



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL**

**EFFECTOS LETALES Y SUBLETALES DE INSECTICIDAS
NEUROTÓXICOS EN ABEJAS SIN AGUIJÓN**

TESIS

Que presenta:

Cristian de Jesús Góngora Gamboa

Como requisito parcial para obtener el grado de:

Doctor en Ciencias en Agricultura Tropical Sustentable

Director de tesis:

Dr. Esaú Ruiz Sánchez

Conkal, Yucatán, México

Septiembre, 2025



TecNM



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Conkal
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Conkal, Yucatán, México, a 10 de septiembre de 2025

El comité de tesis del candidato a grado: Cristian de Jesús Góngora Gamboa, constituido por los CC. Dr. Esaú Ruiz Sánchez, Dr. Roberto Zamora Bustillos, Dr. Horacio Ballina Gómez, Dr. Emanuel Hernández Núñez, Dr. Mario Alberto Martínez Núñez, habiéndose reunido con el fin de evaluar el contenido teórico-metodológico y de verificar la estructura y formato de la tesis titulada: EFECTOS LETALES Y SUBLETALES DE INSECTICIDAS NEUROTÓXICOS EN ABEJAS SIN AGUIJÓN, que presenta como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Agricultura Tropical Sustentable según lo establece el Capítulo 2, inciso 2.13.3, de los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Sistema Nacional de Institutos Tecnológicos, dictaminaron su aprobación para que pueda ser presentada en el examen de grado correspondiente.

ATENTAMENTE

Dr. Esaú Ruiz Sánchez
Director de Tesis

Dr. Roberto Zamora Bustillos
Asesor de Tesis

Dr. Horacio Ballina Gómez
Asesor de Tesis

Dr. Emanuel Hernández Núñez
Asesor de Tesis

Dr. Mario Alberto Martínez Núñez
Asesor de Tesis



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Conkal
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Conkal, Yucatán, México a 10 de septiembre de 2025

DECLARATORIA DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en las secciones de materiales y métodos, resultados y discusión de este documento, es producto del trabajo de investigación realizado durante mi estudio de posgrado y con base en los términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial le pertenece patrimonialmente al Instituto Tecnológico de Conkal. En virtud de lo manifestado reconozco que los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que se deriven de lo correspondiente a dicha información son propiedad de la citada institución educativa.

Cristian de Jesús Góngora Gamboa

AGRADECIMIENTOS

Al **Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Conkal** y a la **División de Estudios de Posgrados e Investigación (DEPI)**, por la oportunidad brindada para realizar los estudios de doctorado.

A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)**, por la beca otorgada para la realización del doctorado.

Al **Dr. Esaú Ruiz Sánchez** por darme la oportunidad de realizar este proyecto y trabajar en su equipo de investigación. Soy afortunado de haber tenido su apoyo y dedicación para dirigir este trabajo de tesis, además de su confianza depositada en mí para desarrollar diversas actividades.

A mis asesores el **Dr. Horacio Ballina Gómez, Dr. Roberto Zamora Bustillos, Dr. Emanuel Hernández Núñez** y **Dr. Mario Alberto Martínez Núñez** ya sea por su aportación como profesores o por su colaboración como revisores de esta tesis.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	v
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Introducción.....	1
1.2 Antecedentes	3
1.2.1 Importancia de las abejas sin aguijón.....	3
1.2.2 Insecticidas neurotóxicos: principales compuestos utilizados en la agricultura para el control de plagas.....	5
1.2.3 Rutas de exposición de las abejas a los insecticidas.....	7
1.2.4 Efectos letales de insecticidas en abejas sin aguijón.....	8
1.2.5 Efectos subletales de insecticidas en la locomoción de las abejas sin aguijón	10
1.3 Hipótesis.....	12
1.4. Objetivos	12
1.4.1 Objetivo general	12
1.4.2 Objetivos específicos.....	12
1.5 Procedimiento experimental.....	13
1.6 Literatura citada.....	14
II. CAPÍTULO 2. LETHAL AND SUBLETHAL EFFECTS OF FLUPYRADIFURONE AND CYANTRANILIPROLE ON TWO NEOTROPICAL STINGLESS BEE SPECIES	20
2.1 ABSTRACT.....	20
III. CAPÍTULO 3. EFFECTS OF TWO CHORDOTONAL-ORGAN-TARGETING INSECTICIDES ON SURVIVAL AND LOCOMOTION OF <i>Melipona beecheii</i> AND <i>Nannotrigona perilampoides</i> (APIDAE: MELIPONINI).....	21
3.1 ABSTRACT.....	21
IV. DISCUSIÓN GENERAL	22
4.1 Referencias	23
V. CONCLUSIONES GENERALES	24

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

CAPÍTULO 1

Cuadro 1.1	Principales grupos de insecticidas utilizados para el control de plagas.	6
Cuadro 1.2	Efectos subletales en la locomoción de insecticidas neurotóxicos en abejas sin aguijón.	11
Figura 1.1	Rutas de exposición de las abejas sin aguijón a insecticidas neurotóxicos. Abejas de diferentes especies, sexos, edades y castas pueden estar expuestas directa o indirectamente a insecticidas aislados o combinados. Las abejas voladoras (pecoreadoras, machos y abejas reinas vírgenes) pueden estar expuestas tópicamente a la pulverización de insecticidas mientras buscan alimento o se aparean. La exposición por contacto-residual u oral puede ocurrir durante la búsqueda de alimento o cuando se trasladan recursos contaminados a las colonias. El contacto y la asignación de alimentos entre compañeros de nido (trofalaxis, provisión de alimento para larvas e ingestión de alimentos) o entre no compañeros de nido (cópula o defensa) puede resultar en contaminación cruzada entre individuos y colonias	8
Figura 1.2	Distribución de insecticidas neurotóxicos evaluados en abejas sin aguijón (Meliponini), clasificados por clase química (círculo interior) e ingrediente activo (círculo exterior). Los porcentajes representan la cantidad de veces que una grupo o ingrediente activo ha sido medido, independientemente de si proviene del mismo estudio o diferentes rutas de exposición.	9
Figura 1.3	Evaluaciones toxicológicas de insecticidas neurotóxicos en especies de abejas sin aguijón (Meliponini). Frecuencia con la que cada especie de abeja sin aguijón ha sido evaluada en estudios toxicológicos letales (DL ₅₀ , CL ₅₀ , % de mortalidad o % de supervivencia). Los valores representan la cantidad de veces que una especie ha sido medida, independientemente de si proviene del mismo estudio o diferentes rutas de exposición	10
Figura 1.4	Categorías de efectos subletales de abejas sin aguijón expuestas a insecticidas con énfasis en las subcategorías de actividad y bioquímico.	11
Figura 1.5	Estrategia experimental planteada para el desarrollo del presente trabajo.	13

RESUMEN

Las abejas sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) son polinizadores clave en ecosistemas tropicales y cultivos de alto valor económico. Sin embargo, el uso intensivo de insecticidas neurotóxicos amenaza sus poblaciones, y existe poca información sobre su susceptibilidad a estos insecticidas, a diferencia de lo que ocurre con la abeja melífera (*Apis mellifera*). El objetivo de esta tesis fue evaluar los efectos letales y subletales de cuatro insecticidas neurotóxicos: flupiradifurona (modulador del receptor nicotínico de la acetilcolina), ciantraniliprol (modulador de receptores de rianodina), pimetrozina y flonicamid (ambos moduladores de órganos cordotonales) sobre dos especies de abejas sin aguijón, *Melipona beecheii* y *Nannotrigona perilampoides*. Se realizaron bioensayos de laboratorio por exposición oral y contacto residual para determinar concentraciones letales medias, tiempos letales medios y efectos subletales sobre la velocidad de caminata y el despegue de vuelo. Los resultados mostraron que *M. beecheii* fue consistentemente más sensible que *N. perilampoides*, independientemente del insecticida o la vía de exposición, lo que sugiere que la susceptibilidad está asociada a factores fisiológicos y genéticos más que al tamaño corporal. Entre los insecticidas, flupiradifurona presentó la mayor toxicidad y rapidez de acción, seguida de pimetrozina, mientras que ciantraniliprol y flonicamid mostraron menor toxicidad relativa. La exposición oral fue más perjudicial que el contacto residual. Todos los compuestos redujeron significativamente la locomoción y capacidad de vuelo, lo que podría afectar la eficiencia de pecoreo. En conclusión, los insecticidas evaluados representan un riesgo potencial para ambas especies, incluso a concentraciones iguales o inferiores a las recomendadas en campo. Estos hallazgos destacan la necesidad de incluir a las abejas sin aguijón en las evaluaciones de riesgo y de promover prácticas de manejo integrado de plagas que reduzcan su exposición, a fin de preservar su función ecológica y su contribución a la producción agrícola.

ABSTRACT

Stingless bees (Hymenoptera: Meliponini) are key pollinators in tropical ecosystems and high-value crops, yet their populations are increasingly threatened by the widespread use of neurotoxic insecticides. Compared with the honey bee (*Apis mellifera*), information on their susceptibility to these compounds remains scarce. This thesis aimed to assess both lethal and sublethal effects of four neurotoxic insecticides-flupyradifurone (nicotinic acetylcholine receptor modulator), cyantraniliprole (ryanodine receptor modulator), and the feeding inhibitors pymetrozine and flonicamid (modulators of chordotonal organs)-on two stingless bee species, *Melipona beecheii* and *Nannotrigona perilampoides*. Laboratory bioassays using oral and residual contact exposure were conducted to estimate median lethal concentrations, median lethal times, and sublethal outcomes on walking speed and flight take-off activity. Results showed that *M. beecheii* was consistently more sensitive than *N. perilampoides*, regardless of the insecticide or exposure route, suggesting that interspecific differences in susceptibility are linked to physiological or genetic traits rather than body size. Among the insecticides tested, flupyradifurone exhibited the highest toxicity and fastest action, followed by pymetrozine, while cyantraniliprole and flonicamid were comparatively less toxic. Oral exposure was generally more detrimental than residual contact. All compounds significantly impaired locomotion and flight take-off activity, potentially compromising foraging efficiency. Overall, these findings indicate that the insecticides evaluated pose a potential hazard to stingless bees, even at concentrations equal to or below those recommended for field application. This underscores the importance of incorporating stingless bees into pesticide risk assessments and promoting integrated pest management strategies that minimize pollinator exposure, thereby safeguarding their ecological role and contribution to agricultural productivity.

I. CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Introducción

La tribu Meliponini (Hymenoptera: Apidae) es el grupo más diverso de abejas eusociales, con 605 especies descritas pertenecientes a 45 géneros (Grüter, 2020; Engel *et al.*, 2023). Estas abejas se encuentran principalmente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, con la mayor diversidad en la región Neotropical, que alberga 474 especies (78.3%). Seguido de la región Indomalaya y Australasia con 98 especies (16.2%) y la región Afrotropical con 33 especies (5.5%) (Engel *et al.*, 2023). A diferencia de otras abejas, las especies de Meliponini carecen de aguijón funcional debido a la reducción de los escleritos asociados con el complejo del aguijón, lo que les ha valido el nombre común de "abejas sin aguijón" (Engel *et al.*, 2023). Estas abejas desempeñan un papel fundamental al contribuir a la reproducción de numerosas especies de plantas, incluidos muchos cultivos económicamente importantes como el cacao, café y frutos (Cham *et al.*, 2018; Quezada-Euán, 2018; Grüter, 2020). Además, las abejas sin aguijón tienen importancia cultural y económica para muchas comunidades rurales, donde se crían y manejan por su miel, polen y propóleo con fines alimentarios y de salud (Quezada-Euán, 2018).

Al igual que otras abejas, las abejas sin aguijón enfrentan diversas amenazas derivadas de actividades humanas que impactan negativamente en su entorno. Estas amenazas incluyen la deforestación (Brosi, 2009; Mayes *et al.*, 2019), la fragmentación del hábitat (Grüter, 2020), el cambio climático (Lima y Marchioro, 2021), así como la presencia de patógenos como virus, bacterias y hongos, junto con plagas como moscas fóridas, escarabajos, hormigas y ácaros (Lima *et al.*, 2016; Cham *et al.*, 2018).

En las últimas dos décadas, el interés por evaluar la toxicidad de los insecticidas en abejas polinizadoras ha crecido de manera notable, impulsado por la alarmante disminución de sus poblaciones (Bernardes *et al.*, 2022). Aunque las abejas sin aguijón han sido consideradas en estas evaluaciones, solo representan el 7.84% de los estudios realizados, en comparación con el 79.7% dedicado a las abejas melíferas (*Apis mellifera*) (Bernardes *et al.*, 2022). La exposición a insecticidas puede tener efectos letales y subletales en las abejas sin aguijón. Los efectos letales resultan en la muerte directa de las abejas expuestas. Los efectos subletales, en cambio, no causan la muerte del individuo, pero producen efectos no letales, como cambios fisiológicos, etológicos y de cognición de los individuos que sobreviven a la exposición a concentraciones subletales de insecticidas (Tosi *et al.*, 2022).

Una concentración subletal es aquella que no causa una mortalidad evidente en la población experimental (Desneux *et al.*, 2007).

Los neonicotinoides han sido la clase de insecticidas más ampliamente estudiada, debido a su relación con el síndrome del colapso de las colonias en abejas melíferas (Tosi y Nieh, 2019). No obstante, tras las restricciones y prohibiciones impuestas en diversas regiones del mundo (Mörtl *et al.*, 2020), los agricultores han recurrido a otros grupos de insecticidas neurotóxicos, entre ellos los butenólidos, las diamidas y aquellos que actúan sobre los órganos cordotonales, todos considerados de bajo impacto en organismos no blanco (Siviter y Muth, 2020). Estos compuestos se emplean principalmente para el control de insectos fitófagos chupadores de savia, que representan plagas de alta importancia económica (Sparks *et al.*, 2020).

Los insecticidas neurotóxicos, como el butenólido, flupiradifurona, la diamida, ciantraniliprol, y los compuestos que actúan sobre los órganos cordotonales (pimetrozina y flonicamid), se emplean ampliamente en cultivos hortícolas y frutales debido a su eficacia contra insectos de distintos órdenes, incluyendo Lepidoptera, Hemiptera, Thysanoptera, Hymenoptera y Coleoptera (Haas *et al.*, 2021). En México, estos productos se han incorporado como una estrategia emergente para el manejo de plagas en sustitución de los insecticidas neonicotinoides (Enciso-Cabral *et al.*, 2019; Barrón-Contreras *et al.*, 2020). En la península de Yucatán estos insecticidas se utilizan para controlar plagas como *Bemisia tabaci*, *Anthonomus eugenii*, *Aphis gossypii*, *Tetranychus urticae*, *Thrips palmi*, *Liriomyza* spp., *Spodoptera exigua*, *Heliothis zea*, y *Diaphorina citri* principalmente en cultivos de tomate, tomate de cáscara, chile, berenjena, cítricos, pepino, calabaza, sandía y melón (Montejo-Canul *et al.*, 2019; Martín-Mex *et al.*, 2020).

Actualmente, la información sobre los efectos tóxicos de la exposición a estos insecticidas neurotóxicos en abejas sin aguijón es limitada, en particular para especies como *Melipona beecheii* y *Nannotrigona perilampoides*. Ambas son fundamentales para la meliponicultura en la península de Yucatán y desempeñan un papel clave en la polinización de cultivos de importancia económica, así como de diversas plantas silvestres (Quezada-Euán, 2018). Los efectos letales de los insecticidas suelen evaluarse mediante la concentración letal media (CL₅₀), tiempo letal medio (TL₅₀), porcentajes de mortalidad o supervivencia, parámetros esenciales para comparar la toxicidad relativa entre compuestos (Desneux *et al.*, 2007). Sin embargo, la exposición subletal también puede inducir

alteraciones en el comportamiento, particularmente en la capacidad de caminar y volar (de Moraes *et al.*, 2018; Siviter y Muth 2020). Estas habilidades son críticas para la supervivencia, ya que permiten a las abejas desplazarse de manera eficiente dentro del nido o en la búsqueda y recolección de recursos florales (Ma *et al.*, 2024).

En este contexto, esa tesis plantea las siguientes preguntas:

1) ¿Cuáles son los valores de CL₅₀ y TL₅₀ de flupiradifurona y ciantraniliprol en *M. beecheii* y *N. perilampoides*? Asimismo, ¿qué efectos subletales provocan estos insecticidas en el comportamiento de caminata y vuelo?

2) ¿Cuáles son los efectos de flonicamid y pimetrozina, administrados por ingestión y por exposición residual, sobre la supervivencia y el comportamiento de caminata y vuelo de estas especies?

Por lo tanto, el objetivo de esta tesis fue evaluar los efectos letales y subletales de cuatro insecticidas sistémicos (flupiradifurona, ciantraniliprol, flonicamid y pimetrozina) en dos especies de abejas sin aguijón, *M. beecheii* y *N. perilampoides*.

1.2 Antecedentes

1.2.1 Importancia de las abejas sin aguijón

Las abejas sin aguijón pertenecen al orden Hymenoptera, familia Apidae, subfamilia Apinae, y tribu Meliponini. Constituyen el grupo más diverso de abejas eusociales, con aproximadamente 605 especies descritas en 45 géneros (Grüter, 2020; Engel *et al.*, 2023). Los meliponinos comparten características morfológicas distintivas, como el penicilium, una larga seta en la tibia posterior y una venación alar reducida (Wille, 1983). Además, presentan una corbícula en las patas traseras utilizada para el transporte de polen, rasgo compartido con otros grupos de abejas corbiculadas, como las abejas melíferas (tribu, Apini) y los abejorros (tribu, Bombini) (Michener, 2007; Grüter, 2020).

Los nidos silvestres de abejas sin aguijón se establecen comúnmente en cavidades preexistentes, como troncos o ramas de árboles, que no son excavadas por ellas sino adaptadas para su ocupación (Roubik, 2006; Rasmussen y Camargo, 2008; Grüter, 2020). Estas abejas presentan un comportamiento eusocial altamente avanzado, con colonias permanentes estructuradas en castas. El tamaño de las colonias varía ampliamente entre especies, desde unas pocas decenas hasta varios cientos de miles de individuos (Roubik *et al.*, 2018; Grüter, 2020; Toledo-Hernández *et al.*, 2022).

Algunas especies de abejas sin aguijón contribuyen significativamente al ingreso económico en la meliponicultura (cría de las abejas sin aguijón) a través de la venta de productos obtenidos directamente de las colonias, como miel, polen y propóleo (Quezada-Euán, 2009). Sin embargo, el aspecto más destacado de estos insectos es su función como polinizadores. Son responsables de polinizar entre el 40% y el 90% de las plantas nativas según el bioma considerado (Cham *et al.*, 2018). En algunos casos, pueden ser más eficientes en la polinización de ciertas plantas que la abeja melífera (Romero y Quezada-Euán, 2013; Caro *et al.*, 2017).

En los agroecosistemas, las abejas sin aguijón desempeñan un papel crucial en la polinización tanto en campo abierto como en invernaderos. Real-Luna *et al.* (2022) determinaron que 18 especies de abejas sin aguijón polinizan 20 cultivos en México, solo superadas por Brasil con 22 especies. Dos de las especies de abejas sin aguijón más comunes en la península de Yucatán son *Melipona beecheii* Bennet, 1831 y *Nannotrigona perilampoides* Cresson, 1878, distribuidas específicamente desde el norte de México hasta el sur de Panamá (Quezada-Euán, 2018). *Melipona beecheii*, conocida localmente como Xunan kab en lengua maya, que significa “dama real”, es una de las especies de abejas sin aguijón más importantes de México debido a su papel como polinizador y en la meliponicultura. Esta abeja mide entre 9.7 y 10.7 mm y forma colonias de 800 a 1,500 individuos. Anida principalmente en cavidades de árboles en áreas preservadas de la Península de Yucatán, pero también se mantiene en cajas de madera en áreas rurales para la producción de miel (Quezada-Euán 2018). Esta especie está asociada a 145 especies de plantas, incluidas varias especies de importancia económica como la sandía (*Citrullus lanatus*), el pepino (*Cucumis sativus*) y chiles (*Capsicum* spp.) (Quezada-Euán, 2018; Real-Luna *et al.*, 2022; Ríos-Oviedo *et al.*, 2024). Por otro lado, *N. perilampoides*, conocida como Bo'ol o Ya'ax ich en lengua maya, que significa "ojos verdes", es una especie que se caracteriza por sus 4.1 a 4.2 mm de longitud, con colonias compuestas de 700 a 1,200 individuos. En condiciones naturales, esta abeja anida predominantemente en árboles vivos, pero también está muy extendida en áreas urbanas donde utiliza grietas y hendiduras en los edificios para establecer sus colonias (Quezada-Euán, 2018; May-Itzá *et al.*, 2021; Quezada-Euán *et al.*, 2023). Esta especie está asociada a más de 50 especies de plantas, y se ha demostrado que son eficientes polinizadores de cultivos como chile y tomate en invernaderos (Cauich *et al.*, 2004; Cauich *et al.*, 2006; Ríos-Oviedo *et al.*, 2024). Aunque

N. perilampoides no produce tanta miel como *M. beecheii*, se mantiene en los meliponarios debido a su alto potencial como polinizador comercial de cultivos, gracias a su fácil manejo y adaptabilidad (Quezada-Euán, 2009).

1.2.2 Insecticidas neurotóxicos: principales compuestos utilizados en la agricultura para el control de plagas

Las principales clases de insecticidas se dirigen a diversos sistemas de los insectos. Aproximadamente el 79% de estos insecticidas afectan el sistema nervioso-muscular, específicamente los canales iónicos. El 8.2% están diseñados para alterar el crecimiento y desarrollo de los insectos, actuando como reguladores de crecimiento. Otro 3.9% interrumpe la producción de energía en las mitocondrias, mientras que un 1.6% actúa sobre las membranas intestinales de los insectos (Sparks *et al.*, 2020). Los insecticidas neurotóxicos son los principales productos en el mercado debido a su acción rápida y efectiva. Estos insecticidas afectan a los insectos al dirigirse a múltiples sitios sensibles en el sistema nervioso, donde incluso una interrupción mínima puede ser letal (Casida y Durkin, 2013). Dentro de los principales insecticidas con acción nerviosa en el mercado, se encuentran los neonicotinoides (25%), piretroides (17%), organofosforados (8%) y carbamatos (3%). Sin embargo, hay clases de insecticidas relativamente nuevas, como los butenólicos o las diamidas, que están experimentando un crecimiento significativo. Por ejemplo, el valor de mercado de las diamidas incluso supera la combinación de organofosforados y carbamatos juntos, con un 13% (Cuadro 1.1) (Sparks, 2025). Otro grupo de insecticidas sistémicos, conocidos como bloqueadores selectivos de la alimentación, se emplean extensamente debido a su interacción con los órganos cordotónicos de insectos (Maienfisch, 2019). Estos órganos, presentes exclusivamente en insectos y crustáceos, se distribuyen por todo el cuerpo, especialmente en las articulaciones entre las extremidades y los segmentos (Yack, 2004; Kavlie y Albert, 2013). Funcionan como propioceptores, contribuyendo al control de la locomoción y monitoreando estímulos externos como la gravedad, el sonido, el viento y la vibración del sustrato (Field y Matheson, 1998; Yack, 2004; Kavlie y Albert, 2013). Dentro de los insecticidas bloqueadores de la alimentación, la pimetrozina y el flonicamid destacan por su eficacia (Maienfisch, 2019) (Cuadro 1.1).

Cuadro 1.1 Principales grupos de insecticidas utilizados para el control de plagas

Grupos (valor de mercado) ^a	Uso agrícola (familias de insectos)	Mecanismo de acción
Neonicotinoides (\$ 4,752)	Hemípteros, tisanópteros y psílidos	Agonistas del receptor nicotínico de la acetilcolina
Piretroides (\$ 2,978)	Hemípteros, ortópteros, tisanópteros, coleópteros y larvas de lepidóptera	Inhibidores de los canales de sodio del axón
Organofosforados (\$1,467)	Hemípteros, tisanópteros, coleópteros ortópteros y larvas de lepidóptera	Inhibición no competitiva de la acetilcolinesterasa
Carbamatos (\$ 550)	Hemípteros, tisanópteros, coleópteros, ortópteros y larvas de lepidóptera	Inhibición competitiva de la acetilcolinesterasa
Butenólidos (flupiradifurone) (\$ 28)	Hemípteros, tisanópteros, psílidos y cicadélidos	Agonistas del receptor nicotínico de la acetilcolina
Diamidas (ciantraniliprol) (\$ 2,336)	Larvas de lepidóptera, hemípteros, tisanópteros y coleópteros.	Moduladores del receptor de la rianodina
Piridinas azometinas (pimetrozina) (\$ 70)	Tisanópteros y hemípteros, especialmente pulgones	Moduladores de los canales de receptores de potencial transitorio (TRP)
Piridinas carboxamidas (Flonicamid) (\$ 55)	Tisanópteros y hemípteros, especialmente pulgones	Inhibidores de la nicotinamidasa

^aValores en millones de dólares; datos tomados de Sparks *et al.* (2020).

La flupiradifurona es un insecticida butenólido que actúa como agonista de los receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR), compartiendo el mismo sitio de acción que los neonicotinoides. Sin embargo, a diferencia de estos últimos, la flupiradifurona se clasifica dentro del subgrupo 4D del Comité de Acción de Resistencia a Insecticidas (IRAC) debido a particularidades en su farmacóforo (Jeschke *et al.*, 2015). Las diamidas son activadores de receptores de rianodina (RyR), los cuales regulan la liberación de calcio de los depósitos internos durante la contracción muscular. El ciantraniliprol, clasificado en el grupo 28 del IRAC, se une a estos receptores y provoca una liberación descontrolada de calcio, lo que conduce a la interrupción de la alimentación, letargo, parálisis y, finalmente, la muerte del insecto (Lahm *et al.*, 2005). La pimetrozina (IRAC, subgrupo 9B) y el

flonicamid (IRAC, grupo 29) son insecticidas sistémicos que afectan los órganos cordotonaes, receptores sensoriales ubicados en las articulaciones de los insectos (Yack, 2004; Kavlie y Albert, 2013; Maienfisch, 2019). Estos órganos cumplen funciones esenciales en la locomoción y en la detección de estímulos externos como la gravedad, el sonido y las vibraciones del sustrato (Field y Matheson, 1998; Yack, 2004; Kavlie y Albert, 2013). La pimetrozina interfiere con la coordinación motora e inhibe la alimentación al inducir una sobreestimulación de los receptores cordotonaes (Nesterov *et al.*, 2015; Salgado, 2017; Huang *et al.*, 2023). En contraste, el flonicamid también actúa selectivamente sobre estos órganos sensoriales, pero su principal mecanismo de acción es la inhibición de la nicotinamidasas, una enzima involucrada en procesos metabólicos clave como la respiración celular, la producción de energía y la reparación del ADN (Spalthoff *et al.*, 2022; Qiao *et al.*, 2022).

1.2.3 Rutas de exposición de las abejas a los insecticidas

De acuerdo con la naturaleza de los insecticidas, son utilizados tres métodos de aplicación a los cultivos: fumigación directa, aplicaciones al suelo y aplicación a semillas. Estos métodos de aplicación desempeñan un papel crucial en la exposición de estos productos químicos a los polinizadores que visitan un cultivo (Kumar *et al.*, 2020). Cham *et al.* (2018) señalaron que las abejas sin aguijón están expuestas a través de partículas de aire y el consumo de néctar. Sin embargo, debido a su morfología extremadamente diversa, hábitos de nidificación y comportamiento, las abejas sin aguijón enfrentan un riesgo particularmente alto en comparación con las abejas melíferas. Esto se debe a que los meliponinos recolectan una amplia variedad de materiales, como resinas, barro, pétalos, hojas, heces, palos pequeños, piedras pequeñas, semillas, látex y gotas de miel, lo que los expone potencialmente al contacto, la exposición oral y residual a los insecticidas (Quezada-Euán, 2018; Cham *et al.*, 2018; Grüter, 2020) (Figura 1.1). Cuando se aplican insecticidas al suelo, algunos muestran actividad sistémica o translaminar, lo que significa que son absorbidos por las raíces de las plantas y se trasladan a través del sistema vascular hacia los órganos vegetativos y reproductivos. Esta capacidad facilita que el insecticida pueda contaminar el polen y el néctar de las plantas, de manera similar a las aplicaciones de fumigación directa (Lima *et al.*, 2016).

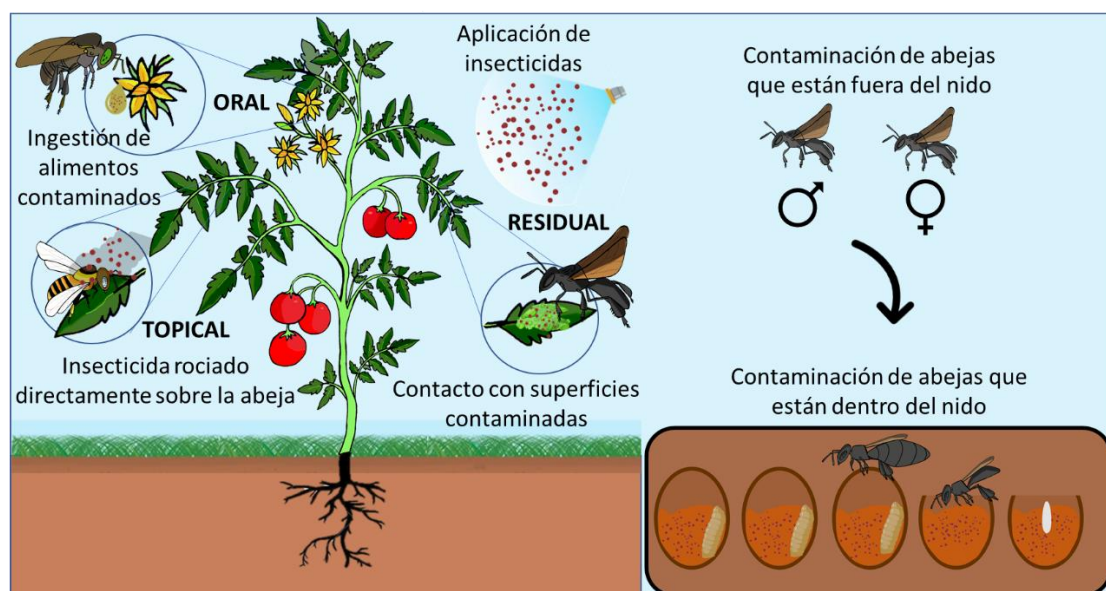


Figura 1.1 Rutas de exposición de las abejas sin aguijón a insecticidas. Abejas de diferentes especies, sexos, edades y castas pueden estar expuestas directa o indirectamente a insecticidas aislados o combinados. Las abejas voladoras (pecoreadoras, machos y reinas vírgenes) pueden estar expuestas tópicamente a la pulverización de insecticidas mientras buscan alimento o se aparean. La exposición por contacto-residual u oral puede ocurrir durante la búsqueda de alimento o cuando se trasladan recursos contaminados a las colonias. El contacto y la asignación de alimentos entre compañeros de nido (trofalaxis, provisión de alimento para larvas e ingestión de alimentos) o entre no compañeros de nido (cópula o defensa) puede resultar en contaminación cruzada entre individuos y colonias.

1.2.4 Efectos letales de insecticidas en abejas sin aguijón

Las estimaciones convencionales del daño causado por los insecticidas a las abejas generalmente se basan en determinar la concentración letal media (CL₅₀), dosis letal media (DL₅₀), porcentaje de mortalidad o supervivencia. Estas métricas son una herramienta esencial para comparar las toxicidades de diferentes principios activos y formulaciones de insecticidas (Desneux *et al.*, 2007; de França *et al.*, 2017). Entre las clases de insecticidas neurotóxicos evaluadas en abejas sin aguijón, los neonicotinoides son el grupo más frecuentemente analizado (30.7%) (Figura 1.2). Ingredientes activos como el imidacloprid, el tiametoxam y el acetamiprid predominan en la literatura, lo que refleja la preocupación por su impacto en meliponinos. Los organofosforados y los piretroides fueron los siguientes grupos más estudiados, aunque con una frecuencia notablemente menor. Cabe destacar que relativamente pocos estudios han examinado compuestos como la flupiradifurona

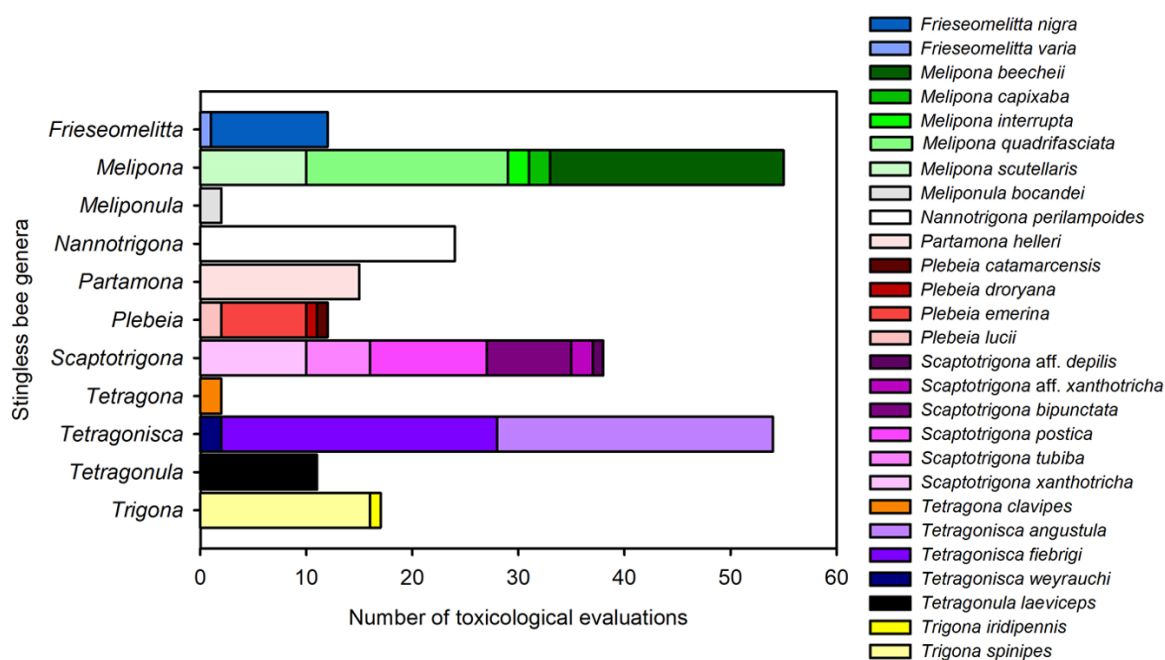


Figura 1.3 Evaluaciones toxicológicas de insecticidas neurotóxicos en especies de abejas sin aguijón (Meliponini). Frecuencia con la que cada especie de abeja sin aguijón ha sido evaluada en estudios toxicológicos letales (DL_{50} , CL_{50} , porcentaje de mortalidad o supervivencia). Los valores representan la cantidad de veces que una especie ha sido medida, independientemente de si proviene del mismo estudio o diferentes rutas de exposición.

1.2.5 Efectos subletales de insecticidas en la locomoción de las abejas sin aguijón

Aunque los resultados de los efectos letales en laboratorio han sido extremadamente valiosos, en un escenario realista, las concentraciones de insecticidas más bajas suelen producirse después de la aplicación inicial, ya que se degradan por varios factores abióticos, como las precipitaciones, la temperatura y la luz solar (Desneux *et al.*, 2007). De esta manera, en condiciones de campo, las abejas pueden estar expuestas a concentraciones subletales de insecticidas y pueden experimentar efectos subletales relacionados (de França *et al.*, 2017).

Los efectos subletales de los insecticidas en las abejas sin aguijón se clasifican en tres grupos principales: fisiológicos, conductuales y cognitivos. Los efectos fisiológicos abarcan la bioquímica, el desarrollo y la reproducción. Los efectos conductuales incluyen la actividad y la alimentación. Los efectos cognitivos comprenden el aprendizaje, y la memoria (Figura 1.4).

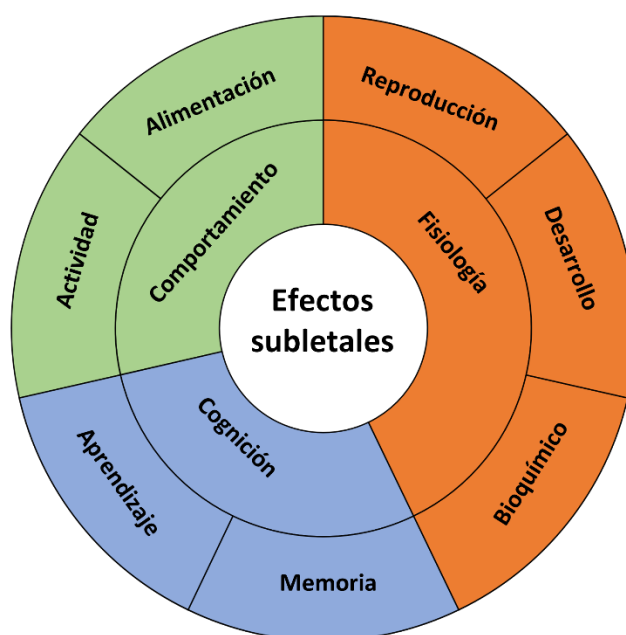


Figura 1.4 Categorías de efectos subletales de abejas sin aguijón expuestas a insecticidas neurotóxicos.

La exposición subletal a insecticidas puede provocar cambios significativos en el comportamiento, como alteraciones en la capacidad de caminar y volar (de Morais *et al.*, 2018; Siviter y Muth, 2020). Estas habilidades son fundamentales para la supervivencia de las colonias, ya que permiten a las abejas explorar y recolectar recursos de una amplia variedad de flores (Ma *et al.*, 2024). El cuadro 1.2 presenta algunos de los efectos subletales observados en la locomoción de estas abejas.

Cuadro 1.2 Efectos subletales en la locomoción de insecticidas neurotóxicos en abejas sin aguijón.

Insecticidas	Efecto subletal en la locomoción
Imidacloprid	Reducción en la distancia, velocidad de caminata, aumento en el tiempo de descanso y el número de paradas en adultos de cuatro y ocho días de edad en ingesta larvaria
Fipronil	Reducción en la velocidad de escalada, letargo, dificultad motora, parálisis e hiperexcitación
Spinosad	Reducción en el número de paradas y tiempo de descanso
Acetamiprid, imidacloprid, tiacloprid	Reducción de la velocidad media, distancia recorrida, duración y la frecuencia de reposo, y movilidad continua
Imidacloprid, tiacloprid,	Reducción de la velocidad media, distancia recorrida, duración y frecuencia del reposo.

acetamiprid, tiametoxam	Tiametoxam causó hiperactividad
Cloranthraniliprol	Reducción en la actividad de vuelo y caída libre

1.3 Hipótesis

a) La exposición a flupiradifurona y ciantraniliprol causará efectos letales y subletales diferenciados entre *Melipona beecheii* y *Nannotrigona perilampoides*, manifestándose en diferencias significativas en la concentración letal media (CL₅₀), el tiempo letal medio (TL₅₀) y en la actividad locomotora (velocidad de caminata y despegue de vuelo).

b) La exposición oral y por contacto a flonicamid y pimetrozina reducirá significativamente la supervivencia y afectará negativamente la actividad locomotora (velocidad de caminata y despegue de vuelo) de *M. beecheii* y *N. perilampoides*, siendo el efecto más pronunciado tras la exposición oral.

1.4. Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Evaluar los efectos letales y subletales de insecticidas neurotóxicos (flupiradifurona, ciantraniliprol, flonicamid y pimetrozina) en dos especies de abejas sin aguijón, *Melipona beecheii* y *Nannotrigona perilampoides*.

1.4.2 Objetivos específicos

Determinar la concentración letal media (CL₅₀) y el tiempo letal medio (TL₅₀) de flupiradifurona, ciantraniliprol y evaluar sus efectos subletales sobre la actividad de caminata y el despegue de vuelo en dos especies de abejas sin aguijón, *Melipona beecheii* y *Nannotrigona perilampoides*.

Evaluar los efectos de dos insecticidas neurotóxicos (flonicamid y pimetrozina) sobre la supervivencia y la actividad locomotora (velocidad de caminata y despegue de vuelo) de las abejas sin aguijón *Melipona beecheii* y *Nannotrigona perilampoides* después de la exposición oral y de contacto.

1.5 Procedimiento experimental

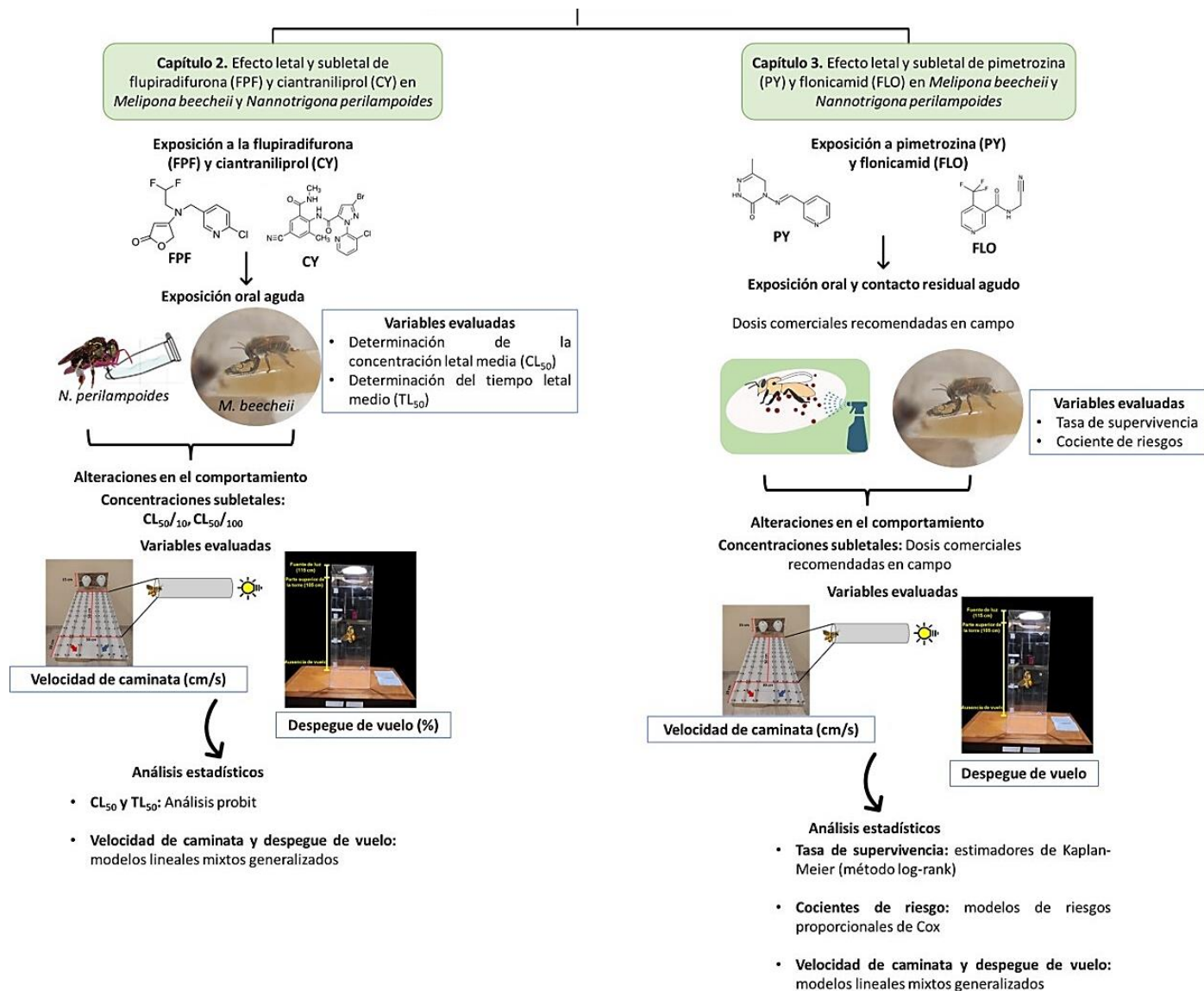


Figura 1.5 Estrategia experimental planteada para el desarrollo del presente trabajo.

1.6 Literatura citada

- Barrón-Contreras, L., Mena-Covarrubias, J., y Garza-Urbina, E. 2020. Nuevas estrategias de control de mosca blanca, vector de enfermedades virales en chile serrano en el centro y norte de México. *Abanico Agroforestal*. 2:1-14. <https://doi.org/10.37114/abaagrof/2020.10>
- Bernardes, R. C., Botina, L. L., Araújo, R. D. S., Guedes, R. N. C., Martins, G. F., and Lima, M. A. P. 2022. Artificial intelligence-aided meta-analysis of toxicological assessment of agrochemicals in bees. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 10:845608. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.845608>
- Brosi, B. J. 2009. The complex responses of social stingless bees (Apidae: Meliponini) to tropical deforestation. *Forest Ecology and Management*. 258, 830–1837 <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.02.025>
- Caro, A., Moo-Valle, H., Alfaro, R., and Quezada-Euán, J. J. G. 2017. Pollination services of Africanized honey bees and native *Melipona beecheii* to buzz-pollinated annatto (*Bixa orellana* L.) in the neotropics. *Agricultural and Forest Entomology*. 19:274. <https://doi.org/10.1111/afe.12206>
- Casida, J. E., and Durkin, K. A. 2013. Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annual Review of Entomology*. 58: 99-117. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153645>
- Cauich, O., Quezada-Euán, J. J. G., Macias-Macias, J. O., Reyes-Oregel, V., Medina-Peralta, S., and Parra-Tabla, V. 2004. Behavior and pollination efficiency of *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera: Meliponini) on greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) in subtropical Mexico. *Journal of Economy Entomology*. 97:475–481 <https://doi.org/10.1093/jee/97.2.475>
- Cauich, O., Quezada-Euán, J. J. G., Meléndez-Ramírez, V., Valdovinos-Núñez, G. R., and Moo-Valle, H. 2006. Pollination of habanero pepper (*Capsicum chinense*) and production in enclosures using the stingless bee *Nannotrigona perilampoides*. *Journal of Apicultural Research* 45:125-130. <https://doi.org/10.1080/00218839.2006.11101330>
- Cham, K. O., Nocelli, R. C. F., Borges, L. O., Viana-Silva, F. E. C., Tonelli, C. A. M., Menezes, O. M. C., Rosa-Fontana, A. S., Blochtein, B., Freitas, B. M., Pires, C. S. S., Oliveira, F. F., Contrera, F. A. L., Torezani, K. R. S., Ribeiro, M. F., Siqueira,

- M. A. L., and Rocha, M. C. L. S. A. 2018. Pesticide exposure assessment paradigm for stingless bees. *Environmental Entomology*, 20, 1-13. <https://doi.org/10.1093/ee/nvy137>
- de França, S. M., Breda, M. O., Barbosa, D. R. S., Araujo, A. M. N., and Guedes, C. A. 2017. The Sublethal Effects of Insecticides in Insects. En: Vonnie D.C. Shields (ed.) *Biological Control of Pest and Vector Insects* IntechOpen <https://doi.org/10.5772/66461>
- de Moraes, C. R., Travençolo, B. A. N., Carvalho, S. M., Beletti, M. E., Santos, V. S. V., Campos, C. F., de Campos Júnior, E. O., Pereira, B. B., Naves, M. P. C., Alves de Rezende, A. A., Spanó, M. A., Vieira, C. U., and Bonetti, A. M. 2018. Ecotoxicological effects of the insecticide fipronil in Brazilian native stingless bees *Melipona scutellaris* (Apidae: Meliponini). *Chemosphere* 206: 632–642. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.153>
- Desneux, N., Decourtye, A., and Delpuech, J-M. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*. 52:81–106. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>
- Enciso-Cabral, J. G., Beas-Zarate, C., Terriquez-Covarrubias, J. A., Monroy-Reyes, B., Castro-Rodriguez, M., and Posos-Ponce, P. 2019. Respuesta de la evaluación del insecticida Benevia 10 OD (ciantraniliprol) para el control de *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895 (Thysanoptera: Thripidae) en aguacate. *Entomología mexicana*, 6: 194–199.
- Engel, M. S., Rasmussen, C., Ayala, R., de Oliveira, F. F. 2023. Stingless bee classification and biology (Hymenoptera, Apidae): a review, with an updated key to genera and subgenera. *ZooKeys* 1172: 239-312. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1172.104944>
- Field, L. H., and Matheson, T. 1998. Chordotonal organs of insects. *Advances in Insect Physiology* 27:1–230. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60013-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60013-2)
- Grüter, C. 2020. Stingless bees their behaviour, ecology and evolution. *In: Grüter C. Stingless bees, fascinating life sciences*. Springer Nature Switzerland AG. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-60090-7>
- Haas, J., Zaworra, M., Glaubitz, J., Hertlein, G., Kohler, M., Lagojda, A., Lueke, B., Maus, C., Almanza, M-T., Davies, G. E., Bass, C., and Nauen, R. 2021. A toxicogenomics approach reveals characteristics supporting the honey bee (*Apis mellifera* L.) safety

- profile of the butanolide insecticide flupyradifurone. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 217 112247 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112247>
- Huang, Z., Sun, Z., Liu, J., Ju, X., Xia, H., Yang, Y., Chen, K., and Qiang, W. 2023. Insect transient receptor potential vanilloid channels as potential targets of insecticides. *Developmental & Comparative Immunology* 148, 104899. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2023.104899>
- Jeschke, P., Nauen, R., Gutbrod, O., Beck, M. E., Matthiesen, S., Haas, M., and Velten, R. (2015) Flupyradifurone (Sivanto™) and its novel butenolide pharmacophore: structural considerations. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121:31–38. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.10.011>
- Kavlie, R. G., and Albert, J. T. 2013. Chordotonal organs. *Current Biology* 23,9 R334. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.03.048>
- Kumar, G., Singh, S., Nagarajaiah, R. P. K. 2020. Detailed Review on Pesticidal Toxicity to Honey Bees and Its Management. In (Ed.), *Modern Beekeeping - Bases for Sustainable Production*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91196>
- Lahm, G. P., Selby, T. P., Freudenberger, J. H., Stevenson, T. M., Myers, B. J., Seburyamo, G., Smith, B. K., Flexner, L., Clark, C. E., and Cordova, D. 2005. Insecticidal anthranilic diamides: A new class of potent ryanodine receptor activators. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 15: 4898–4906. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.08.034>
- Lima, M. A. P., Martins, G. F., Oliveira, E. E., and Guedes, R. N. C. 2016. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. *Journal of Comparative Physiology A*. 202:733–747. <https://doi.org/10.1007/s00359-016-1110-3>
- Lima, V. P., and Marchioro, CA. 2019. Brazilian stingless bees are threatened by habitat conversion and climate change. *Regional Environmental Change*. 21: 14 <https://doi.org/10.1007/s10113-021-01751-9>
- Lima, V. P., Marchioro, C. A. 2019. Brazilian stingless bees are threatened by habitat conversion and climate change. *Reg Environ Change* 21: 14. <https://doi.org/10.1007/s10113-021-01751-9>
- Ma, C., Shi, X., Chen, S., Han, J., Bai, H., Li, Z., Li-Byarlay, H., and Bai, L. 2024. Combined pesticides in field doses weaken honey bee (*Apis cerana* F.) flight ability

- and analyses of transcriptomics and metabolomics. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 201, 105793. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2024.105793>
- Maienfisch, P. 2019. Selective feeding blockers: pymetrozine, flonicamid, and pyrifluquinazon. In: Jeschke P., Witschel M., Krämer W., Schirmer U. (eds.). *Modern crop protection compounds*. John Wiley & Sons, Ltd, Weinheim, Germany, pp. 1501–1526. <https://doi.org/10.1002/9783527699261.ch34>
- Martín-Mex, R., Nexticapán-Garcéz, A., y Ruiz-Sánchez, E. 2020. Biología y manejo de plagas del cultivo de chile habanero. En: Rodríguez-Buenfil IM, Ramírez-Sucre O, Ramírez-Rivera J. (eds.). *Metabolómica y cultivo del chile habanero (Capsicum chinense Jacq)* de la Península de Yucatán. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. CIATEJ
- Mayes, D. M., Bhatta, C. P., Shi, D., Brown, J. C., and Smith, D. R. 2019. Body size influences stingless bee (Hymenoptera: Apidae) communities across a range of deforestation levels in Rondônia, Brazil. *Journal of Insect Science*. 19(2): 23; 1–7 <https://doi.org/10.1093/jisesa/iez032>
- May-Itzá, W. J., Quezada-Euán, J. J. G., Ayala, R., and De la Rúa, P. 2012 Morphometric and genetic analyses differentiate Mesoamerican populations of the endangered stingless bee *Melipona beecheii* (Hymenoptera: Meliponidae) and support their conservation as two separate units. *Journal of Insect Conservation* 16:723–731. <https://doi.org/10.1007/s10841-012-9457-4>
- Michener, C. D. 2007. *The Bees of the World* (Ed 2). The Johns Hopkins University Press, Baltimore
- Montejo-Canul, E., Aguiñaga-Bravo, A., Ruiz-Sánchez, E., Ballina-Gómez, H., González-Moreno, A., Latournerie-Moreno, L., Martín-Mex, R., and Garruña-Hernández, R. 2019. Effects of the inclusion of biorational insecticides for pest management on phytophagous insects, fruit yield, and bee abundance in tomato and tomatillo. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 52: 17-18 <https://doi.org/10.1080/03235408.2019.1703300>
- Mörtl, M., Vehovszky, A., Klátyik, S., Takács, E., Gyori, J., and Székács, A. 2020. Neonicotinoids: spreading, translocation and aquatic toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 17, 2006 <https://doi.org/10.3390/ijerph17062006>

- Nesterov, A., Spalthoff, C., Kandasamy, R., Katana, R., Rankl, N. B., Andrés, M., Jähde, P., Dorsch, J. A., Stam, L. F., Braun, F.-J., Warren, B., Salgado, V. L., and Göpfert, M. C. 2015. TRP channels in insect stretch receptors as insecticide targets. *Neuron* 86, 665–671. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2015.04.001>
- Qiao, X., Zhang, X., Zhou, Z., Guo, L., Wu, W., Ma, S., Zhang, X., Montell, C., and Huang, J. 2022. An insecticide target in mechanoreceptor neurons. *Science Advances* 8, eabq3132. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abq3132>
- Quezada-Euán J.G. 2018. Stingless bees of Mexico the biology, management and conservation of an ancient heritage. New York, NY: Springer, pp. 294 <https://doi.org/10.1007/978-3-319-77785-6>
- Quezada-Euán, J. J. G. 2009. Potencial de las abejas nativas en la polinización de cultivos. *Acta biologica Colombiana* 14: 2 169 – 172.
- Quezada-Euán, J. J. G., Sánchez-Solís, T., Medina-Medina, L., y Moo-Valle, H. 2023. Biología y reproducción de la abeja sin aguijón *Nannotrigona perilampoides*. Una potencial polinizadora de cultivos de invernadero para zonas tropicales de México. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida Yucatán, México.
- Rasmussen, C., Camargo, J.M. 2008. A molecular phylogeny and the evolution of nest architecture and behavior in *Trigona* s.s. (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) *Apidologie* 39 (1), 102–118. <https://doi.org/10.1051/apido:2007051>
- Real-Luna, N., Rivera-Hernández, J. E., Alcántara-Salinas, G., Rojas-Malavasi, G., Morales-Vargas, A. P., y Pérez-Sato, J. A. 2022. Las abejas sin aguijón (Tribu Meliponini) en los agroecosistemas de América Latina. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 13(2): 331-344. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i2.2866>
- Ríos-Oviedo, A. J., Tucuch-Tun, R., Cetzal-Ix, W., Martínez-Puc, J. F., and Basub, S. K. 2024. Flora associated with stingless bees (Apidae: Meliponini) in the Yucatan Peninsula, Mexico *Journal of Apicultural Research* 1–13. <https://doi.org/10.1080/00218839.2024.2309766>
- Romero, M. J., and Quezada-Euán, J. J. G. 2013. Pollinators in biofuel agricultural systems: the diversity and performance of bees (Hymenoptera: Apoidea) on *Jatropha curcas* in Mexico. *Apidologie* 44:419–429. <https://doi.org/10.1007/s13592-013-0193-x>
- Roubik, D.W., 2006. Stingless bee nesting biology. *Apidologie* 37 (2), 124–143.

- Roubik, D.W., Heard, T.A., Kwapong, P. 2018. Stingless bee colonies and pollination. In: The Pollination of Cultivated Plants: A Compendium for Practitioners 2, 39–64.
- Salgado, V. L. 2017. Insect TRP channels as targets for insecticides and repellents. *Journal of Pestic Science* 42(1), 1–6. <https://doi.org/10.1584%2Fjpestics.D16-104>
- Siviter, H., and Muth, F. 2020. Do novel insecticides pose a threat to beneficial insects? *Proceedings of the Royal Society B* 287: 20201265. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2020.1265>
- Spalthoff, C., Salgado, V. L., Theis, M., Geurten, B. R. H., and Göpfert, M. C. 2022. Flonicamid metabolite 4-trifluoromethylnicotinamide is a chordotonal organ modulator insecticide. *Pest Management Science* 78, 11 4802-4808. <https://doi.org/10.1002/ps.7101>
- Sparks, T. C. 2025. Insecticide mixtures—uses, benefits and considerations. *Pest Manag Sci* 81: 1137-1144. <https://doi.org/10.1002/ps.7980>
- Sparks, T. C., Crossthwaite, A. J., Nauen, R., Banba, S., Cordova, D., Earley, F., Ebbinghaus-Kintscher, U., Fujioka, S., Hirao, A., Karmon, D., Kennedy, R., Nakao, T., Popham, H. J. R., Salgado, V., Watson, G. B., Wedel, B. J., and Wessels, F. J. 2020. Insecticides, biologics and nematicides: Updates to IRAC’s mode of action classification - a tool for resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 167 104587 <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104587>
- Tosi, S., and Nieh, J. C. 2019. Lethal and sublethal synergistic effects of a new systemic pesticide, flupyradifurone (Sivanto®), on honeybees. *Proceedings of the Royal Society B*. 286: 20190433. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.0433>
- Tosi, S., Sfeir, C., Carnesecchi, E., vanEngelsdorp, S., and Chauzat, M-P. 2022. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: A meta-analysis and new risk assessment tools. *Science of the Total Environment* 844, 156857. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156857>
- Wille, A. 1983. Biology of stingless bees. *Annual Review of Entomology*. 28 (1), 41-64. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.28.010183.000353>
- Yack, J. E. 2004. The structure and function of auditory chordotonal organs in insects. *Microscopy Research and Technique* 63:315–337. <https://doi.org/10.1002/jemt.20051>

II. CAPÍTULO 2. LETHAL AND SUBLETHAL EFFECTS OF FLUPYRADIFURONE AND CYANTRANILIPROLE ON TWO NEOTROPICAL STINGLESS BEE SPECIES

Cristian Góngora-Gamboa¹, Esaú Ruiz-Sánchez^{1*}, Roberto Zamora-Bustillos¹, Emanuel Hernández-Núñez², Horacio Ballina-Gómez¹

Afiliación: ¹Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Conkal, Avenida Tecnológico S/N, Municipio de Conkal, C.P. 97345. Conkal, Yucatán, México; ²Departamento de Recursos del Mar, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, IPN, Unidad Mérida, Mérida 97310, Yucatán, México.

*Autor para correspondencia: esau.ruiz@itconkal.edu.mx

(Publicado en *Ecotoxicology*; DOI: <https://doi.org/10.1007/s10646-024-02848-7>)

2.1 ABSTRACT

Stingless bees are important pollinators in tropical regions, but their survival and behavior have been impacted by various factors, including exposure to insecticides. Here, we evaluated the lethal and sublethal effects of commercial formulations of two widely used insecticides, flupyradifurone (FPF formulation) and cyantraniliprole (CY formulation), on *Melipona beecheii* and *Nannotrigona perilampoides*. The study involved oral exposure of bees to insecticides, calculation of the lethal concentration (LC₅₀) and the lethal time (LT₅₀) and evaluation of walking and flight take-off activities. The LC₅₀ values showed that the largest bee, *M. beecheii*, was more sensitive than *N. perilampoides* to both insecticides and that the FPF formulation had faster lethal effects in both species (*N. perilampoides*, 9.6 h; *M. beecheii*, 5 h) compared to the effects of the CY formulation (*N. perilampoides*, 17 h; *M. beecheii*, 24.7 h). Sublethal concentrations (LC_{50/10} and LC_{50/100}) of both insecticides affected walking and flight take-off activities. After 6 to 24 h of exposure, both FPF and CY formulations significantly reduced the mean walking speed of *N. perilampoides* (0.962 to 1.402 cm/s) and *M. beecheii* (2.026 to 2.589 cm/s) compared to the control groups (*N. perilampoides*: 1.648 to 1.941 cm/s; *M. beecheii*: 2.759 to 3.471 cm/s). Additionally, the FPF and the CY formulation impaired individual flight take-off in both species. This study provides the first comprehensive evaluation of the lethal and sublethal effects of flupyradifurone and cyantraniliprole on *M. beecheii* and *N. perilampoides*, offering valuable information for future research on insecticide toxicity in stingless bees.

Keywords: Butenolide insecticide, Diamide insecticide, Locomotion, Meliponini.

III. CAPÍTULO 3. EFFECTS OF TWO CHORDOTONAL-ORGAN-TARGETING INSECTICIDES ON SURVIVAL AND LOCOMOTION OF *Melipona beecheii* AND *Nannotrigona perilampoides* (APIDAE: MELIPONINI)

Cristian Góngora-Gamboa¹, Esaú Ruiz-Sánchez^{1*}, Roberto Zamora-Bustillos¹, Horacio Ballina-Gómez¹, Emanuel Hernández-Núñez²

Affiliation: 1Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Conkal, Avenida Tecnológico S/N, Municipio de Conkal, C.P. 97345. Conkal, Yucatán, México; 2Departamento de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico Superior de Calkiní, Avenida Ah Canul S/N, C.P.24930, Calkiní, Campeche, México.

*Autor para correspondencia: esau.ruiz@itconkal.edu.mx

(Publicado en *Apidologie*; DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-025-01179-8>)

3.1 ABSTRACT

Chordotonal organs are vital for survival, allowing insects to navigate, communicate, and detect predators or prey effectively. However, little is known about the toxic effects of chordotonal-organ-targeting insecticides (COTI) on stingless bees. Here, we evaluated the toxicity of commercial formulations of two COTIs, flonicamid and pymetrozine, on stingless bees *Melipona beecheii* and *Nannotrigona perilampoides*. After acute oral and contact exposure to field-recommended concentrations (flonicamid: 250 mg a.i./L and pymetrozine: 500 mg a.i./L), survival rates, walking speed, and flight take-off activity were assessed. Overall, the toxic effects of the insecticides were more pronounced in *M. beecheii* and when bees ingested the insecticides. Survival rates dropped to 23-32% in *M. beecheii* and 77-94% in *N. perilampoides* when exposed to the insecticides. In *M. beecheii*, oral exposure to insecticides decreased walking speed to 0.14-0.95 cm/s, compared to 3.30-3.74 cm/s for the control group. For contact exposure, only pymetrozine caused a significant reduction in walking speed (0.48-1.21 cm/s) compared to the control group (1.85-2.61 cm/s). In *N. perilampoides*, both oral and contact exposure to insecticides reduced walking speed to 0.43-0.49 cm/s, compared to 1.07-1.18 cm/s for the control group. The insecticides also significantly reduced flight take-off activity, with only 6.7% of *M. beecheii* adults and none of the *N. perilampoides* adults being able to fly after oral or contact exposure, compared to 70 and 80% in their respective control groups. Our findings demonstrate the vulnerability of stingless bees to COTIs, highlighting the urgent need for stricter pesticide regulations to protect pollinator health.

Keywords: pymetrozine, flonicamid, stingless bees, survival, behavior, sublethal effects

IV. DISCUSIÓN GENERAL

La presente tesis aporta un panorama integral sobre los efectos letales y subletales de cuatro insecticidas neurotóxicos en dos especies de abejas sin aguijón del Neotrópico, *Melipona beecheii* y *Nannotrigona perilampoides*. Los resultados mostraron diferencias claras de susceptibilidad entre especies, siendo *M. beecheii* más sensible en todas las pruebas, lo que indica que la vulnerabilidad a insecticidas no depende únicamente del tamaño corporal, sino también de características fisiológicas y genéticas (Lourencetti *et al.*, 2023).

Entre los compuestos, la flupiradifurona mostró mayor toxicidad y rapidez de acción, seguida de pimetrozina, mientras que ciantraniliprol y flonicamid exhibieron toxicidad menor. La exposición oral resultó más dañina que el contacto residual, y todos los compuestos afectaron locomoción y vuelo. Estos hallazgos coinciden parcialmente con estudios en *Apis mellifera* y *Bombus* spp., donde flupiradifurona y otros moduladores nicotínicos muestran alta toxicidad (Hesselbach y Scheiner, 2018; Tosi y Nieh, 2019). Sin embargo, en abejas sin aguijón los datos son más limitados, por lo que este trabajo aporta evidencia novedosa sobre modos de acción poco evaluados (órganos cordotonales, receptores de rianodina) (Lahm *et al.*, 2005; Nesterov *et al.*, 2015).

La reducción en la locomoción y la capacidad de vuelo observada puede desencadenar una cascada de efectos: en primer lugar, disminuir la eficiencia de forrajeo y la recolección de recursos como néctar, polen y resinas; en segundo lugar, aumentar la pérdida de individuos que, al no poder regresar a la colonia, reducen el tamaño poblacional; y, en última instancia, comprometer el éxito en la polinización de cultivos (Desneux *et al.*, 2007). Esto adquiere relevancia en regiones neotropicales donde las abejas sin aguijón son polinizadores principales de especies nativas y agrícolas de alto valor (Real-Luna *et al.*, 2022).

La comparación entre especies refuerza la idea de que *A. mellifera* no es un modelo universal adecuado para representar a todas las abejas (Arena y Sgolastra, 2014). Las diferencias detectadas sugieren la necesidad de incluir Meliponini en las pruebas regulatorias de riesgo. El trabajo se realizó bajo condiciones de laboratorio, lo cual permitió controlar las variables, pero no refleja la complejidad de la exposición en campo. Futuras investigaciones deberían incorporar evaluaciones en colonias completas, estudios crónicos y pruebas en semicampo o campo abierto. Además, sería relevante explorar efectos en reproducción, desarrollo larval y las bases moleculares que determinan la resiliencia o vulnerabilidad de estas especies frente a los agroquímicos.

4.1 Referencias

- Arena, M., Sgolastra, F. 2014. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. *Ecotoxicology* 23:324-334. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1190-1>
- Desneux, N., Decourtye, A., and Delpuech, J-M. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*. 52:81–106. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>
- Hesselbach, H., Scheiner, R. 2018. Effects of the novel pesticide flupyradifurone (Sivanto) on honeybee taste and cognition. *Scientific Reports* 8:4954. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23200-0>
- Lahm, G. P., Selby, T. P., Freudenberger, J. H., Stevenson, T. M., Myers, B. J., Seburyamo, G., Smith, B. K., Flexner, L., Clark, C. E., Cordova, D. 2005. Insecticidal anthranilic diamides: A new class of potent ryanodine receptor activators. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 15:4898–4906. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.08.034>
- Lourencetti, A. P. S., Azevedo, P., Miotelo, L., Malaspina, O., Nocelli, R. C. F. 2023. Surrogate species in pesticide risk assessments: Toxicological data of three stingless bees species. *Environmental Pollution* 318, 120842. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120842>
- Nesterov, A., Spalthoff, C., Kandasamy, R., Katana, R., Rankl, N. B., Andrés, M., Jähde, P., Dorsch, J. A., Stam, L. F., Braun, F-J., Warren, B., Salgado, V. L., and Göpfert, M. C. 2015. TRP channels in insect stretch receptors as insecticide targets. *Neuron* 86, 665–671. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2015.04.001>
- Real-Luna, N., Rivera-Hernández, J. E., Alcántara-Salinas, G., Rojas-Malavasi, G., Morales-Vargas, A. P., Pérez-Sato, J. A. 2022. Las abejas sin aguijón (Tribu Meliponini) en los agroecosistemas de América Latina. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 13(2): 331-344. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i2.2866>
- Tosi, S., Nieh, J. C. 2019. Lethal and sublethal synergistic effects of a new systemic pesticide, flupyradifurone (Sivanto®), on honeybees. *Proceedings of the Royal Society B* 286:20190433. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.0433>

V. CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados de esta tesis muestran que los insecticidas neurotóxicos flupiradifurona, ciantraniliprol, pimetrozina y flonicamid afectan de manera significativa la supervivencia y el comportamiento locomotor de *Melipona beecheii* y *Nannotrigona perilampoides*. La abeja (*M. beecheii*) fue significativamente más susceptible que *N. perilampoides* a todos los insecticidas evaluados y vías de exposición, lo que indica que las diferencias en sensibilidad están relacionadas con características intrínsecas de cada especie más que con el tamaño corporal. La flupiradifurona mostró la mayor toxicidad y velocidad de acción, seguido de pimetrozina, mientras que ciantraniliprol y flonicamid fueron relativamente menos tóxicos. La exposición oral provocó efectos más severos que el contacto residual en ambas especies. Todos los insecticidas evaluados redujeron significativamente la velocidad de caminata y el despegue de vuelo, lo que implica un compromiso funcional que puede repercutir en el desempeño de actividades esenciales como el pecoreo. En conjunto, estos hallazgos generan por primera vez información experimental sobre la susceptibilidad de estas dos especies de abejas sin aguijón neotropicales a insecticidas neurotóxicos incluso a concentraciones cercanas o menores a las de uso agrícola, contribuyendo a reducir el vacío de conocimiento existente para este grupo de polinizadores. Sin embargo, aún es necesario profundizar en aspectos como las bases moleculares de la susceptibilidad, así como en los efectos a nivel de colonia y en condiciones de campo, para comprender de manera integral la resiliencia limitada de las abejas sin aguijón frente a la exposición a estos agroquímicos.