóstico adecuado y recurrir a la biología molecular reside principalmente en que una vez hecha la prueba y obtenido un resultado positivo, se puede hacer una medicación correcta, evitando así la medicación incorrecta por mal diagnóstico y evitando crear resistencia de las abejas a ciertos medicamentos. En el Cuadro 3, se mencionan los parásitos encontrados en los diferentes muestreos.

Cuadro 3. Parásitos encontrados

1	Acariosis (<i>Acarapsis woodi</i> Rennie)
2	Cría de cal (<i>Ascosphaera apis</i> , Maassen Claussen)
3	Nosemiosis (<i>Nosema Ceranea</i>)
4	Varroasis (<i>Varroa destructor</i> Anderson y Trueman)
5	Pequeño Escarabajo de la colmena (<i>Aethina tumida</i> Murray)
6	Loque americana (<i>Paenibacillus larvae</i> White)
7	Loque europea (<i>Melissococcus Plutonius</i>)
8	Virus de las alas deformadas (DWV)

Los muestreos del primer sitio reflejaron una mayor concentración de parásitos en los meses en que las abejas se encuentran en mayor contacto entre ellas Figura 11, 12 y 13 y con una abaja considerable durante los meses de pecoreo y donde el aglutinamiento en la colmena disminuye, esto es según Contreras-Escareño *et al.* (2013), debido a que entre mayor contacto haya entre las abejas, es mayor la

transferencia de parásitos, sin embargo, Roubik (2003), menciona que aunque durante la temporada de pecoreo, la transmisión de algunos patógenos disminuye, la transmisión de otros aumenta debido a la variedad de sitios con posibles contaminaciones de otras colmenas enfermas visitan las abejas, las cuales al enfermarse, llegan a la colmena y a pesar del poco aglutinamiento en esta temporada pueden llegar a transmitir enfermedades altamente peligrosas y difíciles de erradicar y diagnosticar (debido a la similitud de sus síntomas con otras enfermedades de *Apis mellifera*).

Estas referencias nos indican que en cualquier temporada del calendario apícola es posible encontrar enfermedades que amenazan la salud de la colmena, es por ello que es de vital importancia conocer la problemática local de las colmenas de cada región, ya que de esta manera es posible aplicar un tratamiento efectivo en lugar de aplicar medicamentos a los cuales las enfermedades de las abejas pueden generar resistencia.

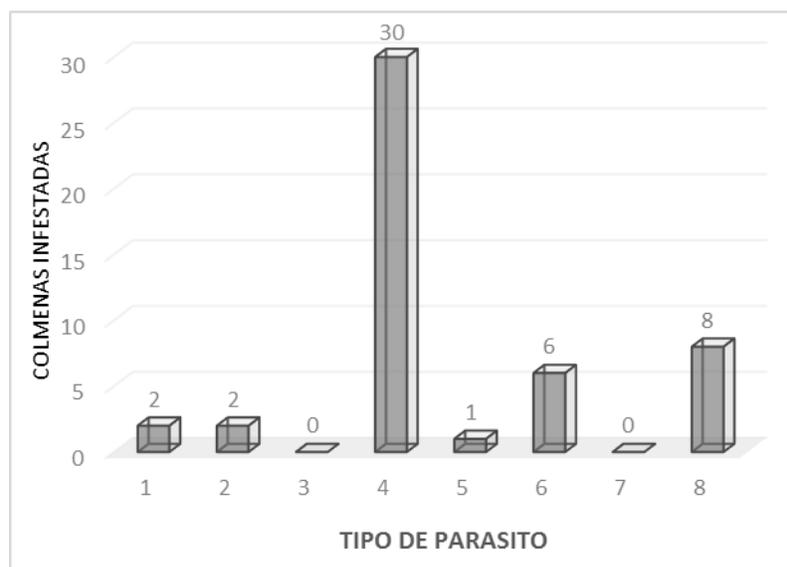


Figura11. Parasitosis encontrada en el muestreo 1, sitio 1 (Canatlán y Nuevo Ideal en enero-febrero 2017)

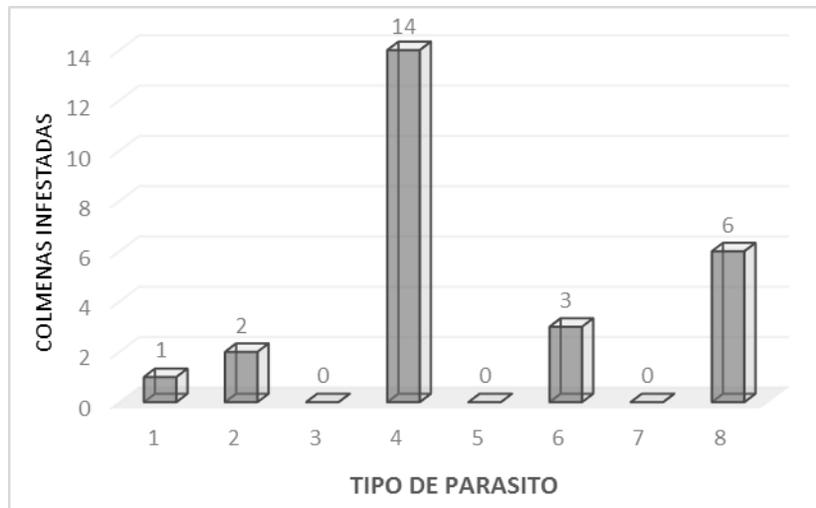


Figura12. Parasitosis encontrada en el muestreo 2, sitio 1 (Canatlán y Nuevo Ideal en abril-mayo 2017)

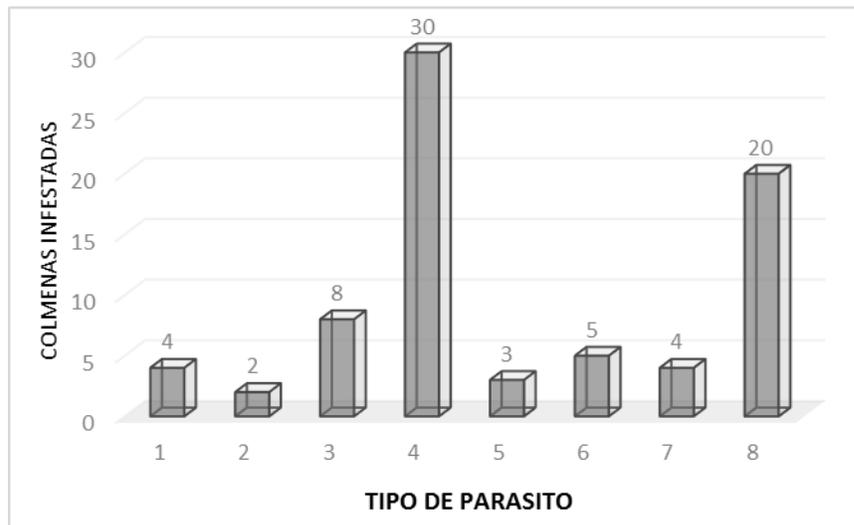


Figura13. Parasitosis encontrada en el muestreo 3, sitio 1 (Canatlán y Nuevo Ideal de septiembre-octubre 2017)

En los sitios 2 y 3 (Figuras de la 11 a la 22) se presentó una baja considerable de parásitos en comparación con los resultados de los sitios 1 y 4, esto se debe principalmente a que éstos sitios tienen una mayor actividad de renta de colmenas para polinización, lo que según Magaña y Leyva (2010), se debe a que durante el traslado de las abejas para polinizar existe mayor riesgo de contagio de enfermedades ya que los agricultores y fruticultores rentan colmenas de diferentes apicultores y regiones, y en ocasiones inclusive de diferentes estados, lo que aumenta la proliferación de patógenos.

SITIO 2. Durango

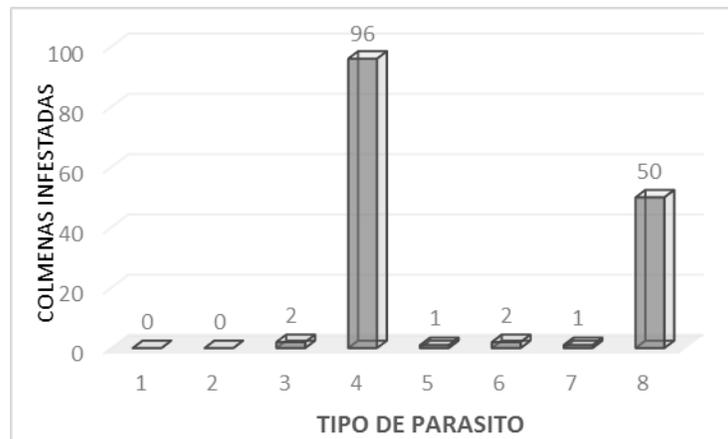


Figura 14. Parasitosis encontrada en el muestreo 1, sitio 2 (Durango enero-febrero 2017)

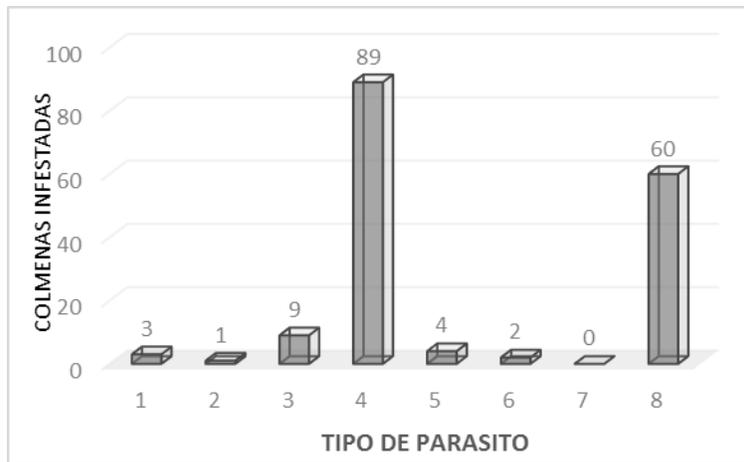


Figura 15. Parasitosis encontrada en el muestreo 2, sitio 2 (Canatlán y Nuevo Ideal de abril-mayo 2017)

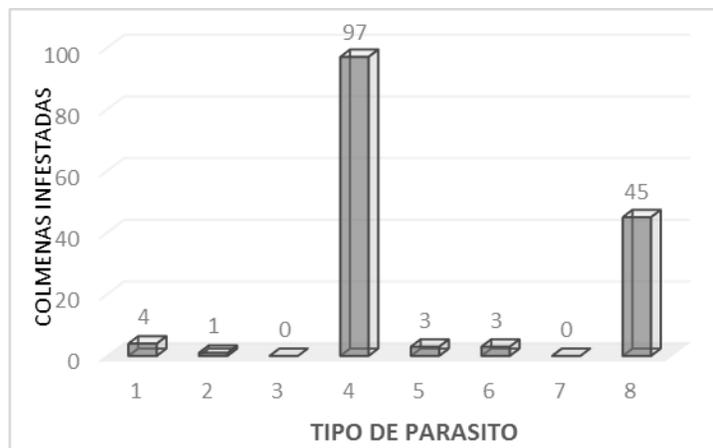


Figura16. Parasitosis encontrada en el muestreo 3, sitio 2 (Canatlán y Nuevo Ideal de septiembre-octubre 2017)

SITIO 3. Nombre de Dios

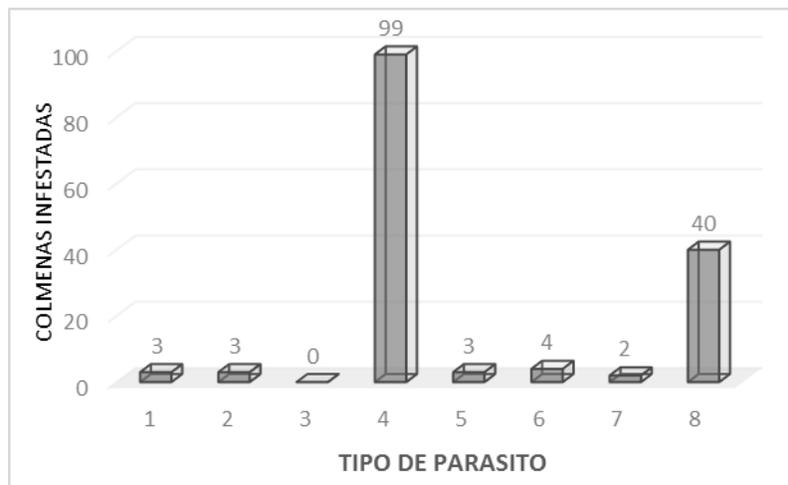


Figura17. Parasitosis encontrada en el muestreo 1, sitio 3
(Nombre de Dios de enero-febrero 2017)

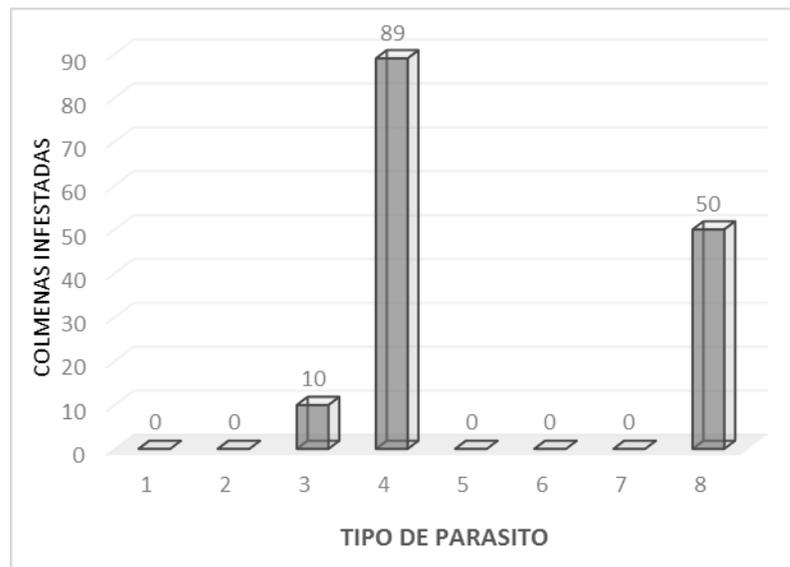


Figura18. Parasitosis encontrada en el muestreo 2, sitio 3
(Nombre de Dios de abril-mayo 2017)

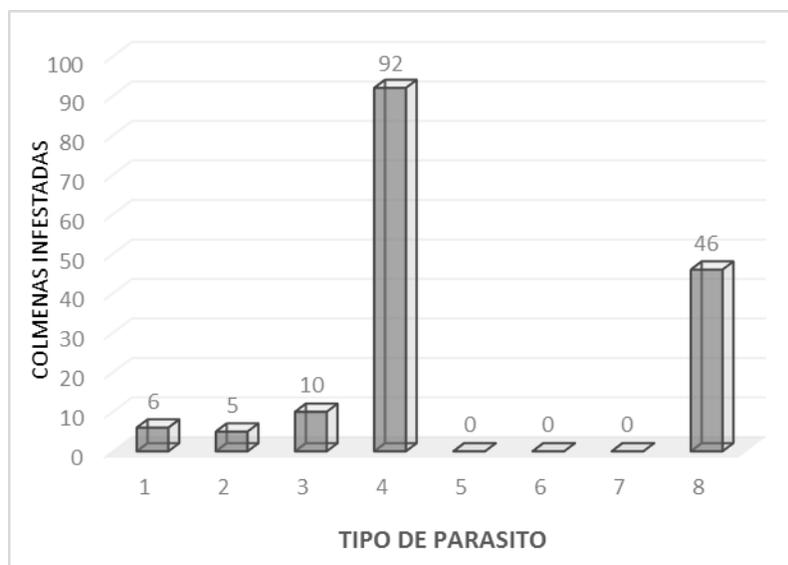


Figura19. Parasitosis encontrada en el muestreo 3, sitio 3
(Nombre de Dios de septiembre-octubre 2017)

SITIO 4. Poanas

El ultimo sitio correspondiente al municipio de Poanas presenta en general una infestación moderada de parásitos en general; sin embargo, es el municipio con mayor y constante presencia del acaro varroa, ácaro que está presente en todas las colmenas pero que se puede mantener en los límites permisibles según SAGARPA.

Este resultado según Quezada-Euán y Ayala-Barajas (2010), nos indica poca experiencia o mal manejo de prácticas apícolas por parte de los apicultores de esa región, lo cual coincide con las encuestas, donde Poanas tiene el 68% de sus apicultores con una actividad secundaria o con poco tiempo dentro de esta actividad.

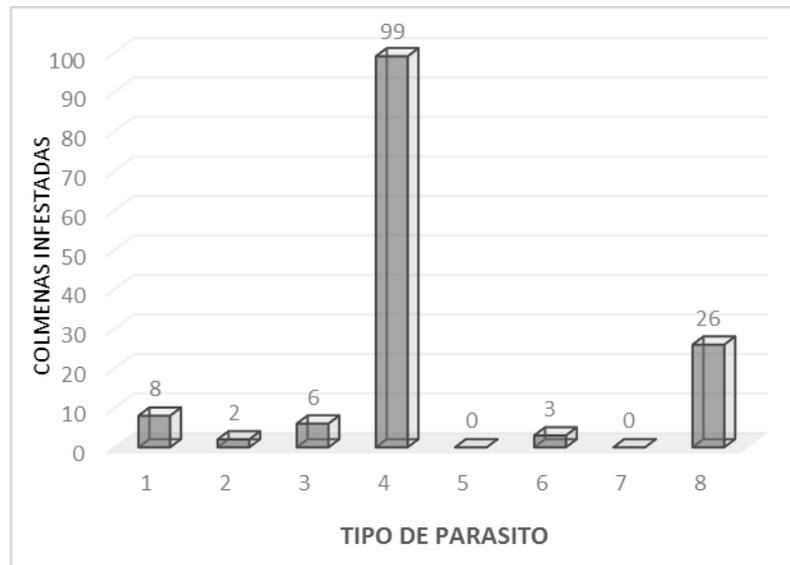


Figura 20. Parasitosis encontrada en el muestreo 1, sitio 4 (Poanas de enero-febrero 2017)

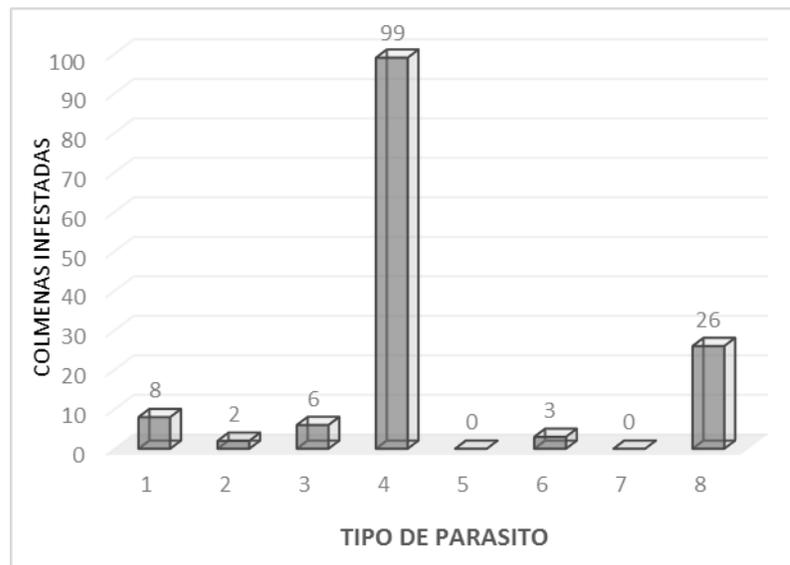


Figura 21. Parasitosis encontrada en el muestreo 2, sitio 4 (Poanas de abril-mayo 2017)

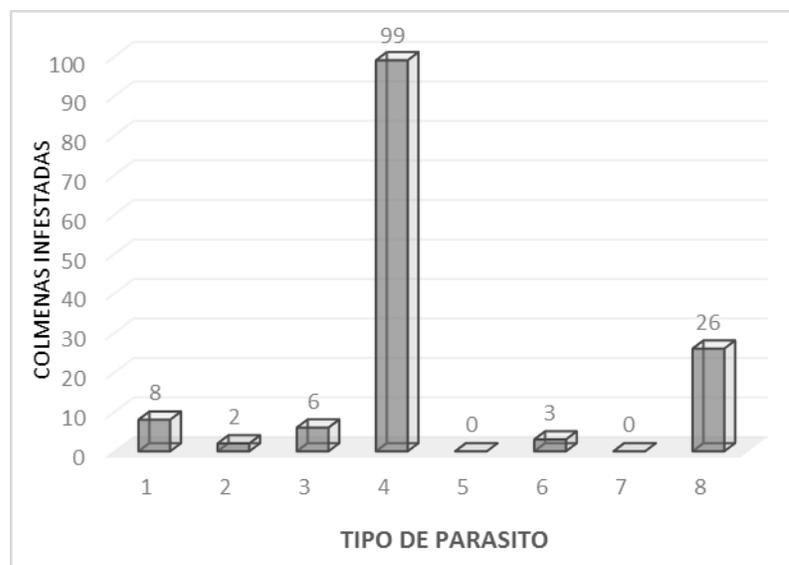


Figura 22. Parasitosis encontrada en el muestreo 3, sitio 4 (Poanas de septiembre-octubre 2017)

7.3 Presencia de Agroquímicos.

Se muestran a continuación los Cuadros 4, 5 y 6, con los resultados encontrados mediante determinación en laboratorio por cromatografía de gases, los productos de las muestras enviadas a determinación a laboratorio.

Cuadro 4. Agroquímicos encontrados en el Grupo 1 (Nuevo Ideal y Canatlán).

COMPONENTE ACTIVO	FORMULA QUIMICA	ENCONTRADO: µg/kg
Carbaril	$C_{12}H_{11}NO_2$	500
Malatión	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	478
Paration metílico	$C_8H_{10}NO_5PS$	690
Carbofurano	$C_{12}H_{15}NO_3$	385
Permetrina	$C_{21}H_{20}Cl_2O_3$	502
Etión	$C_9H_{22}O_4P_2S_4$	700
Metomilo	$C_5H_{10}N_2O_2S$	823
Deltametrina	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$	901
Fosmet	$C_{11}H_{12}NO_4PS_2$	169

Cuadro 5. Agroquímicos encontrados en el Grupo 2 (Durango).

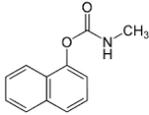
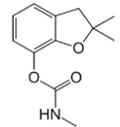
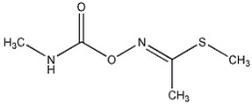
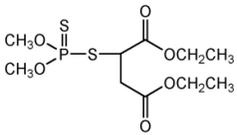
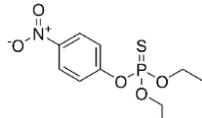
COMPONENTE ACTIVO	FORMULA QUIMICA	ENCONTRADO: µg/kg
Carbaril	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	300
Malatión	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	450
Paration metílico	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS	520
carbofurano	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	385
Permetrina	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	580
Etión	C ₉ H ₂₂ O ₄ P ₂ S ₄	650
Endusolfan	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	506
Deltametrina	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃	917

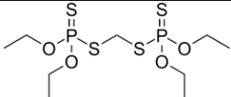
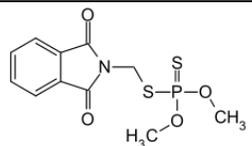
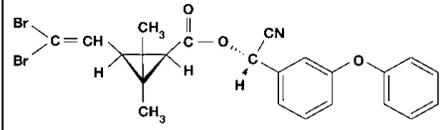
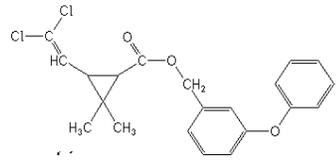
Cuadro 6. Agroquímicos encontrados en el Grupo 3 (Poanas y Nombre de Dios).

COMPONENTE ACTIVO	FORMULA QUIMICA	ENCONTRADO: µg/kg
Carbaril	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	203
carbofurano	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	590
Permetrina	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	596
Etión	C ₉ H ₂₂ O ₄ P ₂ S ₄	412
Metomilo	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	799
Deltametrina	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃	569

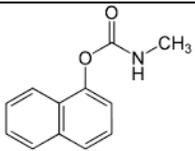
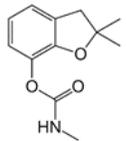
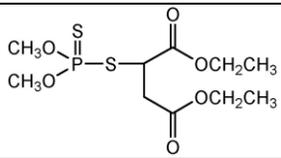
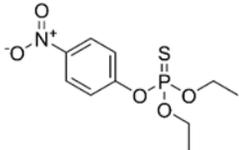
A continuación se presentan en los Cuadros 7, 8 y 9, la comparación de las dosis letales de los agroquímicos encontrados en contraste con los datos establecidos en la literatura, con estos datos se observó que en los sitios muestreados del estado de Durango se tiene una aplicación incorrecta y contaminación en las colmenas principalmente por organofosforados, los cuales de acuerdo con Corley (2003), la residualidad de los compuestos organofosforados depende del entorno y la aplicación para la cual se destinó, existen organofosforados que permanecen por semanas, incluso meses de forma activa, hay otros que son altamente volátiles y su poder residual dura apenas unos días, lo cual afecta principalmente a las abejas en pecoreo o a las colmenas instaladas cerca de las zonas de aplicación de estos agroquímicos, ésta descripción coincide con el comportamiento observado en las abejas que estuvieron en exposición cercana a zonas agrícolas y que fueron enviadas al análisis de laboratorio.

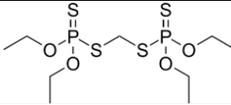
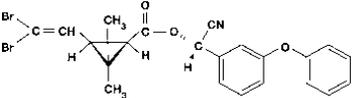
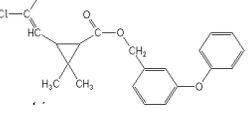
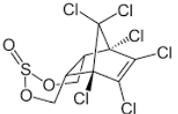
Cuadro 7. Comparación de dosis letales. SITIO 1. Canatlán y Nuevo Ideal (** valores altos de muestras de abejas)

Grupo toxicológico y componente e ingrediente activo.	FORMULA Y ESTRUCTURA		Concentración encontrada $\mu\text{g}/\text{kg}$	Dosis calculada en abejas $\mu\text{g}/\text{abeja}$	DL50 de la literatura en $\mu\text{g}/\text{kg}$	Fuente
CARBAMATOS						
Carbaril	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}_2$		500	0.075	0,76	OIE (World Organization for Animal Health)
Carbofurano	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$		385	0.057**	0.036	OIE (World Organization for Animal Health)
Metomilo	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$		323	0.048	0.23	OIE (World Organization for Animal Health)
ORGANOFOSFORADOS						
Malatión	$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{PS}_2$		478	0.071	0.27	Orantes-Bermejo <i>et al.</i> , 2010
Paratión	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_5\text{P}$ S		690	0.103	0.17	Orantes-Bermejo <i>et al.</i> , 2010

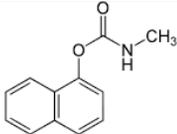
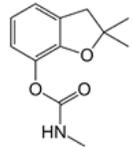
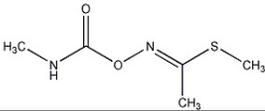
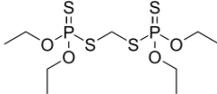
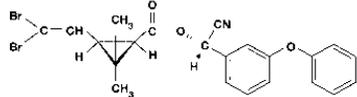
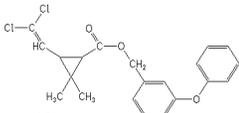
Etión	$C_9H_{22}O_4P_2S_4$		700	0.105	0.10	Orantes-Bermejo <i>et al.</i> , 2010
Fosmet	$C_{11}H_{12}NO_4P$ S_2		169	0.025	0.22	Orantes-Bermejo <i>et al.</i> , 2010
PIRETROIDES						
Deltametrina	$C_{22}H_{19}Br_2NO$ 3		601	0.090**	0.012	Baptista, A. et al., 2009
Permetrina	$C_{21}H_{20}Cl_2O_3$		385	0.057**	0.029	Baptista, A. et al., 2009

Cuadro 8. Comparación de dosis letales. SITIO 2. Durango (** valores altos de muestras de abejas)

Grupo toxicológico y componente e ingrediente activo.	FORMULA Y ESTRUCTURA		Concentración encontrada $\mu\text{g}/\text{kg}$	Dosis equivalente en abejas $\mu\text{g}/\text{kg}$	DL ₅₀ de la literatura en $\mu\text{g}/\text{kg}$	Fuente
CARBAMATOS						
Carbaril	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}_2$		300	0.045	0.76	OIE (World Organization for Animal Health)
Carbofurano	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$		385	0.057**	0.036	OIE (World Organization for Animal Health)
ORGANOFOSFORADOS						
Malatión	$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{PS}_2$		450	0.067	0.27	Orantes-Bermejo <i>et al.</i> , 2010
Paratión	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_5\text{PS}$		520	0.078	0.17	Orantes-Bermejo <i>et al.</i> , 2010

Etión	$C_9H_{22}O_4P_2S_4$		650	0.097	0.1	
PIRETROIDES						
Deltametrina	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$		917	0.137**	0.012	Baptista, A. <i>et al.</i> , 2009
Permetrina	$C_{21}H_{20}Cl_2O_3$		580	0.087**	0.029	Baptista, A. <i>et al.</i> , 2009
ORGANOCOLORADOS						
Endosulfan			506	0.075	0.78	Jamil, 2005

Cuadro 9. Comparación de dosis letales. SITIO 3. Nombre de Dios y Poanas (** valores altos de muestras de abejas)

Grupo toxicológico y componente e ingrediente activo.	FORMULA Y ESTRUCTURA		Concentración encontrada $\mu\text{g}/\text{kg}$	Dosis equivalente en abejas. $\mu\text{g}/\text{kg}$	DL50 de la literatura en $\mu\text{g}/\text{kg}$	Fuente
CARBAMATOS						
Carbaril	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}_2$		203	0.030	0.76	OIE (World Organization for Animal Health)
Carbofurano	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$		590	0.088**	0.036	OIE (World Organization for Animal Health)
Metomilo	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$		799	0.119	0.23	OIE (World Organization for Animal Health)
ORGANOFOSFORADOS						
Etión	$\text{C}_9\text{H}_{22}\text{O}_4\text{P}_2\text{S}_4$		412	0.061	0.10	Baptista, A. <i>et al.</i> , 2009
PIRETROIDES						
Deltametrina	$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{Br}_2\text{NO}_3$		596	0.089**	0.012	Baptista, A. <i>et al.</i> , 2009.
Permetrina	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{O}_3$		569	0.085**	0.029	Baptista, A. <i>et al.</i> , 2009

De los resultados de las muestras de agroquímicos una vez hecha la equivalencia de la dosis calculada en $\mu\text{g}/\text{abeja}$, contra los valores disponibles en la literatura se puede observar que para los tres sitios de muestreo de abejas (sitio 1: Canatlán y Nuevo Ideal, sitio 2: Durango, sitio 3 Nombre de Dios y Poanas), se encontró que para el grupo toxicológico de los carbamatos el carbofurano presentó un valor más alto que el disponible en la literatura; similar situación se observó para los piretroides (deltametrina y permetrina), lo cual significa que se está realizando un abuso excesivo de este grupo de productos, el cual se debe realizar un manejo racional, pues a pesar de ser un excelente grupo de productos para el control de plagas de cultivos agrícolas (Lagunes-Tejeda y Villanueva, 1994), tal parece que hay un uso indiscriminado de este grupo de productos. Dentro de los grupos toxicológico de organofosforados y organoclorados a pesar de ser productos de edad más antigua en su desarrollo e implementación en los programas de control de plagas los valores equivalentes encontrados no se encuentran de manera elevada a los valores de DL_{50} de la literatura consultada; sin embargo, no se descartan posibles efectos subletales de los agroquímicos de manera conjunta con la asociación o presencia simultánea de los patógenos señalados en el presente trabajo.

Los niveles publicados de imidacloprid y otros agroquímicos de diferentes grupos toxicológicos que expresan toxicidad aguda y crónica en las abejas son variables y contradictorios (Nguyen et al., 2009) y no se encontraron presentes en las muestras de abejas tomadas de apiarios en el estado de Durango.

La diferencia en los productos químicos encontrados se debe a los tipos de cultivos que se encuentran en cada una de las regiones muestreadas, cabe mencionar que las muestras de abejas que se tomaron fueron las indicadas por los apicultores como algunas de las que habían presentado decesos en los días próximos a la toma de la muestra, los productores mencionaron casos de mortandad que variaron de un 50 a 100% de muertes de abejas en las colmenas.

Cabe señalar que en el sitio 1, Canatlán y Nuevo ideal, se siembra principalmente manzana y forrajes y frijol, por su parte, en el sitio 2, Durango y Nombre de Dios, se siembra principalmente maíz y frijol, mientras que en el sitio 3, Poanas, se siembra principalmente maíz, frijol y algunas variedades de chile.

En los tres sitios predominan los riegos de temporal, y en los últimos 6 años se ha incrementado un 5% anual la introducción de cultivos de riego. Estas áreas se caracterizan además por el empleo de diversos productos para el control de plagas y enfermedades en sus cultivos que son autorizados por CICOPLAFEST; sin embargo, durante las revisiones en campo se pudo observar el uso de plaguicidas no autorizados y el mal manejo de sus contenedores, lo que fue constatado posteriormente por el análisis en laboratorio. De acuerdo a las encuestas y al paquete tecnológico para la siembra de los principales cultivos cercanos a apiarios, se determinó la posible exposición de las colmenas a piretroides, carbamatos y organoclorados.

Se observó un mal manejo de plaguicidas, los agricultores de un 70% de los sitios muestreados no se encuentran debidamente informados acerca de los insumos que utilizan y no les dan el seguimiento adecuado, lo que ocasiona que las abejas cercanas estén expuestas a estos compuestos y muera un porcentaje significativo de la colmena en cada aplicación de agroquímicos.

A continuación, se presentan los criterios de toxicidad según la OMS.

Cuadro 10. Criterios de Toxicidad de insecticidas para abejas según la OMS.

LD₅₀ (mg/abeja)	TOXICIDAD PARA ABEJAS
> 11	BAJA
2 a 11	MODERADA
<2	ATA
<1	EXTREMADAMENTE ALTA

Los datos obtenidos de los agroquímicos presentes en las muestras de abejas enviadas a analizar no concuerdan con los datos obtenidos en las encuestas, en

las que se preguntó acerca de los agroquímicos de los cuales los apicultores tenían conocimiento de aplicación en los cultivos que se encontraban aledaños a sus apiarios, asimismo los resultados coinciden con los agroquímicos referenciados en los diferentes paquetes tecnológicos de SAGARPA para cultivos de frijol, avena, maíz y manzana, dichos cultivos son los que se encuentran cercanos a los apiarios muestreados.

Además, aunque no se detectaron el laboratorio, en las visitas a los apiarios y zonas aledañas se verificó que los agricultores aledaños a los apiarios no hacen un buen manejo de plaguicidas y utilizan indiscriminadamente algunos con ingredientes activos con una toxicidad alta para artrópodos en general.

VIII. CONCLUSIONES

De acuerdo con la hipótesis planteada y en función de los resultados obtenidos podemos concluir los siguientes puntos:

8.1 Aspectos sociales.

1. Las inconformidades de los apicultores referentes al apoyo gubernamental (al cual consideran lento e insuficiente) tanto económico como en capacitaciones, generan que la apicultura sea en Durango la segunda o hasta tercera fuente de ingresos, y que haya una gran cantidad de deserción, lo que conlleva a que no se muestre interés en la mejora continua en la actividad, agravando así todo tipo de problemática existente y disminuyendo la capacidad de organización y establecimiento de organizaciones apícolas prosperas que promuevan el uso correcto de los MBPP.
2. El nivel de estudios general de los apicultores y la propagación de la apicultura en Durango mayoritariamente como segunda actividad económica contribuyen a que no se lleven a cabo las Buenas Prácticas de Producción y que no se investigue acerca de manuales apícolas que contribuyan a la mejora de la actividad, lo que hace que estas variables incidan de forma negativa sobre la productividad y competitividad.
3. Actualmente, el estado de Durango se encuentra entre los últimos lugares de producción de miel en el país, con una participación del 1.8% de la producción nacional según SAGARPA; sin embargo, su potencial en apicultura es bastante amplio y poco explotado.
4. En las regiones sur y sureste del estado, los apicultores son en su mayoría de edad avanzada, con poca escolaridad, hay una participación de la mujer del 18% del total de los apicultores en las zonas muestreadas.
5. La miel es distribuida principalmente en el mercado local y nacional solo por los productores más grandes de la región.

6. Dentro de las buenas prácticas de producción, los productores con pocas colmenas no las siguen o inclusive no las conocen completamente, no siguen manuales y las condiciones de sus apiarios se ven deterioradas.

8.2 Parasitosis

1. El ácaro *V. destructor* es una de las principales causas de mortandad en el estado de Durango si no se médica a tiempo la colmena, y aunque no se encontraron otros parásitos, no se descarta su presencia en otras temporadas del año o que pueda ser detectada con otro método de laboratorio más preciso.
2. Se encontró mediante detección molecular, que el tipo de nosemosis presente en las colmenas es *N. ceranae*, lo cual no había sido determinado anteriormente y se tenía la idea de que solo existían infestaciones por *N. apis*.
3. Durante la época de invierno aumentó el número de colmenas infestadas por ácaros, esto debido a la cercanía que tienen las abejas para guardar la temperatura adecuada para la colmena.

8.3 Presencia de Agroquímicos

1. El uso indiscriminado e incorrecto de agroquímicos, el mal manejo de los envases después de la aplicación y la falta de comunicación entre apicultores y agricultores ocasionan decesos masivos en algunas regiones, los cuales podrían ser perfectamente evitados.
2. No se encontró uso de neonicotinoides.
3. Se encontró el uso de agroquímicos que han sido descontinuados en otros países, pero, debido a su bajo costo son aún utilizados en países en desarrollo como México, en este caso en el estado de Durango.
4. Se determinó que los grupos de abejas muertas que fueron analizadas por sospechas de muerte por algún agroquímico, si contenían residuos de una o más sustancias nocivas, las cuales guardan relación con el tipo de cultivo que se encuentra alrededor y los agroquímicos usados para éstos.

5. Durante el invierno hay menos posturas de nuevas abejas y disminuyen más las abejas adultas. En primavera hay colapso relacionado con insecticidas que no se extiende hasta la tercera temporada, esto se puede asociar con el almacenamiento y persistencia de algunos agroquímicos contenidos en el polen, el cual es guardado como reserva y consumido algunos meses después.
6. La combinación de toxicidad y exposición al producto puede hacer variar el nivel de mortandad para cada colonia.
7. Con la actividad de renta de colmenas para polinizar, aumentan las muertes por plaguicidas debido a la exposición de éstas a agroquímicos.
8. El presente trabajo debe ser tomado como un estudio base o preliminar sobre la problemática apícola en las regiones de mayor importancia en el Estado de Durango. Con la presente tesis se busca obtener información sobre los tipos de pesticidas que se usan y su respectiva toxicidad para que pueda ser utilizado como herramienta de monitoreo ambiental. A pesar de que existen normativas que regulan las fumigaciones terrestres existen fallas en su aplicación e inclusive desconocimiento por la mayoría de los agricultores sobre las mismas. La industria de los agroquímicos se encuentra en constante avance, y es por esto por lo que es necesario el monitoreo de pesticidas año tras año para un manejo adecuado de una región determinada en estudio. Para esto es necesario la coordinación entre los gobiernos locales, investigadores y el compromiso de los agricultores.

IX. RECOMENDACIONES

1. Es deseable que los productores apícolas se sigan capacitando y reciban asesoría, por parte de técnicos de distintas dependencias del sector agropecuario, para la mejora de su proceso productivo y en el control de plagas y enfermedades con los métodos más amigables con el ambiente y sin contaminar los productos apícolas.
2. Establecer un procedimiento adecuado de diagnóstico para detectar la presencia y tipo de parásitos (tanto por observación directa como por herramientas moleculares).
3. Mejorar la comunicación entre apicultores y agricultores para prevenir la muerte por un uso inadecuado o indiscriminado de agroquímicos cerca de las zonas apícolas y movimientos de éstas para polinizar cultivos agrícolas.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Abad A., Pascual M., y Gallego C. (2015). *Diagnóstico de patógenos de abejas y su importancia en el colapso o declive de colonias*. Asociación Española de Apicultores. Universidad de Salamanca, España.
- Albo G. y Reynaldi F. (2010). *Ascosphaera apis, agente etiológico de la cría yesificada de las abejas*. Revista argentina de microbiología. 42(1): 5-16.
- Alejos E. (2010). *Identification of the Toll-4 receptor as a candidate gene in the critical region*. Blood Cells, Molecules, and Diseases, 24(3), 340-355.
- Aranguren-Méndez, Román-Bravo J., Isea R., Villasmil W., y Jordana Y. (2005). *Microsatellites (STR's), ADN Molecular Markers for Excellency for conservation programs: A review*. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 13(1), 30-42.
- Arechavaleta V., (2015). *Años de crisis*. Notiabeja. SAGARPA 2: 3-8
- Baptista A., Carvalho G., Carvalho S., Carvalho, C., y De Souza B. (2009). *Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para Apis mellifera*. Ciência Rural, 39(4), 955-961.
- Bohmont, B. (1990). *The standard pesticide user's guide*. Regents/Prentice Hall.
- Boot R., Van Knapen F., Kruijt B. y Walvoort H. (1988). *Serological evidence for Encephalitozoon cuniculi infection (nosemiasis) in gnotobiotic guineapigs*. Laboratory Animals, 22(4), 337-342.
- Budge G., Barrett B., Jones B., Pietravalle S., Marris G., Chantawannakul P., y Brown M. (2010). *The occurrence of Melissococcus plutonius in healthy colonies of Apis mellifera and the efficacy of European foulbrood control measures*. Journal of invertebrate pathology, 105(2), 164-170.
- Chaves G., Cubero M., Cordero J., Vicente-Rubiano., Kukielka D., León B. y Sánchez-Vizcaíno. (2016). *Diagnosis of Black Queen Cell Virus, Deformed Wing Virus and Acute Bee Paralysis Virus in symptomatic African honey bees (Apis mellifera scutellata) of Costa Rica using RT-PCR in real time*. Ciencias Veterinarias 34(1): 24-28.

- COLOSS (Prevention of honey bee Colony Losses). (2016). *Registro de pérdidas de colonias durante el 2014-15 invierno*.
- Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas y Sustancias Tóxicas, CICOPLAFEST (1993). México.
- Contreras-Escañero F., Pérez A., Echazarreta C., Cavazos A., Macías M. y Tapia G. (2014). *Características y situación actual de la apicultura en las regiones sur y sureste de Jalisco, México*. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 4(3): 387-398.
- Corley J. (2003). *Best practices in establishing detection and quantification limits for pesticide residues in foods*. North Brunswick, The State University of New Jersey.
- Díaz M. (2015). *Efecto de seis plaguicidas sobre mortalidad en dos especies de abejas: Apis mellifera y Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae).
- Elzen P., Baxter J., Westervelt D., Randall C., Delaplane, K., Cutts L., y Wilson W. (1999). *Field control and biology studies of a new pest species, Aethina tumida Murray* (Coleoptera, Nitidulidae), attacking European honey bees in the Western Hemisphere. *Apidologie*, 30(5), 361-366.
- Espinosa-Montaña L., Guzmán-Novoa E., Sánchez-Albarrán A. y Correa-Benítez A. (2006). *Comparative study of three assays to evaluate hygienic behavior in honey bee (Apis mellifera L.) colonies*. *Veterinaria México* 39(1), 39-54.
- European Food Safety Authority (EFSA). *Neonicotinoids: risks to bees confirmed* (2014).
- Formato G. y Ferrari C. (2007). *La Peste Americana. In: Aspetti igienico-sanitari in apicoltura*. Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana "M. Aleandri". Italy.
- Forsgren E., Lundhagen A., Imdorf A., y Fries I. (2005). *Distribution of Melissococcus plutonius in honeybee colonies with and without symptoms of European foulbrood*. *Microbial Ecology* 50(3), 369-374.
- Furgala B., Duff S., Aboulfaraj S., Ragsdale D., y Hyser R. (1989). *Some effects of the honey bee tracheal mite (Acarapis woodi Rennie) on non-migratory,*

- wintering honey bee (Apis mellifera L.) colonies in east central Minnesota*. American bee journal (USA).
- Gilliam M., Taber III S., Lorenz B. y Prest D. (1988). *Factors affecting development of chalkbrood disease in colonies of honey bees, Apis mellifera, fed pollen contaminated with Ascospaera apis*. Journal of Invertebrate Pathology 52(2): 314-325.
- González-Acereto J., Quezada-Euán y Medina-Medina L. (2006). *New Perspectives for Stingless Beekeeping in the Yucatan: Results of an Integral Program to Rescue and Promote the Activity*. Journal of Apicultural Research 45 (3): 234–239.
- Güemes-Ricalde F. y Pat-Fernández J. M. (2004). *Problemática actual de la apicultura en el estado de Campeche*. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias.
- Guzmán N. (2007). *Paternal effects on the defensive behavior of honeybees*. Journal of Heredity 96 (4): 376-380.
- Guzmán N. (2012). *Entomopathogenic fungi as potential bio-control agents of the ecto-parasitic mite Varroa destructor, and their effect on the immune response of honey bees*. Journal of Invertebrate Pathology 111: 237-243.
- Guzmán N. (2015). *Honey bee colony losses in Canada*. Journal of Apicultural Research 49(1): 104-106.
- Hamiduzzaman, M. (2012). *Entomopathogenic fungi as potential biocontrol agents of the ecto-parasitic mite, Varroa destructor, and their effect on the immune response of honey bees (Apis mellifera L.)*. Journal of Invertebrate Pathology, 111(3): 237-243.
- Hanson P. (2004). *Abejas de orquídeas de la América tropical: Biología y guía de campo*. Editorial INBio.
- Higes M., Martín R., y Meana A. (2006). *Nosema ceranae, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe*. Journal of Invertebrate Pathology 92(2): 93-95.
- Hood W. (2004). *The small hive beetle, Aethina tumida: a review*. Bee world 85(3): 51-59.

- Hunt G., Tsuruda J., Harris J., Bourgeois L. y Danka R. (2015). *High-resolution linkage analyses to identify genes that influence Varroa sensitive hygiene behavior in honey bees*. PLoS One 7 (11).
- Jiménez D. y Cure J. (2016). *Efecto letal agudo de los insecticidas en formulación comercial imidacloprid, spinosad y thiocyclam hidrogenoxalato en obreras de Bombus atratus (Hymenoptera: Apidae)*. Revista de Biología Tropical 64(4): 1737-1746.
- Kauhausen-Keller D., Ruttner F., y Keller R. (1997). *Morphometric studies on the microtaxonomy of the species Apis mellifera L.* Apidologie 28(5): 295-307.
- Kim-Kaplan J. (2008). *Síndrome de colapso en las colonias apíferas*. Veterinaria argentina (Argentina). 25(248): 597-600.
- Krupke C., Hunt G., Eitzer B., Andino G., y Given K. (2012). *Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields*. Plos one 7(1).
- Lagunes-Tejeda A. y Villanueva J. (1994). *Toxicología y manejo de insecticidas*. Colegio de Posgraduados. México, Montecillo, Texcoco, México. (264)1.
- Levin M. (1986). *Using honey bees to pollinate crops*. U. S. Dept. Agric., Agr. Res Serv. and Estn. Serv. Leaflet. (574)1.
- Magaña M. y Leyva M. (2010). *Costs and profitability of beekeeping production process in Mexico*. Revista Contaduría y Administración UNAM.
- Magaña M., Tavera C., Salazar B., y Sanginés G. (2016). *Productividad de la apicultura en México y su impacto sobre la rentabilidad*. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 7(5): 1103-1115.
- Martin S., Ball B., y Carreck, N. (2010). *Prevalence and persistence of deformed wing virus (DWV) in untreated or acaricide-treated Varroa destructor infested honey bee (Apis mellifera) colonies*. Journal of Apicultural Research 49(1), 72-79.
- Martínez P., Medina M., y Catzín V. (2011). *Frecuencia de Varroa destructor, Nosema apis y Acarapis woodi en colonias manejadas y enjambres silvestres de abejas (Apis mellifera) en Mérida, Yucatán, México*. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias 2(1); 25-38.

- Martínez U. (2004). *Evaluación de la inseminación instrumental como técnica para la selección genética de abejas Apis mellifera L. en base al comportamiento higiénico*. Tesis. Ingeniero Agrónomo. Universidad Católica de Chile.
- Michalczyk M., Soñó R., Szczerba-Turek A., y Bancercz-Kisiel A. (2011). *A comparison of the effectiveness of the microscopic method and the multiplex PCR method in identifying and discriminating the species of Nosema spp. spores in worker bees (Apis mellifera) from winter hive debris*. Polish Journal of Veterinary Sciences 14(3): 385-391.
- Morse R. (1993). *Cell orientation and comb strength in honeybees in Southeast Asia*. Bee world 48: 19-29.
- Neumann P. y Elzen P. (2004). *The biology of the small hive beetle (Aethina tumida, Coleoptera: Nitidulidae): Gaps in our knowledge of an invasive species*. Apidologie 35(3): 229-247.
- Nguyen Van Thu et al., 2009. International Conference on Livestock, *Climate Change and the Environment*, An Giang University, Vietnam, p. 16-18
- Orantes-Bermejo F., Pajuelo A., Megías y Fernández-Piñar C. (2010). *Pesticide residues in beeswax and beebread samples collected from honey bee colonies (Apis mellifera L.) in Spain. Possible implications for bee losses*. Journal of Apicultural Research 49(3): 243-250.
- Pérez, S. G. (1992). *Desarrollo de la apicultura y posible impacto de la abeja africana en el estado de Durango*. Tesis Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Pettis J., Johnson J., y Dively G. (2012). *Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen Nosema*. Naturwissenschaften 99(2): 153-158.
- Pietropaoli M., y Formato G. (2017). *Liquid formic acid 60% to control varroa mites (Varroa destructor) in honey bee colonies (Apis mellifera): protocol evaluation*. Journal of Apicultural Research, 1-8.
- Quezada-Euán, J. J. y Ayala-Barajas, R. (2010). *Abejas nativas de México. La importancia de su conservación*. Revista Ciencia y Desarrollo. 36 (247): 8-13.

- Rivera-Gomis J., Gregoric A., Ponti A., Artese F., Zowitsky G., y Formato, G. (2016). *Monitoring of Small Hive Beetle (Aethina tumida Murray) in Calabria (Italy) from 2014 to 2016: Practical Identification Methods*. Journal of Apicultural Science, 61(2): 257-262.
- Rosenkranz P., Aumeier P., and Ziegelmann B. (2010). *Biology and control of Varroa destructor*. Journal of Invertebrate Pathology, 103(2010), 96-119.
- Roubik, D. (2003). *Stingless bee nesting biology*. Apidologie 37(2): 124-143.
- Roubik, D. y Hanson J. (2004). *Abejas de orquídeas de la América tropical: Biología y guía de campo*.
- Ruttner, F. (1986). *Geographical variability and classification*. Bee genetics and breeding, 23-56.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2016). Coordinación General de Ganadería. *Manual de Patología Apícola*. SAGARPA, México.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2011). *Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta*. Base de datos de la actividad agrícola, pecuaria y pesquera. México.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2010). Coordinación General de Ganadería. *Situación actual y perspectiva de la apicultura en México*. Claridades Agropecuarias 199: 3-34.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2006). Fomento y desarrollo apícola del estado de Durango. PNPCAA.
- Shimanuki H., y Knox, D. (1991). *Diagnosis of honey bee diseases*. (690).
- Tasei, J. (2002). Impact of agrochemicals on non-Apis bees. *Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals*, 101-131.
- United States Department of Agriculture. National Agricultural Statistics Service (USDA-NASS) (2017). *Comparing Geographic Information System (GIS) Calculated Acreage to Farmer Reported Acreage Utilizing a Mobile Mapping Instrument*.

- Van der Zee, R., Pisa L., Andonov S., Brodschneider R., Charrière J., Chlebo R. and Gray, A. (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(1): 100-114.
- Williamson S., and Wright G. (2015). *Exposure to multiple cholinergic pesticides impairs olfactory learning and memory in honeybees*. Journal of Experimental Biology 216(10), 1799-1807.
- World Organization for Animal Health (OIE). 2016. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres.
- World Organization for Animal Health (OIE). 2004. Código Sanitario para los Animales Terrestres.
- Yue C. and Genersch E. (2005). *RT-PCR analysis of deformed wing virus in honeybees (Apis mellifera) and mites (Varroa destructor)*. Journal of General Virology 86(12): 3419-3424.