



MINISTERIO DE  
AGRICULTURA, ALIMENTACION Y  
MEDIO AMBIENTE

DIRECCIÓN GENERAL  
DE SANIDAD DE LA PRODUCCIÓN AGRARIA  
SUBDIRECCIÓN GENERAL  
DE SANIDAD E HIGIENE ANIMAL Y TRAZABILIDAD

31-8-2016

# **INFORME DE RESULTADOS:**

## ***PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS EN ESPAÑA***

### ***2012-2015***

IPC

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD E HIGIENE ANIMAL Y TRAZABILIDAD

COORDINADORES PARTICIPANTES		ORGANISMO DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA
Ares Cenador	Carmen Maria	Consejería de Agro-ganadería y Recursos Autóctonos del Principado de Asturias
Ariza	Javier	Consejería de Agricultura de La Junta de Comunidades de Castilla La Mancha
Berná Serna	Nieves	Consejería de la Presidencia de Agricultura, Pesca, Alimentación y Agua de la Generalitat Valenciana
Cabeza Núñez	Amparo	Consejería de Agricultura y Pesca de la junta de Andalucía
Casasempere Cascales	Jorge	Consejería de la Presidencia de Agricultura, Pesca, Alimentación y Agua de la Generalitat Valenciana
Corzán Ripoll	Jose Manuel	Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente de la Diputación General de Aragón
De Abajo	Miguel Ángel	Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León
Díaz Rey	Roberto	Subdirección Xeral de Ganadería - Consellería do Medio Rural e do Mar - Xunta de Galicia
Esteban Royo	Ángel	Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente de la Diputación General de Aragón
Fernández Somalo	Pilar	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Mº Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente
García Pascualvaca	Alejandra	Consejería de Agricultura y Pesca de la junta de Andalucía
González Breña	Carlos	Consejería de Agricultura, Desarrollo Rural, Medio Ambiente y Energía de la Junta de Extremadura
Mínguez González	Olga	Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León
Oñate Calvo	Maria Luisa	Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente de la Diputación General de Aragón
Oteiza Orradre	Pedro	Dpto. de Desarrollo Rural, Industria, Empleo y Medio Ambiente de la Diputación Foral Navarra
Pérez Cobo	Iratxe	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Mº Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente
Plaza Pérez	Margarita	Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia
Puy Pitarque	D. Juan Ramón	Departamento de Agricultura, Pesca y Alimentación del Gobierno Vasco
Riol Guinea	Rubén	Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León
Rodríguez Correa	Jose Antonio	Consejería de Agricultura, Desarrollo Rural, Medio Ambiente y Energía de la Junta de Extremadura
Romero González	Luis José	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Mº Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente
Soldevilla Yanguas	Jose Fernando	Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente de la Comunidad Autónoma de la Rioja
Soler i Barrasús	Mercè	Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural Generalitat de Catalunya
Soriano González	Mario	Consejería de la Presidencia de Agricultura, Pesca, Alimentación y Agua de la Generalitat Valenciana
Vigo López	Virginia	Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas del Gobierno de Canarias
Vigo Martín	Marta	Consejería de Agricultura de La Junta de Comunidades de Castilla La Mancha
Villarta Rivas	José Luis	Consejería de Agricultura de La Junta de Comunidades de Castilla La Mancha

*Este informe ha sido preparado por Iratxe Pérez Cobo en nombre de la Subdirección General de Sanidad Higiene Animal y Trazabilidad y de las CCAA participantes.*

<b>RED DE LABORATORIOS PARTICIPANTES</b>	<b>PROVINCIA</b>	<b>NOMBRE DEL LABORATORIO</b>
<b>MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente)</b>	Madrid	Laboratorio Central de Veterinaria de Algete-Sanidad Animal (LNR)
<b>MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente)</b>	Madrid	Laboratorio Arbitral Agroalimentario de Aravaca (Departamento de residuos)
<b>Universidad de Almería</b>	Almería	Laboratorio de Referencia de la UE de Residuos de Pesticidas en Frutos y Hortalizas.
<b>Andalucía</b>	Córdoba	Centro Andaluz de Apicultura (Universidad de Córdoba)
<b>Aragón</b>	Zaragoza	Laboratorio Agroalimentario
<b>Asturias</b>	Asturias	Laboratorio de Sanidad Animal
<b>Canarias</b>	Tenerife	Laboratorio de Sanidad Animal
<b>Castilla-La Mancha</b>	Guadalajara	Laboratorio de Patología Apícola de Marchamalo
<b>Castilla y León</b>	León	Laboratorio Regional de Sanidad Animal de Castilla y León
<b>Cataluña</b>	Lleida	Laboratori de Sanitat Animal de Catalunya
<b>Extremadura</b>	Badajoz	Laboratorio de Sanidad Animal
<b>Galicia</b>	Lugo	Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia
<b>Madrid</b>	Madrid	Regional de Sanidad Animal
<b>Murcia</b>	Murcia	Laboratorio Agroalimentario y de Sanidad Animal
<b>Navarra</b>	Navarra	Laboratorio de Calidad Agroalimentaria de Navarra
<b>País Vasco</b>	Bizkaia	NEIKER- Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario
<b>La Rioja</b>	La Rioja	Laboratorio Regional
<b>Valencia</b>	Valencia	Unidad de Análisis de Sanidad Animal

## SUMARIO

*Las abejas, Apis mellifera, son insectos polinizadores esenciales para el mantenimiento de los ecosistemas y las producciones agrícolas. Sin embargo los peligros sobre ellas no han dejado de incrementar en los últimos años registrándose mortalidades muy elevadas de colonias de abejas en numerosos países europeos y del norte de América. No se ha identificado una única causa en estas pérdidas y las conclusiones arrojadas en diferentes estudios son diversas, existiendo muchos factores de riesgo que afectan a las abejas tanto bióticos (tales como parásitos, virus, bacterias u hongos) como abióticos (clima, manejo, uso pesticidas y tratamientos acaricidas, etc.). Por otro lado, hasta el año 2012 no existía en España ni en la Unión Europea un sistema armonizado que permitiera evaluar la mortalidad y la prevalencia de los principales trastornos apícolas. Con la puesta en marcha del Programa de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas (EPILOBEE 2012-2014) y su continuación en España (2012-2016) se ha podido establecer por vez primera la situación de mortalidad en España y en la Unión Europea y, simultáneamente, investigar las principales enfermedades de las abejas basados en una definición de caso de enfermedad y protocolos de inspección estandarizados, ampliándose en España a la investigación de casos de intoxicación y residuos de pesticidas.*

*La **mortalidad invernal** en España para el periodo 2012-2013 fue del 10,2%, observándose una marcada variación geográfica, donde las mortalidades superiores a la media se detectaron en el oeste peninsular y las menores en el este peninsular. En 2013-2014 se redujo de forma significativa al 5,5% para de nuevo aumentar durante el periodo 2014-2015 al 11,22%, sin llegar a apreciarse ninguna variación importante por territorios. Los valores detectados durante las dos primeras campañas siguieron el patrón de mortalidades detectadas en los países del centro y sur europeo en el marco de EPILOBEE (2012-2014). La climatología podría considerarse un factor de riesgo en la mortalidad invernal, de forma que la reducción de mortalidad registrada durante el invierno de 2013-2014 podría deberse a que fue un invierno más cálido y favorable que el invierno 2012-2013, largo y muy frío en todos los países europeos (Marion Laurent, et al 2015). Su papel debe ser estudiado conjuntamente con otros factores de riesgo como la presencia de agentes patógenos como el parásito Varroa destructor, Nosema spp o la de residuos de pesticidas. Por otro lado, no hay establecidos valores históricos en relación a los niveles aceptables de mortalidad invernal en Europa ni en España. Distintas publicaciones científicas consideran un valor del 10% como límite aceptable de tasa de mortalidad invernal para la apicultura europea, siendo éste el considerado para la evaluación de este informe.*

*La **mortalidad primaveral** registrada en España durante las tres campañas analizadas ha sido siempre inferior a la mortalidad invernal, como ha sucedido en la mayoría de los EEMM participantes en EPILOBEE, variando entre 6,6 y 4,2%, siendo la campaña 2013-2014 el periodo donde se registró la menor mortalidad primaveral.*

*La **varroosis** es una patología de las abejas melíferas provocada por el ácaro Varroa destructor, Anderson & Trueman (Acari: Varroidae), que constituye en la actualidad el principal problema de los apicultores europeos. En España el Real Decreto 608/2006,*

establece medidas específicas en para el caso de la varroosis, obligando a la aplicación de al menos un tratamiento al año (otoño), estando esta medida cofinanciada por la línea B de ayudas establecidas en el Plan Nacional Apícola (2014-2016). Los resultados obtenidos durante las tres campañas indican una elevada presencia en otoño del ácaro Varroa destructor, así como un aumento progresivo de la infestación otoñal de las tres campañas, tanto en apiarios como en colonias, y del porcentaje de apiarios con parasitaciones moderadas a muy graves. Así, en otoño, periodo en el que un 84,5% de los apicultores ya habían realizado un tratamiento previo a la primera visita, la prevalencia promedio fue del 76,6% y 41,5% en los apiarios y colonias de abejas estudiadas de forma sistemática. En relación a los **niveles de infestación**, un promedio del 60,9% de los **apiarios** manifestaron parasitaciones muy leves o nulas (<1%), y un 18,6% presentaron parasitaciones moderadas a muy graves (>5%).

La evolución de la **prevalencia clínica de varroosis** a lo largo de las tres campañas ha mostrado variaciones anuales entre el 23,7% y el 11,7%, donde la menor detección clínica se produjo en la campaña 2014-15, siendo el otoño el periodo donde se han encontrado las prevalencias clínicas más elevadas (13,1%).

En el **otoño** la presencia de **Nosema spp** en los apiarios fue elevada durante las tres campañas, detectándose en un 75,1% de los apiarios. La prevalencia en las colonias fue siempre inferior, afectando a un promedio de 30,3 % en esta época. De los estudios de tipificación molecular se deriva que el 92,4% de las colonias positivas lo eran exclusivamente a *Nosema ceranae* y un 5,6% a *Nosema Apis*, lo que confirma un desplazamiento de *Nosema apis* por *Nosema ceranae*. El porcentaje restante se debieron a infecciones mixtas. La **detección anual de nosemosis clínica** no fue tan elevada y varió entre el 4,4% y 6,3% anual, siendo la campaña 2014-2015 la que mayor prevalencia mostró.

La **loque americana** afectó anualmente a un 5,1 % de los apiarios investigados durante los tres años, viéndose incrementada su prevalencia a lo largo de los tres años y de forma significativa durante la campaña 2014-15, hasta un 8,1%, variando las prevalencias por visita de cada apiario entre el 0-4,1%. No se detectó ningún caso de **loque europea** en todas las visitas realizadas.

En relación a los virus más prevalentes en España hay que destacar el **Virus de las alas deformadas (DWV)**, presente en un 99% de los apiarios y el 83 % de las colonias de abejas investigadas sistemáticamente en otoño de 2012. Sin embargo, su prevalencia clínica anual ha sido muy baja durante todas campañas, siempre por debajo del 1,5%. El **virus de la parálisis aguda (ABPV)** se detectó en un 12,7% de los apiarios y en un 7,2% de las colonias investigadas de forma sistemática en otoño de 2012. Sólo se detectó clínicamente en un 1,6% de los apiarios durante la campaña 2013-14.

En todas las campañas la prevalencia clínica anual del **Virus de la parálisis crónica (CBPV)** se ha situado siempre por debajo del 2,5% de los apiarios investigados.

Durante todo este periodo de estudio no se ha detectado ningún **parásito exótico** en España (**Aethina tumida, Tropilaelaps spp**). Sin embargo, se debe tener en cuenta que desde septiembre de 2014, *Aethina tumida* está presente en el sur de Italia, donde se confirmaron 61 y 25 focos en 2014 y 2015 respectivamente.

En relación a la **vigilancia sistemática de pesticidas** llevada a cabo durante la campaña 2012-13, en un 99,9% de las muestras se ha detectado algún tipo de pesticida. Se han detectado 104 residuos de pesticidas de entre los 306 analizados, variando el número de pesticidas encontrados en cada muestra entre 0 y 18. La concentración total de pesticidas en las muestras positivas varió entre 36 y 21.710  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ . Un 54% de las muestras analizadas contenían una concentración total de residuos de pesticidas comprendida entre 200 y 1500  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ . En un 82,1% de las muestras se detectó algún residuo de **pesticida considerado muy tóxico para las abejas**, siendo un 57,2% las que presentaron de 1 a 2 pesticidas y en un 41,6% las concentraciones variaron entre 5-50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ . En relación a los **pesticidas sujetos a restricciones por la Directiva 2010/21/UE** (neonicotinoides y Fipronil) no se detectaron en ningún caso ni Clotianidina ni Tiametoxam. Las detecciones de Imidacloprid y Fipronil fueron muy poco frecuentes (3,4 y 0,5% de las muestras respectivamente) y sólo en un caso se detectaron a concentraciones que podían suponer un riesgo de toxicidad.

Se han investigado 47 **sospechas de intoxicación durante los tres años de vigilancia** de las cuales se han confirmado un 53%. La evaluación de toxicidad demostró que en un 93% de los casos confirmados aparecían pesticidas a concentraciones que originaban T50s por contacto inferiores a dos días. Los principales pesticidas involucrados en estas intoxicaciones fueron Chlorpyrifos (78,6%), Coumaphos (64,3%) y Acrinathrina (42,9%).

<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	9
<b>2.</b>	<b>DESCRIPCIÓN DEL PVP SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS</b>	12
<b>2.1.</b>	<b>OBJETIVOS DEL PROGRAMA</b>	12
<b>2.2.</b>	<b>ENFERMEDADES OBJETO DE VIGILANCIA DEL PROGRAMA</b>	12
<b>2.3.</b>	<b>PROTOCOLO DE ESTUDIO.</b>	13
<b>2.3.1.</b>	<b>PROTOCOLO DE VIGILANCIA.</b>	14
<b>2.3.2.</b>	<b>RECOGIDA Y GESTIÓN DE DATOS.</b>	17
<b>2.3.3.</b>	<b>CÁLCULO DE LA PREVALENCIA DE LAS ENFERMEDADES A NIVEL DE APIARIO.</b>	18
<b>2.3.4.</b>	<b>CÁLCULO DE LAS TASAS DE MORTALIDAD A NIVEL DE APIARIO.</b>	18
<b>2.3.5.</b>	<b>ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y EVALUACIÓN DE RIESGO DE INTOXICACIÓN POR RESIDUOS DE PESTICIDAS.</b>	20
<b>2.3.6.</b>	<b>METODOLOGÍA ESTADÍSTICA</b>	22
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE LAS PRÉDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2012-15</b>	29
<b>3.1.</b>	<b>APIARIOS Y COLONIAS INSPECCIONADAS</b>	29
<b>3.2.</b>	<b>ÍNDICES DE MORTALIDAD</b>	31
<b>3.2.1.</b>	<b>MORTALIDAD INVERNAL</b>	31
<b>3.2.2.</b>	<b>MORTALIDAD PRIMAVERAL</b>	37
<b>3.2.3.</b>	<b>MORTALIDAD ANUAL</b>	40
<b>3.3.</b>	<b>ENFERMEDADES DE LAS ABEJAS</b>	<b>45</b>
<b>3.3.1.</b>	<b>INFESTACIÓN POR <i>Varroa destructor</i> Y VARROOSIS</b>	45
3.3.1.1.	Infestación por <i>Varroa destructor</i>	45
3.3.1.2.	Varroosis	58
3.3.1.3.	Aplicación de tratamientos para el control de la varroosis	63
<b>3.3.2.</b>	<b>INFESTACIÓN POR <i>Nosema spp</i> y NOSEMOSIS</b>	67
3.3.2.1.	Tasa de infestación de <i>Nosema spp</i>	67
3.3.2.2.	Nosemosis	80
<b>3.3.3.</b>	<b>VIRUS DE LAS ALAS DEFORMADAS (DWV),</b>	83
<b>3.3.4.</b>	<b>VIRUS DE LA PARÁLISIS AGUDA (ABPV)</b>	85
<b>3.3.5.</b>	<b>VIRUS DE LA PARÁLISIS CRÓNICA</b>	87
<b>3.3.6.</b>	<b>LOQUE AMERICANA</b>	91
<b>3.3.7.</b>	<b>LOQUE EUROPEA</b>	93
<b>3.3.8.</b>	<b>PARÁSITOS EXÓTICOS: <i>Aethina tumida</i> y <i>Tropilaelaps spp</i></b>	93
<b>3.4.</b>	<b>VIGILANCIA SISTEMÁTICA DE RESIDUOS DE PESTICIDAS EN PANAL DE POLEN (OTOÑO 2012, VERANO 2013)</b>	<b>94</b>
<b>3.4.1.</b>	<b>ANÁLISIS DESCRIPTIVO</b>	<b>94</b>
3.4.1.1	Residuos de pesticidas detectados	94
3.4.1.2	Residuos de pesticidas muy tóxicos para las abejas	95
3.4.1.3	Distribución de residuos de pesticidas por frecuencia de detección	98
<b>3.4.2.</b>	<b>EVALUACIÓN DE RIESGO</b>	<b>104</b>
3.4.2.1	Otoño 2012	105
Evaluación de riesgo por intoxicación aguda	105	
Evaluación de riesgo por toxicidad acumulada	106	

	Distribución geográfica del riesgo acumulado por apiario de los pesticidas con un riesgo superior al 5%	107
3.4.2.2	Verano 2013	111
	Evaluación de riesgo por intoxicación aguda	111
	Evaluación de riesgo por toxicidad acumulada	111
	Distribución geográfica del riesgo acumulado por apiario de los pesticidas con un riesgo superior al 5%	113
3.4.2.3	Análisis de la Toxicidad acumulada por apiario	118
3.4.2.4	Valoración estadística.	119
<b>3.4.3.</b>	<b>EVOLUCIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE PESTICIDAS DESDE EL AÑO 2003 EN ESPAÑA</b>	<b>120</b>
<b>3.4.4.</b>	<b>COMPARATIVA DE ESPAÑA CON LA SITUACIÓN EN OTROS PAÍSES SOBRE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE PESTICIDAS EN CERA Y POLEN</b>	<b>122</b>
<b>3.5.</b>	<b>INVESTIGACIÓN DE SOSPECHAS DE INTOXICACIÓN (2012-13, 2013-14, 2014-15)</b>	<b>124</b>
<b>4.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>126</b>
<b>5.</b>	<b>PRINCIPALES CONCLUSIONES</b>	<b>133</b>
<b>ANEXO I:</b>	<b>Pesticidas analizados en las muestras de panal de polen y abejas.</b>	<b>135</b>
<b>ANEXO II:</b>	<b>Listado de pesticidas: Toxicidad aguda (Dosis Letal 50) por contacto para las abejas. Autorización europea y uso habitual de cada pesticida. Concentraciones en panal asociadas a toxicidad suponiendo un contacto diario de 1 gr de panal de polen por abeja.</b>	<b>138</b>
<b>ANEXO III:</b>	<b>Técnicas de laboratorio utilizadas para el análisis de muestras recogidas.</b>	<b>142</b>
<b>ANEXO IV:</b>	<b>Referencias bibliográficas</b>	<b>143</b>



## 1. INTRODUCCIÓN

Las amenazas sobre la cabaña apícola no han dejado de incrementar en los últimos años. Se han registrado mortalidades muy elevadas de colonias de abejas en numerosos países europeos y del norte de América (van Engelsdorp, D. et al, 2008 y 2011; Ellis, J.D. et al, 2010; Higes M. et al, 2005, 2006 y 2010). En España estas mortalidades invernales en algunas regiones fueron superiores al 40% (Higes M. et al, 2005), lo que ha generado grandes pérdidas económicas a los apicultores y preocupación de los servicios veterinarios, además de una gran atención social.

Científicos americanos han denominado a este fenómeno “Síndrome de Despoblamiento de las Colmenas (SDC)”. Este fenómeno también se ha descrito en otras partes del mundo, como en Oriente Medio y Japón, aunque el examen de los registros históricos han mostrado que tales pérdidas no eran inusuales (Neumann, P. et al, 2010).

En las colonias de abejas colapsadas o muertas el SDC ha sido caracterizado por la presentación de algunos de los síntomas siguientes: una completa ausencia de abejas adultas en colonias con pocas o ninguna abeja adulta dentro o en los alrededores de la colmenas; presencia de cría operculada y de reservas de alimento (Ellis, J.D. et al, 2010).

Numerosos investigadores europeos y del Norte de América han estado trabajando intensamente para encontrar una explicación a esta masiva pérdida de colonias de abejas. (Neumann, P. et al, 2010). Sin embargo, las conclusiones de los estudios llevados a cabo por los diversos grupos de trabajo científicos han arrojado conclusiones diversas, no habiéndose identificado una única causa (EFSA Bee mortality and bee surveillance in Europe, 2009).

En España, las investigaciones efectuadas por varios grupos de investigación han mostrado resultados diversos. Algunos estudios señalan la presencia del hongo *Nosema ceranae* como posible responsable del 88% de la despoblación de abejas durante el otoño del año 2005 (Higes M. et al, 2010). Otros estudios atribuyen estas pérdidas a factores medioambientales (falta de disponibilidad de polen y néctar) y de manejo un papel importante en el colapso de las colmenas (Gómez Pajuelo, A. et al, 2008). En España, este nivel de virulencia de *Nosema ceranae* podría deberse a un fenómeno regional (Moritz, R. et al, 2010; Paxton, R.J., 2010). En otros países donde este hongo es endémico no se han registrado pérdidas masivas de colonias de abejas (Australia) o bien no se ha podido establecer una relación causal directa con este patógeno (EEUU, Canadá, Francia, Alemania). En EEUU las primeras hipótesis han atribuido al SDC un origen multifactorial sin un orden de importancia particular. Por otro lado, diversos estudios desarrollados en Canadá, Francia, Alemania y Polonia han señalado a *Varroa destructor* como el principal factor de mortalidad invernal, sin descartar la influencia de otros patógenos y factores (virus, hongos-*Nosema spp.*, debilidad de las colonias) (Genersch E. et al, 2010; Guzmán-Novoa E. et al, 2010, Chauzat M.P. et al, 2009).

Las colonias de abejas son ciertamente bioindicadores de la contaminación ambiental. Por ello, además de las anteriores amenazas, otros estudios sugieren que numerosos agroquímicos utilizados para el control de plagas en cultivos agrícolas así como varios de los acaricidas empleados en la lucha contra *Varroa* podrían tener un efecto negativo considerable sobre la estabilidad y supervivencia de las colonias de abejas (Wu Judy, Y. et al, 2011; Whitehorn, P.R. et al, 2012; Scheneider C.W. et al, 2012; Orantes-Bermejo F.J. et al 2010; Belzunces L.P. et al, 2012).

Recientemente la EFSA ha comparado la exposición real actual de las abejas a varios neonicotinoides (Imidacloprid, Thiamethoxan y Clothianidina) y fipronil con los valores de exposición investigados en dos estudios sobre los efectos subletales que estos neonicotinoides tenían sobre las abejas (Whitehorn, P.R. et al, 2012; Scheneider, C.W. et al, 2012), llegando a la conclusión de que podría haber riesgos de mortalidad subletal para estos dos últimos, lo que ha conllevado la restricción de su uso sólo a profesionales así como a una prohibición de su uso en tratamientos foliares, suelo de cultivos atractivos para las abejas (excepto invernaderos) y uso y venta de semillas tratadas con productos fitosanitarios que contengan estas sustancias activas a partir de diciembre de 2013 (Directiva 2010/21/UE de la Comisión; Reglamento de ejecución (UE) nº 485/2013 y Reglamento de ejecución (UE) nº 781/2013 de la Comisión). En España no disponemos de suficientes estudios que determinen qué influencia han tenido la liberación de estas sustancias activas en la despoblación de nuestra cabaña apícola.

En 2010 y ante la falta de sistemas de vigilancia armonizados en los países de la UE, la Comisión Europea publicó la **“Comunicación sobre la salud de las abejas”** en la que señalaba la intención de iniciar un programa de vigilancia piloto a nivel de la UE, que permitiera una estimación apropiada de las pérdidas de colonias de abejas. El documento de **“Conclusiones del Consejo sobre la Comunicación de la Comisión (2011)”**, en cuya elaboración España participó intensamente, animó a continuar los esfuerzos en materia de sanidad apícola. Finalmente en 2011, la Comisión publicó la Decisión de Ejecución relativa a una ayuda financiera para subvencionar estudios voluntarios de vigilancia de las desapariciones de colonias de abejas durante el periodo 2012-13 y 2013-2014, primer programa de vigilancia armonizado que se implementaba a nivel europeo y que ha cubierto un máximo del 70% de los costes bajo la coordinación del **Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para la Salud de las Abejas Sophia Antipolis-ANSES (Francia)**, en el que España participó, junto con otros 16 Estados Miembros seleccionados.

El Programa de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas es de carácter voluntario. Su **objetivo** es establecer la situación de mortalidad a nivel de la Unión Europea y simultáneamente investigar las principales enfermedades de las abejas basadas en una definición de caso de enfermedad y protocolos de inspección estandarizados.

Los datos recogidos a lo largo de los tres años de ejecución del programa son diversos: datos del apicultor y del apiario, mortalidad invernal y primaveral, prevalencia de enfermedades,

uso de medicamentos veterinarios, gestión y manejo de la explotación, factor de riesgo de fitosanitarios, etc. Así mismo, se han llevado a cabo estudios estadísticos sobre la correlación entre la mortalidad y los distintos factores de riesgo, algunos de los cuales aún están bajo análisis.

Con el objetivo de facilitar la recogida y el tratamiento automático de la información el MAGRAMA ha desarrollado **APINET**, una base de datos a la que tienen acceso todas las CCAA participantes del programa.

Una vez finalizado este programa de vigilancia en la UE, España decidió prorrogar el programa durante al menos dos años más (2013-14 y 2015-16) al margen de la cofinanciación europea con la participación voluntaria de las CCAA para así poder dilucidar la tendencia de la evolución de las mortalidades de las colonias de abejas y la prevalencia de sus principales enfermedades durante un periodo más extenso. Además, el programa español ampliaba los objetivos iniciales europeos profundizando en el estudio de *Nosema spp* e investigando la presencia de fitosanitarios en la colonia de abejas y los casos de intoxicación ocurridos en los apiarios seleccionados.

Este informe tiene como objetivo presentar los principales resultados obtenidos en España a lo largo de tres años de estudio finalizados y comparar la evolución de los mismos en el tiempo.

Cabe destacar el gran esfuerzo que se ha llevado a cabo en cuanto a la participación del sector apícola y la ejecución y coordinación del programa por parte de los inspectores apícolas participantes, laboratorios, coordinadores autonómicos y de la Subdirección General de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad. Por otro lado, hay que destacar el gran esfuerzo que ha implicado la grabación, depuración y análisis de datos incluidos en APINET, para garantizar la fiabilidad de los resultados.

Durante los **tres años de investigación** (otoño 2012- otoño 2015) se han visitado 1.468 apiarios e investigado un total 16.140 colonias seleccionadas al azar y 87 colonias fuera del muestreo al azar. El número de muestras recogidas ha sido 19.823, sobre las que se han realizado 21.511 análisis laboratoriales de los cuales 384 fueron análisis de residuos de pesticidas que incluían la determinación de un total de 306 residuos en cada muestra.

## 2. DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA PILOTO SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2012-13, 2013-2014, 2014-2015.

### 2.1. OBJETIVOS DEL PROGRAMA.

Los principales objetivos que se han establecido para el Programa de vigilancia piloto de las enfermedades de las abejas son la armonización de los procedimientos de vigilancia activa a nivel nacional y de la UE, así como el apoyo en la implementación de estudios de prevalencia para las enfermedades prioritarias, la estimación de las pérdidas de colonias de abejas durante el invierno y primavera y la vigilancia sistemática de residuos de pesticidas para la evaluación de sus posibles riesgos e investigación de sospechas de intoxicación.

### 2.2. ENFERMEDADES OBJETO DE VIGILANCIA EN EL PROGRAMA.

Se han considerado los patógenos más importantes respecto a prevalencia y daño potencial conocido sobre las colonias de abejas y aquéllos regulados por la normativa europea (*Aethina tumida* -Pequeño escarabajo de la colmena-, *Tropilaelaps spp*, Loque americana), y por la OIE (*Aethina tumida* -Pequeño escarabajo de la colmena-, *Tropilaelaps spp*, Varroosis, Loque americana y Loque europea), que afectan por tanto al movimiento intracomunitario e internacional (importaciones y exportaciones). Así mismo se han tenido en cuenta otras enfermedades que por su importancia juegan un papel sobre la salud de las abejas como la nosemosis, el virus de las alas deformadas (DWV), el virus de la parálisis aguda (ABPV) y el virus de la parálisis crónica (CBPV). Eventualmente se han tomado muestras de otras posibles patologías y depredadores observados en las visitas como *Ascospaera apis*; *Acarapis woodi* o *Vespa velutina*.

En España se han realizado varios estudios sobre la frecuencia y concentraciones de residuos de pesticidas en cera y polen de abejas (Orantes-Bermejo, F. J, et al 2010, Bernal, J. et al, 2010), pero nunca se ha llevado a cabo una evaluación de riesgo en relación a su toxicidad para las abejas. Por otro lado, para dar cumplimiento con las exigencias de la Directiva 2010/21/UE de la Comisión de 12 de marzo de 2010, por la que se modifica el anexo I de la Directiva 91/414/CEE por lo que respecta a las disposiciones específicas relativas a la Clotianidina, el Tiametoxam, el Fipronil y el Imidacloprid, y a pesar de que no estar incluida la **vigilancia de pesticidas** potencialmente dañinos para las abejas en el programa europeo, España ha ampliado los objetivos del estudio europeo incluyendo una vigilancia sistemática de la presencia de 306 residuos de pesticidas en panal de polen en las visitas de otoño y de verano de 2012-2013 e investigación de las sospechas de intoxicación producidas por pesticidas en el periodo 2012-2015.

### 2.3. PROTOCOLO DE ESTUDIO.

El Programa de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas 2012-2015 se ha desarrollado conforme al diseño elaborado por el Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para la Salud de las Abejas Sophia Antipolis-ANSES (Francia) con el objetivo de recoger información sobre una muestra representativa de apiarios y colonias en cada Estado Miembro participante. El programa se basa en una vigilancia activa apoyada en las visitas llevadas a cabo en tres periodos específicos (**otoño, primavera y verano**) por inspectores específicamente formados sobre un número de colmenares representativos seleccionados al azar. A lo largo de los programas han participado en España más de 85 inspectores apícolas.

Tanto los diferentes programas como sus respectivos protocolos de vigilancia, formularios de inspección y fichas de enfermedades están disponibles en el siguiente enlace de la página web del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (<http://rasve.magrama.es/Publica/Programas/Normativa.asp>).

El muestreo se ha llevado a cabo en dos etapas: una selección primaria de apiarios al azar y en una segunda etapa una selección de colonias al azar. Para ello se elaboró un procedimiento armonizado de muestreo para todas las Comunidades Autónomas (CCAA), basándose en el Registro General de Explotaciones Ganaderas (REGA), en el que se estimaba el número de apiarios por cada explotación registrada para asegurar que todos tenían la misma probabilidad de ser elegidos.

En España el diseño del muestreo de apiarios ha tenido en cuenta a todas las CCAA. El número de colmenares investigados fue calculado de manera que al menos permitiera detectar una prevalencia de mortalidad y enfermedades de un 15% con un error del 5% sobre una población total calculada de 100.000 apiarios.

El número de colonias inspeccionadas en cada apiario se seleccionó al azar de tal forma que permitiera detectar una prevalencia del 20% en función de su número de colmenas. Todas las CCAA que participaron lo hicieron siguiendo un protocolo estandarizado que se elaboró en la Subdirección General de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad (SGSHAT).

En la tabla siguiente se recogen los apiarios asignados para cada CCAA en el periodo estudiado:

CCAA	Nº Apiarios 2012-13	Nº Apiarios 2013-14	Nº Apiarios 2014-15
Andalucía	44	44	0
Aragón	10	10	10
Asturias	2	2	2

Baleares	0	0	0
Canarias	2	2	0
Cantabria	0	0	0
Castilla-La Mancha	15	13	12
Castilla y León	32	31	29
Cataluña	8	8	8
Extremadura	36	33	36
Galicia	8	9	8
Madrid	0	0	2
Murcia	8	8	0
Comunidad F. Navarra	2	1	2
País Vasco	3	0	0
La Rioja	2	2	2
Comunidad Valenciana	32	27	0
<b>Total</b>	<b>204</b>	<b>189</b>	<b>111</b>

**Tabla 1:** Número de apiarios seleccionados por CCAA

Cada CCAA, dada la diversidad climatológica a nivel nacional, ha definido cuál era el mes más adecuado para la realización de cada visita dentro de los límites establecidos por el programa. En una encuesta detallada se recogieron datos sobre las prácticas apícolas, manifestaciones clínicas de las principales patologías (infecciosas y parasitarias) y de las muestras recogidas.

La red de laboratorios designados para la realización de los análisis de las tasas de infestación de *Varroa destructor* y de la detección de posibles ácaros sospechosos de *Tropilaelaps spp* está constituida por los Laboratorios Oficiales de las CCAA bajo la coordinación del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) para las enfermedades de las abejas (Laboratorio Central de Veterinaria de Algete), que ha ejecutado el resto de los análisis de las enfermedades así como la confirmación ante sospechas de parásitos exóticos (ver pág 4. Red de laboratorios participantes).

El Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para Residuos de Pesticidas en Frutas y Hortalizas de la Universidad de Almería y el Laboratorio Arbitral Agroalimentario de Aravaca del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente han sido los designados para la realización de los análisis de residuos de pesticidas en panal de polen y abejas.

### 2.3.1. PROTOCOLO DE VIGILANCIA

Para estimar la mortalidad invernal y primaveral, así como la presencia de las principales enfermedades, se han realizado tres visitas por inspectores apícolas a lo largo de cada periodo de estudio: una visita otoñal (previa al invierno), primaveral (a la salida del invierno) y de verano (coincidiendo con la máxima actividad de la colonia de abejas). En cada visita se recogían en un formulario específico las actividades de explotación, sintomatología clínica

encontrada de las principales enfermedades infecciosas y parasitarias, así como sospechas de intoxicación. Cada colonia seleccionada al azar ha sido completamente examinada. Para cada enfermedad se ha establecido un protocolo de vigilancia sintomática en todos los casos y sistemática para el estudio de:

- la presión de infestación en otoño de *Varroa destructor*, *Nosema spp*;
- la determinación de la prevalencia otoñal (2012) del Virus de las alas deformadas (DWV), Virus de la parálisis aguda (ABPV) y la prevalencia estival (2013) del Virus de la parálisis crónica (CBPV);
- la presencia de residuos de pesticidas en otoño y en verano (2012-13).

El ácaro ***Varroa destructor*** es el responsable de la varroosis, la principal enfermedad parasitaria que afecta a *Apis mellifera*. La presencia de este parásito provoca enormes pérdidas descritas por todo el mundo (de la Rúa, P. et al, 2009; Le Conte, Y. et al, 2010; Guzmán Novoa, E. et al, 2010). Se trata de un ácaro que parasita tanto a la cría como a la abeja adulta. La varroosis es la manifestación clínica de presiones elevadas del parásito. Como consecuencia a su infestación las abejas nacientes presentan una menor esperanza de vida, cambios en su comportamiento y una mayor susceptibilidad a otras enfermedades. Además de su vigilancia clínica, para evaluar la presión parasitaria de cada colonia se ha implementado un muestreo sistemático adicional de 300 abejas vivas del interior de la colonia durante la visita de otoño de los programas para el recuento laboratorial de parásitos de cada muestra.

Por otro lado, se han acumulado evidencias de asociación con el ácaro *Varroa destructor* con el Virus de las alas deformadas (DWV) y el Virus de la parálisis aguda (ABPV).

El **virus de las alas deformadas (DWV)** es un virus ampliamente distribuido a nivel mundial con prevalencias que lo sitúan en un 97% en Reino Unido, un 97% en Francia (Tentcheva, D. et al, 2004). En España estudios recientes mostraron prevalencias diversas según los años: 84% entre los años 2004-2006 (Kukielka, D. et al, 2008) y prevalencias del 18,6% y 5,9% durante el año 2006 y 2007 (Antúnez, K. et al, 2012). Además, se han acumulado evidencias de asociación con el ácaro *Varroa destructor* (European Commission, 2008) y la variante A del virus DWV, muy virulenta (Dainat et al, 2012; Martín et al, 2012). Mucho más recientemente se han descrito otras dos variantes más: virus DWV-B, no letal para las abejas (Mordecai et al, 2016; Martín R. et al, 2012) y el virus DWV-C recombinante de las variantes A y B (Mordecai et al, 2016). En este programa se ha evaluado la presencia del virus de las alas deformadas (DWV) de forma sistemática durante el otoño de la campaña de 2012-2013 y su prevalencia clínica a lo largo de todas las campañas (2012-2015), sin que se hayan determinado las posibles variantes del mismo.

El **Virus de la Parálisis Aguda (ABPV)** normalmente produce infecciones inaparentes, pero asociado a *Varroa destructor* se ha demostrado que puede provocar parálisis y mortalidad en las abejas (Bernardi, S. et al, 2015), siendo sus síntomas más agudos que los producidos por el Virus de la Parálisis Crónica (European Commission, 2008).

Este programa ha dado la posibilidad de confirmar la ausencia en España de dos parásitos exóticos: ***Aethina tumida*** (**Pequeño escarabajo de la colmena**) y ***Tropilaelaps spp.*** Tanto los parásitos adultos como las larvas del pequeño escarabajo de la colmena, *Aethina tumida*, se alimentan de cría de abejas, miel y polen causando la muerte de la cría así como la fermentación y destrucción de los cuadros. Elevadas parasitaciones pueden provocar la huida de las abejas de la colmena. *Tropilaelaps spp.* es un ácaro que parasita a la cría de abeja provocando malformaciones y mortalidad de las larvas y pupas, dando lugar a un patrón de cría irregular.

Los hongos ***Nosema Apis*** y ***Nosema ceranae*** son los agentes causales de la **nosemosis** tipo A y tipo C respectivamente, descrita por su importancia en el manual de diagnóstico de la OIE (2013) y objeto de varias investigaciones dada sus implicaciones sanitarias (Higes, M. et al, 2013). Debido a su importancia, España ha basado su vigilancia no sólo en la sintomatología, tal y como está definido en el estudio europeo, sino además en la valoración sistemática de la presión parasitaria en cada colonia seleccionada al azar en todas las visitas de otoño. Durante la campaña 2012-13 el muestreo sistemático se realizó sobre la totalidad de los apiarios seleccionados, mientras que en los programas 2013-14 y 2014-15 se llevó a cabo sobre 1/3 de los apiarios.

*Paenibacillus larvae*, agente causal de la Loque americana, y *Melissococcus plutonius*, agente causal de la Loque europea, son dos de las principales enfermedades bacterianas que afectan a las abejas. La **Loque americana** se considera una enfermedad muy contagiosa, sus esporos infectan a las larvas de las abejas provocando, en las que están operculadas, una putrefacción que conlleva su muerte. Las larvas se vuelven viscosas y se observa un cambio del color nacarado a marrón. Esto da origen a un patrón de cría en mosaico debido a que las larvas muertas son retiradas por las abejas nodrizas. La **Loque europea** provoca daño en la cría no operculada, las larvas mueren poco antes de ser selladas, lo que resulta igualmente en un patrón de cría irregular.

También se ha investigado la manifestación clínica del **Virus de la parálisis crónica (CBPV)**. Además, durante la visita del verano de 2013 se llevó a cabo un muestreo con carácter sistemático para evaluar la prevalencia a nivel de apiario y el grado de infección.

Para la investigación de **residuos de pesticidas** el panal de polen y las abejas han sido las matrices elegidas para la vigilancia sistemática (panal de polen) y la vigilancia sintomática (panal de polen y abejas). El panal de polen es una matriz mixta (cera y polen ensilado), tratándose de un buen marcador biológico de la exposición aguda y crónica a residuos en las colonias de abejas tanto medioambiental como de manejo apícola. La cera es una ruta significativa de exposición por contacto tanto para las abejas (nodrizas, limpiadoras y constructoras) como para las larvas y el polen ensilado lo es para las abejas nodrizas y las larvas, siendo además una fuente de alimento fundamental para las larvas y abejas invernantes (EFSA Journal, 2012). La acumulación de residuos en cera y su traspaso al polen



ensilado pueden jugar un papel importante en la supervivencia de las colonias de abejas. La abeja también es un indicador de la exposición aguda a contaminantes. Cabe destacar el papel de la cera como preservador de muchos principios activos hidrofóbicos en el tiempo, como los acaricidas e insecticidas, donde se acumulan y enlentece su degradación (Josep Serra-Bonvehí, et al 2010). No ocurre lo mismo con las abejas, donde los pesticidas se metabolizan en el transcurso de unos pocos días.

Se han analizado un total de 306 pesticidas con límites de cuantificación entre 0,1 y 10,0 µg/kg en las 386 muestras analizadas (2012-2013, 2013-14, 2014-15), utilizando el método de extracción QuEChERS modificado y posterior análisis mediante GC-MS/MS y micro-LC-MS/MS (ver anexo I).

La **definición de caso de cada enfermedad** fue provista por el Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para la Salud de las Abejas y discutidas entre los distintos Estados Miembros a lo largo de los grupos de trabajo celebrados. En el protocolo del programa se describen detalladamente las muestras y las técnicas de diagnóstico que deben ser utilizadas para tipo de muestreo y enfermedad.

Para la garantizar una aplicación armonizada de los protocolos de inspección se llevaron a cabo dos cursos de formación destinados tanto a los coordinadores de las CCAA como a los inspectores participantes. Para facilitar su acceso toda la información de los cursos se publicó en la página web del MAGRAMA (<http://rasve.magrama.es/Publica/Formacion/formacion.asp>):

Curso de formación 4 de julio de 2012

Curso de formación 3 de julio de 2014

Por otro lado, el LNR ha asistido técnicamente a los laboratorios oficiales de las CCAA a lo largo de todo el programa e impartido un curso de formación previo al inicio del programa para el diagnóstico de varroosis, así como detección y recuento de *Varroa destructor* y de parásitos exóticos (*Aethina tumida* y *Tropilaelaps spp*). Todas las técnicas de diagnóstico utilizadas pueden consultarse en el Anexo III.

### **2.3.2. RECOGIDA Y GESTIÓN DE DATOS**

Durante cada visita los inspectores apícolas completaban un formulario de inspección detallado sobre las prácticas apícolas y observaciones clínicas. Los análisis de laboratorio se realizaron sobre las muestras tomadas en cada visita. Los datos se recogieron de forma estandarizada para garantizar el envío de la información del programa 2012-13 y 2013-14 al Laboratorio de Referencia de la Unión Europea de la Salud de las Abejas, para lo cual el MAGRAMA decidió desarrollar su propia base de datos APINET, de modo que permitiera una recogida de la información sencilla así como la gestión, tratamiento automático y envío de datos. Para el tratamiento de datos, se han desarrollado informes que permiten la obtención inmediata de los cálculos de mortalidad invernal y primaveral por apiario, CCAA y nacional, siguiendo las indicaciones de cálculo propuestas por el Laboratorio de Referencia

de la Unión Europea de la Salud de las Abejas. Además pueden obtenerse informes más detallados sobre los análisis y resultados efectuados por colonia, prevalencias de enfermedades objeto de estudio, así como listados de errores que permiten su rápida corrección, garantizando así la fiabilidad de los datos.

### **2.3.3. CÁLCULO DE LA PREVALENCIA DE LAS ENFERMEDADES A NIVEL DE APIARIO**

La prevalencia de las enfermedades se ha basado en la proporción de apiarios afectados por una enfermedad, considerándose positivo si al menos una de sus colonias mostraba síntomas clínicos de la enfermedad y se confirmaba por análisis de laboratorio. Para el caso de la varroosis, si el inspector apícola valoraba en campo su existencia no se consideró necesario confirmar en el laboratorio.

### **3.3.4. CÁLCULO DE LAS TASAS DE MORTALIDAD INVERNAL Y PRIMAVERAL POR APIARIO**

El cálculo de las tasas de mortalidad por apiario se ha llevado a cabo teniendo en cuenta el tamaño de los apiarios investigados. Esto ha sido necesario para obtener una estimación correcta de la mortalidad poblacional basada en la mortalidad (invernal/primaveral) observada en las colonias muestreadas al azar.

Una colonia de abejas se considera que ha sufrido **mortalidad invernal** si:

- Durante la 1ª visita (otoño) la colonia se registró como viva por el inspector apícola.
- Durante la 2ª visita (primavera):
  - o la colonia presenta algunas abejas pero se considera no viable (casi muerta: menos de 500 abejas en la colonia) y no tiene el vigor suficiente para desarrollarse durante el periodo activo de pecoreo, según la experiencia del inspector, o
  - o la colonia de abejas se encuentra en una de estas situaciones:
    - todas las abejas están muertas en el interior de la colmena;
    - todas las abejas están muertas y la colmena está vacía;
    - la colonia de abejas está sin reina y presenta abejas obreras ponedoras.

Una colonia se considera que sufre de **mortalidad primaveral** si:

- Durante la 2ª visita (primavera) la colonia se registró viva por el inspector apícola y fue previamente valorada como viable para sobrevivir durante la estación primaveral.
- Durante la 3ª visita (verano):
  - o la colonia presenta algunas abejas pero se considera no viable (casi muerta: menos de 500 abejas en la colonia) y no tiene el vigor suficiente para continuar la actividad apícola, según la experiencia del inspector, o

- la colonia de abejas se encuentra en una de estas situaciones:
  - todas las abejas están muertas en el interior de la colmena;
  - todas las abejas están muertas y la colmena está vacía;
  - la colonia de abejas está sin reina y presenta abejas obreras ponedoras, o
- la colonia ha sido unida entre la visita 2 y la visita 3.

Por lo tanto, la **tasa de mortalidad (invernal/primaveral) por apiario** es un promedio estimado que tiene en cuenta el tamaño del apiario (Laurent, M. et al, 2015).

$$\hat{\theta} = \frac{\sum_{i=1}^n (Mi + \hat{P}i)}{\sum_{i=1}^n Mi}$$

*Pi*: proporción de colonias afectadas en el apiario (número de colonias afectadas divididas por el número de colonias seleccionadas al azar)

$$Pi \text{ invernal} = \frac{\text{muertas}_{v1\_v2}}{\text{vivas}_{v2} + \text{muertas}_{v1\_v2}}$$

$$Pi \text{ primaveral} = \frac{\text{muertas}_{v2\_v3}}{\text{vivas}_{v3} + \text{muertas}_{v2\_v3}}$$

**V1**: visita otoño; **V2**: visita primavera; **V3**: visita verano

**Mi**: tamaño del apiario (todas las colonias del apiario independientemente de si han sido o no seleccionadas al azar)

Para el propósito de este estudio se han considerado aceptables las tasas de mortalidad invernal inferiores al 10% estimadas en diversas publicaciones científicas para la apicultura europea (Chauzat, M.P. et al 2014, Charrière–Neuman 2010, Generch et al. 2010, Hendrikx et al, 2010).

Para el cálculo de la mortalidad por regiones bioclimáticas se ha tenido en cuenta el cálculo de la mortalidad por región como el promedio de las mortalidades de los apiarios localizados en esa área.

### 2.3.5. ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y EVALUACIÓN DE RIESGO DE INTOXICACIÓN POR RESIDUOS DE PESTICIDAS

Como pesticida entendemos cualquier sustancia que sirva para combatir plagas o controlarlas. Los pesticidas, plaguicidas o agroquímicos, son un tipo de sustancias químicas o una mezcla de sustancias, destinadas a matar, repeler, atraer, regular o interrumpir el crecimiento de seres vivos considerados plagas. En esta definición también hemos incluido aquellas sustancias que se utilizan como tratamiento veterinario para el control del ácaro Varroa. En este estudio hacemos referencia a los pesticidas, nombre común utilizado en la bibliografía científica en inglés.

En la evaluación de las **muestras sistemáticas** (otoño de 2012 y verano de 2013) se ha llevado a cabo tanto un **análisis descriptivo** como un **análisis de riesgo nacional por intoxicación**. En el análisis de riesgo se ha seguido la metodología propuesta por Sanchez Bayo F. et al 2014 de carácter probabilístico. En este análisis se ha tenido en cuenta la frecuencia de detección, los niveles de concentración y la toxicidad por contacto (dosis letal 50 por contacto (DL50c)) de cada residuo para las abejas, siendo la primera vez que en España se hace una valoración de riesgo de estas características.

La información toxicológica utilizada para el análisis se ha obtenido de la base de datos europea de pesticidas de la EFSA ([http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database-redirect/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database-redirect/index_en.htm)) y del estudio llevado a cabo por la Facultad de Agricultura y Medio Ambiente de Sydney (Australia) en que se ha compilado y comparado la información de varias fuentes: Manual de Pesticidas (Tomlin, CDS. 2009), ECOTOX (base de datos de U.S Environment Agency (<http://cfpub.epa.gov/ecotox/>)) y de Agri-Tox Database of the Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail in France (<http://www.agritox.anses.fr/index.php>) (Sanchez Bayo, F. et al, 2014) (ver anexo II).

Esta evaluación sólo se ha podido llevar a cabo para los pesticidas que cuentan con información toxicológica y es importante señalar que difiere de la que se realiza por la EFSA para la evaluación, autorización y registro de pesticidas en varios aspectos:

- La metodología aquí empleada es una evaluación probabilística y no determinista, basada en los niveles de residuos detectados en un periodo determinado en las muestras del estudio. Por lo tanto no se trata de una predicción calculada de los niveles de exposición determinados por los modelos utilizados en la autorización y registro de un pesticida.
- Tiene en cuenta la exposición real por contacto con panal de polen y no el particular método de aplicación de un pesticida sobre un cultivo particular (pulverización foliar, tratamiento de semillas, utilización de granulados, etc.).

**La estimación de riesgo se ha llevado a cabo en dos estratos:**

- **nacional;**

- por apiario.

La valoración del riesgo ha tenido en cuenta dos parámetros:

- **% Riesgo de intoxicación aguda (parámetro probabilístico):** *probabilidad de causar un 50% de mortalidad de abejas de una colonia que entre en contacto con panal de polen contaminado durante un periodo corto de exposición (dos días).* Se trata de un parámetro extrapolable para el conjunto de apiarios a **nivel nacional** donde se han calculado dos tipos de riesgo:
  - en función de la **concentración promedio** de cada pesticida, valor promedio de detección calculado para el conjunto de apiarios evaluados;
  - en función de la **concentración máxima** detectada para cada pesticida, valor máximo de detección hallado en el conjunto de apiarios evaluados, que representaría el peor escenario.

Teniendo en cuenta que el Coeficiente de Riesgo Estándar (HQ) se calcula como  $HQ = \text{Concentración medioambiental estimada} / DL50$ , en esta aproximación, el cálculo del riesgo se ha llevado a cabo de la siguiente forma:

$$Riesgo = \frac{\text{Frecuencia (\%)} \times \text{Dosis de residuo} * [\mu g]}{DL50 \left[ \frac{\mu g}{abeja} \right]}$$

\* La *dosis de residuo* se ha calculado a partir de las *concentraciones de residuos promedios y máximas* halladas en el panal de polen o abejas, estableciéndose para el caso del panal de polen que una abeja puede tener contacto con 1 gr de panal al día.

- **Riesgo por toxicidad acumulada (T50 por contacto):** valora el riesgo por la acumulación de residuos en el tiempo y está representado por los días en que cada residuo detectado tardaría en alcanzar la DL50c en una abeja, asumiendo un contacto diario con 1gr panal de polen. Este parámetro se ha aplicado tanto a nivel **nacional** como a nivel de cada **apiario**. Así mismo se han calculado dos tipos de T50c:
  - en función de la **concentración promedio y máxima** (peor escenario) de cada pesticida a nivel nacional;
  - en función de la **concentración detectada** para cada pesticida por apiario.

$$T50c \text{ (días)} = \frac{LD50c [\mu g \text{ abeja}^{-1}]}{\text{Dosis diaria de residuo} [\mu g \text{ día}^{-1}]}$$

Derivado este análisis se han establecido **tres niveles de riesgo**:

- Riesgo elevado de intoxicación aguda: cuando la estimación del riesgo es superior a un 5% de probabilidad, correspondiendo normalmente a un T50c por debajo de 2 días.
- Riesgo moderado de intoxicación: cuando la estimación del riesgo se sitúa entre el 1 y el 5% de probabilidad, correspondiendo normalmente a T50c entre 2 y 7 días.
- Riesgo leve de intoxicación: cuando la estimación del riesgo se sitúa por debajo del 1% de probabilidad, correspondiéndose normalmente a un T50c superior a 7 días (hasta 30, 60 o más días), lo que cubre la vida media de las abejas pecoreadoras en verano y la mayor parte de la vida de las abejas de invierno

### **2.3.6. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA:**

El objetivo del estudio fue establecer una relación estadística entre la(s) variable(s) dependiente(s), que son aquellas que deseamos modificar, como pueden ser la mortalidad (provocando su disminución) o el vigor (con objeto de que aumente), con las variables independientes o explicativas, que son las que influyen decisivamente en las dependientes y sobre las cuales se pretende actuar para conseguir el efecto deseado.

#### **Análisis estadístico bivalente de los factores de riesgo asociados a la mortalidad y al vigor de los apiarios y colonias de abejas.**

El análisis de los factores de riesgo directamente relacionados con el estatus sanitario de las colonias de abejas productoras de miel en España fue realizado mediante la selección de variables obtenidas de la información recogida por los inspectores apícolas de las encuestas empleadas en cada visita y de los resultados de los análisis laboratoriales, todos ellos volcados en APINET.

El número de posibles variables explicativas (independientes) de la mortalidad (variable dependiente) recogidas en el programa ha sido 138, demasiadas para ser introducidas para un análisis estadístico. Finalmente se han tomado 35 variables independientes para el análisis estadístico.

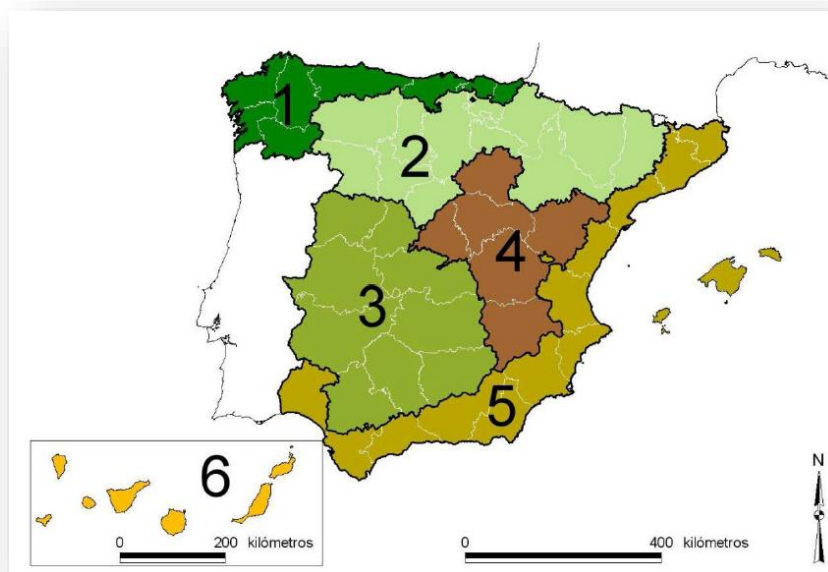
Para poder llevar a cabo el estudio de factores de riesgo es necesario fijar previamente aquellas variables que van a actuar como variables dependientes, es decir, los factores indicadores del estatus sanitario de las colonias que serán modificados positiva o negativamente por las variables independientes explicativas.

Primeramente se ha estudiado cada año por separado, utilizando un modelo univariable con el objetivo de encontrar posibles relaciones entre la mortalidad y las distintas variables independientes (factores de riesgo), utilizando modelos de contraste de hipótesis para datos independientes en función del tipo de variables:

1. Variables cualitativas que no siguen una distribución normal: Prueba de U-Mann-Withney bilateral y Prueba de Kruskal-Wallis.
2. Variables cuantitativas que no siguen una distribución normal: Análisis de correlación de Spearman.

Estos análisis estadísticos se han llevado a cabo utilizando el *softward SPSS Statistic 17.0*. Antes del procesamiento estadístico se ha realizado un importante esfuerzo en la corrección y limpieza de datos para controlar y eliminar los errores en la grabación de la información.

Además del análisis por CCAA, con el objeto de evitar efectos estadísticos derivados de la escasez de apiarios investigados en las CCAA con menor censo, algunos de estos resultados se han analizado teniendo en cuenta la división en unidades bioclimáticas de España (ver figura 1) descritas por Font Tullot, I. ("Climatología de España y Portugal", Universidad de Salamanca), de forma que se dispusiera de este modo de un número estadísticamente significativo de apiarios inspeccionados.



**Figura 1:** mapa de unidades bioclimáticas en España: España atlántica (1); Llanuras cerealistas (2); Ecosistemas mediterráneos continentales (3); Montañas interiores (4); Costa sur oriental (5); Islas Canarias (6)

### Definición de las variables dependientes.

Selección de variables dependientes:

- *Tasa Mortalidad invernal por apiario:* Ver cálculo de tasa de mortalidad invernal/primaveral por apiario.

- *Tasa de Mortalidad primaveral por apiario*: Ver cálculo de tasa de mortalidad invernal/primaveral por apiario.
- *Mortalidad invernal de una colonia*: Ver cálculo de tasa de mortalidad invernal/primaveral por apiario.
- *Mortalidad primaveral de una colonia*: Ver cálculo de tasa de mortalidad invernal/primaveral por apiario.
- *Vigor de una colonia*: es la fortaleza de una colonia para una época dada (otoño, primavera y verano) valorada por el criterio del inspector apícola en cada visita de 0 a 5. El vigor 0 implica que la colonia ha muerto y 5 fortaleza excelente.
- *Vigor de un apiario*: es el promedio de vigor de las colonias seleccionadas al azar. Se ha calculado el vigor para cada una de las tres visitas, excepto para la 1ª visita del año 2012 en el que no se tomó esta información.

Las variables dependientes seleccionadas que fueron presentadas con valores numéricos (variables continuas) fueron:

Variable dependiente numérica continua	Definición	Categorías
<b>Mortalidad invernal por apiario</b>	Ver cálculo de tasa de mortalidad invernal/primaveral por apiario.	0-100%
<b>Mortalidad primaveral por apiario</b>	Ver cálculo de tasa de mortalidad invernal/primaveral por apiario.	0-100%
<b>Vigor apiario (otoño)</b>	Promedio del vigor de las colonias seleccionadas al azar de un apiario en otoño. Se ha calculado el vigor para cada una de las tres visitas, excepto para la 1ª visita del año 2012 en el que no se tomó esta información.	0-5
<b>Vigor por apiario (primavera)</b>	Promedio del vigor de las colonias seleccionadas al azar de un apiario en primavera. Se ha calculado el vigor para cada una de las tres visitas, excepto para la 1ª visita del año 2012 en el que no se tomó esta información.	0-5
<b>Vigor por apiario (verano)</b>	Promedio del vigor de las colonias seleccionadas al azar de un apiario en verano. Se ha calculado el vigor para cada una de las tres visitas, excepto para la 1ª visita del año 2012 en el que no se tomó esta información.	0-5
<b>Tasas de infestación por apiario por <i>Varroa destructor</i> (otoño)</b>	Promedio de infestación por <i>Varroa destructor</i> de todas las colonias seleccionadas investigadas al azar en un apiario durante el otoño	Número de ácaros <i>Varroa</i> /100 abejas
<b>Tasas de infestación por <i>Nosema spp</i> (otoño)</b>	Promedio de infestación por <i>Nosema spp</i> de todas las colonias seleccionadas investigadas al azar en un apiario durante el otoño	Nº de esporos de <i>Nosema spp</i> /abeja

Las variables dependientes seleccionadas que fueron presentadas con valores nominales dicotómicos fueron:



Variable dependiente nominal dicotómica	Definición	Categorías
Mortalidad de colonia invernal	Ver cálculo de tasa de mortalidad invernal/primaveral por colonia.	SÍ/NO
Mortalidad de la colonia primaveral	Ver cálculo de tasa de mortalidad invernal/primaveral por colonia.	SÍ/NO

### Definición de variables explicativas.

La selección de variables explicativas se ha realizado en base a la información recogida por los inspectores de las comunidades autónomas. La selección o descarte de las mismas se ha realizado teniendo en cuenta la bibliografía existente al respecto, la posible plausibilidad biológica de la misma, la ausencia de datos suficientes o la presencia de información mal cumplimentada.

La mayoría de las variables fueron de tipo discontinuo, procediéndose a establecer una relación directa con las variables dependientes. Además, para facilitar la utilización e interpretación de las variables, algunas de éstas han sido procesadas para su agrupación en categorías tomando como base criterios previamente recogidos en la bibliografía, de tipo epidemiológico o de tipo estadístico con objeto de simplificar y hacer más asequible la comprensión de la variable. En total, 35 variables explicativas fueron seleccionadas para la realización de los análisis estadísticos:

### Variables explicativa independientes continuas:

	Variable explicativa independiente continua	Definición	Unidad de medida	Variable(s) dependiente(s) asociadas
1	Tasa de infestación de <i>Varroa destructor</i> por apiario (otoño)	Promedio del % de las tasas de infestación por <i>Varroa spp</i> de las colonias seleccionadas al azar durante el otoño	%	Mortalidad invernal por apiario Vigor por apiario (otoño) Vigor por apiario (primavera)
2	Tasa de infestación de <i>Nosema spp</i> por apiario (otoño)	Promedio del % de las tasas de infestación por <i>Nosema spp</i> de las colonias seleccionadas al azar durante el otoño	%	Mortalidad invernal por apiario Vigor por apiario (otoño) Vigor por apiario (primavera)
3	Tasa de infestación por <i>Varroa spp</i> por colonia SYS1 (otoño)	Nº de varroas/100 abejas (en una muestra de 300 abejas)	%	Mortalidad invernal por colonia
4	Tasa de infestación por <i>Nosema spp</i> por colonia SYS1 (otoño)	Nº esporos/abeja expresado en $n \cdot 10^5$	Número de esporos/abeja	Mortalidad invernal por colonia
5	Prevalencia CBPV_FITOS2 (verano 2013)	Nº partículas virales/abeja de una muestra representativa de abejas	Nº de partículas virales	Mortalidad primaveral

		por apiario		Vigor primaveral
6	Concentración total de pesticidas en panal de polen (otoño 2012)	Suma de las concentraciones totales de residuos de pesticidas hallados en el panal de polen recogido en visita de otoño 2012	µg/kg	Mortalidad invernal Vigor primaveral
7	Concentración total de pesticidas en panal de polen (verano 2013)	Suma de las concentraciones totales de residuos de pesticidas hallados en el panal de polen recogido en la visita de verano 2013	µg/kg	Mortalidad primaveral Vigor verano
8	Concentración total de pesticidas muy tóxicos para las abejas en panal de polen (otoño 2012)	Suma de las concentraciones totales de residuos de pesticidas muy tóxicos para las abejas (DL50 < 2 µg/abeja) hallados en el panal de polen recogido en la visita de otoño 2012	µg/kg	Mortalidad invernal Vigor primaveral
9	Concentración total de pesticidas muy tóxicos para las abejas en panal de polen (verano 2013)	Suma de las concentraciones totales de residuos de pesticidas muy tóxicos para las abejas (DL50 < 2 µg/abeja) hallados en el panal de polen recogido en la visita de verano 2013	µg/kg	Mortalidad primaveral Vigor verano
10	Concentración de Coumaphos por apiario (otoño 2012 y verano 2013)	Pesticida que ha aparecido con una frecuencia superior al 10% o ha dado lugar a un riesgo elevado en la evaluación de riesgo	µg/kg	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral
11	Concentración de Tau-fluvalinato por apiario (otoño 2012 y verano 2013)	Pesticida que ha aparecido con una frecuencia superior al 10% o ha dado lugar a un riesgo elevado en la evaluación de riesgo	µg/kg	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral
12	Concentración de Amitraz por apiario (otoño 2012 y verano 2013)	Pesticida que ha aparecido con una frecuencia superior al 10% o ha dado lugar a un riesgo elevado en la evaluación de riesgo	µg/kg	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral
13	Concentración de Acrinathrina por apiario (otoño 2012 y verano 2013)	Pesticida que ha aparecido con una frecuencia superior al 10% o ha dado lugar a un riesgo elevado en la evaluación de riesgo	µg/kg	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral
14	Concentración de Chlorpyriphos por apiario (otoño 2012 y verano 2013)	Pesticida que ha aparecido con una frecuencia superior al 10% o ha dado lugar a un riesgo elevado en la evaluación de riesgo	µg/kg	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral
15	Concentración de Chlorfenvinphos por apiario (otoño 2012 y verano 2013)	Pesticida que ha aparecido con una frecuencia superior al 10% o ha dado lugar a un riesgo elevado en la evaluación de riesgo	µg/kg	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral
16	Concentración de Etophenprox por apiario (otoño 2012 y verano 2013)	Pesticida que ha aparecido con una frecuencia superior al 10% o ha dado lugar a un riesgo elevado en la evaluación de riesgo	µg/kg	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral
17	Concentración de Cypermethrina por apiario	Pesticida que ha aparecido con una frecuencia superior al 10% o	µg/kg	No ha podido analizarse debido al

	(otoño 2012 y verano 2013)	ha dado lugar a un riesgo elevado en la evaluación de riesgo		número bajo de muestras positivas
18	Concentración de Bifenthrin por apiario (otoño 2012 y verano 2013)	Pesticida que ha aparecido con una frecuencia superior al 10% o ha dado lugar a un riesgo elevado en la evaluación de riesgo	µg/kg	No ha podido analizarse debido al número bajo de muestras positivas
19	Concentración de Ortofenilfenol por apiario (otoño 2012 y verano 2013)	Pesticida que ha aparecido con una frecuencia superior al 10% o ha dado lugar a un riesgo elevado en la evaluación de riesgos	µg/kg	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral
20	Concentración de Imidacloprid por apiario (otoño 2012 y verano 2013)	Neonicotinoide sujeto a restricción comunitaria	µg/kg	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral

#### VARIABLES EXPLICATIVAS INDEPENDIENTES CATEGÓRICAS:

	Variable explicativa independiente categórica	Definición	Categorización	Variable(s) dependiente(s) asociadas
21	Varroosis	Detección clínica en el apiario durante la inspección clínica con o sin confirmación laboratorial	SÍ/NO	Mortalidad invernal por apiario Mortalidad primaveral por apiario Vigor por apiario
22	Nosemosis clínica	Detección clínica en el apiario durante la inspección clínica y confirmación laboratorial	SÍ/NO	Mortalidad invernal por apiario Mortalidad primaveral por apiario Vigor por apiario
23	Caso clínico de Loque americana	Detección clínica en el apiario durante la inspección clínica y confirmación laboratorial	SÍ/NO	Mortalidad invernal por apiario Mortalidad primaveral por apiario Vigor por apiario
24	Caso clínico de Loque europea	Detección clínica en el apiario durante la inspección clínica y confirmación laboratorial	SÍ/NO	Mortalidad invernal por apiario Mortalidad primaveral por apiario Vigor por apiario
25	Caso clínico de ABPV	Detección clínica durante la inspección clínica y confirmación laboratorial	SÍ/NO	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral Vigor por apiario
26	Prevalencia de ABPV_SYS2 (otoño 2012)	Detección de la presencia del virus en todas las colonias seleccionadas al azar durante el otoño de 2012	SÍ/NO	Mortalidad invernal por colonia (SI/NO)
27	Caso clínico de DWV	Detección clínica durante la inspección clínica y confirmación laboratorial	SÍ/NO	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral Vigor por apiario

28	Prevalencia de DWV_SYS2 (otoño 2012)	Detección de la presencia del virus en todas las colonias seleccionadas al azar durante el otoño de 2012	SÍ/NO	Mortalidad invernal por colonia ( SI/NO)
29	Caso clínico CBPV	Detección clínica durante la inspección clínica y confirmación laboratorial (tasas virales > 10 <sup>8</sup> )	SÍ/NO	Mortalidad invernal Mortalidad primaveral Vigor por apiario
30	Tratamientos correctos	Se han considerado únicamente aquellos tratamientos efectuados con productos autorizados aplicados en dosis y permanencia correcta.	SÍ/NO	Tasas de infestación de <i>Varroa destructor</i> en otoño
31	Aplicación de tratamientos antes de la primera visita de otoño	Se han tenido en cuenta tanto los tratamientos correctos como los incorrectos	SÍ/NO	Tasas de infestación de <i>Varroa destructor</i> en otoño
32	Periodo de aplicación de tratamientos	Periodo de aplicación del tratamiento para el control de <i>Varroa spp</i>	<i>Categoría 1:</i> enero a junio <i>Categoría 2:</i> de julio a noviembre <i>Categoría 3:</i> diciembre	Tasas de infestación de <i>Varroa destructor</i> en otoño  Tasa de mortalidad invernal
33	Grado de profesionalidad	Definido según el RD 209/2002 sobre ordenación de las explotaciones apícolas	<i>Categoría 1:</i> Profesionales <i>Categoría 2:</i> No profesionales (apicultores a tiempo parcial y aficionados)	Tasas de infestación por <i>Varroa destructor</i> (otoño)  Tasas de infestación por <i>Nosema spp</i> (otoño)  Mortalidad invernal Mortalidad primaveral
34	Apiarios con riesgo grave y moderado de intoxicación (otoño de 2012)	Apiarios que en el análisis de riesgo presentaron un T50 <7 días (T50 <2 días + T50 entre 2-7 días)	SÍ/NO	Mortalidad invernal Vigor primaveral
35	Apiarios con riesgo grave y moderado de intoxicación (verano 2013)	Apiarios que en el análisis de riesgo presentaron un T50 <7 días (T50 <2 días + T50 entre 2-7 días)	SÍ/NO	Mortalidad primaveral Vigor verano

### 3. RESULTADOS DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS

#### 3.1 APIARIOS Y COLONIAS INVESTIGADAS.

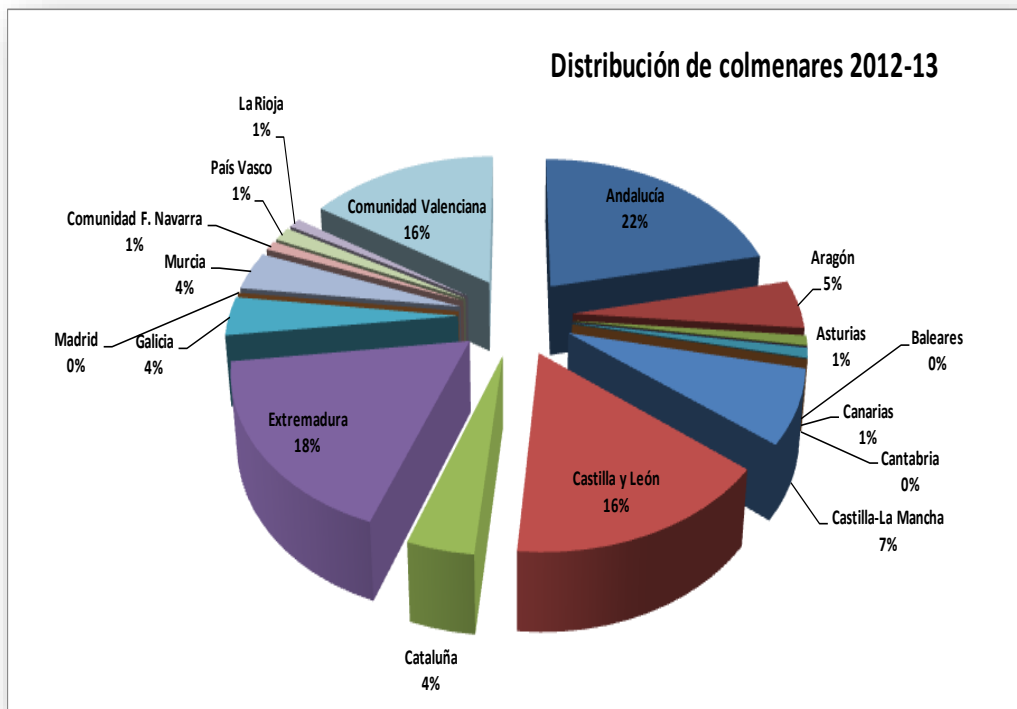
En la campaña inicial que se llevó a cabo en el periodo 2012-2013 participaron un total de 14 CCAA, con la excepción de Baleares, Cantabria y Madrid, que se excluyeron estadísticamente del muestreo al no contar con un censo mínimo de colmenas. Durante las siguientes campañas hubo cambios en las CCAA participantes, de forma que en el periodo 2013-2014 el País Vasco no participó y durante la campaña 2014-2015 Madrid se incorporó al estudio mientras que Andalucía, Murcia y Comunidad Valenciana no pudieron continuar. Por otro lado, Extremadura y Madrid no pudieron efectuar la primera visita otoñal de esta última campaña debido a que el bajo vigor de las colonias de abejas no permitía efectuar la toma de muestras sistemáticas sin poner en riesgo la viabilidad de las colonias.

Durante los tres años de programa (otoño 2012-verano 2015) fueron controlados 505 apiarios en 1.468 visitas. El número de colonias investigadas ha ascendido a 16.140 seleccionadas al azar y 87 colonias fuera del muestreo al azar debido a la detección de síntomas en las mismas durante las visitas. El número de muestras recogidas han sido 19.823 sobre las que se han realizado 21.511 análisis laboratoriales.

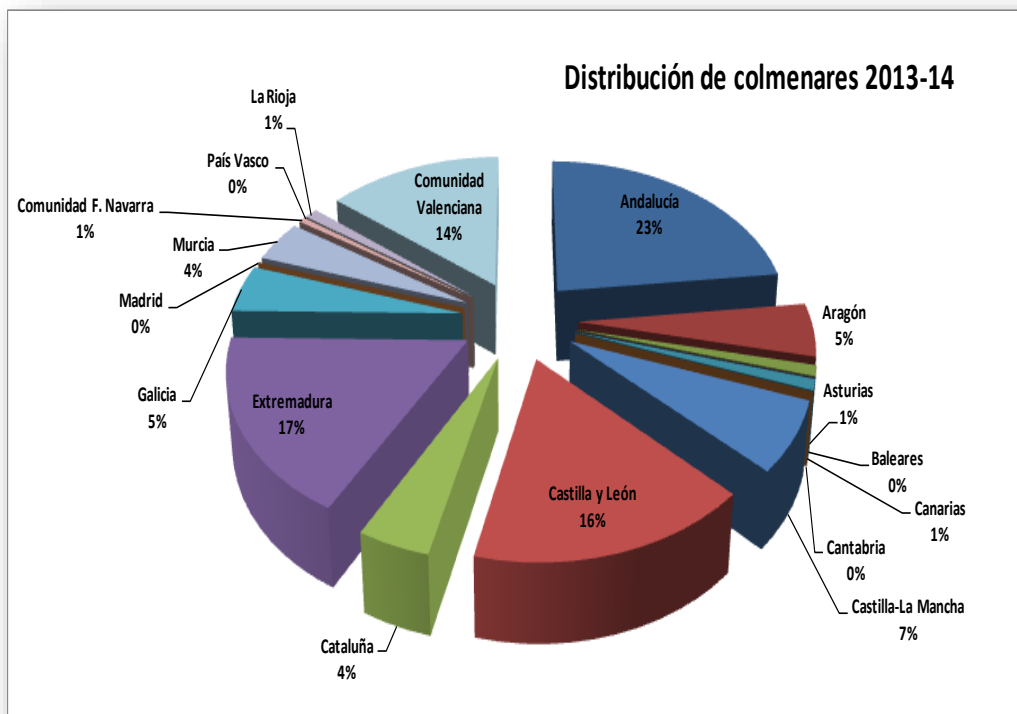
APIARIOS Y COLONIAS INSPECCIONADAS	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL
Nº de apiarios controlados	204	190	111	505
Nº de visitas realizadas	586	565	317	1.468
Nº de colonias inspeccionadas al azar	6.561	6.219	3.360	16.140
Nº de extracolonia investigadas (en base a las observaciones con síntomas)	48	30	9	87

**Tabla 2:** apiarios y colonias inspeccionadas.

En los siguientes gráficos se muestra cuál ha sido la distribución de apiarios investigados por CCAA en los tres años estudiados.



**Figura 2:** distribución de colmenares por CCAA 2012-2013.



**Figura 3:** distribución de colmenares por CCAA 2013-2014.

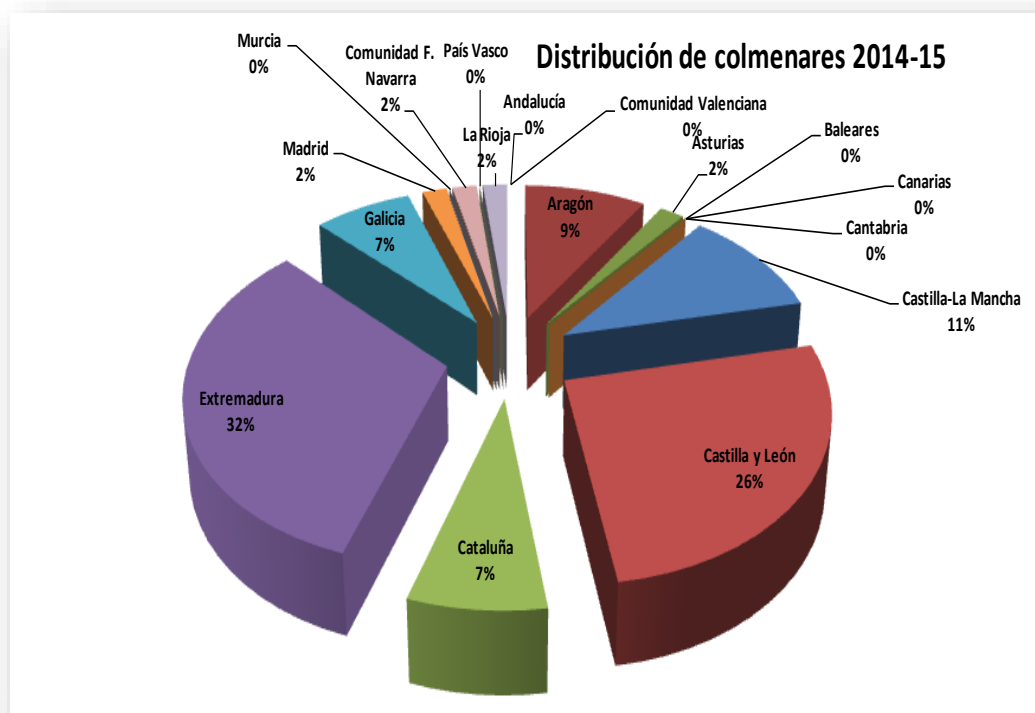


Figura 4: distribución de colmenares por CCAA 2014-2015.

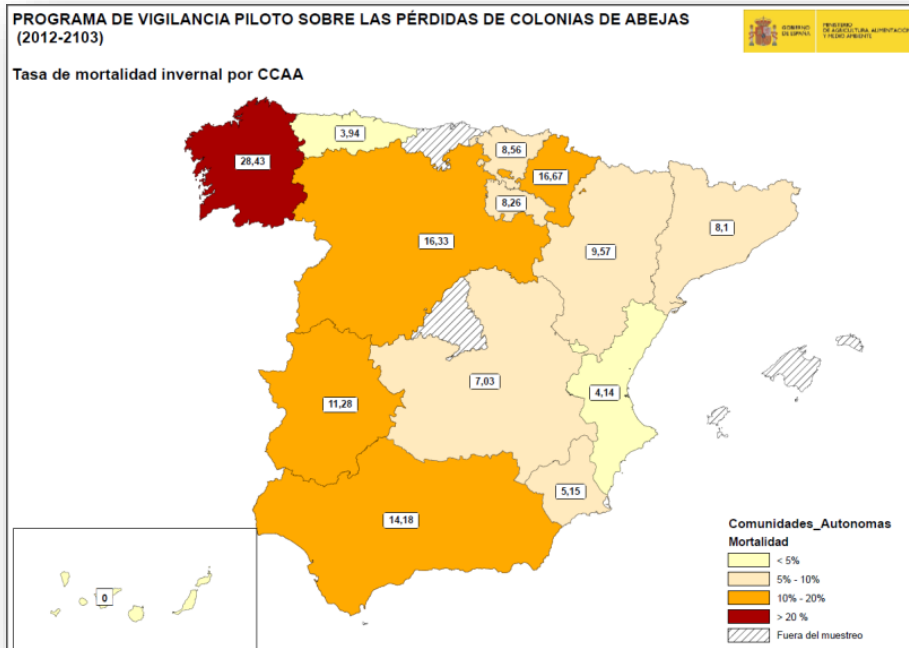
### 3.2 ÍNDICES DE MORTALIDAD

A continuación se describen las mortalidades invernales, primaverales y anuales detectadas en España comparándolas con las detectadas en la Unión Europea durante las campañas 2012-13 y 2013-14. Dado que el Programa de vigilancia piloto europeo finalizó en 2014, no se han podido comparar las mortalidades detectadas en España para el periodo 2014-2015.

#### 3.2.1. MORTALIDAD INVERNAL

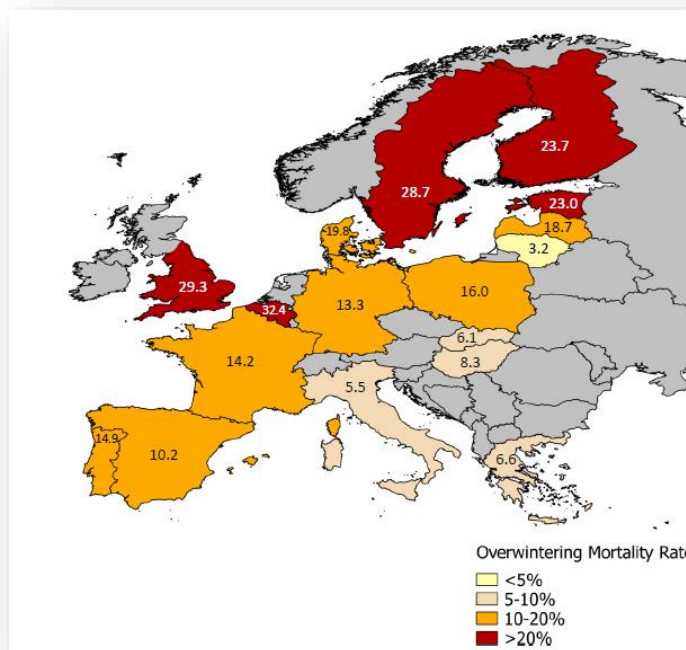
##### Mortalidad invernal durante la campaña 2012-2013 en España

En España la mortalidad invernal fue del 10,2%, con valores que variaron entre el 28,4%, máximo registrado en Galicia, y el 3,9% en Asturias. En 5 de 14 CCAA se presentaron mortalidades superiores al 10%: en el noroeste y suroeste peninsular (Galicia, Castilla y León, Navarra, Extremadura y Andalucía) representando el 54,8% del total de las colonias. Sólo la Comunidad Valenciana, Asturias y Canarias registraron mortalidades inferiores al 5%, lo que representaba el 25,6% de las colonias investigadas (ver figura 5).



**Figura 5:** mortalidad invernal por CCAA (2012-2013).

Para la Unión Europea, estas tasas variaron entre el 3,2% y el 32,4% entre los distintos Estados Miembros (ver figura 6). En 11 de 17 Estados Miembros las mortalidades superaron tasas del 10%, con la máxima mortalidad registrada en Bélgica (32,4%) y la menor mortalidad en Lituania (3,2%). Se observa un patrón de mayor mortalidad en el norte europeo frente al sur lo que sugiere que pudiera existir un factor climático afectando a la mortalidad invernal. (LAURENT Marion et al 2015).



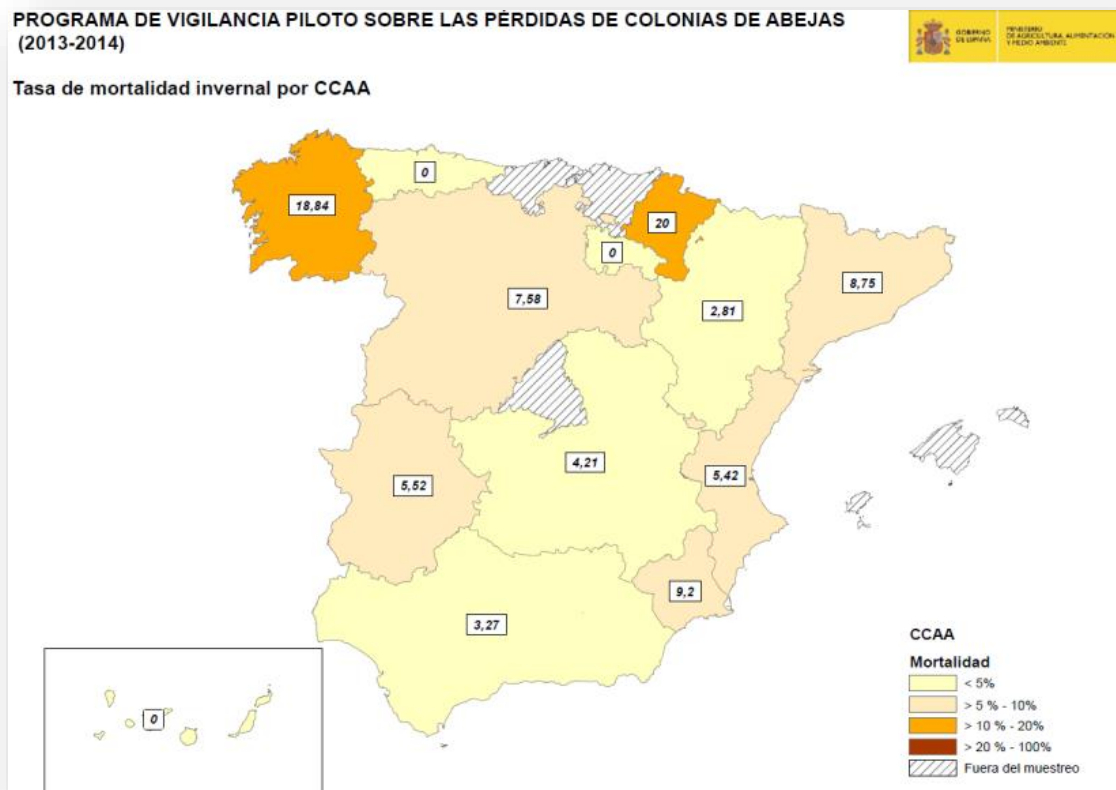
**Figura 6:** mortalidad invernal en Europa 2012-2013, EPILOBEE (LAURENT Marion et al 2015).



## Mortalidad invernal durante la campaña 2013-2014 en España

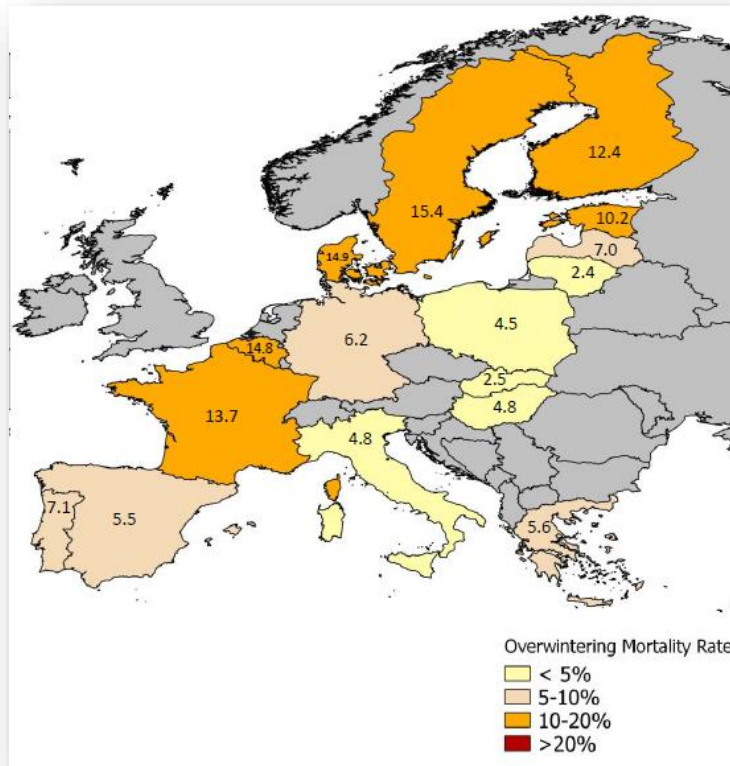
En España la mortalidad invernal fue del 5,5%, significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) a la registrada durante el periodo 2012-2013 (10,2%), con rangos que variaron entre el 20% (Navarra) y el 0% (La Rioja; Asturias). Sólo 2 de 13 CCAA presentaron **mortalidades por encima del 10%** (Galicia y Navarra) que representan un 1 % del total de las colonias. 5 de 13 CCAA presentaron **mortalidades por debajo del 5%**, lo que suponía el 28,4% de las colonias (ver figura 7).

Por CCAA esta reducción de la mortalidad fue significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) en Andalucía. En Castilla-La Mancha, Castilla y León, Extremadura y Comunidad Valenciana no se han detectado diferencias significativas de mortalidad invernal entre ambos años ( $p > 0,05$ ), no pudiéndose establecer para el resto de CCAA ya que no se ha investigado en ellas un número suficiente de apiarios para llevar a cabo este análisis.



**Figura 7:** mortalidad invernal por CCAA (2013-2014).

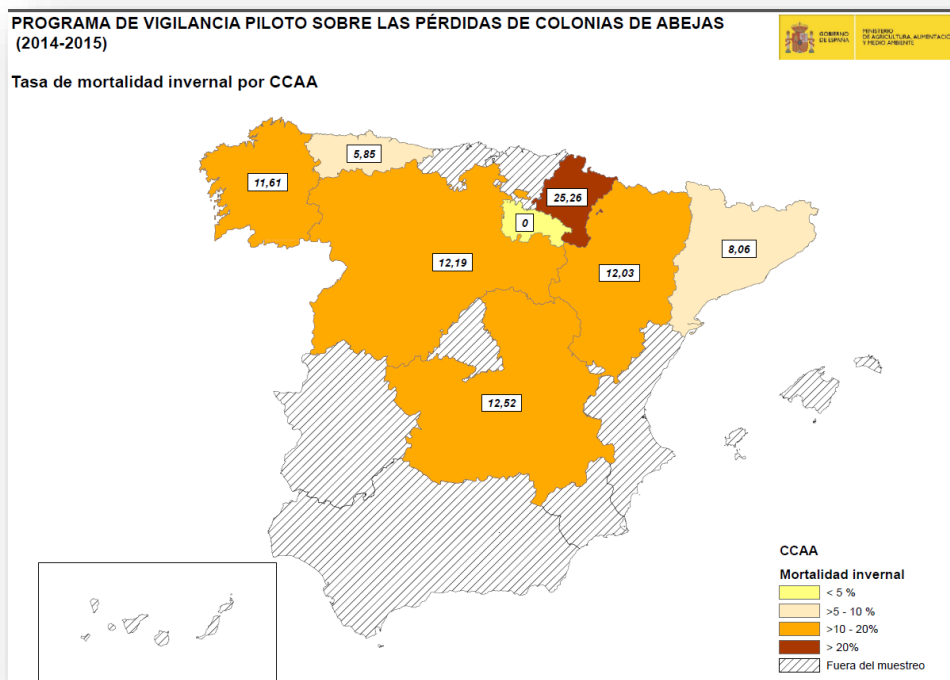
Para este mismo periodo las tasas de **mortalidad invernal en la Unión Europea**, al igual que en España, mostraron rangos inferiores al periodo anterior entre el 2,4 y el 15,4% entre los distintos Estados Miembros (ver figura 8). Las tasas de mortalidad invernal decrecieron significativamente en 9 Estados Miembros (Bélgica, Estonia, Finlandia, Alemania, Letonia, Polonia, Portugal, España y Suecia) (Laurent, M. et al, 2015).



**Figura 8:** mortalidad invernal en Europa 2013-2014, EPILOBEE (LAURENT Marion et al 2015).

### **Mortalidad invernal durante la campaña 2014-2015 en España.**

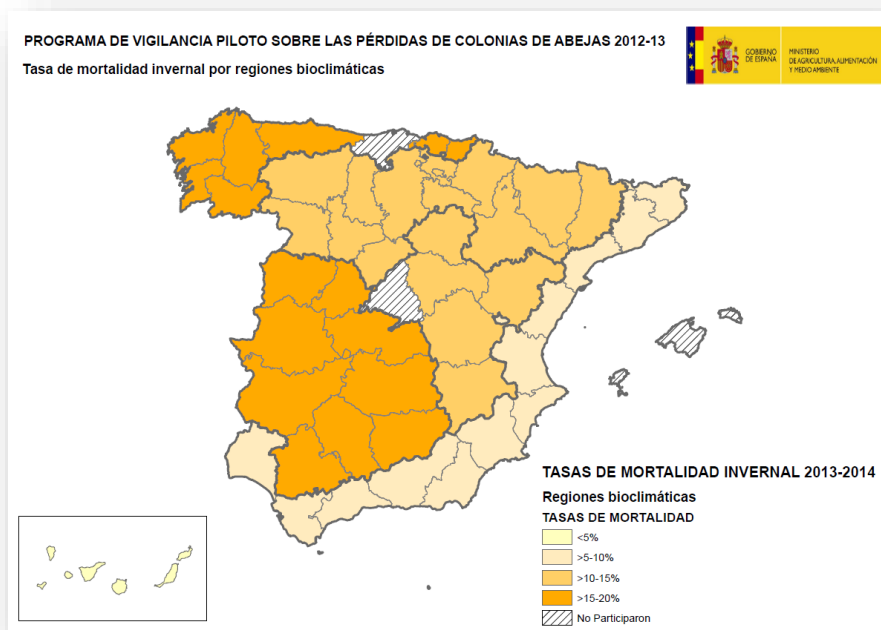
Durante la campaña 2014-2015 la mortalidad invernal para España fue de 11,2%, significativamente superior a la registrada en 2013-2014 ( $p < 0,05$ ), siendo similares a las registradas durante la campaña 2012-2013 ( $p > 0,05$ ). Este resultado es inferior al 17,5% registrado para el conjunto europeo en el programa COLOSS para el invierno de 2014-2015, en el que para España se atribuye una mortalidad invernal del 13,2% (11,0-15,8%). Varias CCAA no participaron en el programa (Valencia, Andalucía, Murcia, País Vasco) o no pudieron llevar a cabo la visita otoñal (Extremadura, Madrid), lo que suponía casi el 70% de las colonias estudiadas durante el periodo 2012-13, variando entre el 25,3 % (Navarra) y el 0% (La Rioja), con un posible efecto estadístico en estas CCAA ya que en cada una de ellas sólo se muestrearon 2 apiarios. En 5 de las 8 CCAA se presentaron **mortalidades superiores al 10%** que representaron el 82,3% de las colonias investigadas (ver figura 9).



**Figura 9:** mortalidad invernal por CCAA (2014-15).

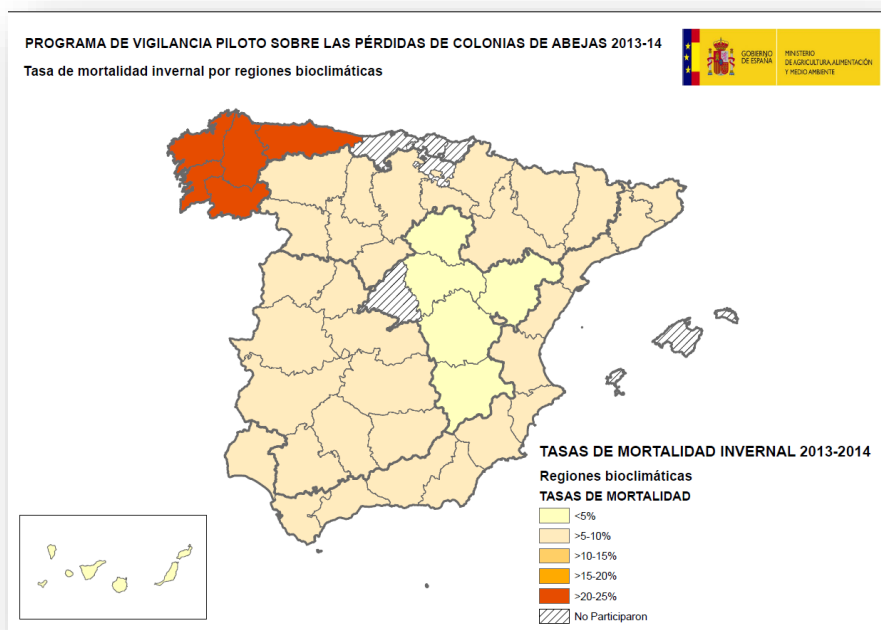
### Evolución de la mortalidad invernal por regiones bioclimáticas

Teniendo en cuenta las unidades bioclimáticas de España descritas por Inocencio Font Tullot (“Climatología de España y Portugal”, Universidad de Salamanca), ésta sería la distribución de la mortalidad invernal durante las campañas 2012-2014. Puede observarse que en la campaña 2012-13 las mayores mortalidades se registraron en la España atlántica y los ecosistemas mediterráneos continentales siendo superiores al 15%. La menor mortalidad se localizó en las Islas Canarias (<5%) y en la costa sur-oriental (>5-<10%) peninsular en el territorio peninsular (ver figura 10).



**Figura 10:** mortalidad invernal por regiones bioclimáticas (2012-2013).

La mortalidad invernal disminuyó entre los periodos 2012-2013 y 2013-2014 en 3 regiones bioclimáticas (llanuras cerealísticas, montañas interiores y ecosistemas mediterráneos orientales), siendo solamente significativa en la región de los **ecosistemas mediterráneos continentales** ( $p < 0,05$ ). Se aprecia un aumento de la mortalidad en la región atlántica debido fundamentalmente a un aumento de mortalidad en Galicia no pudiéndose establecer ninguna significación estadística entre ambos periodos ( $p > 0,05$ ).



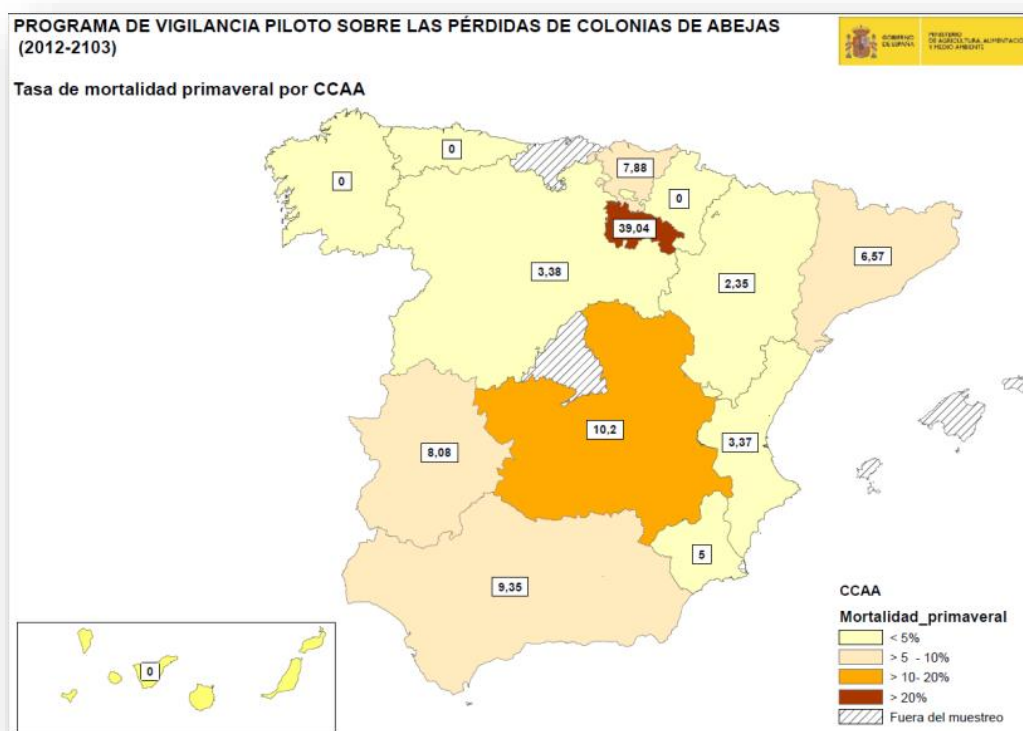
**Figura 11:** mortalidad invernal por regiones bioclimáticas (2013-2014).

Si analizamos la mortalidad invernal de ambos periodos en su conjunto, la mortalidad en la **región de la costa del sur-oriental** fue significativamente inferior con respecto a la región atlántica, llanuras cerealistas y ecosistemas mediterráneos ( $p < 0,05$ ).

### 3.2.2. MORTALIDAD PRIMAVERAL

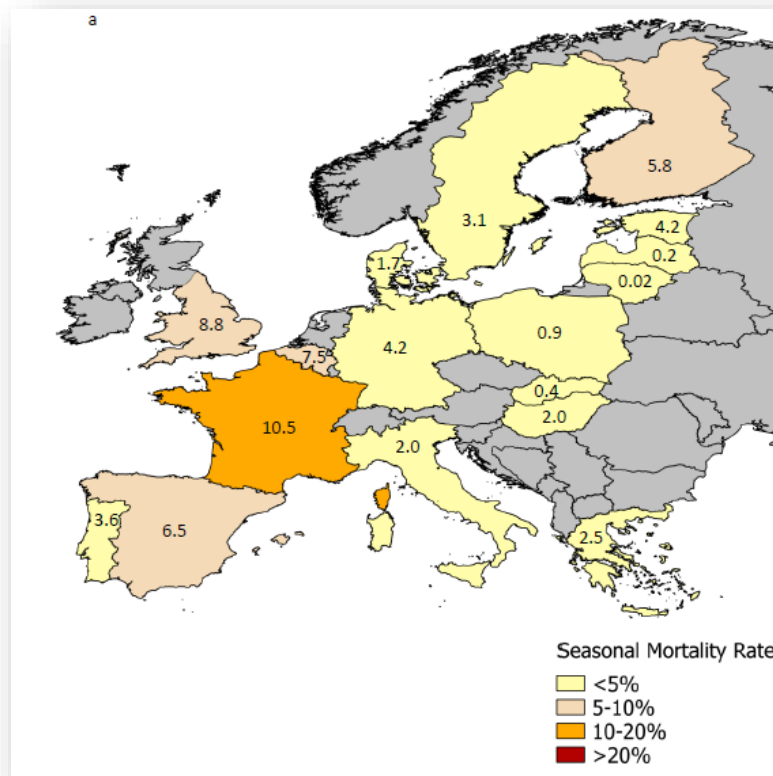
#### Mortalidad primaveral durante la campaña 2012-2013 en España

En España la mortalidad primaveral (figura 12) se situó en el 6,5%, con rangos que variaron entre el 39,0% (La Rioja) y el 0% (Asturias, Galicia y Navarra). Hay que reseñar que en el caso de La Rioja, este resultado puede deberse a un efecto estadístico, ya que sólo entraban en su muestreo 2 apiarios. En 7 de las 14 CCAA se presentaron **mortalidades por debajo del 5%**, que representaban el 51,2% del total de las colonias. Sólo 2 CCAA presentaron **mortalidades por encima del 10%** (Castilla-La Mancha y La Rioja) que representaban el 3,8% del total de las colonias.



**Figura 12:** Mortalidad primaveral por CCAA (2012-13).

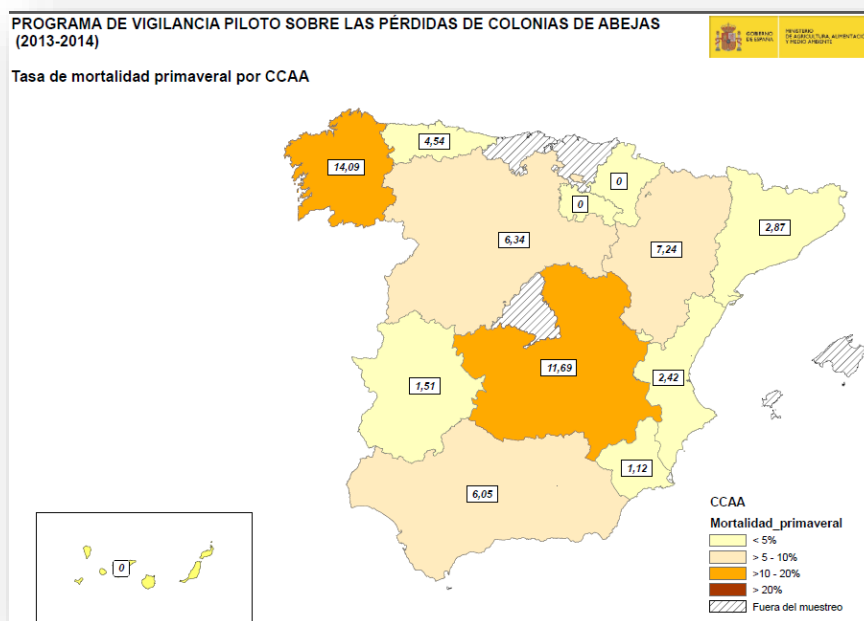
Al igual que en España, la mortalidad primaveral disminuyó en toda la UE respecto de la mortalidad invernal variando entre el 0,02% (Lituania) y el 10,5% (Francia). Tan sólo Francia superó tasas del **10% de mortalidad** (figura 13). En la mayoría de los Estados Miembros, 11 de 17, se detectaron **mortalidades inferiores al 5%** (Laurent M. et al, 2015).



**Figura 13:** mortalidad primaveral en Europa 2012-2013, EPILOBEE (LAURENT Marion et al 2015).

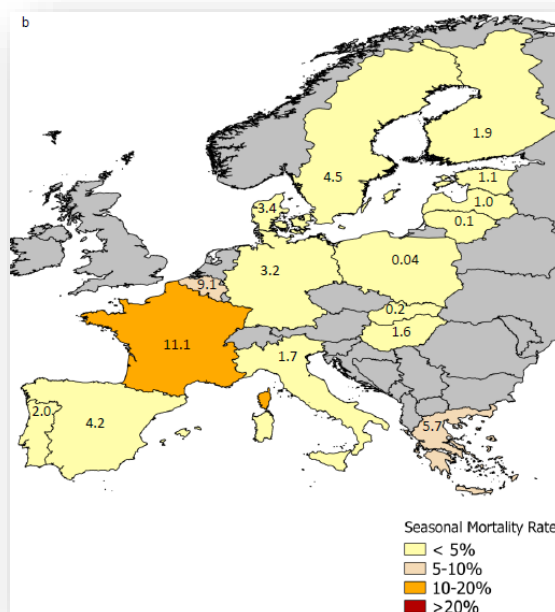
### Mortalidad primaveral durante la campaña 2013-2014 en España.

En España la mortalidad media primaveral se situó en el **4,2%**, siendo similares a las registradas durante el periodo 2012-13 ( $p > 0,05$ ). En 8 CCAA de las 13 CCAA investigadas se presentaron **tasas de mortalidad por debajo del 5%** (Asturias, Canarias, La Rioja, Navarra, Cataluña, Extremadura, Valencia y Murcia), que suponían el 55,3 % del total de las colonias. Tres CCAA presentaron **mortalidades entre el 5 y 10%**, lo que suponía el 37,7% de las colonias. Sólo dos CCAA presentaron **mortalidades superiores al 10%** (Galicia y Castilla-La Mancha), que representaban el 7% de la totalidad de las colonias (figura 14).



**Figura 14:** mortalidad primaveral por CCAA (2013-14).

La **mortalidad primaveral en la UE** varió entre el 0,04 % (Polonia) y el 11,1% (Francia). Tan sólo Francia, al igual que en el periodo anterior, presentó una **mortalidad superior al 10%**. Al igual que en España, la mayoría de los Estados Miembros, 13 de 16, presentaron **mortalidades inferiores al 5%** (figura 15). Con respecto al periodo 2012-13, 9 Estados Miembros participantes presentaron mortalidades inferiores, pero no han sido estadísticamente significativas salvo para el caso de Polonia. En 7 Estados Miembros se observaron incrementos de mortalidad sin significación estadística (Laurent, M. et al, 2015).



**Figura 15:** mortalidad primaveral en Europa 2013-2014, EPILOBEE (LAURENT Marion et al 2015).

## Mortalidad primaveral durante la campaña 2014-2015 en España

La **mortalidad primaveral** en esta campaña se ha situado en el **6,59%**, con rangos que han variado de 15,0% (Cataluña) y el 0% (Asturias, La Rioja, Navarra, Madrid y Aragón). No se han producido variaciones significativas en la mortalidad primaveral en relación a los años anteriores ( $p > 0,05$ ). En todas las CCAA investigadas la **mortalidad** fue **inferior al 5%** salvo en Extremadura y Cataluña que superaron el **10% de mortalidad**, que representaron el 44,8 % de las colonias totales (figura 16).

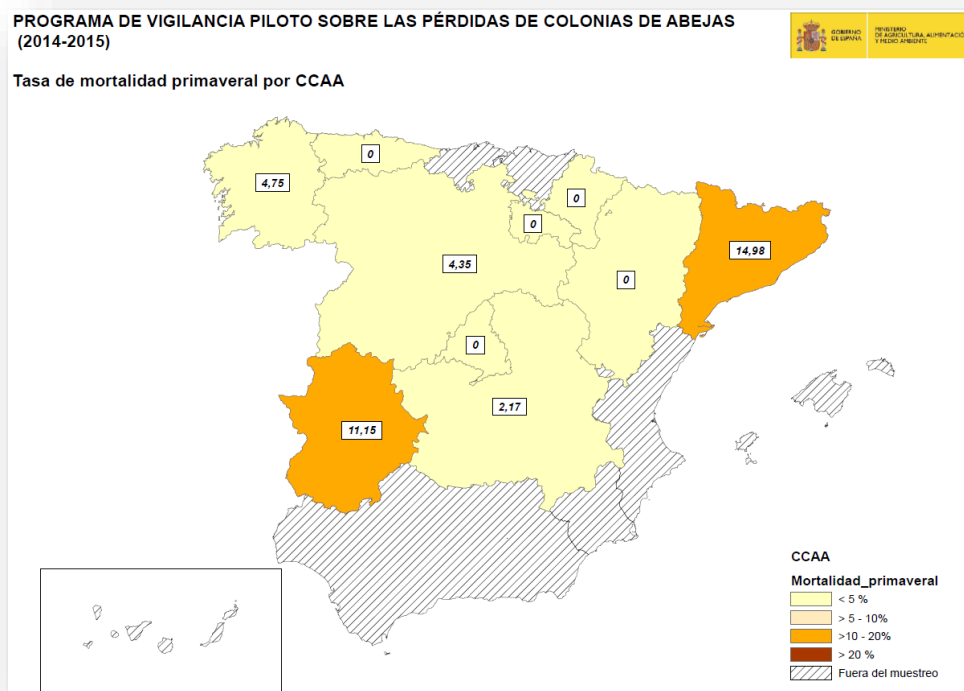


Figura 16: mortalidad primaveral por CCAA (2014-15).

### 3.2.3. MORTALIDAD ANUAL

#### Mortalidad anual durante las campañas 2012-2013 en España.

La tasa de **mortalidad anual** para la campaña 2012-13 fue del 15,9%. Durante este periodo, en 4 de 14 CCAA (Asturias, Navarra, Comunidad Valenciana y Murcia) se registraron **mortalidades por debajo de 10%**, alcanzando el 32,4% de las colonias. En 6 de 13 CCAA se detectaron **mortalidades entre el 10 y 20%**, lo que suponía el 44,2 % de las colonias. Sólo 3 de 14 CCAA (Galicia, La Rioja y Andalucía) presentaron tasas de **mortalidad superiores al 20%**, que representaban el 23,4% del total de las colonias (figura 17).



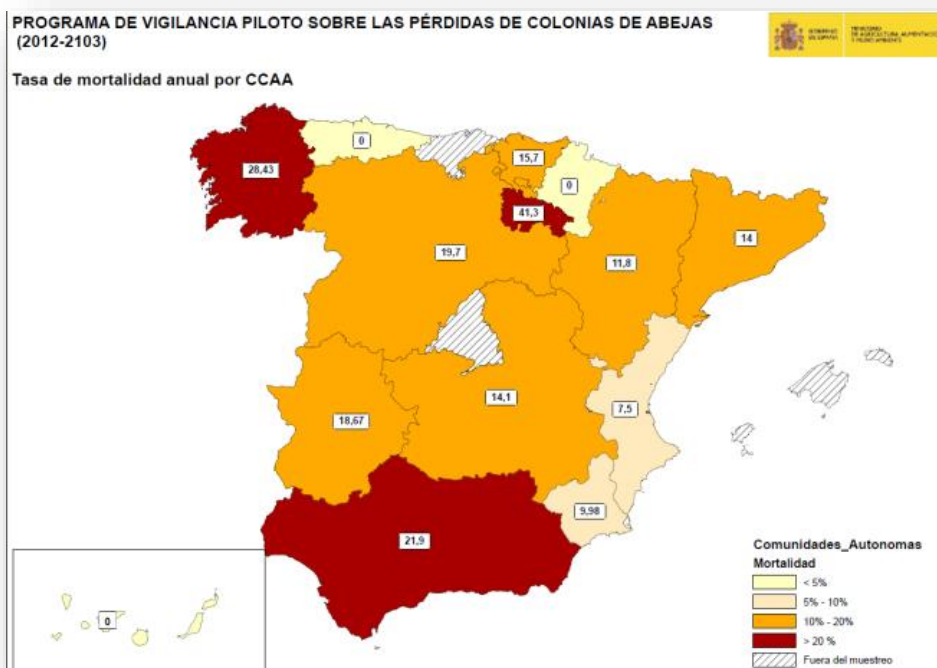


Figura 17: mortalidad anual por CCAA (2012-13).

En la UE, la mortalidad anual varió entre el 3,1 y el 35,9% en los 17 Estados Miembros, observándose al igual que en la mortalidad invernal un patrón norte-sur tan evidente (figura 18). Sólo 5 de 17 Estados Miembros participantes presentaron una **tasa de mortalidad inferior al 10%**. La **mortalidad anual superó el 20%** en 6 Estados Miembros (Bélgica, Reino Unido, Estonia, Suecia, Finlandia y Francia). Como en España, 6 de 17 EEMM presentaron mortalidades entre el 10 y el 20%.

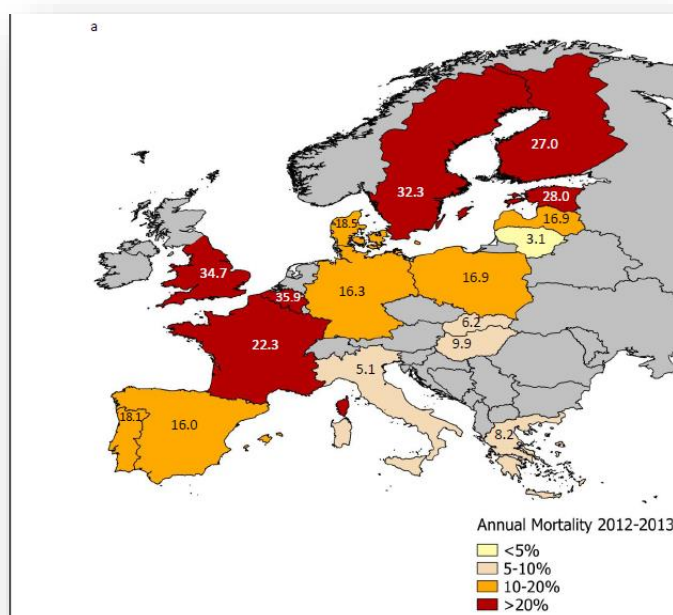


Figura 18: mortalidad anual 2012-13 EPILOBEE, (LAURENT Marion et al 2015).

## Mortalidad anual durante la campaña 2013-2014 en España.

La tasa de **mortalidad anual** para la campaña 2013-2014 fue para España del **9,4 %**, significativamente inferior a la registrada durante la campaña 2012-13 ( $p < 0,05$ ). Durante este periodo en 6 de 12 CCAA participantes se registraron **mortalidades por debajo del 10%**, lo que suponía el 68,9% del total de las colonias investigadas. En 5 de 12 CCAA se detectaron **mortalidades entre el 10 y el 20%**, alcanzando el 30,2% de las colonias. Sólo Galicia presentó **mortalidades superiores al 20%**, que representó el 0,9% del total de las colonias (figura 19).

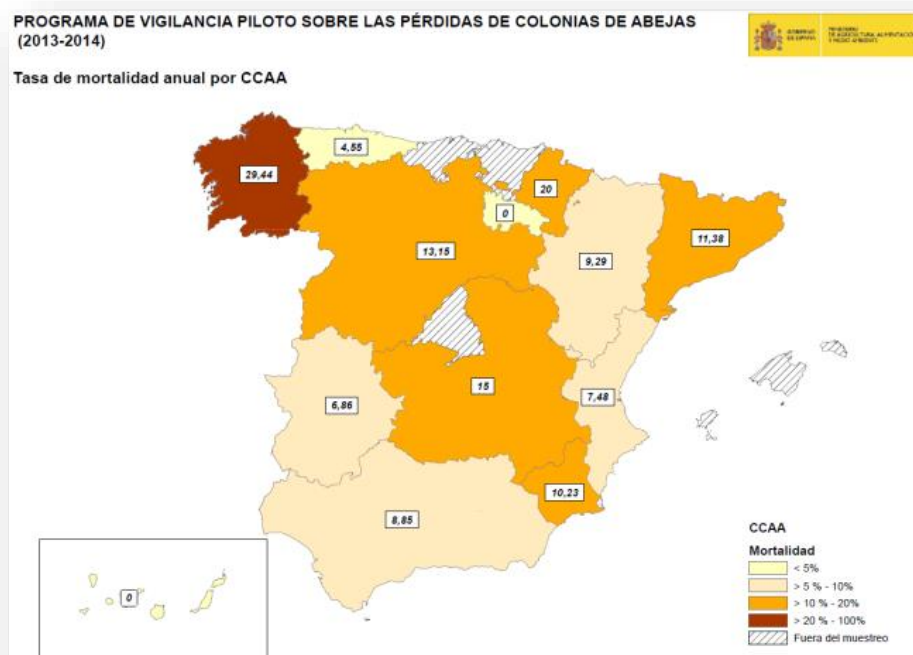
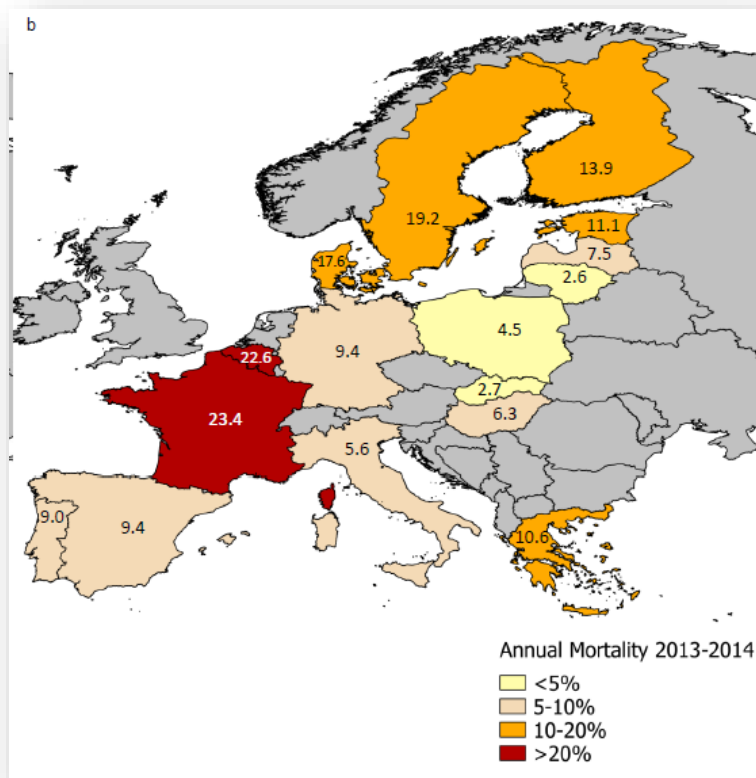


Figura 19: mortalidad anual por CCAA (2013-14).

Si tenemos en cuenta la mortalidad por **regiones bioclimáticas** las tasas de mortalidad anual de los ecosistemas mediterráneos continentales y la de las montañas interiores fueron significativamente superiores en el periodo 2012-13 ( $p < 0,05$ ) con respecto a las registradas en 2013-2014, no encontrándose diferencias significativas entre las mortalidades anuales en el resto de regiones ( $p > 0,05$ ).

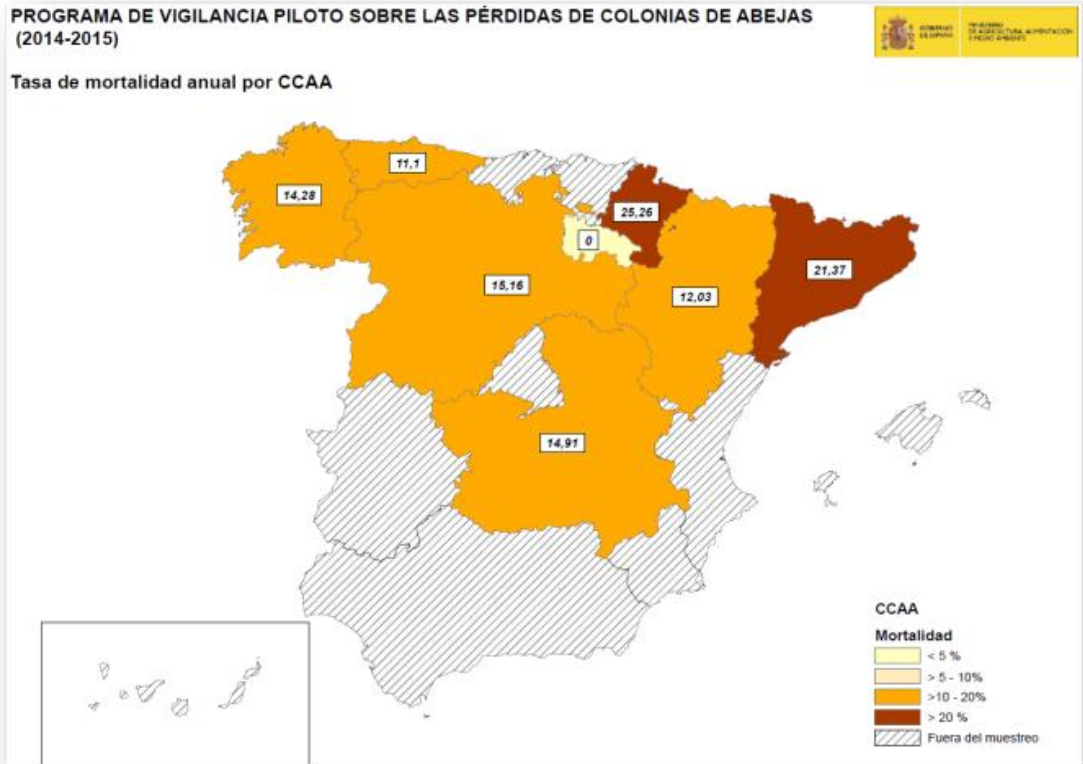
Durante 2013-2014, en la UE la mortalidad anual varió entre el 2,6 y el 23,4 % en los 16 Estados Miembros participantes. En 9 Estados Miembros de 16 se presentó una **tasa de mortalidad inferior al 10%** y en 6 varió **entre el 10% y el 20%**, superándose sólo el **20% de mortalidad** en Bélgica y Francia (figura 20). Para 8 de 16 Estados Miembros no se produjeron variaciones estadísticamente significativas entre ambos periodos. Sin embargo, para Bélgica, Estonia, Finlandia, Letonia, Polonia, Portugal, **España** y Suiza se produjeron descensos significativos de la mortalidad anual (Laurent, M. et al, 2015).



**Figura 20:** EPILOBEE: Mortalidad anual en Europa 2013-2014 (LAURENT Marion et al 2015).

### Mortalidad anual durante la campaña 2014-2015 en España.

En el periodo 2014-15 para el conjunto de CCAA la mortalidad anual fue un **15,1%**. Esta tasa de mortalidad anual fue superior a la tasa de mortalidad registrada para el periodo 2013-14 y similar al periodo 2012-2013, pero en estos cálculos no se han tenido en cuenta aquellas CCAA que no han realizado las tres visitas (Andalucía, Valencia, Extremadura, Madrid y Murcia). La mayor parte de las CCAA presentaron mortalidades **anuales entre el 10 y el 20%**, lo que representó el 81,1% de las colonias estudiadas. Sólo Cataluña y Navarra presentaron una **mortalidad anual superior al 20%**, representando el 14,3 % del total de las colonias. Sólo La Rioja presentó una **mortalidad inferior al 5%** (figura 21).



**Figura 21:** Mortalidad anual por CCAA (2014-15)

### 3.3. ENFERMEDADES DE LAS ABEJAS

#### 3.3.1 INFESTACIÓN POR *Varroa destructor* Y VARROOSIS

##### 3.3.1.1 INFESTACIÓN POR *Varroa destructor*

#### Tasas de infestación de *Varroa destructor* por apiarios y colonia.

A lo largo de las tres campañas evaluadas se han tomado un total de 5.660 muestras de abejas internas (aproximadamente 300 abejas), de las cuales no se han podido analizar 12 por llegar en mal estado al laboratorio. Las tasas de infestación se han valorado como número de varroas sobre 100 abejas.

RECUESTO TASAS INFESTACIÓN VARROA (muestras sistemáticas)	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL
Nº de muestras sistemáticas (recuento de varroa)	2.325	2.147	1.188	5.660
Nº de análisis recuento de varroa	2320	2143	1185	5.648

*Tabla V1:* nº de análisis realizados durante periodo 2012-15

Se ha llevado a cabo el estudio de las tasas de infestación por CCAA, tanto por apiario como por el conjunto de colonias analizadas. Para cada apiario se ha calculado la tasa de infestación promedio por *Varroa destructor* sobre el conjunto de colonias analizadas.

Para la valoración de las tasas de infestación se han considerado cinco niveles de gravedad en función de la infestación, tanto para apiarios como para colonias. No obstante, hay que tener en cuenta que no hay estándares europeos ni internacionales que hayan normalizado este parámetro para la época estudiada, por lo que su agrupación es una estimación de la gravedad:

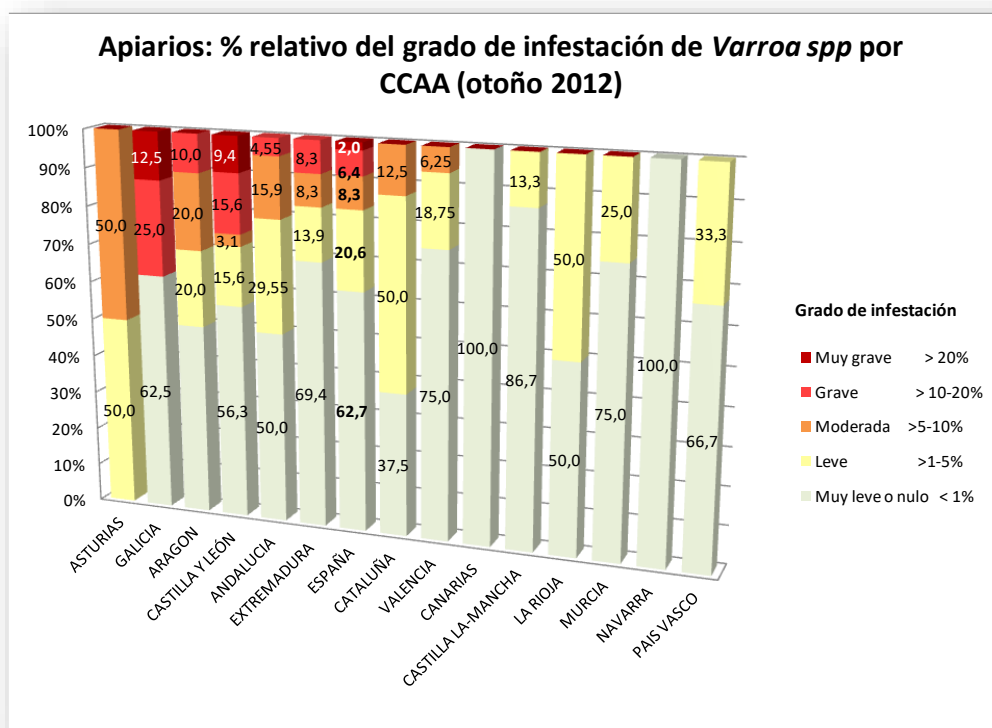
- Muy débil o nula: la tasa de infestación es inferior a 1 varroa en 100 abejas o no se ha detectado.
- Débil: la tasa de infestación varía entre 1 y 5 varroas por 100 abejas.
- Moderada: la tasa de infestación varía entre 5 y 10 varroas por 100 abejas.
- Grave: la tasa de infestación varía entre 10 y 20 varroas por 100 abejas.
- Muy grave: la tasa de infestación es superior a 20 varroas por 100 abejas.

## Otoño de 2012

### Distribución de las tasas de infestación promedio en apiarios por CCAA.

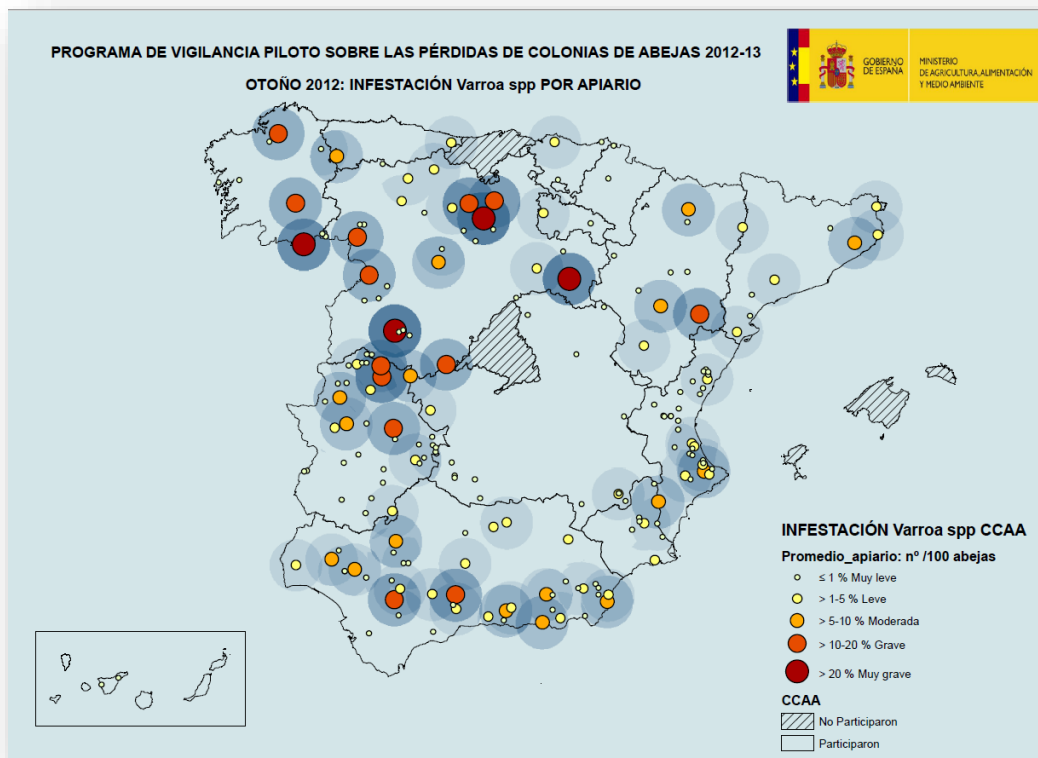
En otoño de 2012, *Varroa destructor* se detectó en un 71,8 % de los apiarios investigados. La mortalidad invernal fue significativamente superior en aquellos apiarios que presentaron mayores tasas de infestación en este periodo ( $p < 0,05$ ).

Un 62,7% presentaron **niveles muy leves o nulos de infestación** ( $\leq 1\%$ ). Como puede apreciarse en la figura V1 las menores tasas de infestación se hallaron en 4 de 14 CCAA (Canarias, Navarra, Castilla-La Mancha y Valencia), con más del 75% de los apiarios con promedios de infestación muy débiles o nulos ( $\leq 1\%$ ).



**Figura V1:** distribución por CCAA del grado de infestación de *Varroa destructor* por apiario en otoño 2012.

Un 16,7% del total de los apiarios presentaron un promedio de **tasa de infestación de moderada a muy grave**, considerándose que a partir de este nivel *Varroa* puede originar daños en las colonias de abejas (USA National Honey Bee Pests and Diseases Survey Report 2011-2012). En 5 de 17 CCAA (Andalucía, Aragón, Asturias, Castilla y León y Galicia) estos niveles se detectaron en más del 18 % de los apiarios investigados, pudiéndose observar su distribución espacial en España en la figura V2.

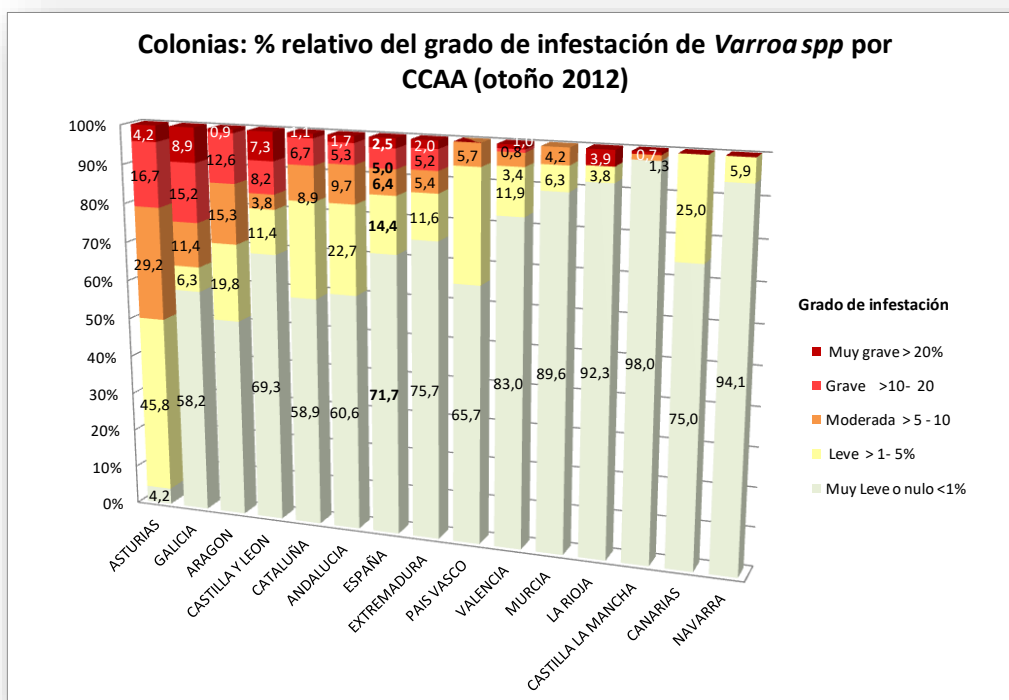


**Figura V2:** distribución geográfica de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño de 2012).

### Distribución de las tasas de infestación de colonias por CCAA

El análisis por colonias muestra que en otoño de 2012 *Varroa destructor* se detectó en un 41,4 %. Un 71,7 % presentaron una **tasa de infestación muy débil o nula** ( $\leq 1\%$ ). Así, en 7 de 14 CCAA más del 75 % de las colonias presentaron esta tasa de infestación (Canarias, Navarra, La Rioja, Castilla-La Mancha, Murcia, Extremadura, Valencia).

Un 13,9% de las colonias positivas presentaron **tasas de infestación moderadas a muy graves**, detectándose en 4 CCAA (Aragón, Asturias, Castilla y León y Galicia) este nivel de infestación en más del 18% de las colonias (ver figura V3).



**Figura V3:** distribución por CCAA del grado de infestación de *Varroa destructor* por colonias en otoño 2012.

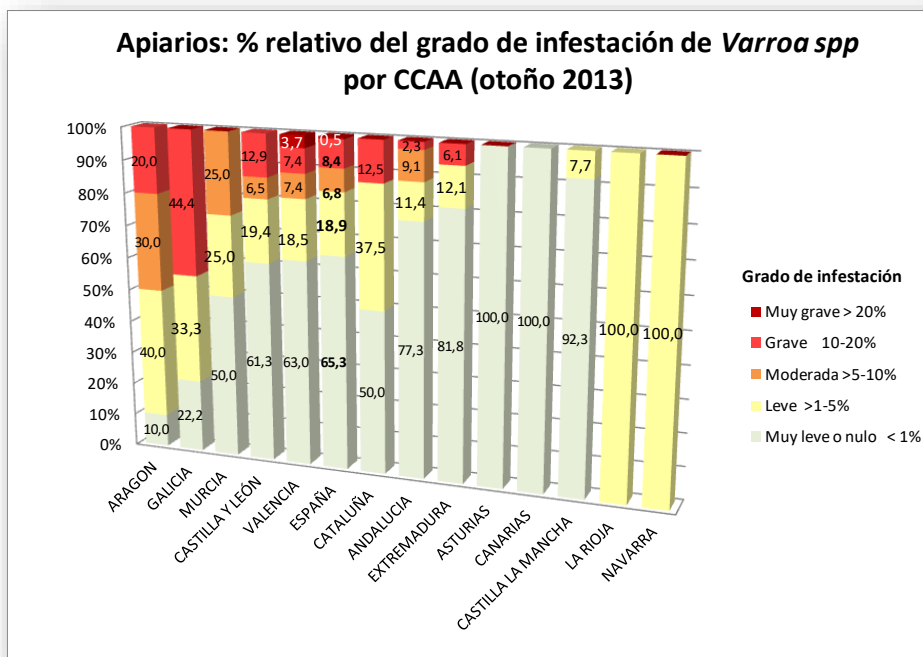
### Otoño de 2013

#### Distribución de las tasas de infestación promedio en apiarios por CCAA.

En otoño de 2013, en un 73,2% de los apiarios se detectó *varroa*. Al igual que en la campaña 2012-13 la mortalidad invernal fue significativamente superior en aquellos apiarios que presentaron mayores tasas de infestación en este periodo ( $p < 0,05$ ).

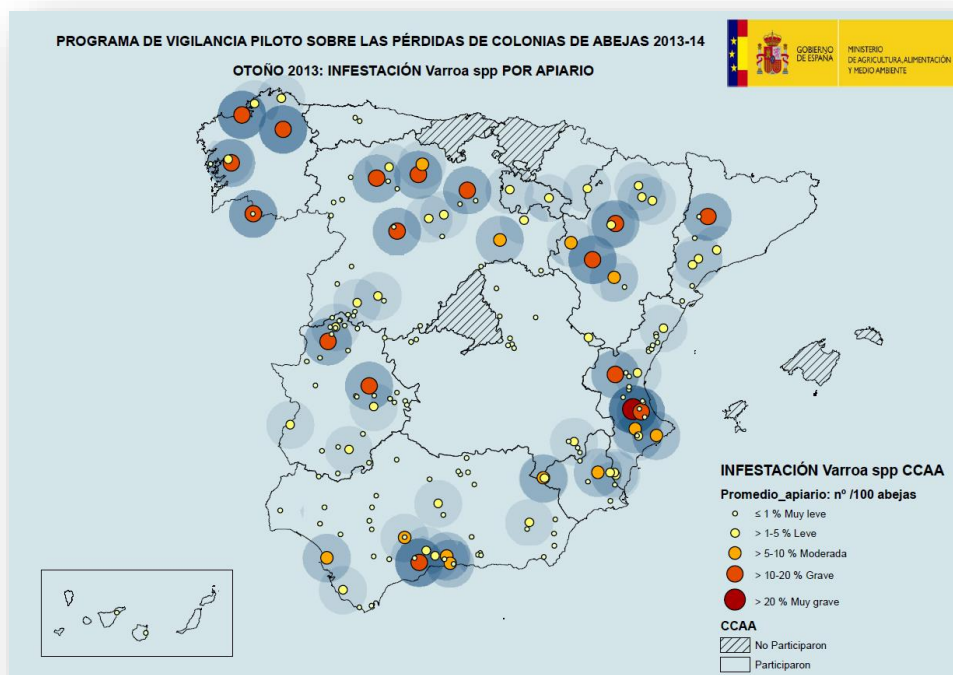
Como puede observarse en la figura V4, el 65,3% de los apiarios investigados presentaron un **nivel muy leve o nulo de infestación** ( $\leq 1\%$ ). En 5 de 13 CCAA (Andalucía, Asturias, Canarias, Castilla-La Mancha y Extremadura) más del 75% de los apiarios visitados presentó estos niveles.





**Figura V4:** distribución por CCAA del grado de infestación de *Varroa destructor* por apiario en otoño 2013.

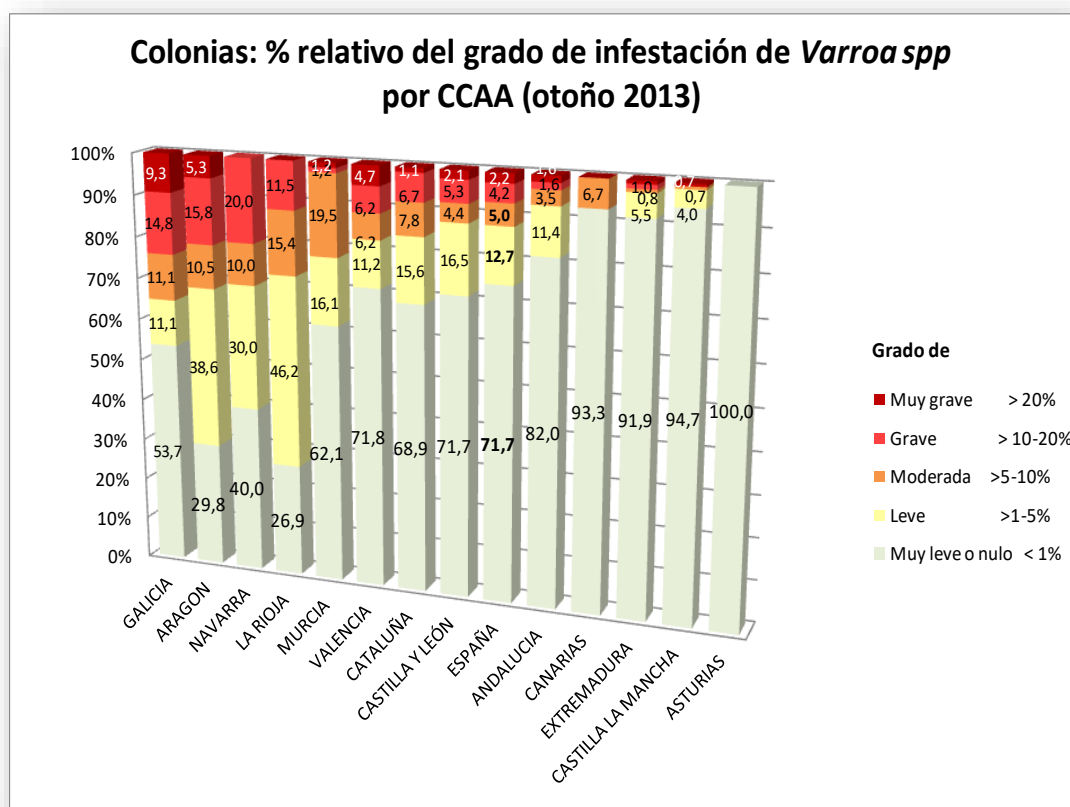
Un 15,7% del total de los apiarios presentó un promedio de **tasa de infestación de moderada a muy grave**, un 1% inferior a la campaña 2012-13. En 5 de 13 CCAA (Aragón, Castilla y León, Galicia, Murcia y Valencia) se detectó este nivel en más del 18 % de los apiarios investigados, pudiéndose observar su distribución geográfica en la figura V5.



**Figura V5:** distribución geográfica de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño de 2013).

### Distribución de las tasas de infestación de colonias por CCAA

El análisis por colonias muestra que en otoño *Varroa destructor* se detectó en un 36,1 %, observándose un marcado descenso respecto de la campaña anterior (41,4%). Un 76,0 % de las colonias presentó una **tasa de infestación muy débil o nula** ( $\leq 1\%$ ). Así en 5 de 13 CCAA más del 75 % de las colonias presentaron esta tasa de infestación (Andalucía, Asturias, Canarias, Castilla-La Mancha, Extremadura).



**Figura V6:** distribución por CCAA del grado de infestación de *Varroa destructor* por colonias en otoño 2013.

Un 11,3 % de las colonias positivas presentó una **tasa de infestación moderada a muy grave**, tasa inferior a la de la campaña anterior, detectándose este nivel en más del 18% de las colonias de 4 CCAA (Aragón, Galicia, La Rioja, Murcia y Navarra).

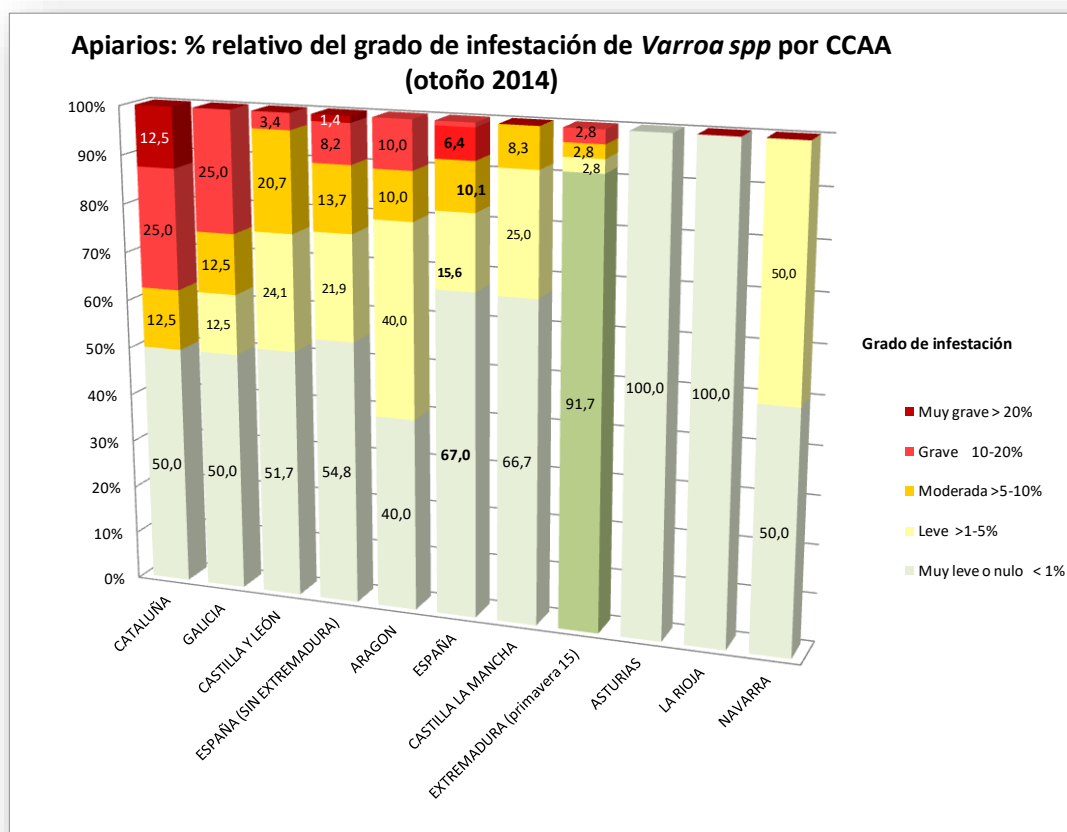
### Otoño 2014

#### Distribución de las tasas de infestación promedio en apiarios por CCAA.

En otoño de 2014, en un 84,9 % de los apiarios se detectó *Varroa destructor*. Hay que señalar que Extremadura no pudo llevar el recuento de las tasas de infestación en otoño, sino en primavera, por lo que aunque sus datos quedan recogidos en la figura V7, no

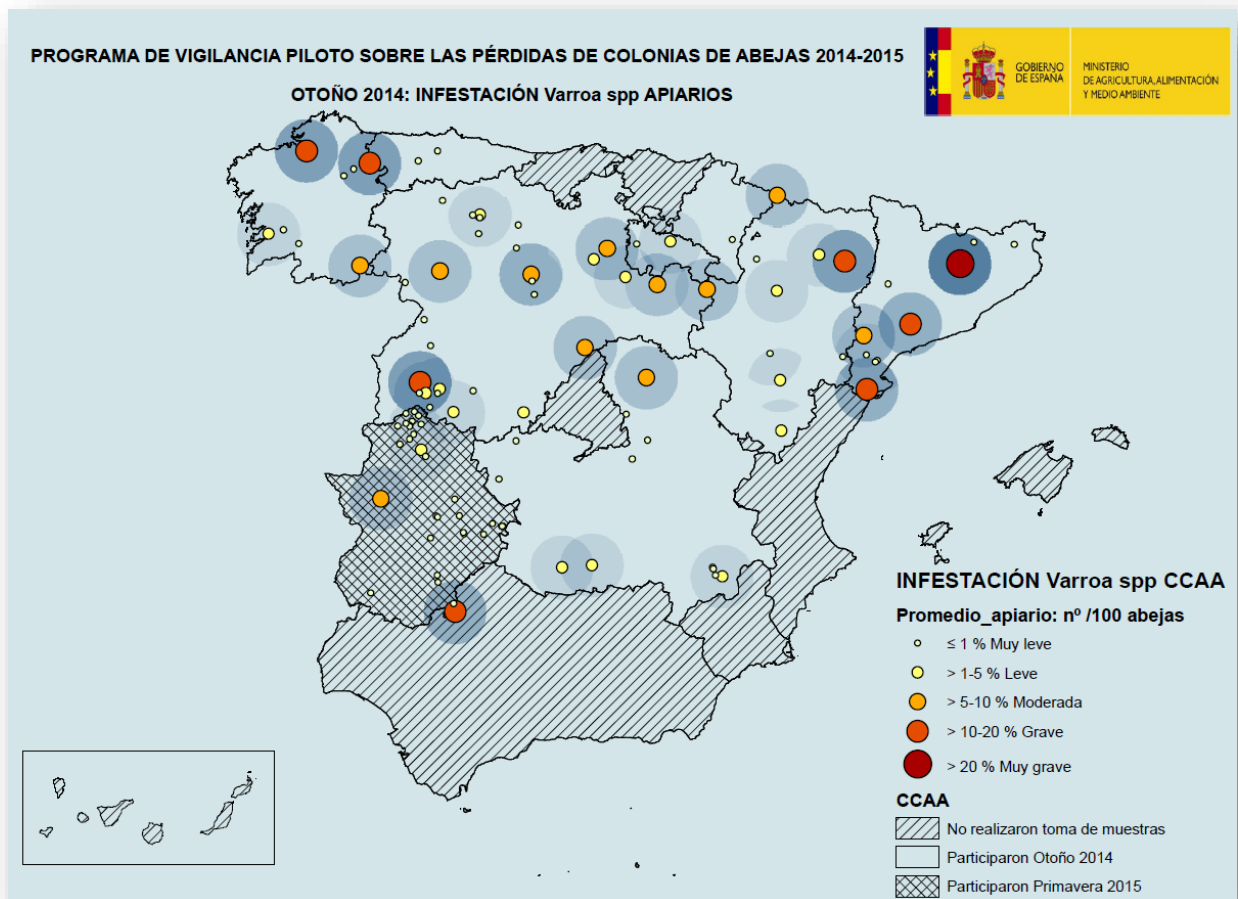
conviene compararlos con el resto de las CCAA. Al igual que en las anteriores campañas la mortalidad invernal fue significativamente superior en aquellos apiarios que presentaron mayores tasas de infestación en este periodo ( $p < 0,05$ ).

En otoño de 2014, el 54,8 % de los apiarios investigados presentaron un **nivel muy leve o nulo de infestación** ( $\leq 1\%$ ). Las menores tasas de infestación se hallaron en 2 de 8 CCAA (Asturias y La Rioja) con más del 75% de los apiarios con un promedio de infestación muy débil o nulo ( $\leq 1\%$ ).



**Figura V7:** distribución por CCAA del grado de infestación de *Varroa destructor* por apiario en otoño 2013.

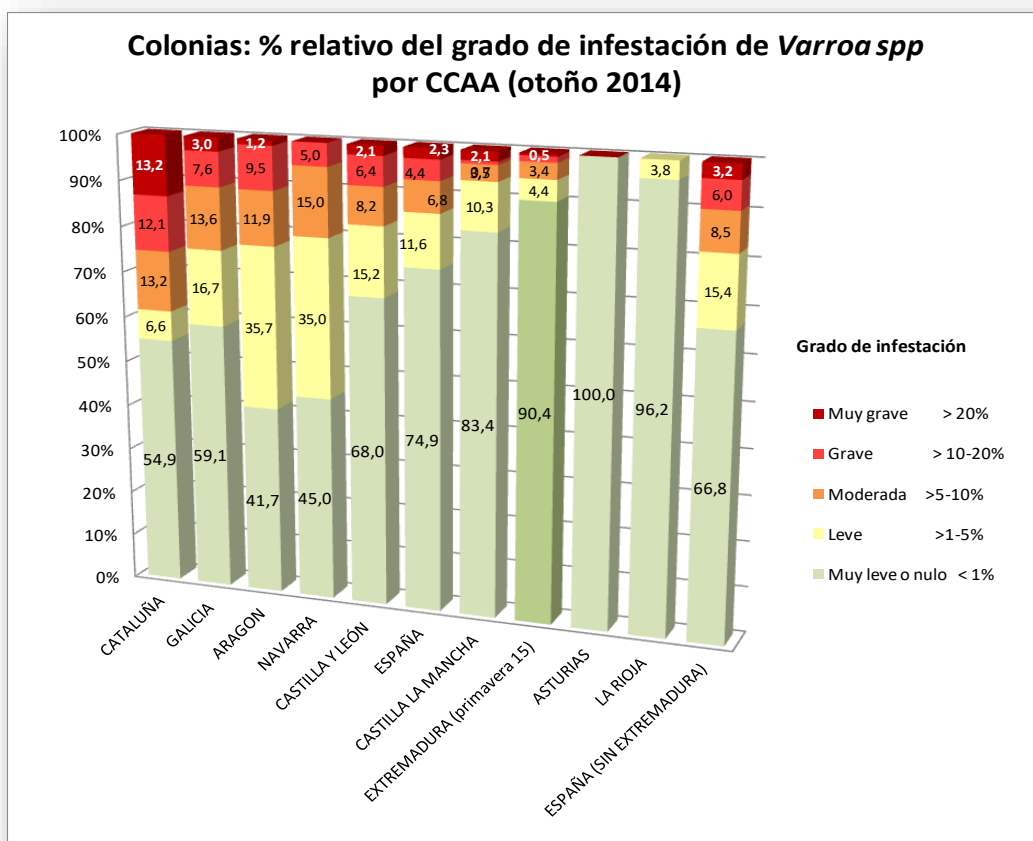
Un **23,3 %** del total de los apiarios presentaron un promedio de **tasas de infestación de moderadas a muy graves**, porcentaje muy superior a las campañas anteriores. En 4 de 8 CCAA se detectaron estos niveles más de un 18% de los apiarios (Aragón, Castilla y León, Cataluña y Galicia) cuya distribución puede observarse en la figura V8.



**Figura V8:** distribución geográfica de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño de 2013).

### Distribución de las tasas de infestación de colonias por CCAA

El análisis por colonias muestra que en otoño *Varroa destructor* se detectó en un 47,2 %. Un 66,8 % de las colonias presentó una **tasa de infestación muy débil o nula** ( $\leq 1\%$ ). Así en 3 de 8 CCAA más del 75 % de las colonias presentaron esta tasa de infestación (Asturias, Castilla-La Mancha, La Rioja). Al igual que en el apartado anterior, aunque Extremadura más de un 75% de los apiarios presentó en primavera parasitaciones muy débiles o nulas, no las hemos computado.

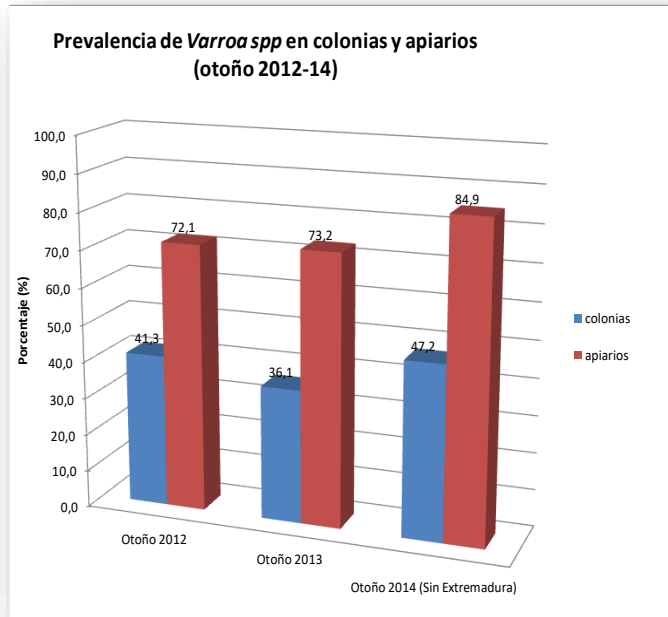


**Figura V9:** distribución por CCAA del grado de infestación de *Varroa destructor* por colonias en otoño 2014

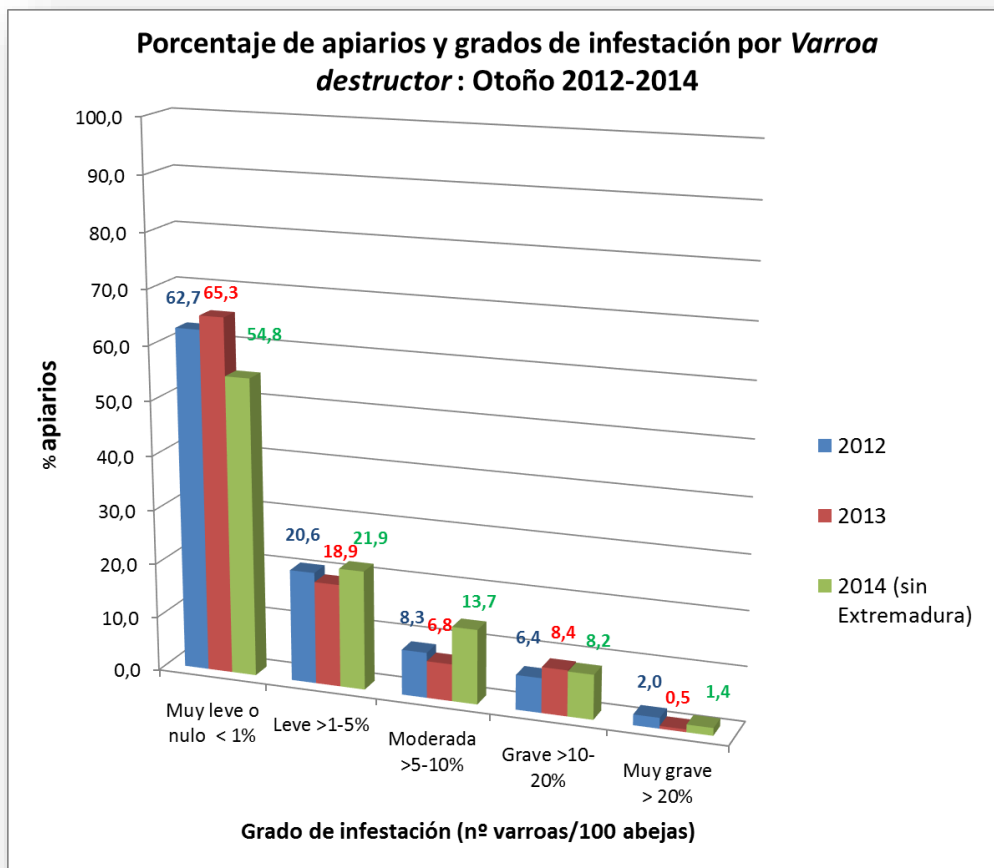
El porcentaje de **tasas de infestación moderadas a muy graves** registrado es el más alto de los tres periodos investigados alcanzando al 17,7 % de las colonias positivas, detectándose este nivel en más del 18% de las colonias de 4 CCAA (Cataluña, Aragón, Galicia y Navarra).

**Evolución de la infestación por *Varroa destructor* entre campañas en apiarios y colonias.**

La evolución en relación a la prevalencia de *Varroa destructor* y distribución de las tasas de infestación a lo largo de las tres campañas, que se recoge en las figuras V10, V11 y V12, muestra un **aumento de la prevalencia en apiarios y colonias de *Varroa destructor* en otoño a lo largo de las tres campañas, así como del porcentaje de apiarios y colonias parasitados de forma moderada a muy grave**, especialmente significativo durante la campaña 2014-2015 donde se registró una mayor mortalidad invernal.

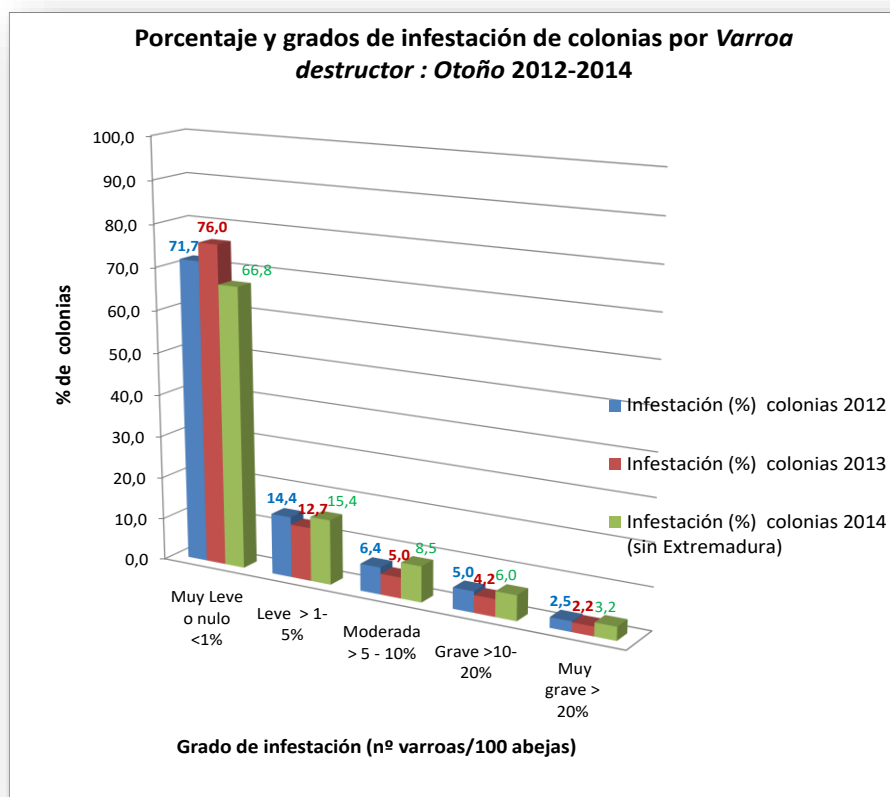


**Figura V10:** evolución de la prevalencia de *Varroa destructor* en colonias y apiarios (otoño 2012-14).



**Figura V11:** distribución de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño 2012-2014).

En todas las campañas la mortalidad invernal fue significativamente superior en aquellos apiarios que presentaron mayores tasas de infestación en otoño ( $p < 0,05$ ), por lo que se trata de un factor condicionante de la supervivencia invernal de las colonias de abejas.



**Figura V12:** evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por colonia (otoño 2012- 2014).

El análisis de la presencia de *Varroa spp* y la mortalidad por colonias, muestra que el riesgo (OR) de mortalidad en colonias expuestas al ácaro fue 1,688 veces superior (IC 95%=1,367-2,085;  $P < 0,001$ ) frente a las que no lo estaban durante las campañas 2012-2014. No se trata de un riesgo elevado, por lo que la mera detección del parásito sin su cuantificación no parece ser un parámetro suficiente para determinar si existe un riesgo elevado de mortalidad, siendo por tanto aconsejable su cuantificación para poder valorarlo con una mayor precisión.

Durante los tres años evaluados, las mayores tasas de infestación tanto en apiarios como en colonias se localizaron en la mitad norte peninsular, tratándose de un área en la que hay una menor profesionalización del sector, así se ha encontrado una infestación por *Varroa destructor* significativamente superior ( $p < 0,05$ ), en aquellos apiarios cuyos apicultores son aficionados o a tiempo parcial (< 150 colmenas). No obstante, no se ha podido establecer una correlación significativa entre el grado de profesionalización y la mortalidad invernal, por lo que más factores están influyendo en este parámetro.

CCAA	% APIARIOS POR GRADO DE INFESTACIÓN por <i>Varroa spp</i>														
	Muy leve o nulo < 1%			Leve >1-5%			Moderada >5-10%			Grave 20% >10-			Muy grave > 20%		
	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15
<b>CAMPAÑA</b>															
ANDALUCIA	50,0	77,3		29,5	11,4		15,9	9,1		4,5	2,3		0,0	0,0	
ARAGON	50,0	10,0	40,0	20,0	40,0	40,0	20,0	30,0	10,0	10,0	20,0	10,0	0,0	0,0	0,0
ASTURIAS	0,0	100,0	100,0	50,0	0,0	0,0	50,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
BALEARES															
CANARIAS	100,0	100,0		0,0	0,0		0,0	0,0		0,0	0,0		0,0	0,0	
CANTABRIA															
CASTILLA LA MANCHA	86,7	92,3	66,7	13,3	7,7	25,0	0,0	0,0	8,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CASTILLA Y LEÓN	56,3	61,3	51,7	15,6	19,4	24,1	3,1	6,5	20,7	15,6	12,9	3,4	9,4	0,0	0,0
CATALUÑA	37,5	50,0	50,0	50,0	37,5	0,0	12,5	0,0	12,5	0,0	12,5	25,0	0,0	0,0	12,5
EXTREMADURA	69,4	81,8	91,7	13,9	12,1	2,8	8,3	0,0	2,8	8,3	6,1	2,8	0,0	0,0	0,0
GALICIA	62,5	22,2	50,0	0,0	33,3	12,5	0,0	0,0	12,5	25,0	44,4	25,0	12,5	0,0	0,0
LA RIOJA	50,0	0,0	100,0	50,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MADRID															
MURCIA	75,0	50,0		25,0	25,0		0,0	25,0		0,0	0,0		0,0	0,0	
NAVARRA	100,0	0,0	50,0	0,0	100,0	50,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PAIS VASCO	66,7			33,3			0,0			0,0			0,0		
VALENCIA	75,0	63,0		18,8	18,5		6,3	7,4		0,0	7,4		0,0	3,7	
<b>ESPAÑA</b>	<b>62,7</b>	<b>65,3</b>	<b>67,0</b>	<b>20,6</b>	<b>18,9</b>	<b>15,6</b>	<b>8,3</b>	<b>6,8</b>	<b>10,1</b>	<b>6,4</b>	<b>8,4</b>	<b>6,4</b>	<b>2,0</b>	<b>0,5</b>	<b>0,9</b>
<b>ESPAÑA (SIN EXTREMADURA)</b>			<b>54,8</b>			<b>21,9</b>			<b>13,7</b>			<b>8,2</b>			<b>1,4</b>

Tabla V2: % distribución de apiarios por grado de infestación por *Varroa destructor* (otoño 2012- 2014).



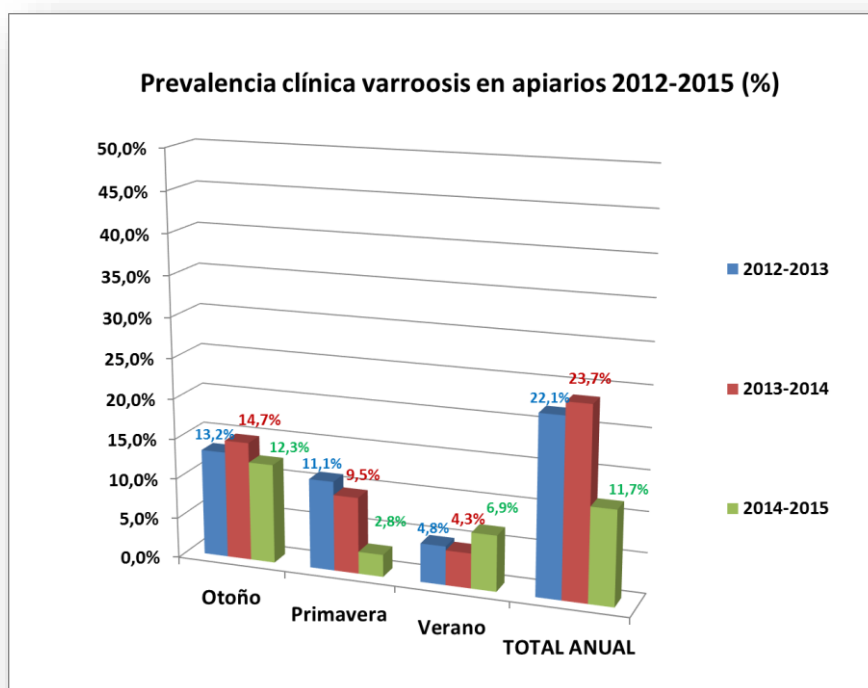
% COLONIAS POR GRADO DE INFESTACIÓN por <i>Varroa spp</i>																		
CCAA	Muy leve o nulo			< 1%			Leve >1-5%			Moderada >5-10%			Grave >10-20%			Muy grave > 20%		
	CAMPAÑA	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15		
ANDALUCIA	60,6	82,0		22,7	11,4		9,7	3,5		5,3	1,6		1,7	1,6				
ARAGON	51,4	29,8	41,7	19,8	38,6	35,7	15,3	10,5	11,9	12,6	15,8	9,5	0,9	5,3	1,2			
ASTURIAS	4,2	100,0	100,0	45,8	0,0	0,0	29,2	0,0	0,0	16,7	0,0	0,0	4,2	0,0	0,0			
BALEARES																		
CANARIAS	75,0	93,3		25,0	0,0		0,0	6,7		0,0	0,0		0,0	0,0				
CANTABRIA																		
CASTILLA LA MANCHA	98,0	94,7	83,4	0,0	4,0	10,3	1,3	0,7	3,5	0,0	0,0	0,7	0,7	0,7	2,1			
CASTILLA Y LEÓN	69,3	71,7	68,0	11,4	16,5	15,2	3,8	4,4	8,2	8,2	5,3	6,4	7,3	2,1	2,1			
CATALUÑA	58,9	68,9	54,9	24,4	15,6	6,6	8,9	7,8	13,2	6,7	6,7	12,1	1,1	1,1	13,2			
EXTREMADURA	75,7	91,9	90,4	11,6	5,5	4,4	5,4	0,8	3,4	5,2	1,0	1,2	2,0	0,8	0,5			
GALICIA	58,2	53,7	59,1	6,3	11,1	16,7	11,4	11,1	13,6	15,2	14,8	7,6	8,9	9,3	3,0			
LA RIOJA	92,3	26,9	96,2	3,8	46,2	3,8	0,0	15,4	0,0	0,0	11,5	0,0	3,9	0,0	0,0			
MADRID																		
MURCIA	89,6	62,1		6,3	16,1		4,2	19,5		0,0	1,2		0,0	1,2				
NAVARRA	94,1	40,0	45,0	5,9	30,0	35,0	0,0	10,0	15,0	0,0	20,0	5,0	0,0	0,0	0,0			
PAIS VASCO	65,7			28,6			5,7			0,0			0,0					
VALENCIA	83,0	71,8		11,9	11,2		3,4	6,2		0,8	6,2		1,0	4,7				
<b>ESPAÑA</b>	<b>71,7</b>	<b>76,0</b>	<b>74,9</b>	<b>14,4</b>	<b>12,7</b>	<b>11,6</b>	<b>6,4</b>	<b>5,0</b>	<b>6,8</b>	<b>5,0</b>	<b>4,2</b>	<b>4,4</b>	<b>2,5</b>	<b>2,2</b>	<b>2,3</b>			
<b>ESPAÑA (SIN EXTREMADURA)</b>			<b>66,8</b>			<b>15,4</b>			<b>8,5</b>			<b>6,0</b>			<b>3,2</b>			

**Tabla V3:** % distribución de colonias por grado de infestación por *Varroa destructor* (otoño 2012- 2014).

### 3.3.1.2 VARROOSIS

En relación a la manifestación clínica de varroosis cabe decir que clínicamente la varroosis se detectó en las tres visitas (otoño, primavera y verano) a lo largo de los tres años evaluados.

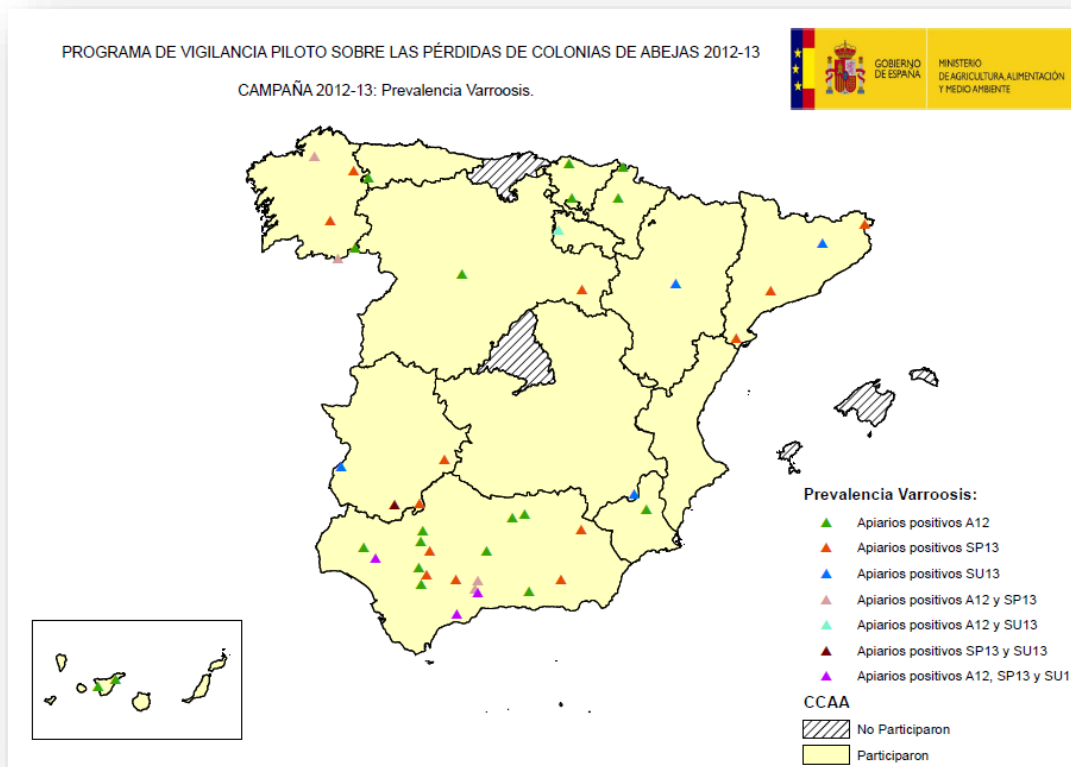
En la figura V13, se muestra la evolución de la prevalencia clínica a lo largo de las tres campañas evaluadas, con variaciones anuales entre el 23,7% y el 11,7%, donde la menor detección clínica se produjo en la campaña 2014-15. La mayor prevalencia clínica suele detectarse en otoño, siendo un 13,4% los apiarios afectados registrándose prevalencias inferiores en primavera y en verano.



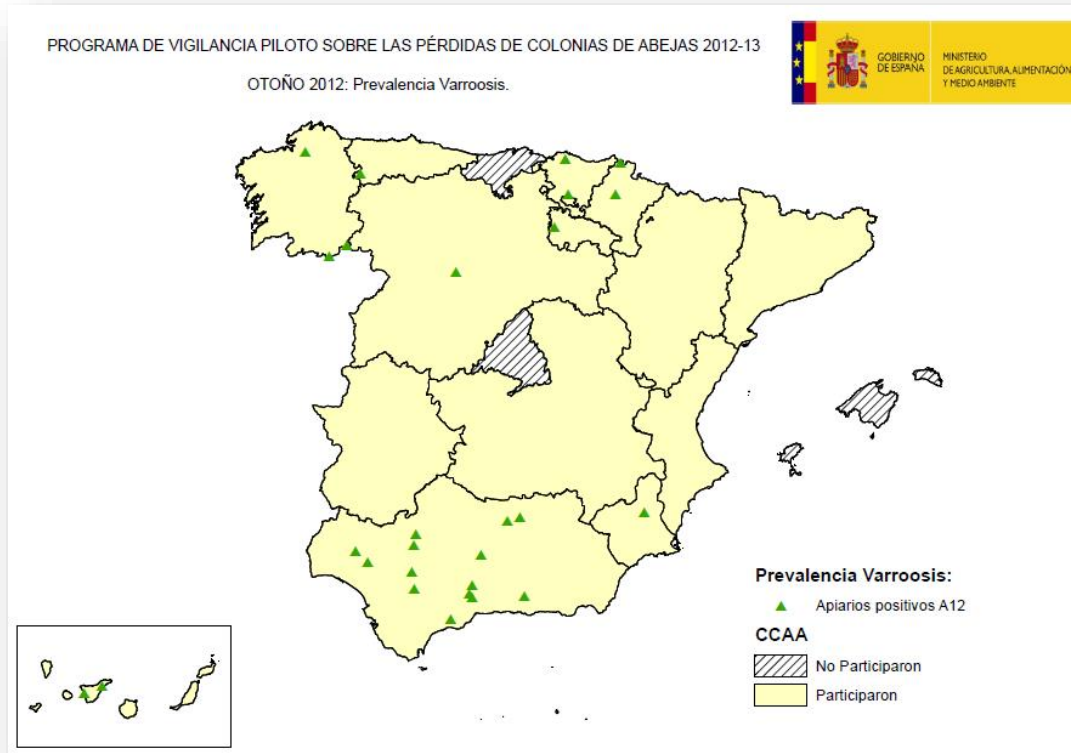
**Figura V13:** evolución de la prevalencia clínica (2012-2015).

Cabe destacar que en algunas áreas las detecciones elevadas en las tasas de infestación promedio por apiario por *Varroa destructor* (ver figura V2, V5, V8) parecen no tener un reflejo en la detección clínica en otoño (figura V15, V17 y V19). Además, el incremento en la detección de *Varroa destructor* en apiarios observado en otoño tampoco tiene reflejo en la detección clínica de varroosis. Por otro lado, no se ha detectado una mortalidad invernal/primaveral significativamente superior en aquellos apiarios en los que se ha detectado varroosis clínica ( $p > 0,05$ ). Estos resultados parecen sugerir que para valorar correctamente esta patología es necesario realizar una cuantificación de las tasas de infestación promedio por apiario, las cuales ya se ha demostrado que sí presentan una correlación significativa con la mortalidad invernal.

#### **Prevalencia varroosis clínica durante la Campaña 2012-2013.**

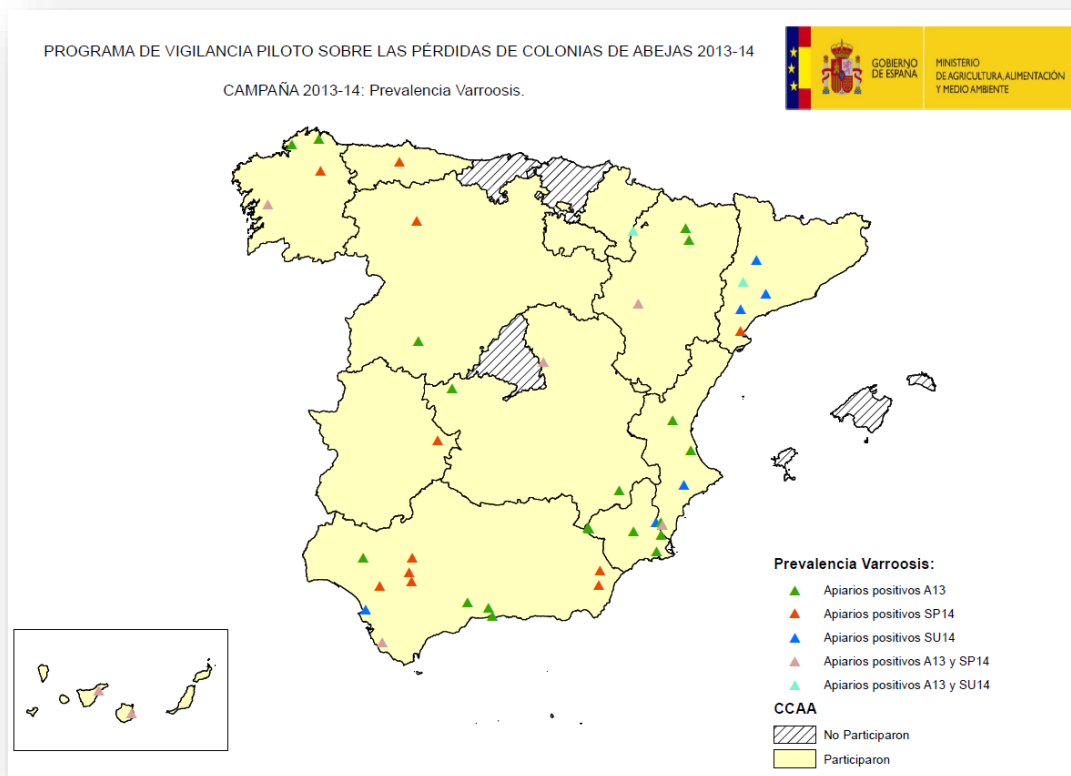


**Figura V14:** prevalencia clínica de la varroosis en apiarios durante la campaña 2012-2013.

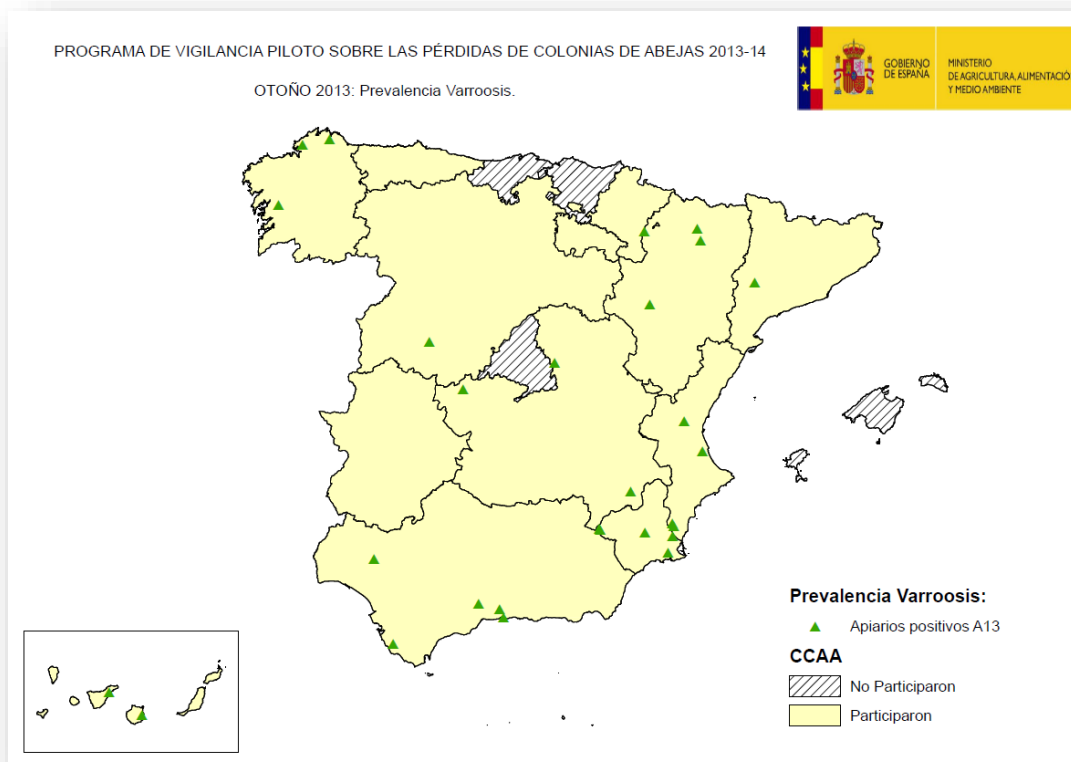


**Figura V15:** prevalencia clínica de varroosis en apiarios (otoño de 2012).

## Prevalencia varroosis clínica durante la Campaña 2013-2014.

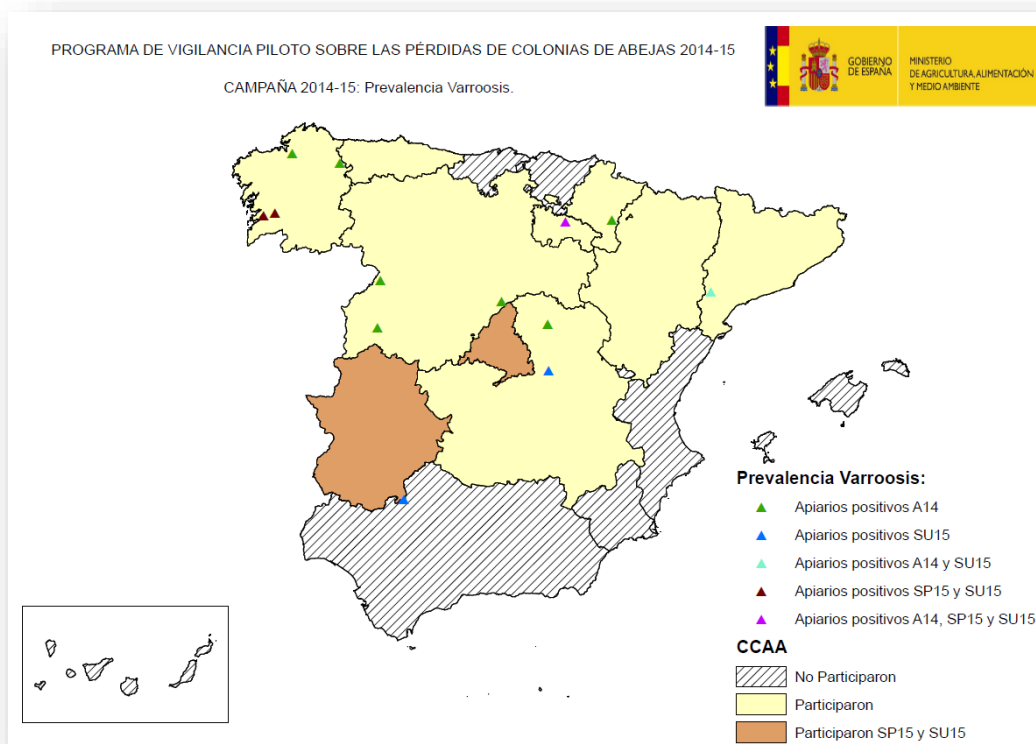


**Figura V16:** prevalencia clínica de la varroosis por apiario durante la campaña 2013-2014.

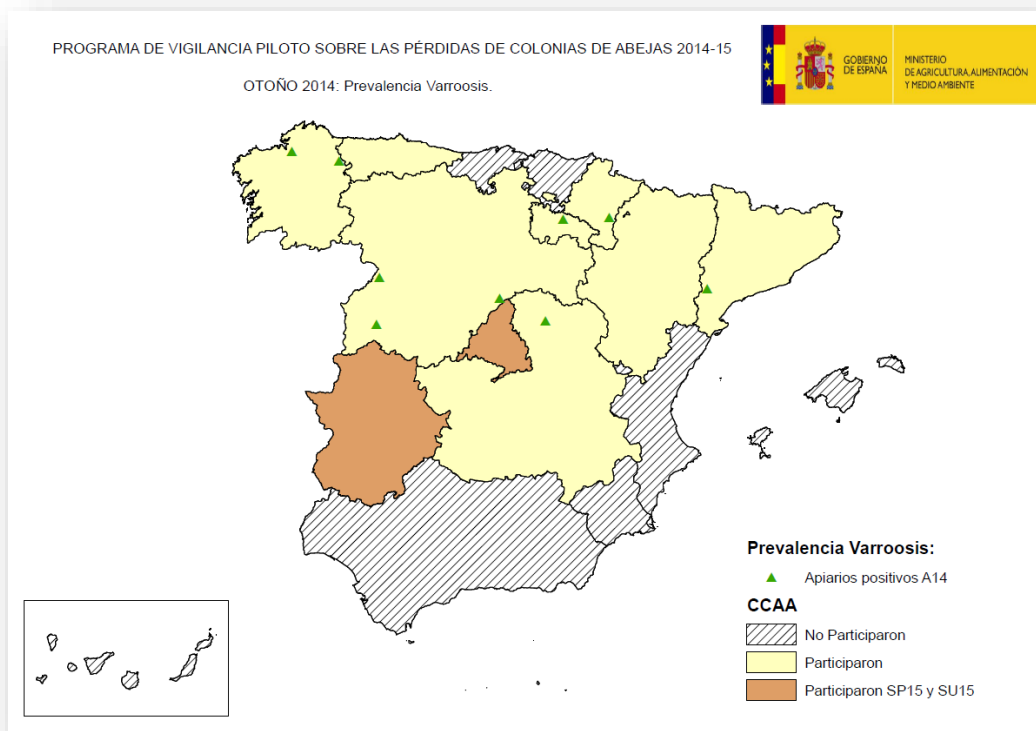


**Figura V17:** prevalencia clínica de varroosis en apiarios (otoño de 2013).

## Prevalencia varroosis clínica durante la Campaña 2014-2015.



**Figura V18:** prevalencia clínica de la varroosis en apiarios durante la campaña 2014-2015.



**Figura V19:** prevalencia clínica de la varroosis en apiarios durante el otoño 2014.

### 3.3.1.3. APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS PARA EL CONTROL DE LA VARROOSIS

Las CCAA son las responsables de la ejecución y control de la aplicación del **Real Decreto 608/2006** de 19 de mayo, por el que se establece y regula un Programa nacional de lucha y control de las enfermedades de las abejas de la miel, en el que se recogen actuaciones específicas para la lucha contra la varroosis. Según esta normativa, los titulares de las explotaciones apícolas están obligados a efectuar un tratamiento anual para la lucha y control de la varroosis entre los meses de septiembre, octubre y noviembre, dando libertad a las CCAA para adelantar este periodo en función de las necesidades de control del parásito, ya que en ocasiones es necesario una aplicación más temprana. En este estudio hemos considerado como tratamientos otoñales aquéllos llevados a cabo desde el mes de julio hasta el mes de diciembre.

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) es la responsable en España de las autorizaciones de comercialización de medicamentos veterinarios destinados a las abejas. Las CCAA son las responsables de los controles oficiales de la distribución y uso de medicamentos veterinarios.

En la actualidad son 7 las sustancias autorizadas (Ácido Oxálico, Ácido Fórmico, Amitraz, Coumaphos, Tau-fluvalinato, Timol y Flumetrina) y 10 medicamentos aprobados para el control de la varroosis (<http://www.aemps.gob.es/medicamentosVeterinarios/Med-Vet-autorizados/Med-abejas/home.htm>).

A lo largo de las tres campañas analizadas en **otoño**, un 94,7% de los apiarios aplicaron algún tratamiento para el control de *Varroa destructor* (tabla V4). A pesar de que un 84,5% lo hicieron antes de la visita otoñal, **un promedio de un 11,8% de apiarios tratados presentó una tasa de infestación moderada a muy grave**, indicando esto que la aplicación de los tratamientos no ha sido lo suficientemente efectiva para su control. Cabe resaltar que en tan sólo un 49,4% de los apiarios investigados se aplicaron correctamente los tratamientos durante las tres campañas, lo cual disminuye la eficacia en el control y puede favorecer la aparición de resistencias. En este parámetro se ha valorado la dosis empleada, el tiempo de permanencia del tratamiento en las colonias y el uso de sustancias no autorizadas (sólo analizado en el otoño de 2012).

A la vista de los resultados obtenidos de niveles de residuos de pesticidas en panal de polen durante el otoño de 2012 (ver punto 3.4.1), **se han detectado concentraciones muy elevadas de acaricidas para el control de varroosis (autorizados y no autorizados), tanto en apiarios que declararon su uso como en los que no lo hicieron**. Ello sugiere el posible uso de tratamientos presumiblemente ilegales para el control de la varroosis. Los tratamientos no declarados se han considerado también como tratamientos aplicados incorrectamente a efectos de este análisis.

La proporción de tratamientos presumiblemente ilegales fue del 22,5%, considerándose al efecto los residuos de acaricidas no declarados encontrados por apiario durante el otoño de 2012 que superaban los siguientes niveles: Coumaphos no declarado >500 µg/kg; Tau-fluvalinato > 300 µg/kg; Clorfenvinphos > 200 µg/kg; Acrinathrina > 30 µg/kg.

% APIARIOS OTOÑO	2012*	2013	2014 (Sin Extremadura y Madrid)	TOTAL
<b>Total tratados en otoño</b>	92,6*	96,8	94,9	<b>94,7</b>
<b>Tratados antes de la visita de otoño</b>	86,6*	80,5	89,8	<b>84,5</b>
<b>Aplicaciones correctas</b>	42,2**	50,0	55,9	<b>49,4</b>
<b>Tratados antes de la visita de otoño con parasitaciones moderadas a graves</b>	12,0	10,5	15,1	<b>11,8</b>
<b>Tratamientos posiblemente ilegales</b>	29,4**	NA	NA	<b>NA</b>

**Tabla V4:** aplicación de tratamientos otoñales en apiarios para el control de *Varroa destructor*.

\* Se ha tenido en cuenta como tratamiento efectuado la presencia de residuos de acaricidas no declarados encontrados por apiario durante el otoño de 2012 por encima de los siguientes límites: Coumaphos no declarado >500 µg/kg, Tau-fluvalinato > 300 µg/kg; Clorfenvinphos > 200 µg/kg, Acrinathrina > 30 µg/kg.

\*\* No se han tenido en cuenta las detecciones de Coumaphos no declarados (> 500 µg/kg) por apiario porque no hay fitosanitarios ni otros medicamentos autorizados en otras especies ganaderas.

En relación a las **sustancias activas autorizadas** más utilizadas, podemos observar que en **otoño** (ver tabla V5), de los apiarios que han llevado a cabo algún tipo de tratamiento, el Coumaphos ha sido el principio activo más utilizado en el conjunto de las campañas evaluadas, seguido del Amitraz con una escasa utilización de principios activos ecológicos (Timol, Ácido Oxálico y Ácido Fórmico) (figura V9). Por otro lado, es frecuente la utilización de uno o más principios activos en los tratamientos.

% Utilización de principios activos autorizados en otoño	2012	2013	2014 (Sin Extremadura y Madrid)	TOTAL
<b>Coumaphos declarado</b>	38,0	58,2	67,9	<b>50,6</b>
<b>Coumaphos</b> (2012: no declarados (> 500 µg/kg) + declarados)	46,5*	NA	NA	<b>NA</b>
<b>Amitraz</b>	40,1	28,8	85,7	<b>41,2</b>
<b>Tau-fluvalinato declarado</b>	5,3	6,5	33,9	<b>9,6</b>
<b>Tau-fluvalinato</b> (2012: no declarados (>300 µg/kg) + declarados)	10,2*	NA	NA	<b>NA</b>
<b>Timol</b>	1,1	3,8	8,9	<b>3,3</b>
<b>Ácido Oxálico</b>	2,7	2,7	3,6	<b>2,8</b>
<b>Ácido Fórmico</b>	0,0	0,5	0,0	<b>0,2</b>

**Tabla V5:** uso de principios activos otoñales para el control de *Varroa destructor* en apiarios que han efectuado algún tratamiento para el control de la varroosis.

\* Se ha tenido en cuenta como tratamiento efectuado la presencia de residuos de acaricidas no declarados por apiario durante el otoño de 2012 por encima de los siguientes límites: Coumaphos >500 µg/kg, Tau-fluvalinato > 300 µg/kg, Clorfenvinphos > 200 µg/kg, Acrinathrina > 30 µg/kg..

En **primavera**, en general sólo un 20% de apicultores aplicaron tratamientos para el control de la varroosis (tabla V6). Sólo un 61,6 % lo hicieron de forma correcta, siendo el Coumaphos el principio activo declarado más utilizado seguido del Amitraz, con un aumento moderado de la utilización de medicamentos ecológicos (figura V9).

Resumen tratamientos y principios activos autorizados en primavera (%)	2013	2014	2015	TOTAL
Tratamientos antes de la visita primavera	21,3	21,6	14,7	20,0
Aplicaciones correctas	61,9	56,1	75,0	61,6
Coumaphos	38,1	66,7	18,8	47,5
Amitraz	42,9	19,5	50,0	34,3
Tau-fluvalinato	28,6	4,8	12,5	16,2
Timol	44,4	12,5	18,8	12,1
Ácido Oxálico	31,3	7,1	12,5	9,1
Ácido Fórmico	16,7	0,0	0,0	2,0

**Tabla V6:** uso de principios activos primavera para el control de *Varroa destructor* en apiarios que han efectuado algún tratamiento para el control de la varroosis.

En **verano**, una media del 32,1% de apicultores realizaron tratamientos para el control de la varroa (tabla V7), destacando que en el verano de 2013 el número de tratamientos efectuados fue muy superior al resto de las campañas (61,9%) ya que se tuvo en cuenta en el cálculo los residuos de acaricidas no declarados detectados por apiario. Igualmente se detectó un porcentaje de tratamientos presumiblemente ilegales (88,5%) muy superior al del otoño.

% APIARIOS VERANO	2013	2014	2015	TOTAL
Tratamientos efectuados	61,9*	9,2	17,5	32,1
Total tratamientos posiblemente ilegales	88,5**	NA	NA	NA
Aplicaciones correctas	31,1**	23,5	58,8	34,7

**Tabla V7:** aplicación de tratamientos de verano en apiarios para el control de *Varroa destructor*.

\* Se ha tenido en cuenta como tratamiento efectuado la presencia de residuos de acaricidas no declarados por apiario durante el verano de 2013 (Coumaphos >500 µg/kg, Tau-fluvalinato > 300 µg/kg, Clorfenvinphos > 200 µg/kg, Acrinathrina > 30 µg/kg).

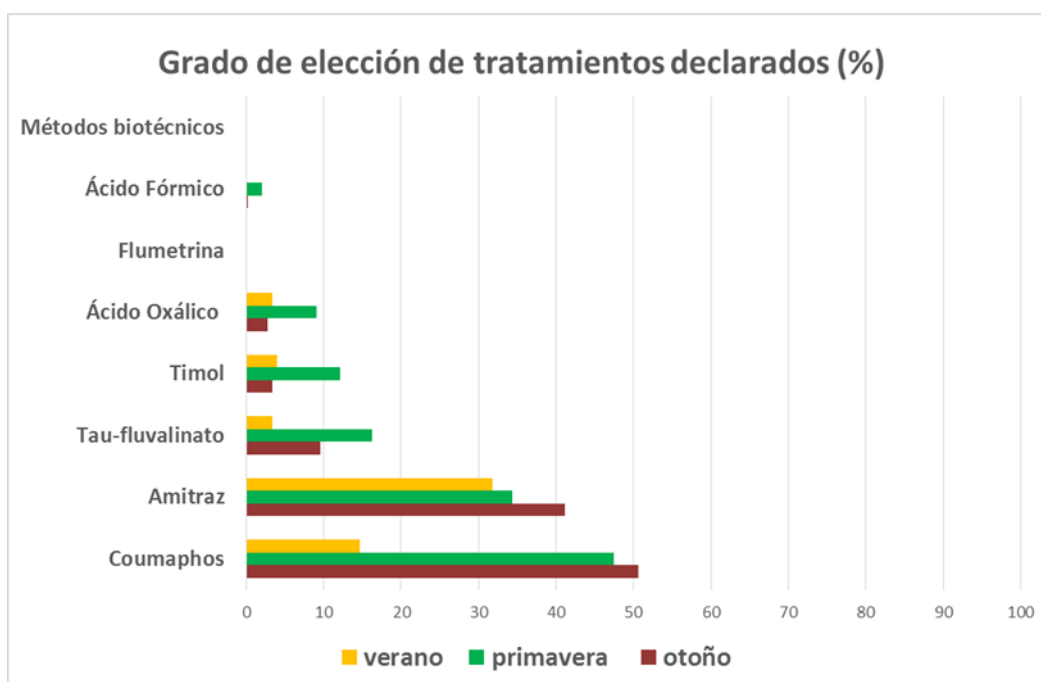
\*\* No ha tenido en cuenta las detecciones de Coumaphos no declarados (> 500 µg/kg) por apiario porque no hay fitosanitarios ni otros medicamentos autorizados en otras especies ganaderas.

El Coumaphos siguió siendo el principio activo más utilizado seguido del Amitraz, con una escasa utilización de tratamientos ecológicos (figura V9) .



% Utilización de principios activos autorizados en verano	2013	2014	2015	TOTAL
<b>Amitraz</b>	29,9	17,6	58,8	<b>31,8</b>
<b>Coumaphos declarado</b>	10,3	47,1	11,8	<b>14,6</b>
<b>Coumaphos</b> (2012:no declarado (> 500 µg/kg) + declarados)	58,1	47,1	11,8	<b>51,7</b>
<b>Tau-fluvalinato</b>	2,6	11,8	0,0	<b>3,3</b>
<b>Tau-fluvalinato</b> (2012:no declarado (> 300 µg/kg) + declarados)	11,1	11,8	0,0	<b>9,9</b>
<b>Timol</b>	1,7	17,6	5,9	<b>4,0</b>
<b>Ácido Oxálico</b>	2,6	11,8	0,0	<b>3,3</b>
<b>Ácido Fórmico</b>	0,0	0,0	0,0	<b>0,0</b>

**Tabla V8:** uso de principios activos en verano para el control de *Varroa destructor* en apiarios que han efectuado algún tratamiento para el control de la varroosis.



**Tabla V9:** Grado de elección de tratamientos declarados por visita

A la vista de los **resultados de residuos de pesticidas** (ver punto 4.3.1), la elevada concentración a la que se han detectado algunos principios activos que no se fueron declarados en el control de la varroosis indica que podrían estar utilizándose de forma ilegal (Clorfenvinphos, Acrinathrina, Tau-Fluvalinato, Dicofol). Su origen podría estar en preparados artesanales con fitosanitarios agrícolas (Acrinathrina, Tau-Fluvalinato, Dicofol) u otros medicamentos veterinarios autorizados para otras especies ganaderas (Clorfenvinphos). Por otro lado, el origen de la presencia de Coumaphos cuando no se ha declarado y se detecta a concentraciones superiores a 500 µg/kg es incierto, ya que no se sabe si procede de un tratamiento no autorizado o si permanece bioacumulado en la cera desde un posible

tratamiento anterior. Hay que destacar la elevada prevalencia de residuos de Tau-Fluvalinato en el panal de polen (95,78%) en relación a su utilización para el control de la varroosis, lo cual es un indicativo de su bioacumulación en la cera y pan de polen.

Así mismo, los apiarios que aplicaron tratamientos antes de la visita otoñal presentaron tasas de infestación por *Varroa destructor* significativamente inferiores a los no tratados ( $p < 0,05$ ).

Por otro lado, los apiarios que llevaron a cabo un tratamiento de control en otoño frente a *Varroa destructor* no presentaron una disminución significativa de la mortalidad invernal respecto a los que no fueron tratados ( $p < 0,05$ ). Ello podría deberse por un lado, a que en la mortalidad invernal no sólo influye la presencia de *Varroa destructor* y por otro lado a que un 11,8% de los apiarios de los apiarios tratados seguían presentando niveles de infestación por *Varroa destructor* moderados a muy graves, lo que comprometía su supervivencia invernal.

### 3.3.2 INFESTACIÓN POR *Nosema spp* Y NOSEMOSIS

#### 3.3.2.1 INFESTACIÓN POR *Nosema spp*

##### Tasas infestación de colonias por *Nosema spp* por apiario y por colonia.

A lo largo de las tres campañas evaluadas se han tomado un total de 3.342 muestras de abejas internas para el análisis sistemático de las tasas infestación y caracterización molecular de *Nosema spp*, de las cuales no se han podido analizar 8 por llegar en mal estado al laboratorio.

Se ha llevado a cabo el estudio de las tasas de infestación por CCAA, tanto por colonia analizada como por apiario. Para cada apiario se ha calculado la tasa de infestación promedio por *Nosema spp* sobre el conjunto total de colonias analizadas. Las tasas de infestación se han valorado como número de esporos por abeja. Además se han llevado a cabo 1.021 análisis de tipificación molecular sobre las muestras positivas a microscopía óptica.

RECUESTO TASAS INFESTACIÓN NOSEMA (muestras sistemáticas)	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL
Nº de muestras sistemáticas ( <i>Nosema spp.</i> )	2289	707	346	3.342
Nº de análisis recuento de esporas ( <i>Nosema spp.</i> )	2286	704	344	3.334
Nº de PCR (tipificación <i>Nosema spp.</i> )	668	205	148	1.021

**Tabla N1:** nº de análisis realizados durante periodo 2012-15

Para la valoración de las tasas de infestación se han considerado seis niveles de gravedad en función de la infestación, tanto para apiarios como para colonias. A pesar de que en algunos estudios se establece que a partir de 1 millón de esporos por abeja *Nosema spp* puede provocar daños sobre las abejas (Rennich et al, 2012), no hay estándares europeos ni internacionales que hayan normalizado este parámetro, por lo que su agrupación es una estimación de la gravedad:

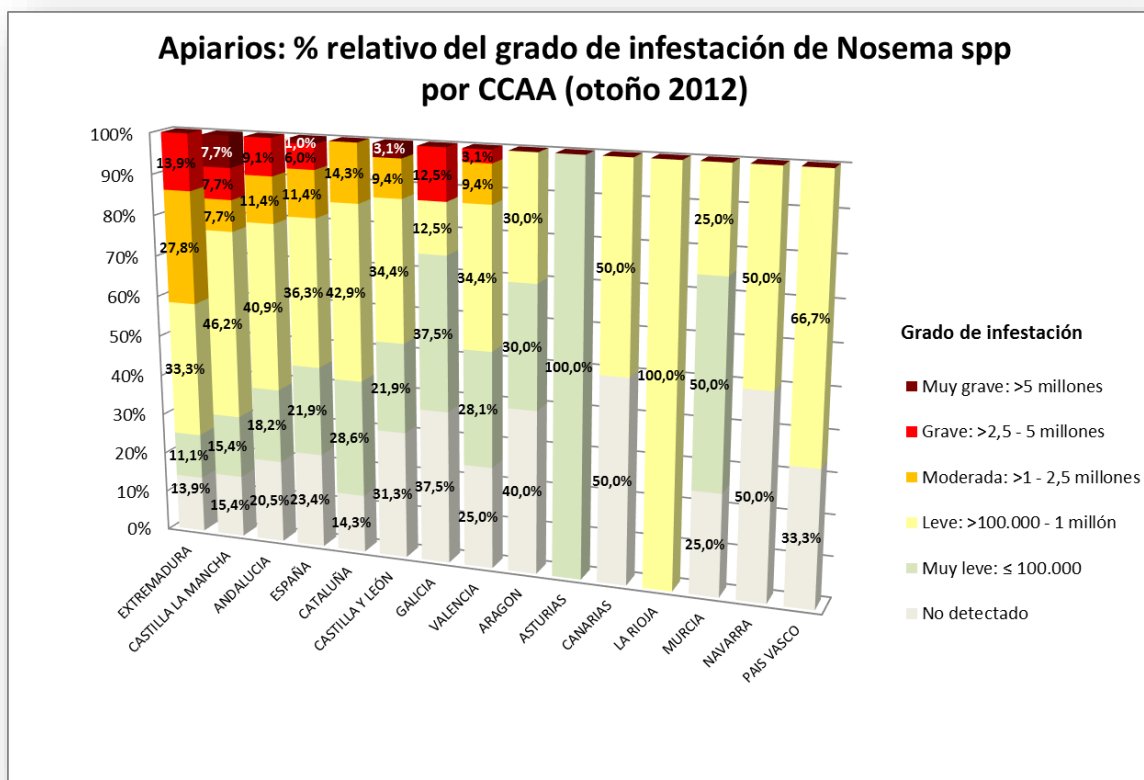
- No detectado: la tasa de infestación tiene valor cero.
- Muy débil: la tasa de infestación es inferior a 100.000 esporos de *Nosema spp.* por abeja.
- Débil: la tasa de infestación varía entre 100.000 y 1.000.000 esporos de *Nosema spp.* por abeja.
- Moderada: la tasa de infestación varía entre 1.000.000 y 2.500.000 esporos de *Nosema spp.* por abeja.
- Grave: la tasa de infestación varía entre 2.500.000 y 5.000.000 esporos de *Nosema spp.* por abeja.
- Muy grave: la tasa de infestación es superior a 5.000.000 esporos de *Nosema spp.* por abeja.

## Otoño de 2012

### Distribución de las tasas de infestación promedio en apiarios por CCAA.

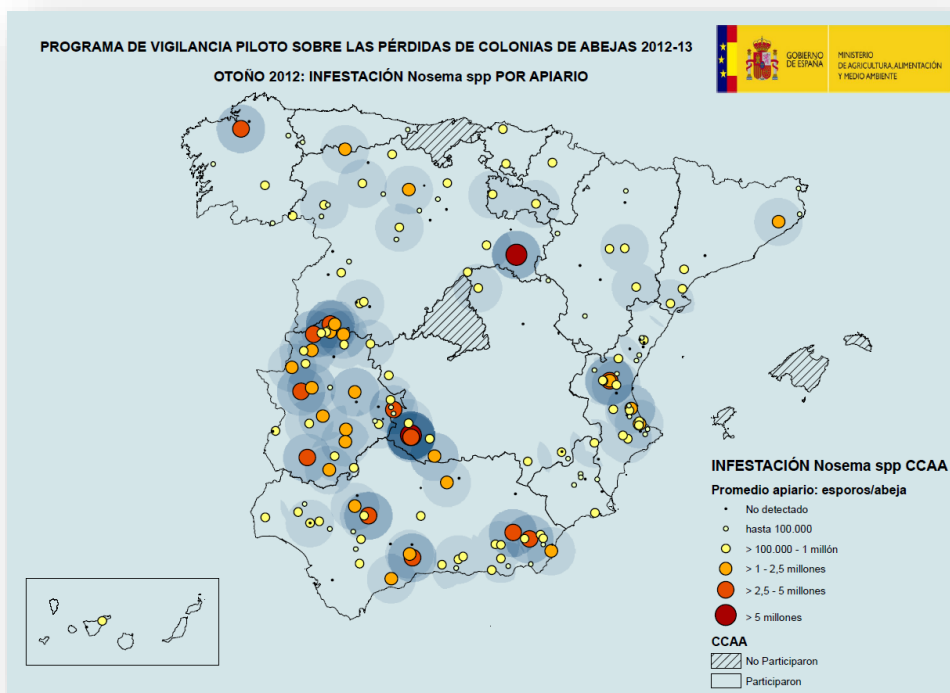
En otoño de 2012, *Nosema spp.* se detectó en un 75,9 % de los apiarios investigados. La mortalidad invernal fue significativamente superior en aquellos apiarios que presentaron mayores tasas de infestación en este periodo ( $p < 0,05$ ).

Un **45,3%** presentó un **nivel nulo o muy leve de infestación** ( $\leq 100.000$ ). Como puede apreciarse en la figura N1 las menores tasas de infestación se hallaron en Asturias, Galicia y Murcia, con más del 75% de los apiarios con promedios de infestación nulos o muy leves ( $\leq 100.000$ ).



**Figura N1:** distribución por CCAA del grado de infestación de *Nosema spp* por apiario en otoño 2012.

Un **18,4%** del total de los apiarios presentó un promedio de **tasa de infestación moderada a muy grave**, considerándose que a partir de este nivel *Nosema spp* puede originar daños en las colonias de abejas. En el suroeste peninsular se concentraron las mayores tasas de infestación, así en 3 de 14 CCAA (Andalucía, oeste de Castilla-La Mancha y Extremadura) en más del 20 % de los apiarios investigados se detectaron niveles moderados a graves, pudiéndose observar su distribución espacial en España en la figura N2.



**Figura N2:** distribución geográfica de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño de 2012).

En esta distribución se observa que las mayores tasas de infestación se han hallado en los ecosistemas mediterráneos continentales, no habiéndose podido establecer, a diferencia de las tasas de infestación por *Varroa destructor*, una correlación estadísticamente significativa con el grado de profesionalización del apicultor ( $p > 0,05$ ). Tampoco se ha encontrado ninguna correlación entre la concentración total de pesticidas y pesticidas muy tóxicos para las abejas evaluadas en otoño de 2012 en relación a las tasas de infestación de *Nosema spp* ( $p > 0,05$ ).

### Distribución de las tasas de infestación de colonias por CCAA

El análisis por colonias muestra que en otoño de 2012 *Nosema spp* se detectó en un 26,1 % de las colonias. Un 80 % de las colonias infestadas presentó una **tasa de infestación nula o muy leve** ( $\leq 100.000$  esporos/abeja). Así, en 11 de 14 CCAA más del 75 % de las colonias presentó esta tasa de infestación (Asturias, Galicia, País Vasco, Murcia, Aragón, Valencia, Canarias, Castilla y León, Navarra, Cataluña y Andalucía).

Un 12,8 % de las colonias presentaron una **tasa de infestación moderada a muy grave**, detectándose en 3 CCAA (Extremadura, La Rioja y Castilla-La Mancha) este nivel de infestación en más del 18 % de las colonias (ver figura N3).

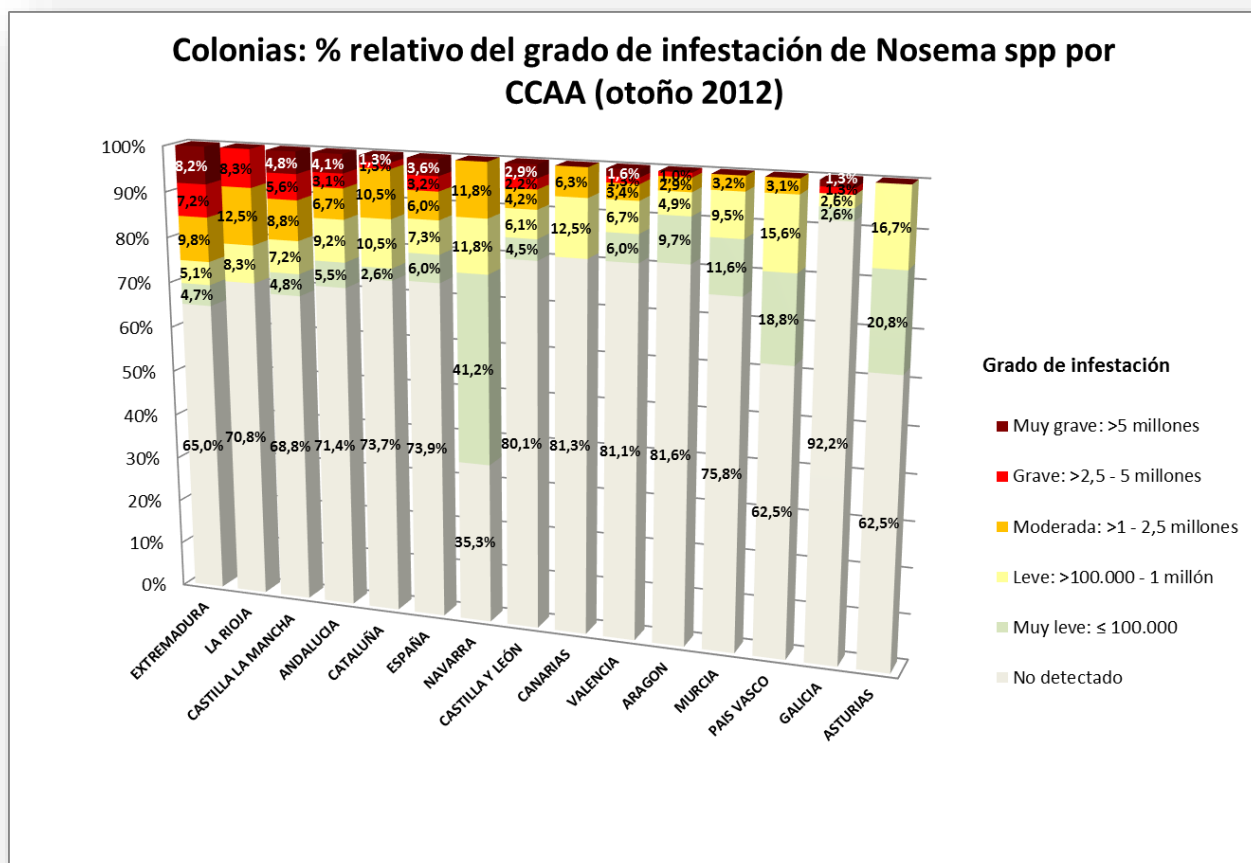


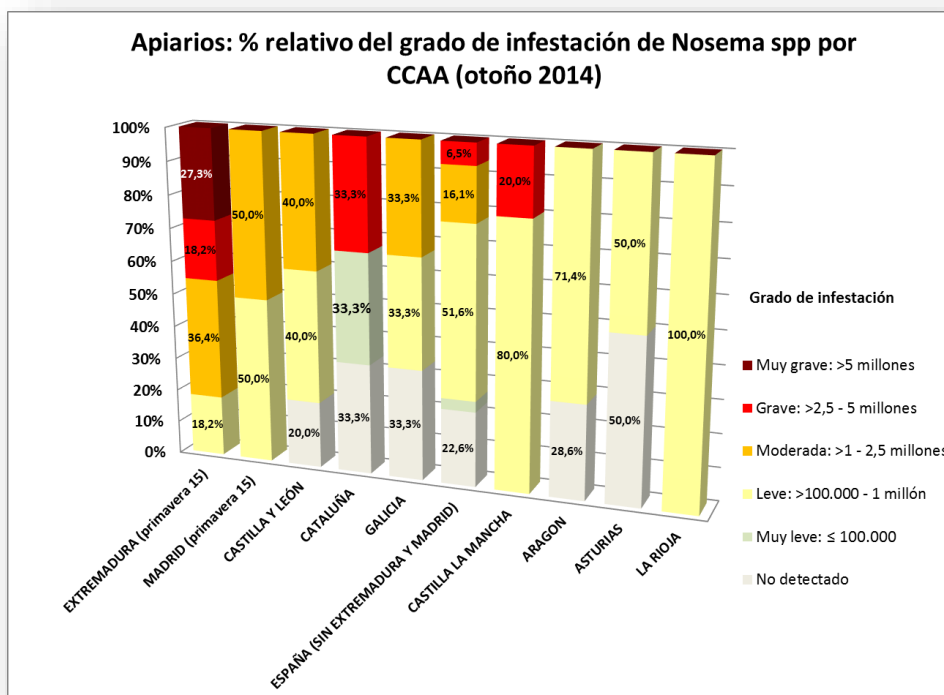
Figura N3: distribución por CCAA del grado de infestación de *Nosema spp* por colonias en otoño 2012.

### Otoño de 2013

#### Distribución de las tasas de infestación promedio en apiarios por CCAA.

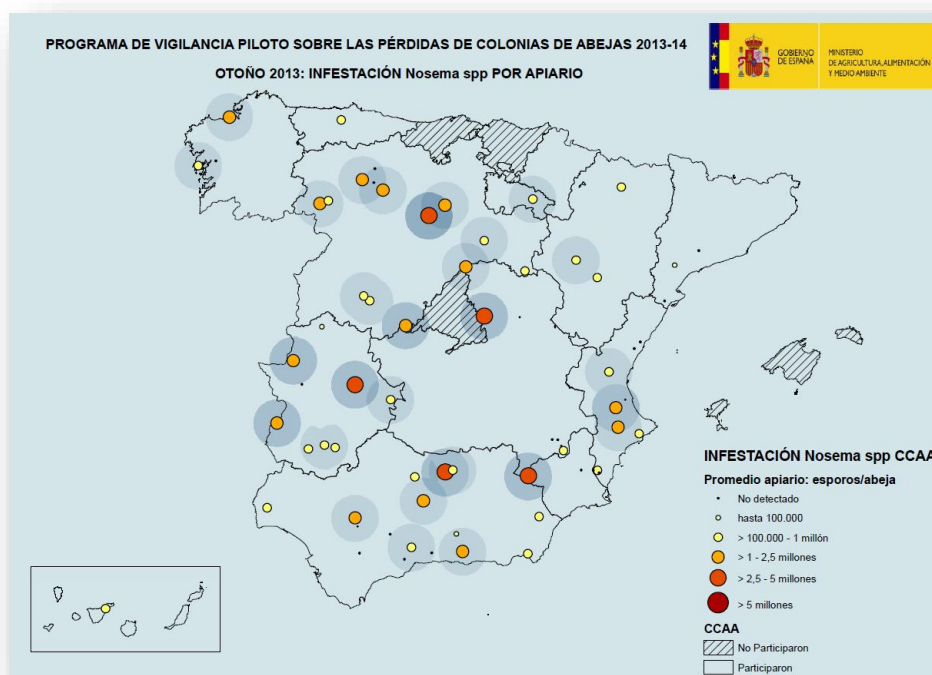
En otoño de 2013, en un 71,9% de los apiarios se detectó *Nosema spp*. A diferencia del periodo anterior, la mortalidad invernal no fue significativamente superior en aquellos apiarios que presentaron mayores tasas de infestación ( $p > 0,05$ ).

Como puede observarse en la figura N4, un 35,7 % de los apiarios investigados presentó un **nivel nulo o muy leve de infestación** ( $\leq 100.000$  esporos/abeja). Durante este periodo, sólo en Cataluña más del 75 % de los apiarios visitados presentaron estos niveles.



**Figura N4:** Distribución por CCAA del grado de infestación de *Nosema spp* por apiario en otoño 2013.

Un **27,1%** del total de los apiarios presentaron un promedio de **tasa de infestación moderada a muy grave**, superior a la campaña 2012-13 (18,4%). En 6 de 12 CCAA (Castilla y León, Extremadura, Murcia, Galicia, Andalucía y Valencia) se detectaron estos niveles en más del 20 % de los apiarios investigados, pudiéndose observar su distribución geográfica en la figura N5.



**Figura N5:** distribución geográfica de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño de 2013).

### Distribución de las tasas de infestación de colonias por CCAA

El análisis por colonias muestra que en otoño *Nosema spp* se detectó en un 28,3 % de las mismas, observándose un ligero aumento respecto de la campaña anterior (26,1 %). Un 72,7 % de las colonias presentó una **tasa de infestación nula o muy leve** ( $\leq 100.000$  esporos/abeja). Así en 6 de 12 CCAA más del 75 % de las colonias presentaron esta tasa de infestación (Cataluña, Murcia, Castilla-La Mancha, Asturias, Aragón y Andalucía).

Un 18,5 % de las colonias presentó una **tasa de infestación moderada a muy grave**, superior a la de la campaña anterior (12,8 %), detectándose este nivel en más del 20 % de las colonias de 4 CCAA: Canarias, Castilla y León, Extremadura y Galicia (figura N6).

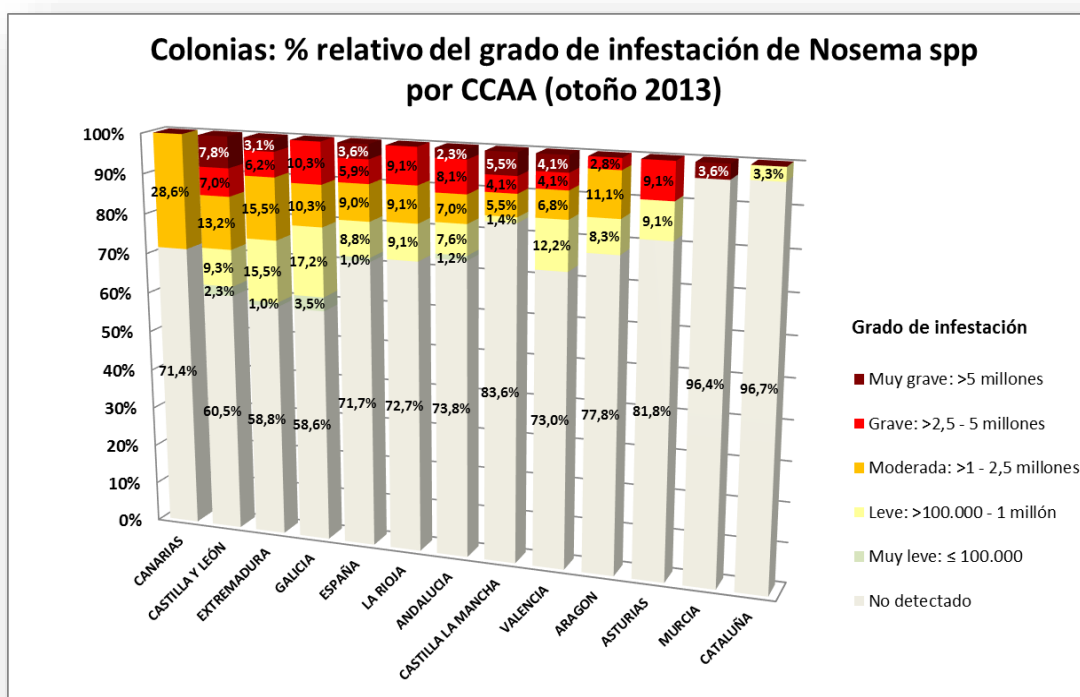


Figura N6: distribución por CCAA del grado de infestación de *Nosema spp* por colonias en otoño 2013.

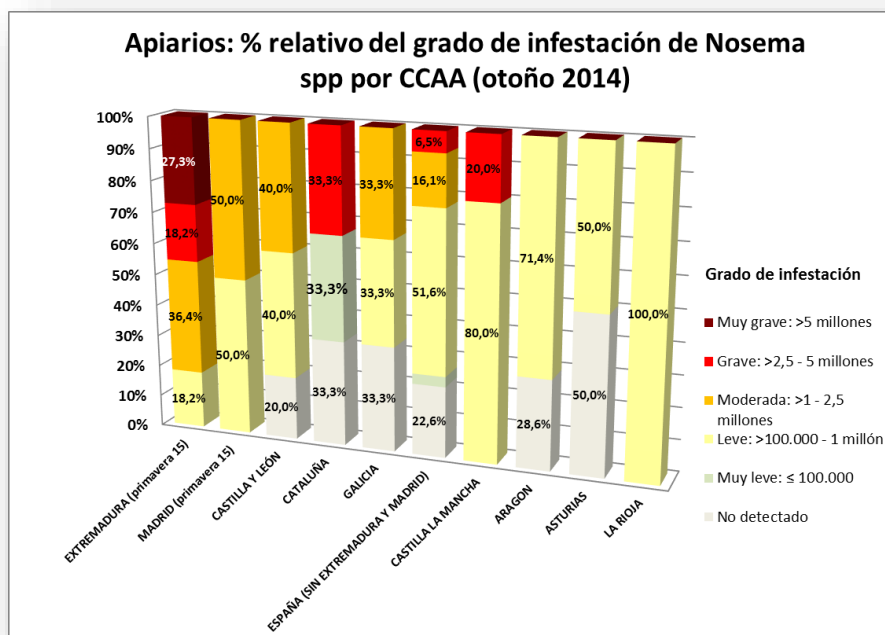
### Otoño 2014

#### Distribución de las tasas de infestación promedio en apiarios por CCAA.

En otoño de 2014, en un 77,4 % de los apiarios se detectó *Nosema spp*. Hay que señalar que Extremadura y Madrid no pudieron llevar a cabo el recuento de las tasas de infestación en otoño, sino en primavera, por lo que aunque sus datos quedan recogidos en la figura N7, no conviene compararlos con el resto de las CCAA. La mortalidad invernal, al igual que ocurría en la campaña 2012-2013, fue significativamente superior en aquellos apiarios que presentaron mayores tasas de infestación en este periodo ( $p < 0,05$ ).

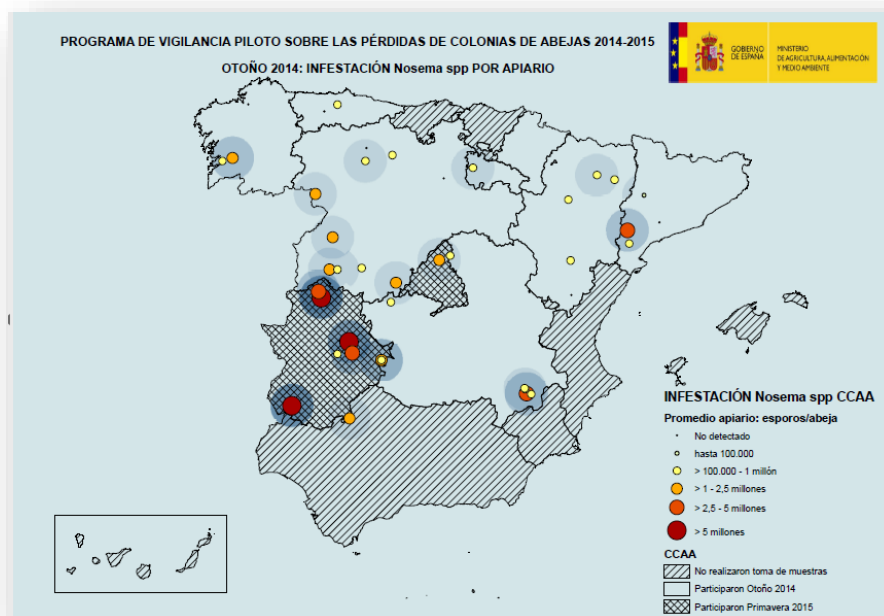
En otoño de 2014, el 25,8 % de los apiarios investigados presentaron **niveles nulos o muy leves de infestación** ( $\leq 100.000$  esporos/abeja).





**Figura N7:** distribución por CCAA del grado de infestación de *Nosema spp* por apiario en otoño 2014.

Un **22,6 %** del total de los apiarios presentaron un promedio de **tasa de infestación moderada a muy grave**, porcentaje inferior a la campaña anterior (27,14 %), pero superior a la campaña 2012-13 (18,41 %). Durante el otoño en 4 CCAA se detectaron más del 20% de apiarios con parasitaciones moderadas a muy graves (Castilla y León, Cataluña, Galicia y Castilla La-Mancha), cuya distribución puede observarse en la figura N8.



**Figura N8:** distribución geográfica de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño de 2013).

### Distribución de las tasas de infestación de colonias por CCAA

El análisis por colonias muestra que en otoño *Nosema spp* se detectó en un 36,6 %. Un 68,8 % de las colonias presentaron **tasas de infestación nulas o muy leves** ( $\leq 100.000$  esporos/abeja). Así, en 3 de 8 CCAA más del 75 % de las colonias presentaron esta tasa de infestación (Cataluña, Asturias y Aragón). Al igual que en el apartado anterior, Extremadura y Madrid no se han computado (figura N9).

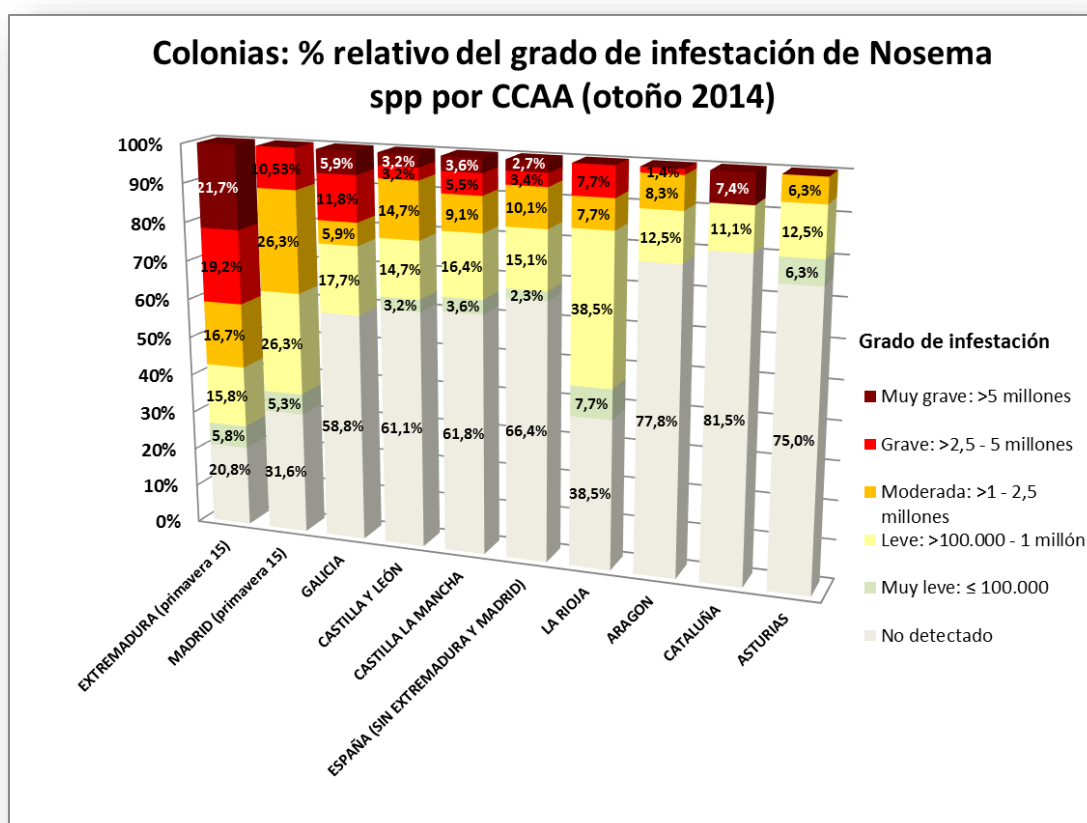
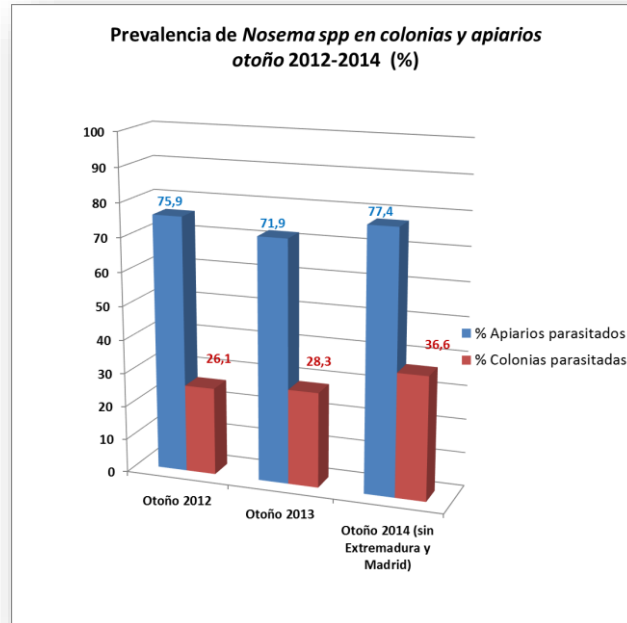


Figura N9: distribución por CCAA del grado de infestación de *Nosema spp* por colonias en otoño 2014.

El porcentaje de colonias con una **tasa de infestación moderada a muy grave** tuvo un valor intermedio al registrado en los dos periodos anteriores investigados, siendo el 16,1 %. Tres CCAA (Galicia, Castilla y León y Castilla-La Mancha) este nivel se alcanzó en más del 18% de las colonias.

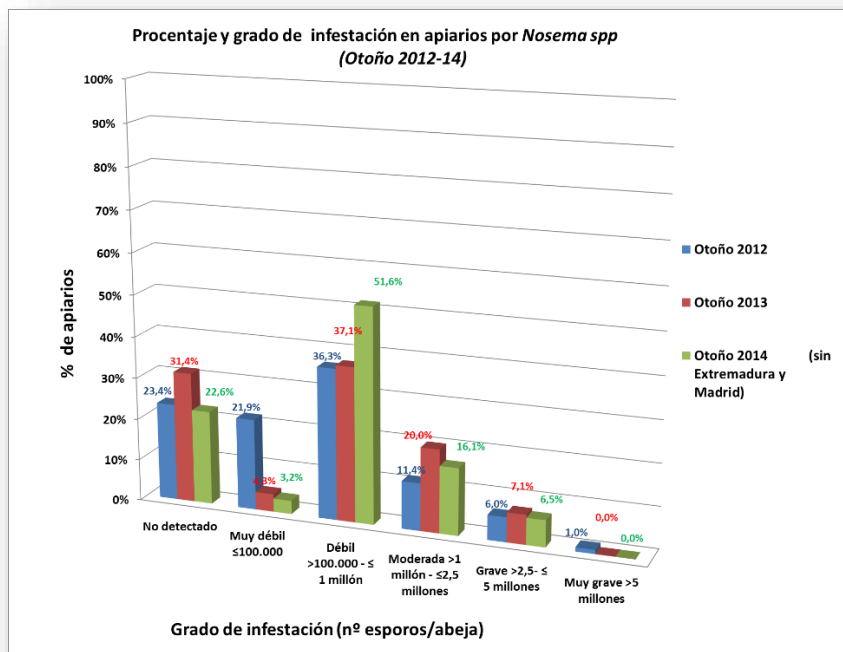
### Evolución de la infestación por *Nosema spp* entre campañas.

La evolución en relación a la prevalencia de *Nosema spp* y distribución de las tasas de infestación a lo largo de las tres campañas, que se recoge en las figuras N10, N11 y N12, muestra un aumento superior de la prevalencia en **colonias de *Nosema spp*** en otoño a lo largo de las tres campañas, especialmente significativo durante la campaña 2014-2015, donde se registró una mayor mortalidad invernal.



**Figura N10:** evolución de la prevalencia de *Nosema spp* en colonias y apiarios (otoño 2012- 14).

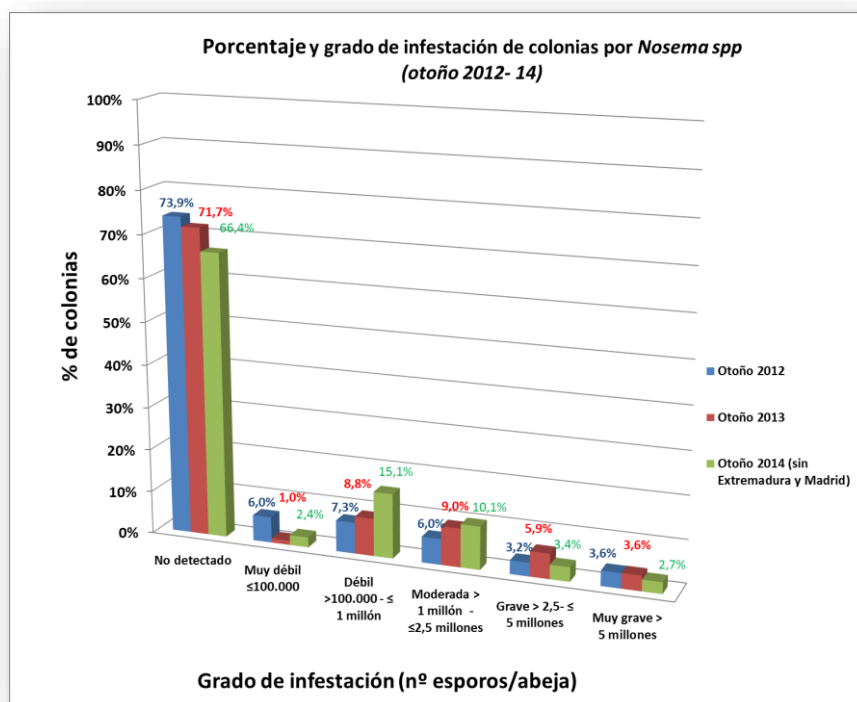
El análisis conjunto de las tres campañas mostró que la mortalidad invernal fue significativamente superior en aquellos apiarios que presentaron mayores tasas de infestación en otoño ( $p < 0,05$ ), por lo que podría ser un factor condicionante de la supervivencia invernal de las colonias de abejas.



**Figura N11:** distribución de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño 2012-2014).

Las mayores tasas de infestación en apiarios, salvo para la campaña 2014-15, no parecen estar ligadas al grado de profesionalización del sector ( $p > 0,05$ ), a diferencia de lo que ocurre con *Varroa destructor*.

Las tasas de infestación moderadas a muy graves se han incrementado a lo largo de las tres campañas en apiarios (18,4 al 22,6%) y en las colonias (12,8 al 16,1%).



**Figura N12:** evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por colonia (otoño 2012- 2014).

El análisis de la presencia de *Nosema spp* y la mortalidad por colonias, muestra que el riesgo (OR) de mortalidad en colonias expuestas al hongo fue 1,472 veces superior (IC 95%=1,133-1,913;  $P < 0,001$ ) frente a las que no lo estaban durante las campañas 2012-2014. Este riesgo ha sido inferior al hallado en otros trabajos desarrollados en España, en los que el riesgo de despoblación determinado para colonias expuestas a *Nosema ceranae* fue 10 veces superior (Higes et al, 2009). Este riesgo es ligeramente inferior al que se ha detectado para *Varroa destructor* (1,688). Al igual que se observaba para *Varroa spp*, la mera detección del hongo no parece suponer un incremento muy elevado en el riesgo de mortalidad invernal de la colonia, por lo que la cuantificación parece necesaria para evaluar correctamente la gravedad.

### Tipificación molecular

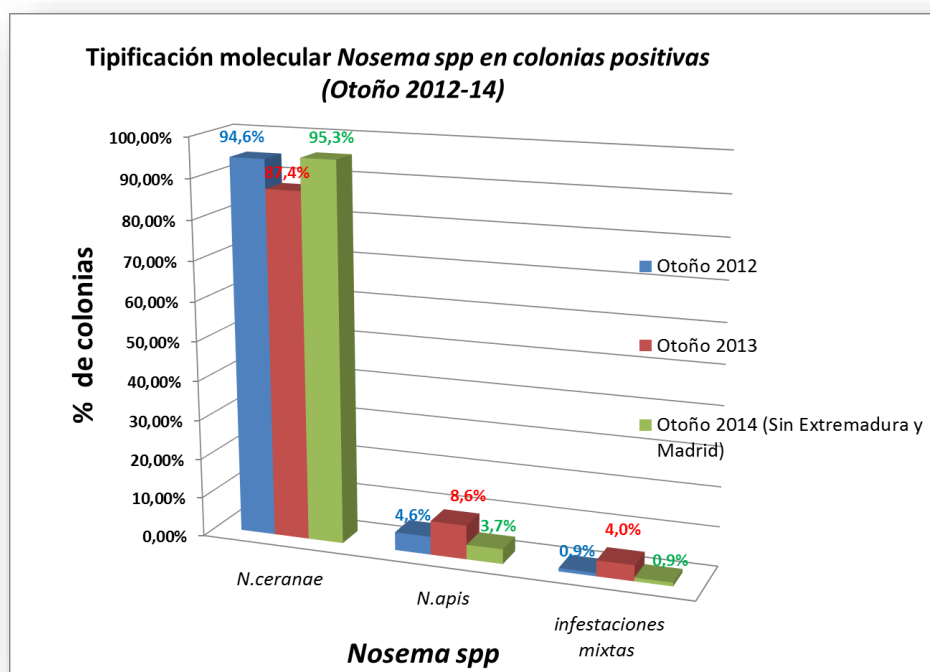
Tal como se muestra a continuación en la tabla N2 y figura N13, para los tres períodos estudiados (otoño 2012-2014), las colonias positivas a *Nosema spp* lo fueron a *N. ceranae* en

un 92,4% de los casos, llegando a alcanzar el 95,3 % en otoño de 2014. Tan sólo un 5,6% de las infestaciones se debieron a *Nosema apis* y un 1,9% fueron infestaciones mixtas.

Prevalencia en colonias positivas	Otoño 2012	Otoño 2013	Otoño 2014 (Sin Extremadura y Madrid)
<i>N. ceranae</i>	94,55%	87,37%	95,33%
<i>N. apis</i>	4,60%	8,59%	3,74%
Infestaciones mixtas	0,85%	4,04%	0,93%

**Tabla N2:** prevalencias de *N. ceranae* y *N. apis* en colonias positivas (otoño 2012- 2014).

Estos resultados parecen confirmar el desplazamiento de *Nosema apis* por *Nosema ceranae*, mostrando que la presencia de *Nosema ceranae* ha aumentado desde el año 2010 en España respecto a *Nosema apis*, según los resultados que se obtuvieron en diversos proyectos de investigación desarrollados donde se señalaban prevalencias elevadas para *Nosema ceranae* (73,4%) y más reducidas para *Nosema apis* (15,3%) en España (CRAM, datos no publicados 2010).



**Figura N13:** evolución de las prevalencias de *N. ceranae* y *N. apis* en colonias positivas (otoño 2012- 2014).

A pesar de que el origen geográfico de *N. ceranae* está aún por determinar, la mayoría de los miembros de la comunidad científica aceptan como válida la hipótesis de un origen “oriental” de este microsporidio y su consideración como patógeno exótico en muchos países de occidente, otros grupos de investigación argumentan que se trata de un patógeno endémico en occidente (Martín Hernández, R. et al, 2007).

% APIARIOS POR GRADO DE INFESTACIÓN por <i>Nosema spp</i>																		
CCAA	No detectado			Hasta 100.000: Infestación muy leve			>100.000 - 1 millón: Infestación leve			>1 - 2,5 millones: Infestación			>2,5 - 5 millones: Infestación grave			>5 millones: Infestación muy grave		
CAMPAÑA	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15
ANDALUCIA	20,5%	31,3%		18,2%	6,3%		40,9%	37,5%		11,4%	18,8%		9,1%	6,3%		0,0%	0,0%	
ARAGON	40,0%	0,0%	28,6%	30,0%	0,0%	0,0%	30,0%	100,0%	71,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
ASTURIAS	0,0%	0,0%	50,0%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%	50,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
BALEARES																		
CANARIAS	50,0%	0,0%		0,0%	0,0%		50,0%	100,0%		0,0%	0,0%		0,0%	0,0%		0,0%	0,0%	
CANTABRIA																		
CASTILLA LA MANCHA	15,4%	66,7%	0,0%	15,4%	0,0%	0,0%	46,2%	16,7%	80,0%	7,7%	0,0%	0,0%	7,7%	16,7%	20,0%	7,7%	0,0%	0,0%
CASTILLA Y LEÓN	31,3%	14,3%	20,0%	21,9%	0,0%	0,0%	34,4%	35,7%	40,0%	9,4%	42,9%	40,0%	0,0%	7,1%	0,0%	3,1%	0,0%	0,0%
CATALUÑA	14,3%	66,7%	33,3%	28,6%	33,3%	33,3%	42,9%	0,0%	0,0%	14,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	33,3%	0,0%	0,0%	0,0%
EXTREMADURA	13,9%	11,1%	0,0%	11,1%	11,1%	0,0%	33,3%	44,4%	18,2%	27,8%	22,2%	36,4%	13,9%	11,1%	18,2%	0,0%	0,0%	27,3%
GALICIA	37,5%	50,0%	33,3%	37,5%	0,0%	0,0%	12,5%	25,0%	33,3%	0,0%	25,0%	33,3%	12,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
LA RIOJA	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%	100,0%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
MADRID			0,0%			0,0%			50,0%			50,0%			0,0%			0,0%
MURCIA	25,0%	66,7%		50,0%	0,0%		25,0%	0,0%		0,0%	0,0%		0,0%	33,3%		0,0%	0,0%	
NAVARRA	50,0%			0,0%			50,0%			0,0%			0,0%			0,0%		
PAIS VASCO	33,3%			0,0%			66,7%			0,0%			0,0%			0,0%		
VALENCIA	25,0%	44,4%		28,1%	0,0%		34,4%	33,3%		9,4%	22,2%		3,1%	0,0%		0,0%	0,0%	
ESPAÑA	23,4%	31,4%	15,9%	21,9%	4,3%	2,3%	36,3%	37,1%	43,2%	11,4%	20,0%	22,7%	6,0%	7,1%	9,1%	1,0%	0,0%	6,8%
ESPAÑA (SIN EXTREMADURA Y MADRID)			22,6%			3,2%			51,6%			16,1%			6,5%			0,0%

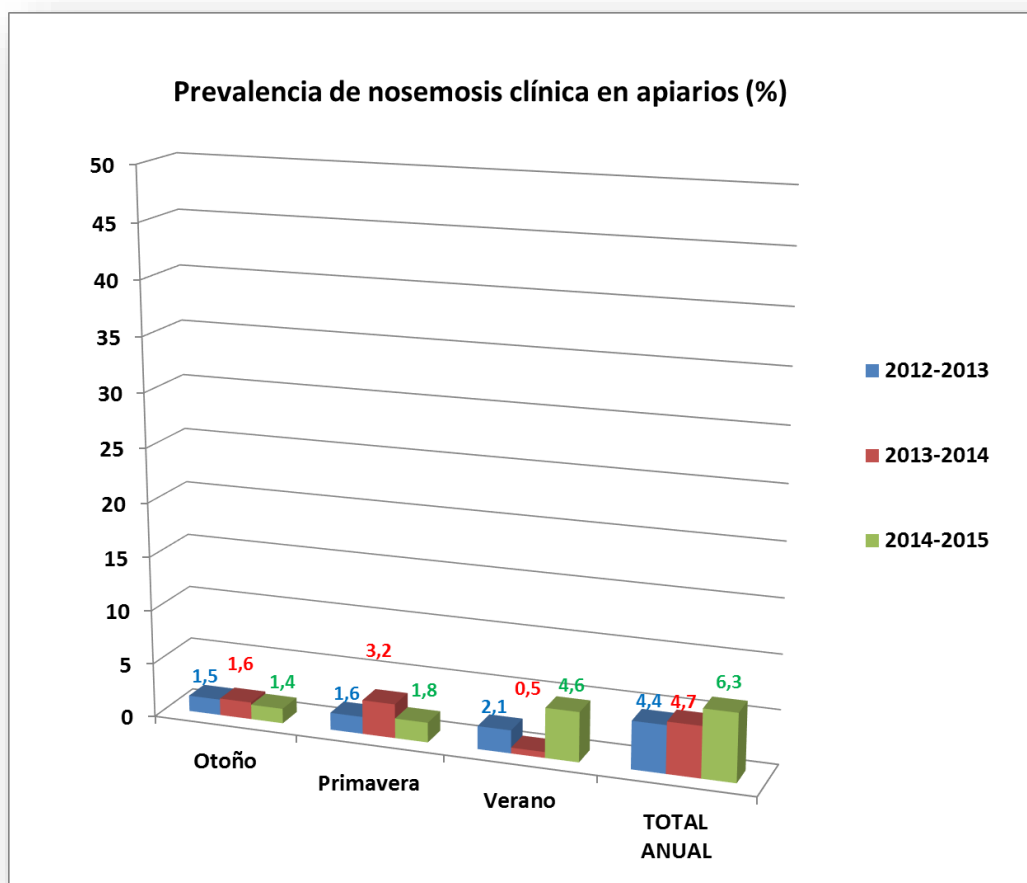
  

% COLONIAS POR GRADO DE INFESTACIÓN por <i>Nosema spp</i>																		
CCAA	No detectado			Hasta 100.000: Infestación muy leve			>100.000 - 1 millón: Infestación leve			>1 - 2,5 millones: Infestación			>2,5 - 5 millones: Infestación grave			>5 millones: Infestación muy grave		
CAMPAÑA	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15	12-13	13-14	14-15
ANDALUCIA	71,4%	73,8%		5,5%	1,2%		9,2%	7,6%		6,7%	7,0%		3,1%	8,1%		4,1%	2,3%	
ARAGON	81,6%	77,8%	77,8%	9,7%	0,0%	0,0%	4,9%	8,3%	12,5%	2,9%	11,1%	8,3%	1,0%	2,8%	1,4%	0,0%	0,0%	0,0%
ASTURIAS	62,5%	81,8%	75,0%	20,8%	0,0%	6,3%	16,7%	9,1%	12,5%	0,0%	0,0%	6,3%	0,0%	9,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
BALEARES																		
CANARIAS	81,3%	71,4%		0,0%	0,0%		12,5%	0,0%		6,3%	28,6%		0,0%	0,0%		0,0%	0,0%	
CANTABRIA																		
CASTILLA LA MANCHA	68,8%	83,6%	61,8%	4,8%	0,0%	3,6%	7,2%	1,4%	16,4%	8,8%	5,5%	9,1%	5,6%	4,1%	5,5%	4,8%	5,5%	3,6%
CASTILLA Y LEÓN	80,1%	60,5%	61,1%	4,5%	2,3%	3,2%	6,1%	9,3%	14,7%	4,2%	13,2%	14,7%	2,2%	7,0%	3,2%	2,9%	7,8%	3,2%
CATALUÑA	73,7%	96,7%	81,5%	2,6%	0,0%	0,0%	10,5%	3,3%	11,1%	10,5%	0,0%	0,0%	1,3%	0,0%	0,0%	1,3%	0,0%	7,4%
EXTREMADURA	65,0%	58,8%	20,8%	4,7%	1,0%	5,8%	5,1%	15,5%	15,8%	9,8%	15,5%	16,7%	7,2%	6,2%	19,2%	8,2%	3,1%	21,7%
GALICIA	92,2%	58,6%	58,8%	2,6%	3,5%	0,0%	2,6%	17,2%	17,7%	0,0%	10,3%	5,9%	1,3%	10,3%	11,8%	1,3%	0,0%	5,9%
LA RIOJA	70,8%	72,7%	38,5%	0,0%	0,0%	7,7%	8,3%	9,1%	38,5%	12,5%	9,1%	7,7%	8,3%	9,1%	7,7%	0,0%	0,0%	0,0%
MADRID			31,6%			5,3%			26,3%			26,3%			10,53%			0,0%
MURCIA	75,8%	96,4%		11,6%	0,0%		9,5%	0,0%		3,2%	0,0%		0,0%	0,0%		0,0%	3,6%	
NAVARRA	35,3%			41,2%			11,8%			11,8%			0,0%			0,0%		
PAIS VASCO	62,5%			18,8%			15,6%			3,1%			0,0%			0,0%		
VALENCIA	81,1%	73,0%		6,0%	0,0%		6,7%	12,2%		3,4%	6,8%		1,3%	4,1%		1,6%	4,1%	
ESPAÑA	73,9%	71,7%	52,5%	6,0%	1,0%	3,5%	7,3%	8,8%	15,9%	6,0%	9,0%	12,2%	3,2%	5,9%	8,1%	3,6%	3,6%	7,8%
ESPAÑA (SIN EXTREMADURA Y MADRID)			66,4%			2,3%			15,1%			10,1%			3,4%			2,7%

Tablas N3 y N4: % de apiarios y colonias por grado de infestación de *Nosema spp* (otoño 2012-14).

### 3.3.1.3 NOSEMOSIS

En relación a la manifestación clínica de la nosemosis cabe decir que clínicamente se detectó con una frecuencia muy baja en las tres visitas (otoño, primavera y verano) a lo largo de los tres años evaluados. En la figura N14, se muestra la evolución de la prevalencia clínica a lo largo de las tres campañas evaluadas, observándose que se ha producido un incremento en su detección a lo largo de todos los periodos alcanzando al 6,3% de los apiarios en la campaña 2014-2015.

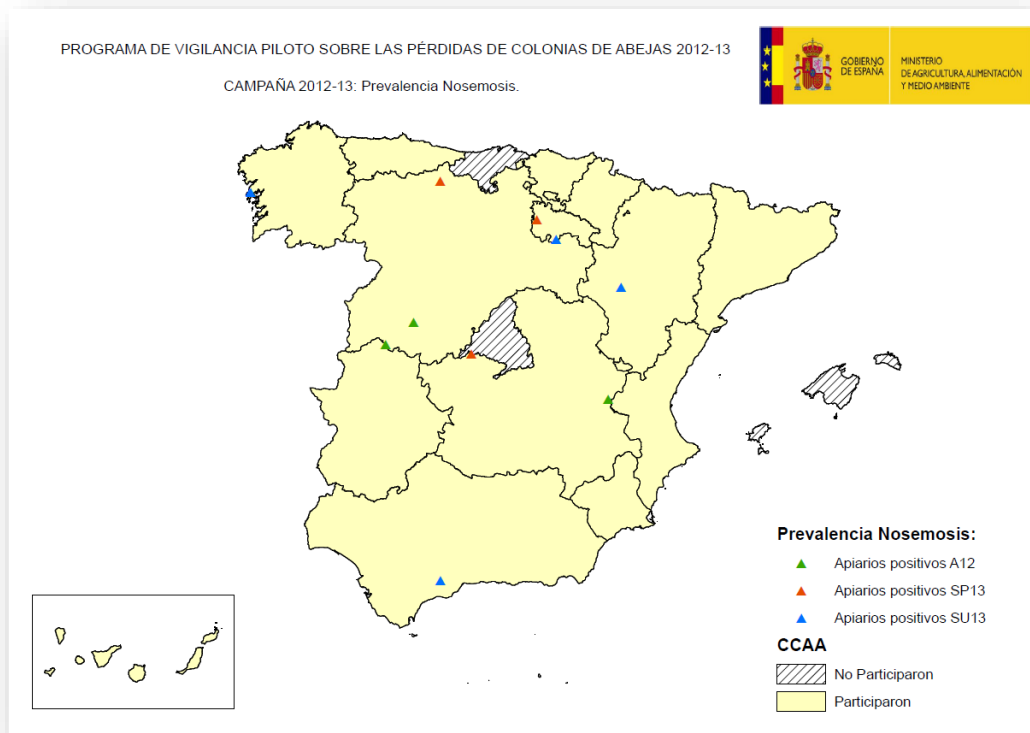


**Figura N14:** evolución de las tasas de prevalencia de nosemosis clínica (2012-2015).

En la mayoría de las áreas, las detecciones elevadas en las tasas de infestación promedio por apiario por *Nosema spp* (ver figura N2, N5, N8) parecen no tener un reflejo en la detección clínica en otoño (figura N15, N16 y N17).

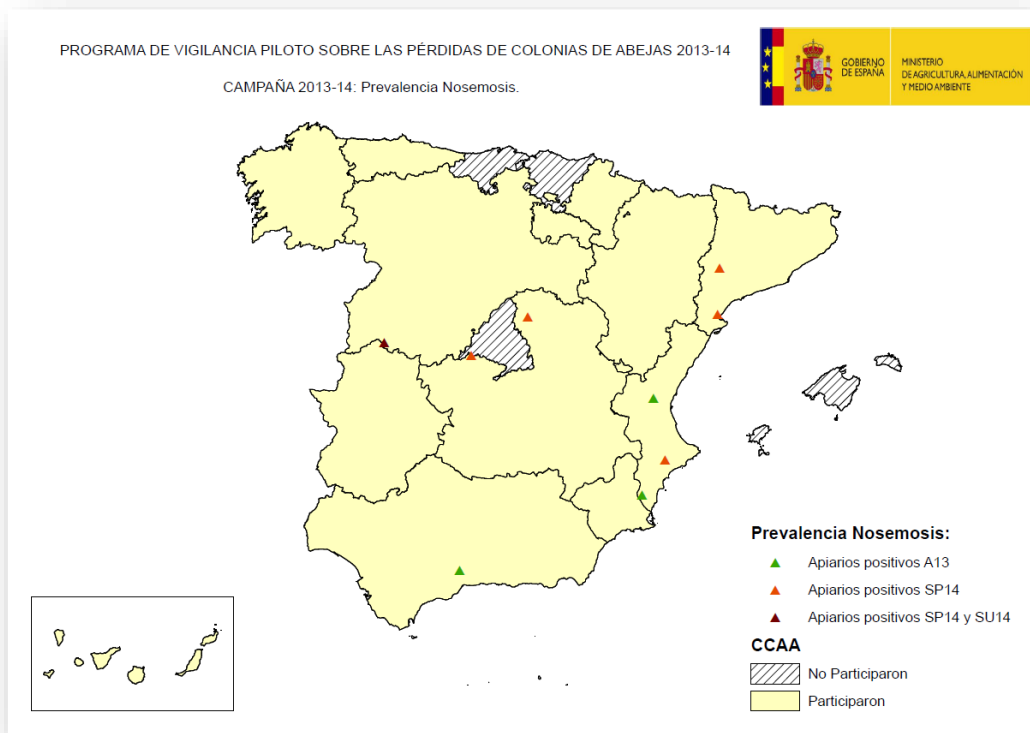
Por otro lado, no se ha detectado una mortalidad invernal/primaveral significativamente superior en aquellos apiarios en los que se ha detectado nosemosis clínica ( $p > 0,05$ ). Estos resultados parecen sugerir que, al igual que para el caso de la varroosis, para valorar correctamente esta patología es necesario realizar una cuantificación de las tasas de infestación promedio por apiario junto con una confirmación por PCR, las cuales ya se ha demostrado que sí presentan una correlación significativa con la mortalidad invernal.

## Prevalencia nosemosis clínica durante la Campaña 2012-2013.



**Figura N15:** prevalencia clínica de nosemosis clínica en apiarios durante la campaña 2012-2013.

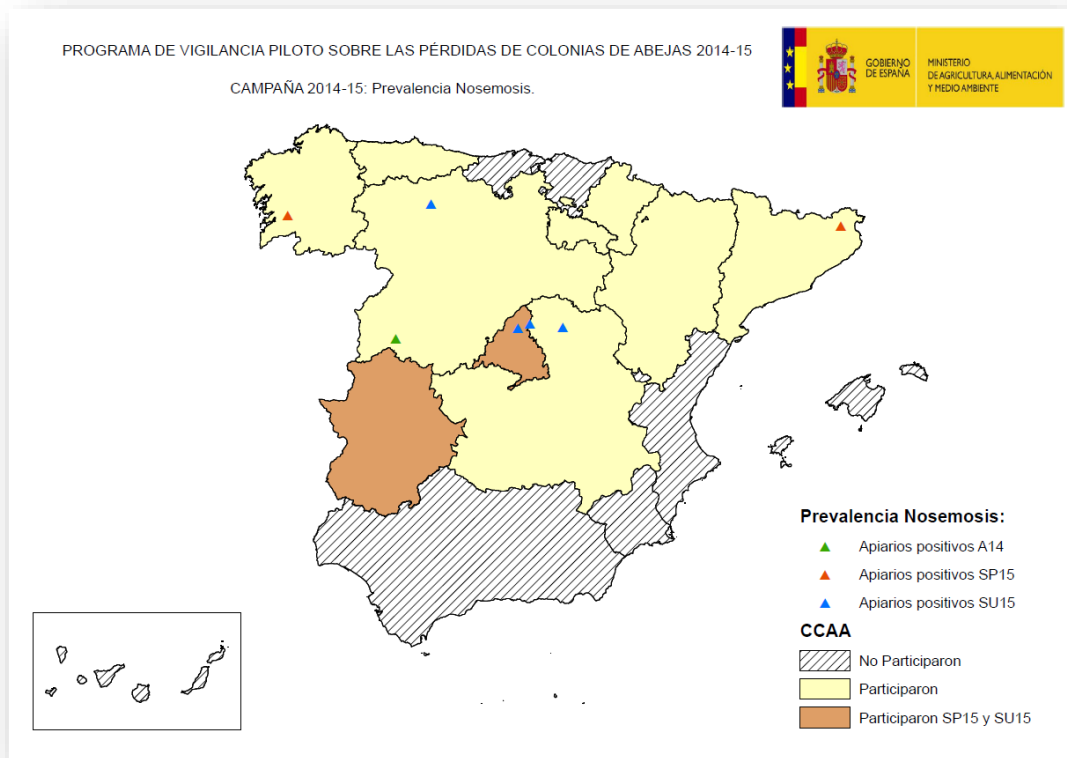
## Prevalencia nosemosis clínica durante la Campaña 2013-2014.



**Figura N16:** prevalencia clínica de nosemosis clínica por apiario durante la campaña 2013-2014.



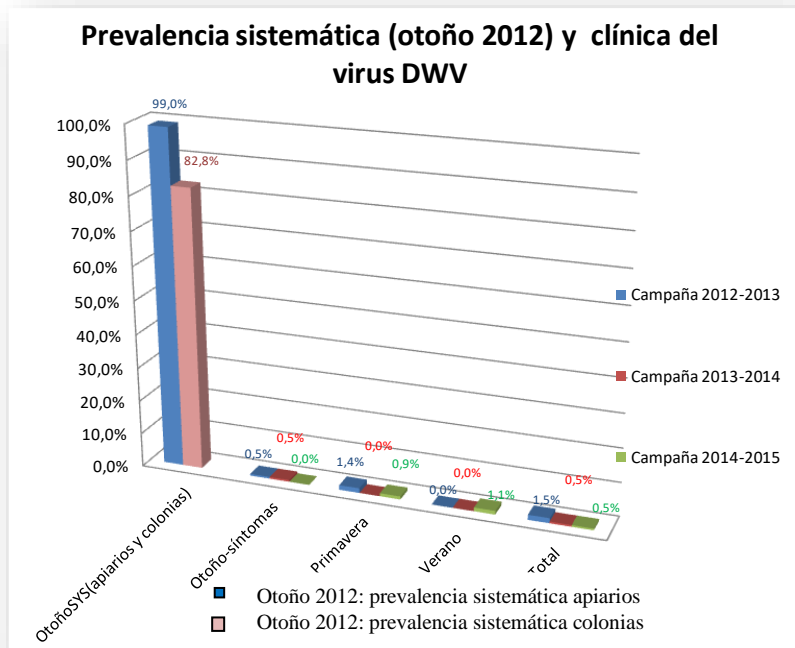
## Prevalencia nosemosis clínica durante la Campaña 2014-2015.



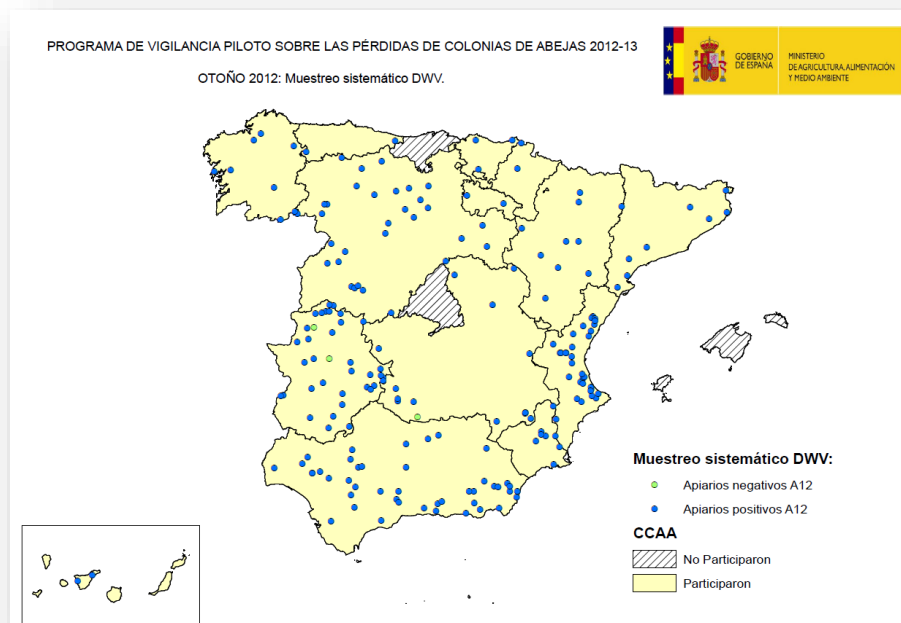
**Figura N17:** prevalencia clínica de la nosemosis en apiarios durante la campaña 2014-2015.

### 3.3.3. VIRUS DE LAS ALAS DEFORMADAS (DWV).

Los resultados obtenidos durante el muestreo sistemático llevado a cabo en otoño de 2012 señalan una prevalencia muy elevada del DWV (ver figura DWV1 y figura DWV2), alcanzando al 99% de los apiarios y al 82,8% de las colonias. En este estudio no se han diferenciado otras posibles variantes de este virus que señalan estudios más recientes (DWV-A, DWV-B y DWV-C).

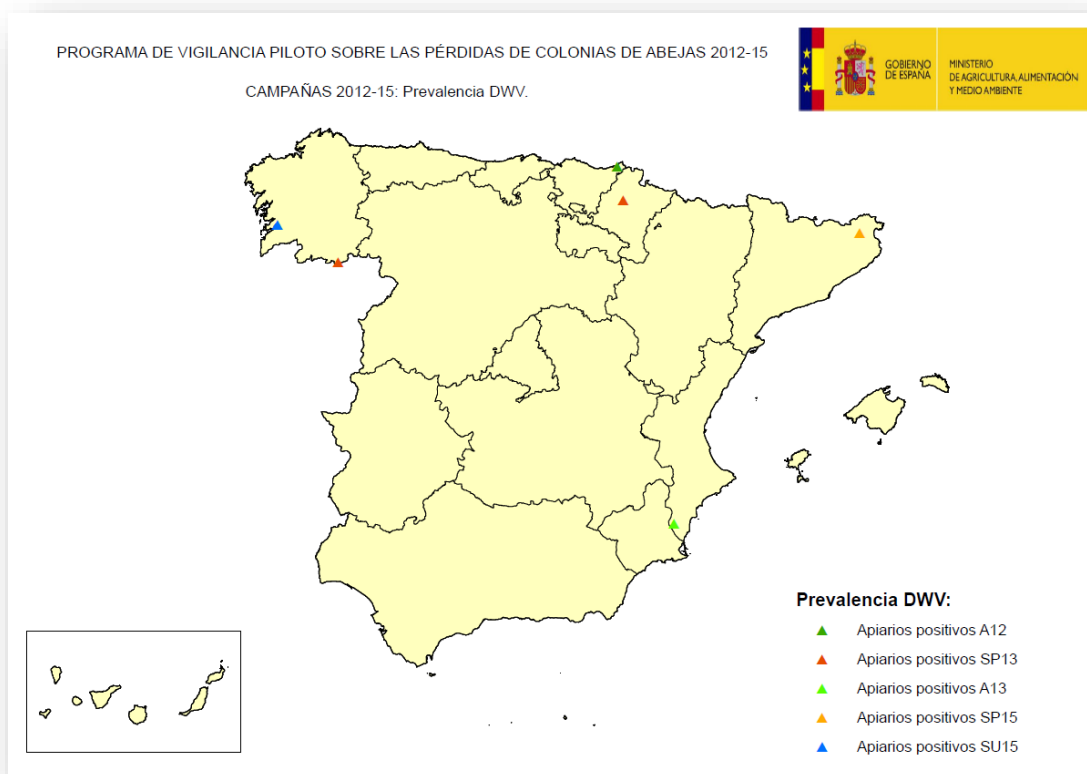


**Figura DWV1:** prevalencia sistemática (otoño 2012) y clínica del virus DWV en apiarios a lo largo de las campañas (2012-2015).



**Figura DWV2:** distribución geográfica de la prevalencia en apiarios del virus DWV durante el otoño de 2012

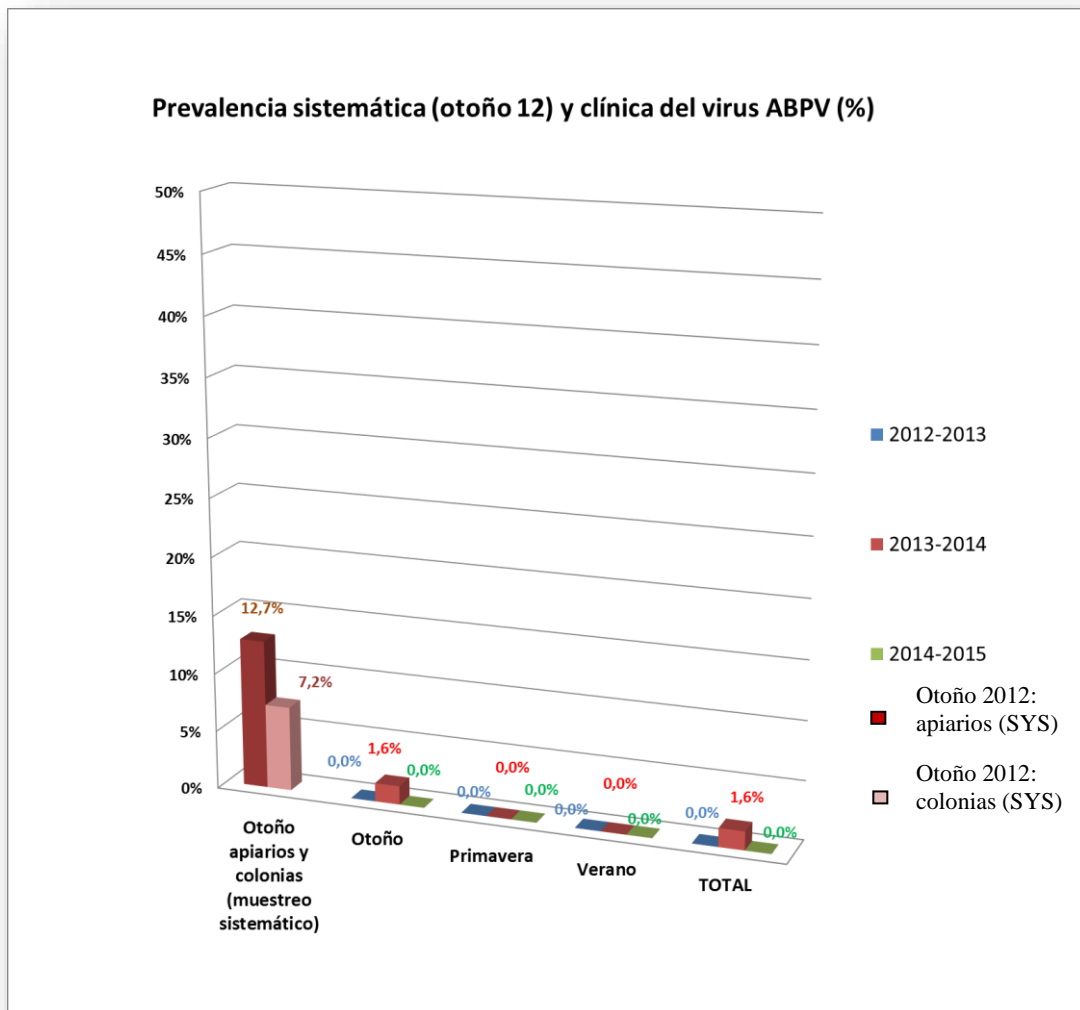
A pesar de su gran distribución, hay que señalar que la prevalencia clínica del DWV ha sido muy baja a lo largo de todo el periodo evaluado (incluyendo el otoño de 2012), como puede observarse en la figura DWV3, sin que se haya podido demostrar ninguna correlación entre su presencia y prevalencia clínica con la mortalidad invernal o primaveral ( $p > 0,05$ ). Esto concuerda con los resultados hallados en otros estudios en los que se han encontrado que pocas abejas manifiestan síntomas en colonias severamente infestadas por *Varroa destructor*. El virus DWV ha sido citado como potencial responsable del colapso de las colonias de abejas, pero otros estudios muestran que este virus podría considerarse muy poco patógeno (Tentcheva, D. et al, 2004).



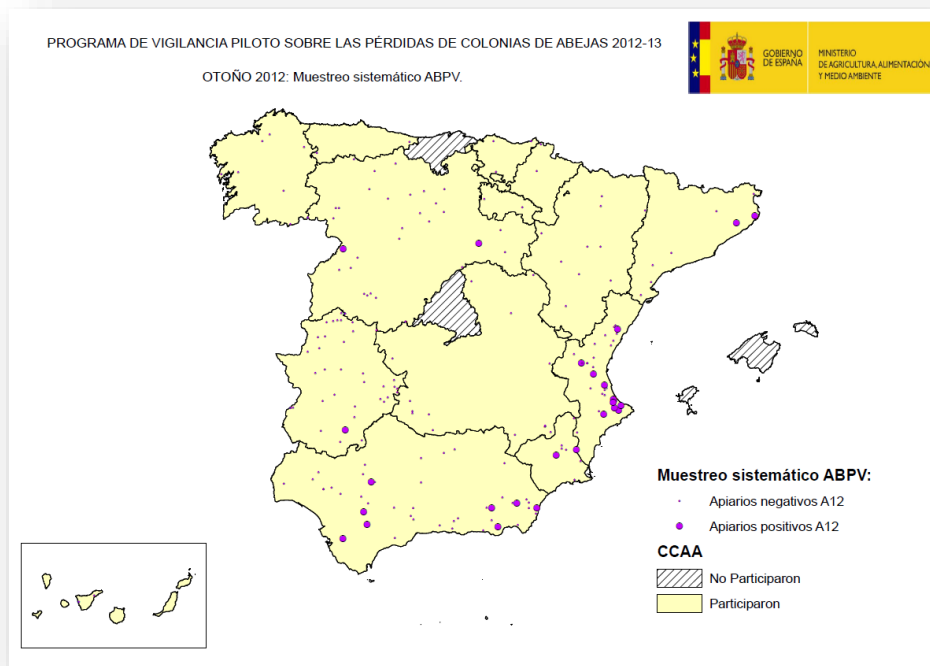
**Figura DWV3:** distribución geográfica de la prevalencia clínica del virus DWV durante las campañas 2012-2015

### 3.3.4. VIRUS DE LA PARÁLISIS AGUDA (ABPV)

Los resultados obtenidos durante el muestreo sistemático llevado a cabo en otoño de 2012, señalan una prevalencia muy moderada del ABPV (ver figura ABPV1 y figura ABPV2) alcanzando al 12,7 % de los apiarios y al 7,2% de las colonias, no habiéndose encontrado una correlación significativa entre su detección y la mortalidad invernal ( $p > 0,05$ ). Su distribución en otoño de 2012, es menos amplia que para el virus DWV, concentrándose de forma significativa ( $p < 0,05$ ) en la región costa sur oriental (figura ABPV2). El análisis de la presencia/ausencia de ABPV y la mortalidad por colonias en otoño de 2012, mostró que el riesgo (OR) de mortalidad en colonias expuestas al virus fue 2 veces superior ( $P < 0,05$ ) frente a las que no lo estaban.

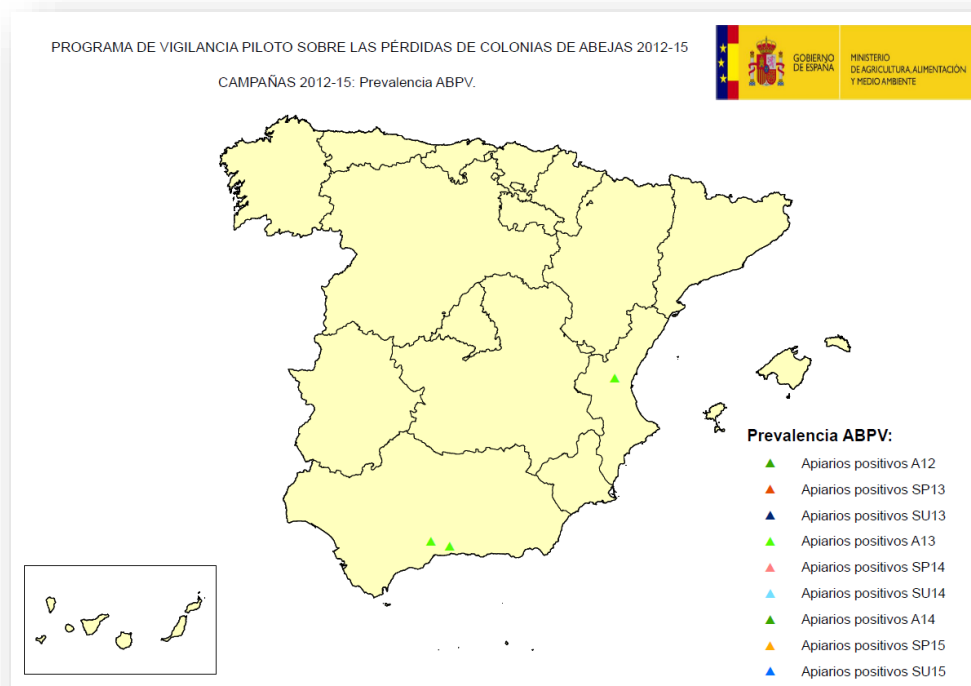


**Figura ABPV1:** prevalencia sistemática (otoño 2012) y clínica del virus ABPV en apiarios a lo largo de las campañas (2012-2015).



**Figura ABPV2:** distribución geográfica de la prevalencia en apiarios del virus ABPV durante el otoño de 2012.

La prevalencia clínica del ABPV ha sido muy reducida o no se ha detectado a lo largo de todo el periodo evaluado, como puede observarse en las figuras ABPV1 y ABPV3, donde sólo se detectaron casos clínicos en otoño del año 2013, con una prevalencia del 1,6%, sin que se haya podido demostrar ninguna correlación entre su presencia y manifestaciones clínicas con la mortalidad invernal o primaveral ( $p > 0,05$ ).



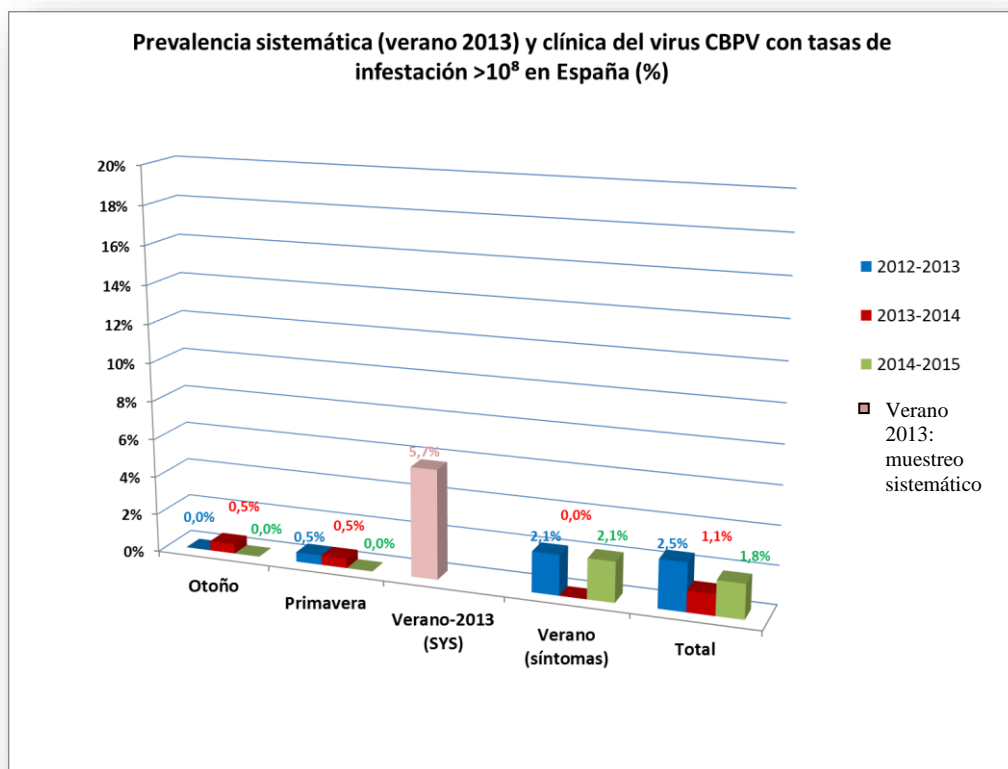
**Figura ABPV3:** distribución geográfica de la prevalencia clínica en apiarios del virus ABPV durante 2012-2015.

### 3.3.5. VIRUS DE LA PARÁLISIS CRÓNICA (CBPV)

En relación al virus CBPV, además del estudio de la prevalencia clínica a lo largo de los tres programas se ha evaluado de forma sistemática su prevalencia durante el verano de 2013. No se ha podido demostrar que exista una mayor mortalidad invernal y/o primaveral en relación a su detección clínica y sistemática (verano 2013) ( $p>0,05$ ).

Se ha partido de la base de que la detección de un número de partículas virales por abeja superiores a  $10^8$  puede considerarse como un **caso clínico positivo al virus CBPV**. Sin embargo, ensayos colaborativos recientes entre los Laboratorios Nacionales de Referencia de los distintos EEMM han puesto de manifiesto que cargas virales por abeja superiores a  $10^6$  podrían considerarse como un posible caso positivo. Debido a este motivo hemos presentado dos gráficos sobre la evolución de la prevalencia del CBPV (clínica y sistemática SU13) a lo largo de los tres periodos estudiados (figura CBPV1 y CBPV2)

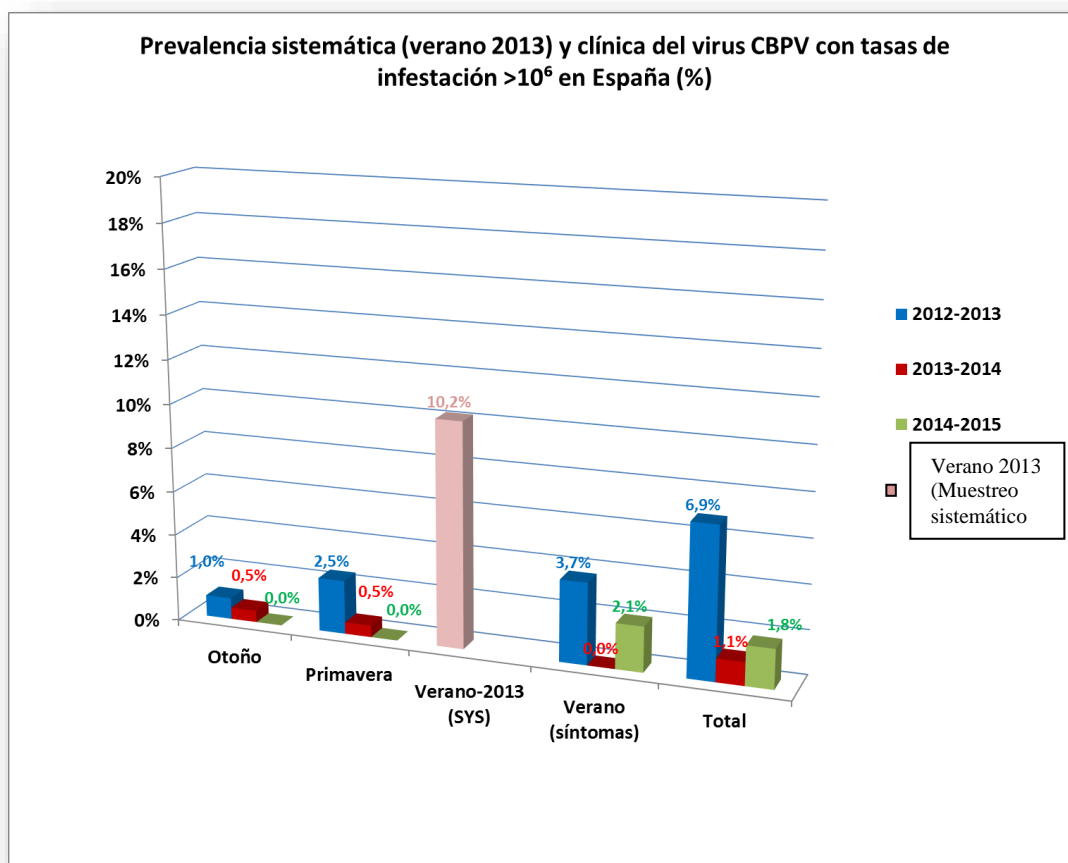
Si tenemos en cuenta el primer punto de corte ( $> 10^8$  **partículas virales por abeja**), la prevalencia clínica fue baja durante las tres campañas encontrándose entre el 1,1 y 2,5% anual, siendo la campaña 2012-2013 donde más casos clínicos se detectaron, con una tendencia a detectar una mayor prevalencia de esta virosis en verano (5,7%), probablemente debido a que los brotes pueden estar relacionados con una elevada densidad de abejas en las colonias.



**CBPV1:** evolución de la prevalencia clínica de CBPV durante 2012-15 y prevalencia sistemática en verano de 2013 ( $> 10^8$  partículas virales/abeja)

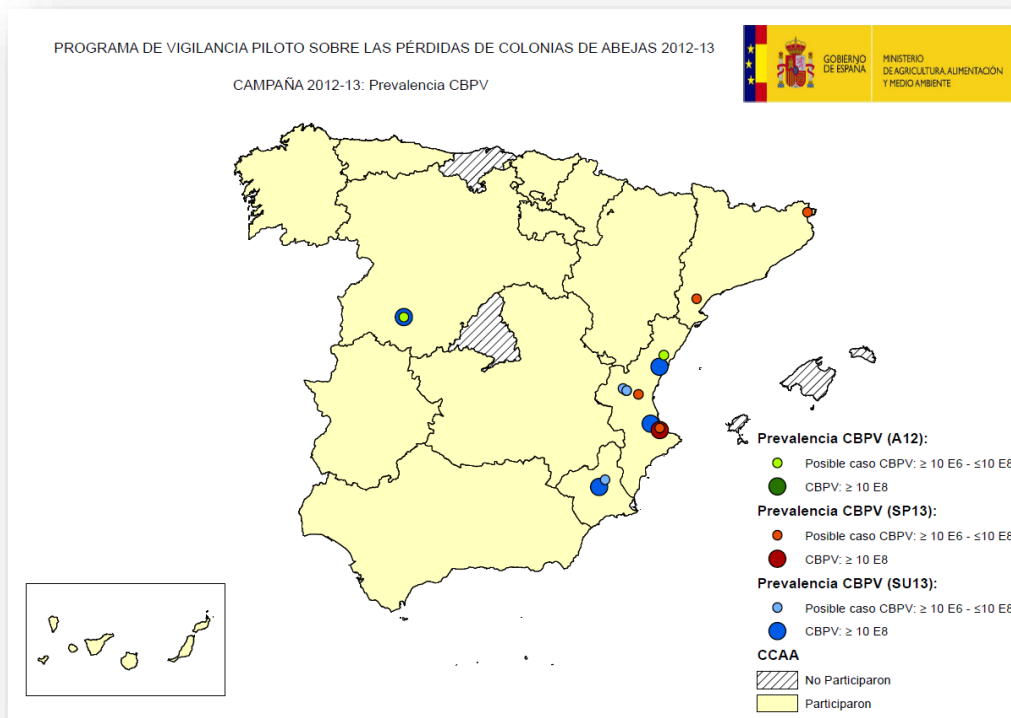
El **muestreo sistemático de verano de 2013**, reveló que se trata de un virus con bastante difusión, detectándose su presencia en el 22,7% de los apiarios (tasas infección superior a  $10^4$  partículas virales por abeja), de los cuales un 6,8% manifestaron síntomas. La prevalencia de apiarios con tasas por encima de  $10^8$  partículas virales por abeja fue superior a la que se pudo detectar por la inspección clínica, situándose en el 5,7%.

En la figura CBPV2, se observa que la prevalencia se multiplica más del doble si se asume el corte de caso clínico con **tasas de infección superiores a  $10^6$  partículas virales por abeja**.



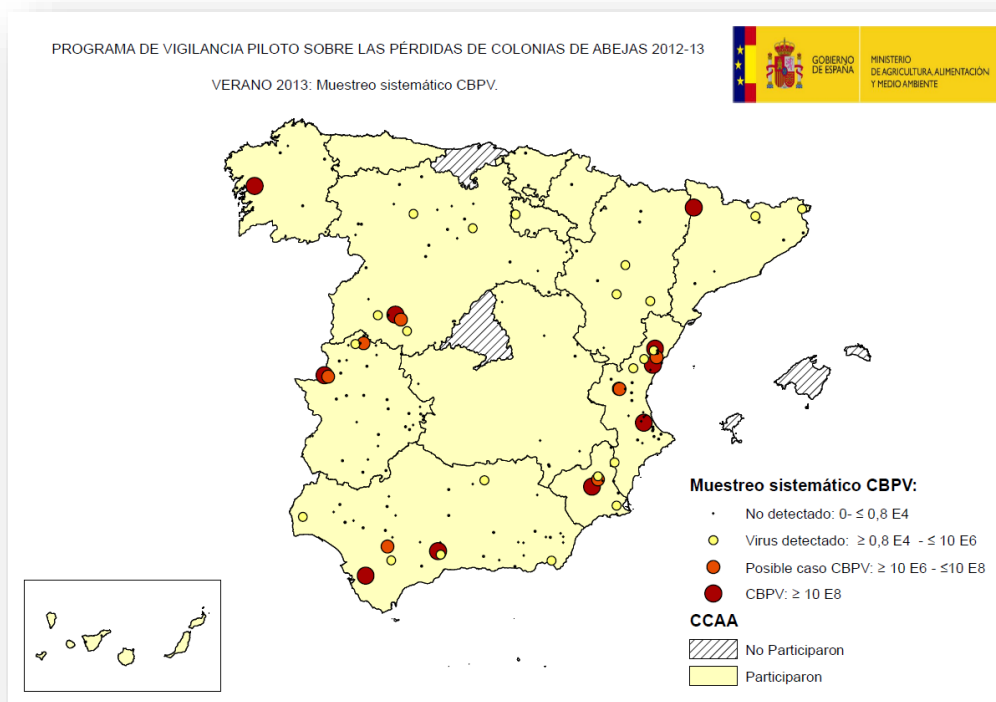
**CBPV2:** evolución de la prevalencia clínica de CBPV durante 2012-15 y prevalencia sistemática en verano de 2013 ( $>10^6$  partículas virales/abeja)

La distribución espacial de la prevalencia clínica durante los tres periodos (figuras CBPV3, CBPV5, CBPV6) y sistemática durante el verano de 2013 (figura CBPV4) muestra que, de forma similar a lo que sucedía con la detección del virus ABPV, durante las dos primeras campañas analizadas la región costa sur oriental fue donde se registraron la mayoría de los casos clínicos siendo más frecuente su detección durante la primavera y el verano.



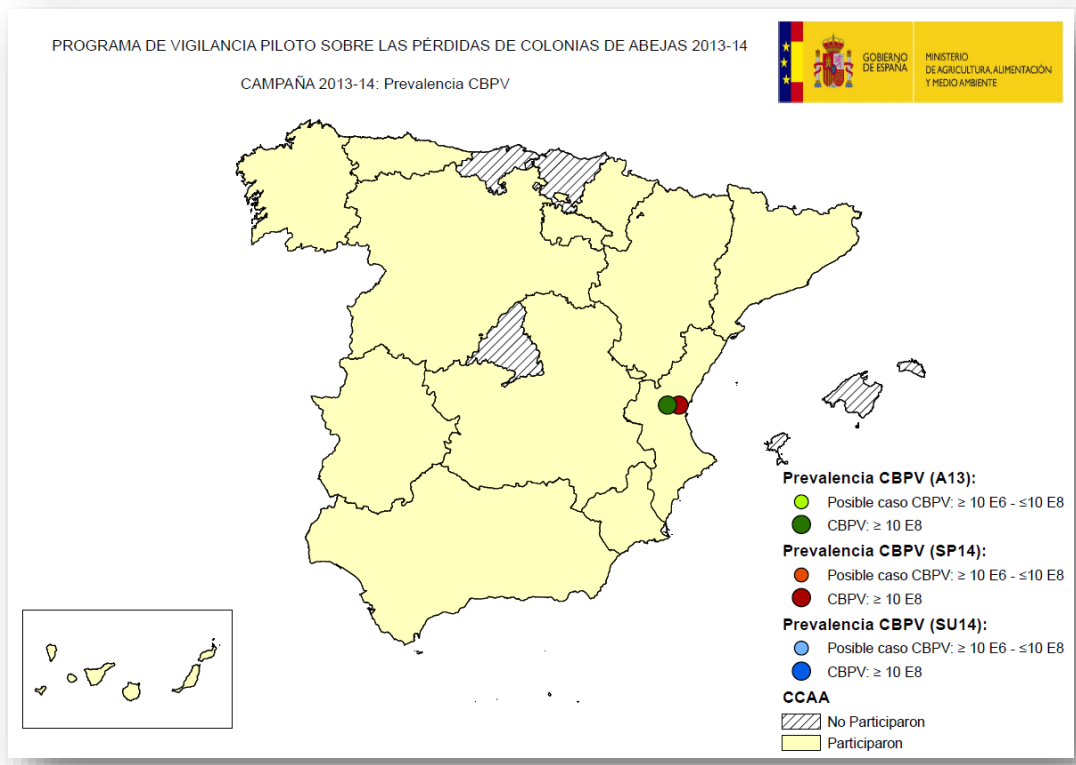
**CBPV3:** distribución de la prevalencia clínica en apiarios durante la campaña (2012-2013).

Sin embargo el muestreo sistemático, demostró la presencia en tasas elevadas también en otras áreas de la península.

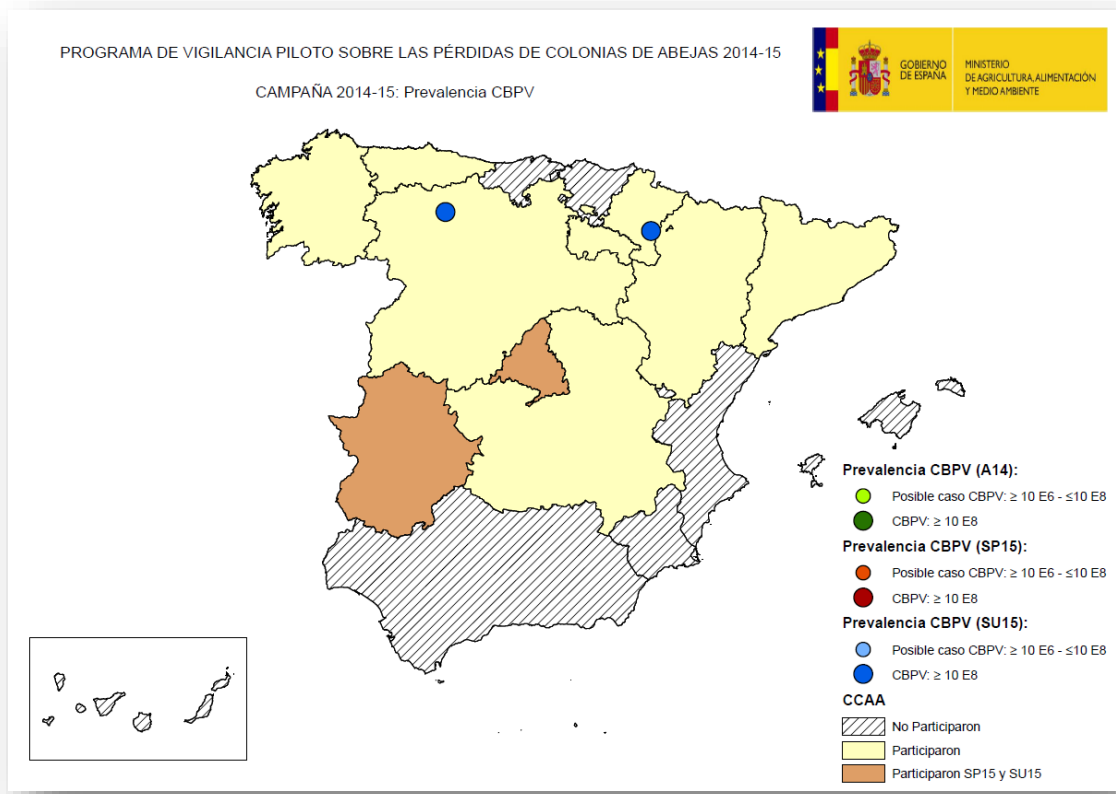


**CBPV4:** distribución de la prevalencia en apiarios de CBPV durante el verano de 2013 (muestras sistemáticas)





**CBPV5:** distribución de la prevalencia clínica de CBPV durante la campaña (2013-2014).



**CBPV3:** distribución de la prevalencia clínica de CBPV durante la campaña (2014-2015).

Se ha constatado que en un 28% de los casos de intoxicación investigados confirmados durante las tres campañas (en los que se detectó un T50 por debajo de 7 días) presentaron a su vez infección por virus de CBPV en tasas superiores a  $10^6$  partículas virales por abeja. Sin embargo no se ha podido establecer ninguna correlación estadísticamente significativa, ( $p > 0,05$ ), entre el virus CBPV y la concentración de pesticidas, concentración de pesticidas muy tóxicos para las abejas y riesgo de toxicidad, durante el muestreo sistemático del verano de 2013.

### 3.3.6. LOQUE AMERICANA

La Loque Americana, es una enfermedad bacteriana cuya prevalencia ha ido aumentando a lo largo de los tres años evaluados, de forma muy significativa durante la campaña 2014-2015.

Se ha detectado una mortalidad invernal significativamente superior ( $p < 0,05$ ) en los apiarios en los que en otoño se detectó loque americana, sin embargo el número de apiarios en los que se detectó no fue superior al 5%, por lo que este resultado habría que tomarlo con precaución.

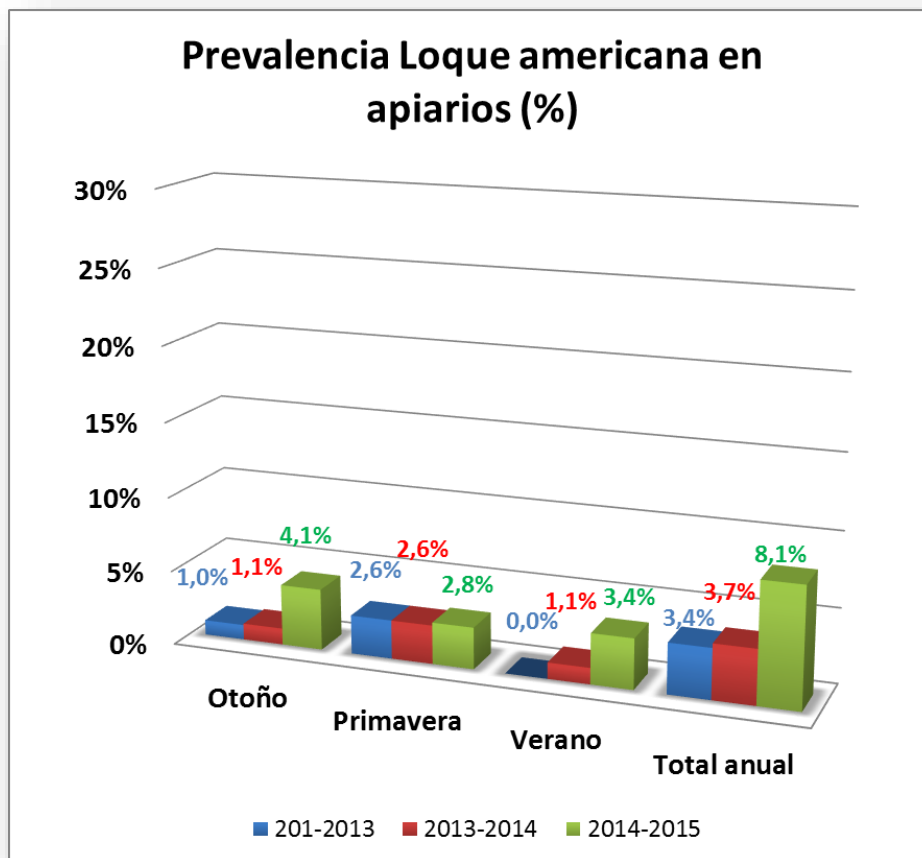
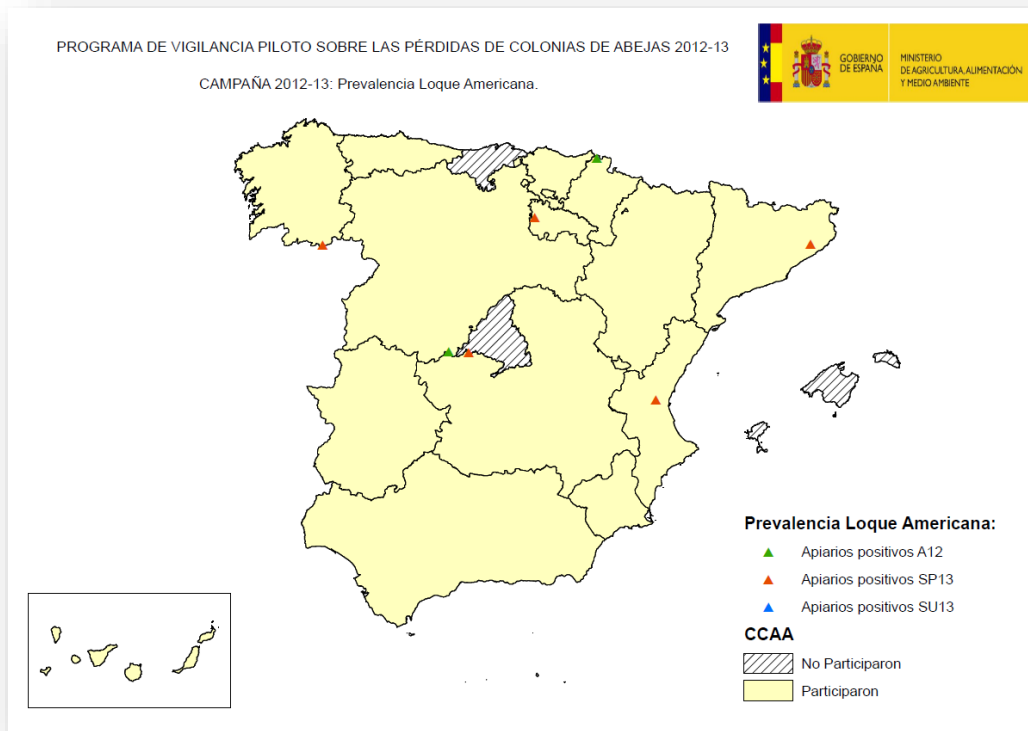
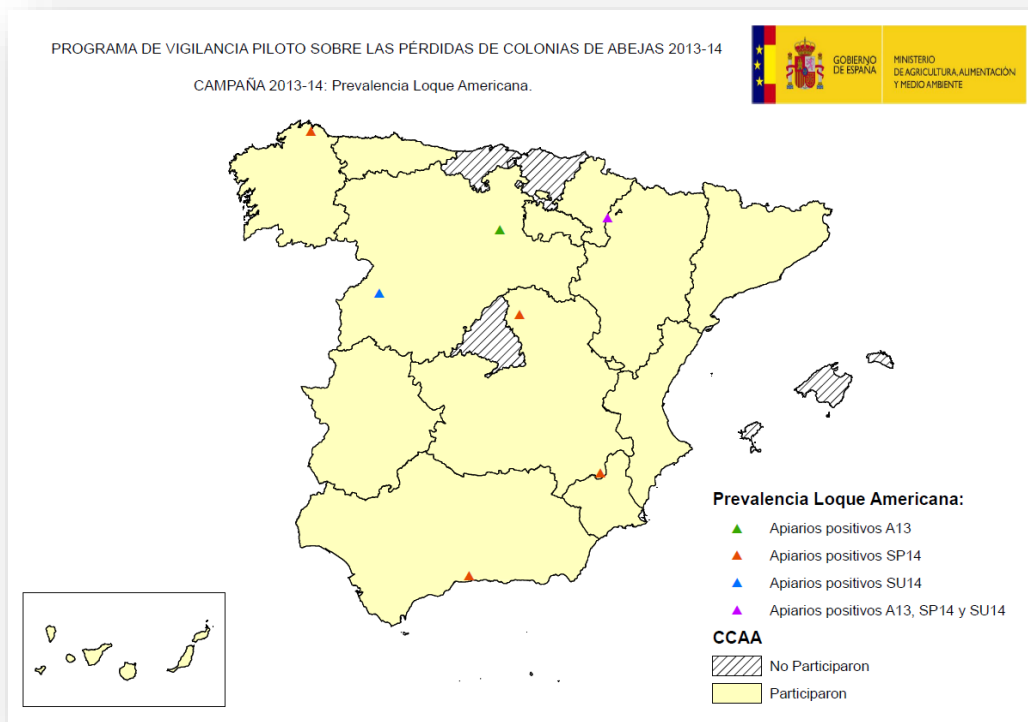


Figura LA1: evolución de la prevalencia clínica de la Loque Americana durante 2012-2015.

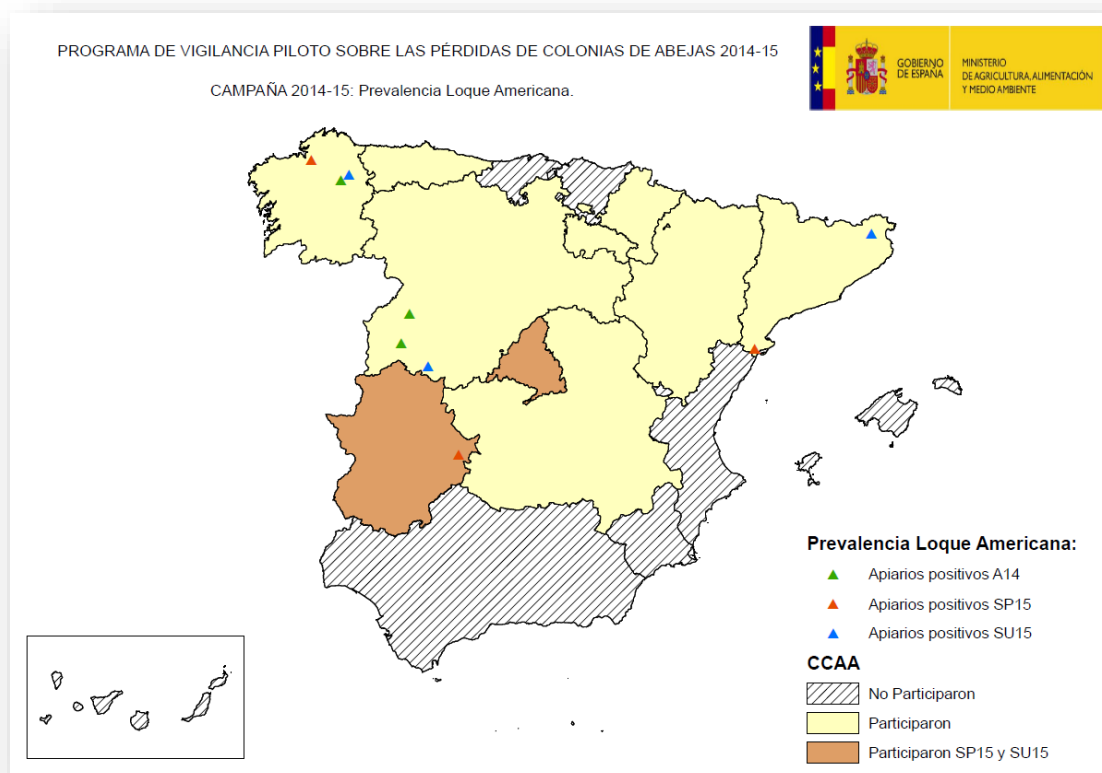
La distribución espacial de la prevalencia clínica a lo largo de las tres campañas evaluadas se recoge en las figuras LA2, LA3 y LA4, no observándose un patrón determinado de distribución.



**Figura LA2:** distribución espacial de la prevalencia clínica de la Loque Americana durante la campaña 2012-2013



**Figura LA3:** distribución espacial de la prevalencia clínica de la Loque Americana durante la campaña 2013-2014



**Figura LA4:** distribución espacial de la prevalencia clínica de la Loque Americana durante la campaña 2014-2015

### 3.3.7. LOQUE EUROPEA

A lo largo de las tres campañas evaluadas no se ha detectado en ningún apiario la presencia de Loque europea. En España no se ha notificado ningún foco desde el año 2004.

### 3.3.8. PARÁSITOS EXÓTICOS: *Aethina tumida* y *Tropilaelaps spp*

Al igual que en el caso de la Loque Europea no se ha detectado en ningún caso ningún parásito exótico. No obstante para el caso de *Aethina tumida* hay que señalar que desde el 19 de septiembre de 2014 en Italia se han detectado 61 focos durante 2014 (60 en Calabria y 1 en Sicilia), 29 focos en 2015 (Calabria) y más recientemente 4 focos en 2016 (Calabria), por lo que es necesario seguir alerta ante el riesgo de entrada de esta enfermedad <https://sites.anses.fr/en/minisite/abeilles/surveillance-aethina-tumida-italy-2016> .

### 3.4. VIGILANCIA SISTEMÁTICA DE RESIDUOS DE PESTICIDAS EN PANAL DE POLEN (OTOÑO 2012-VERANO 2013)

Como pesticida entendemos cualquier sustancia que sirva para combatir plagas o controlarlas. Los pesticidas, plaguicidas o agroquímicos, son un tipo de sustancias químicas o una mezcla de sustancias, destinadas a matar, repeler, atraer, regular o interrumpir el crecimiento de seres vivos considerados plagas.

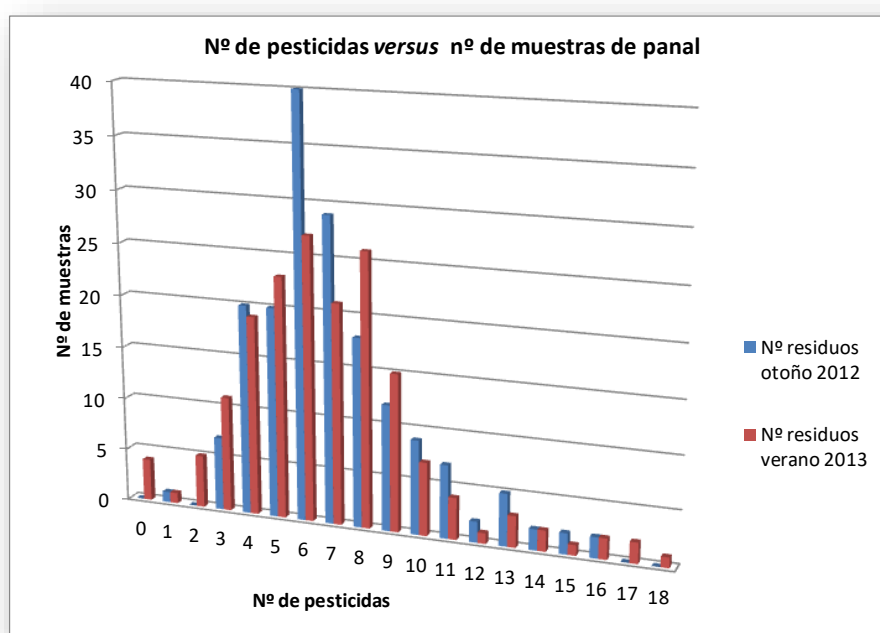
#### 3.4.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO

##### 3.4.1.1. Residuos de pesticidas detectados

Se han analizado un total de 306 pesticidas (con un límite de cuantificación entre 0,1 y 10,0 µg/kg) en las 353 muestras recogidas durante 2012-2013, utilizando el método de extracción QuEChERS modificado y posterior análisis mediante GC-MS/MS y micro-LC-MS/MS (ver anexo I).

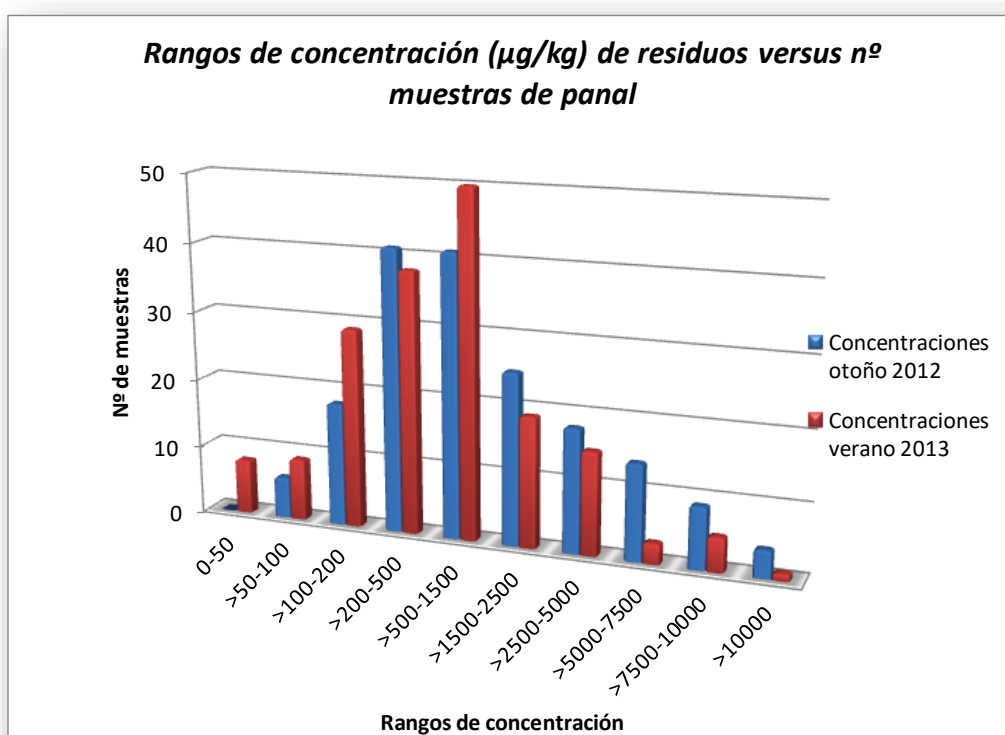
Durante la campaña 2012-2013 se analizaron un total de 176 muestras en otoño y 177 muestras en verano. En todas las muestras se detectaron residuos de 104 pesticidas (ver anexo I), variando el número encontrado en cada muestra entre 0 y 18 (figura P1). En la mayoría de las muestras se detectó un promedio de 6 pesticidas, y un número máximo de 18 pesticidas en una sola muestra. En 45,6% de las muestras se detectaron entre 6 y 8 pesticidas.

En el siguiente gráfico (figura P1) se representa la comparación del número de pesticidas hallados versus el número de muestras de panal de polen en las que se detectaron entre la visita de otoño y de verano.



**Figura P1:** distribución de número de residuos de pesticidas encontrados versus número de muestras de panal (otoño 12 y verano 13)

La concentración total de pesticidas en todas las muestras analizadas varió entre 0 y 21.710  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ . En la **figura P2** se representa la concentración total de residuos de pesticidas detectados en las muestras (correspondiente a la suma de las concentraciones medidas de cada pesticida detectado). La mayoría de las muestras analizadas (46,6%) contenían una concentración total comprendida entre 200 y 1.500  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  y sólo seis muestras mostraron niveles inferiores a 50  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ , mientras que 5 de las muestras analizadas presentaron una concentración superior a 10.000  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ .

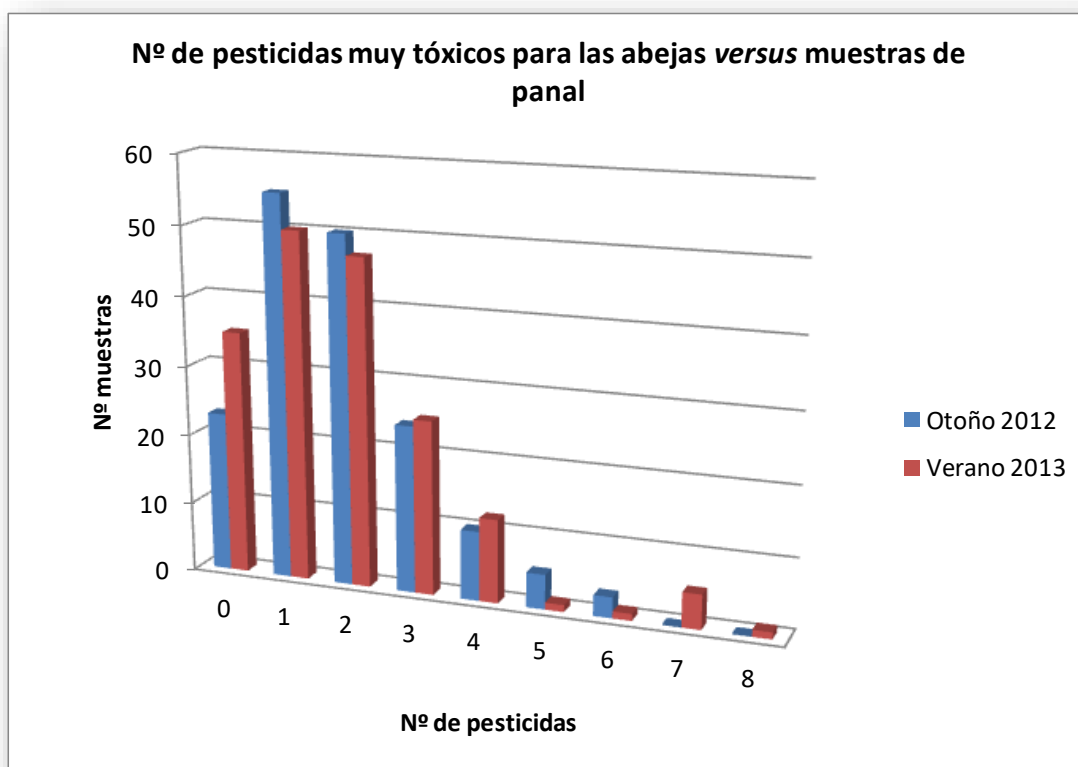


**Figura P2:** rangos de concentración total ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) de residuos de pesticidas versus número de muestras de panal

### 3.4.1.2. Residuos de pesticidas muy tóxicos para las abejas

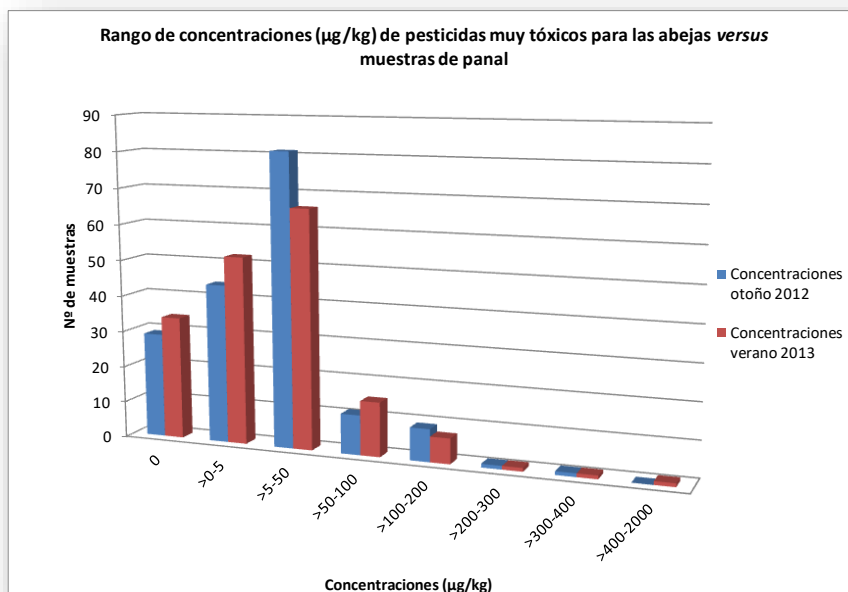
Por pesticida muy tóxico para las abejas se entienden aquel cuya DL50 contacto es inferior a 2  $\mu\text{g}/\text{abeja}$  (Washington State Department of Agriculture, 2010). En el otoño de 2012, en un 83,5% de las muestras se detectó algún tipo de residuo muy tóxico para las abejas, variando la suma de las concentraciones entre 0,5 y 338,9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Durante el verano de 2013 se detectaron en un 80,8 % de las muestras, variando la suma de las concentraciones encontradas entre 0,6 y 1.998,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

En el siguiente gráfico (**figura P3**) se muestra el número de pesticidas muy tóxicos hallados en relación al número de muestras de panal analizadas en el otoño y verano. El 17,8 % de las muestras no presentó residuos de pesticidas muy tóxicos para las abejas y un 57,2% presentó de 1 a 2 pesticidas muy tóxicos.



**Figura P3:** distribución de número de residuos de pesticidas muy tóxicos para las abejas encontrados versus número de muestras de panal (otoño 12 y verano 13)

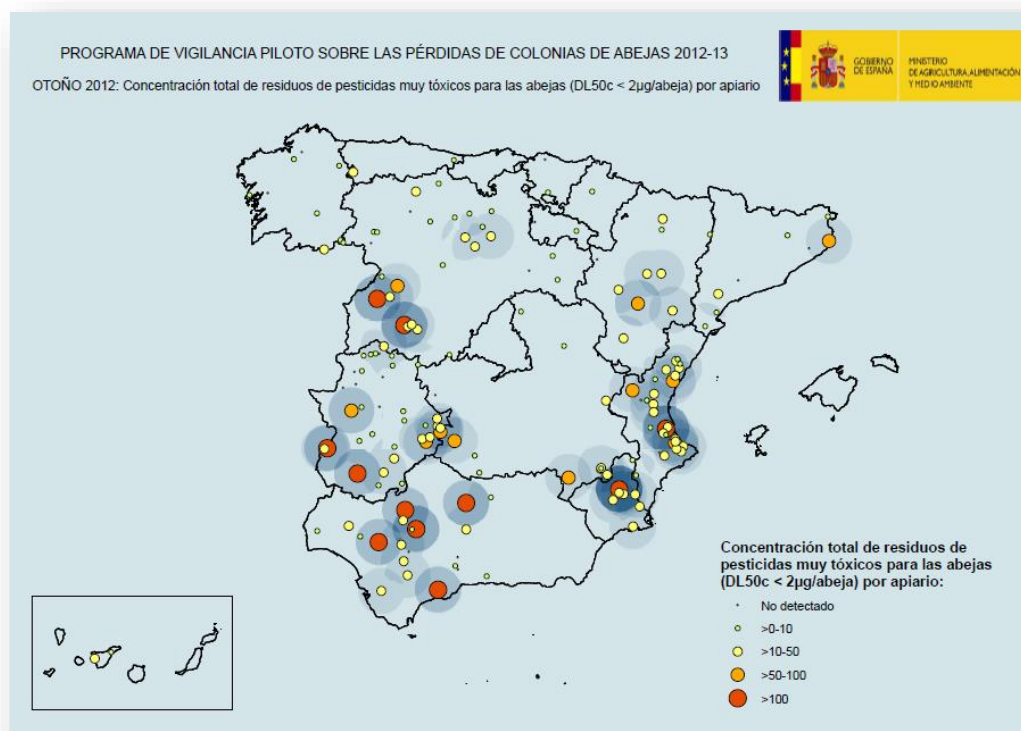
La concentración total de pesticidas muy tóxicos para las abejas en todas las muestras analizadas varió entre 0 y 1.998,2  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ . En la **figura P4** se representa la concentración total de residuos de pesticidas muy tóxicos detectados en las muestras (correspondiente a la suma de las concentraciones medidas de cada pesticida detectado), no observándose variaciones significativas entre el otoño y el verano. Un 41,6% de las muestras analizadas contenían una concentración total de residuos de pesticidas muy tóxicos comprendida entre 5 y 50  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ . Un 13,3% de las muestras presentaron concentraciones superiores a los 50  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ .



**Figura P4:** rangos de concentración total ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) de residuos de pesticidas muy tóxicos para las abejas versus número de muestras de panal

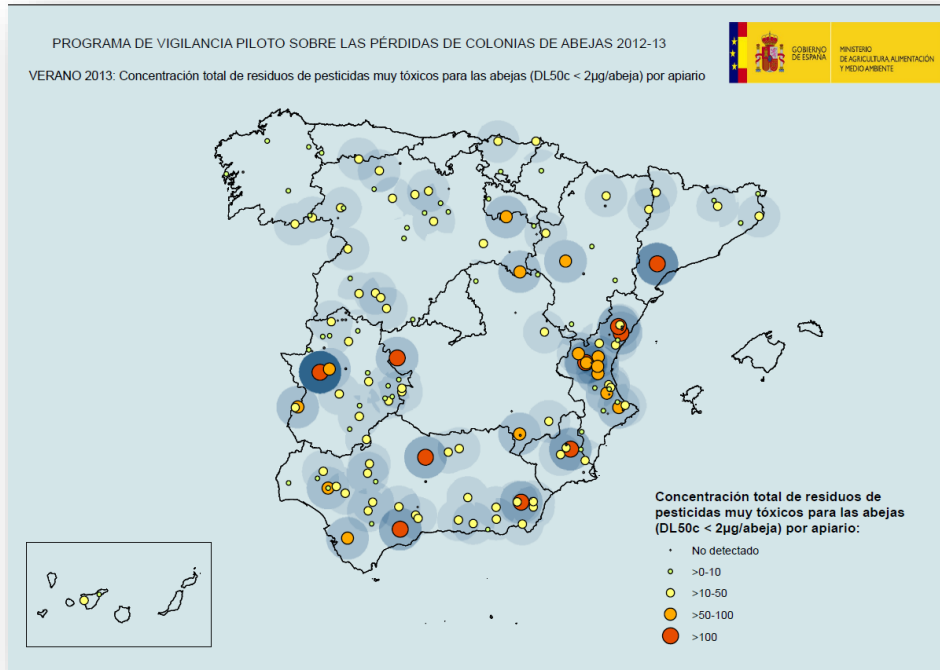
### Distribución geográfica de los residuos de pesticidas muy tóxicos

Las **figuras P5 y P6** representan la distribución de la suma de concentraciones de pesticidas muy tóxicos detectadas a nivel nacional en otoño y en verano, donde las mayores concentraciones se detectaron sobre todo en la mitad sur peninsular\*.



**Figura P5:** suma de concentraciones de pesticidas muy tóxicos a nivel nacional en otoño.



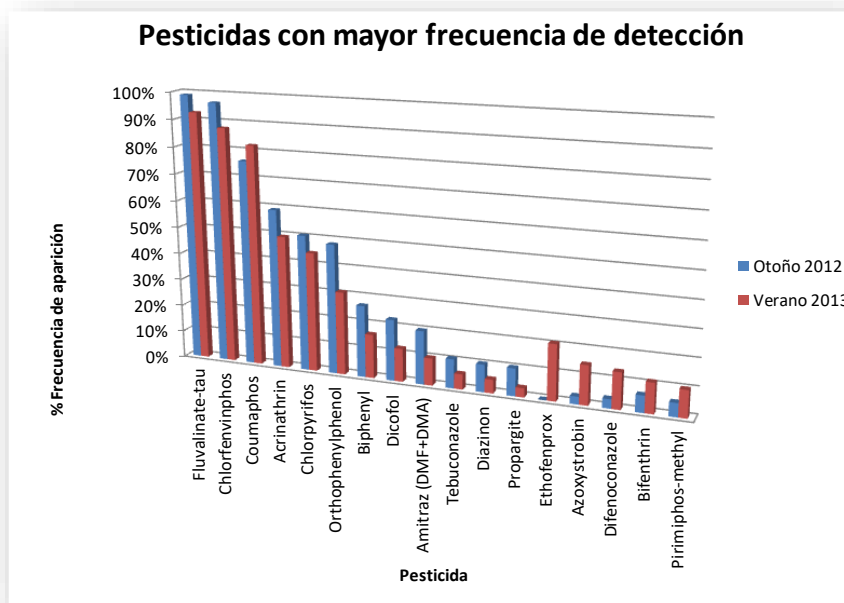


**Figura P6:** suma de concentraciones de pesticidas muy tóxicos a nivel nacional en verano.

\*Tener en cuenta que en la visita de otoño no se tomaron muestras de panal de polen en algunos apiarios del este de Andalucía

### 3.4.1.3. Distribución de residuos de pesticidas por frecuencias de detección

En la **figura P7** se muestra la distribución de las frecuencias de los residuos que se detectaron por encima de un 10% en algún momento del año sobre las muestras analizadas de forma sistemática.



**Figura P7:** frecuencias de distribución de los pesticidas que aparecen con una frecuencia superior al 10% en al menos un periodo (otoño-verano)

Los cinco **pesticidas que se detectaron con mayor frecuencia** fueron el Tau-Fluvalinato (95,8%), el Chlorfenvinphos (92,1%), el Coumaphos (79,1%), la Acrinathrina (54,3%) y el Clorpyriphos (47,5%).

Por otro lado, los **pesticidas muy tóxicos para las abejas** que se detectaron con mayor frecuencia fueron la Acrinathrina (54,3%), el Clorpyriphos (47,5%), el Diazinon (7,6%), el Ethofenprox (que sólo se detectó en verano, en un 20,8% de las muestras), el Bifenthrin (8,7%) y el Pirimiphos metil (7,6%).

En cuanto a los pesticidas sometidos a prohibiciones y restricciones de uso por la normativa europea (**Clotianidina, Imidacloprid, Tiametoxam y Fipronil**) cabe decir que se hallaron con muy baja o nula frecuencia, no detectándose en ningún caso ni Clotianidina ni Tiametoxam. Sólo se encontró Fipronil en una muestra de otoño, lo que representaba el 0,3% de las muestras analizadas, e Imidacloprid con una frecuencia muy baja (en el 3,4% de las muestras) a concentraciones que no suponían un peligro de intoxicación para las abejas (sólo 1 de los 12 apiarios afectados presentó un T50c entre 2 y 7 días).

En la Figura 8 se presentan los residuos de pesticidas detectados con mayor frecuencia (>10% en el conjunto anual) y concentración en las muestras. En cuanto al **nivel de concentración**, el Coumaphos es el pesticida que se detectó en un mayor grado, llegando hasta 18.546 µg/Kg, el Chlorfenvinphos se detectó a niveles de hasta 4.022 µg/Kg, el Tau-fluvalinate hasta 3.195 µg/Kg, el Dicofol hasta 3.074 µg/Kg, el Amitraz hasta 2.661 µg/Kg y la Acrinathrina hasta 1.950 µg/Kg.

### Residuos que aparecen con mayor frecuencia y concentración

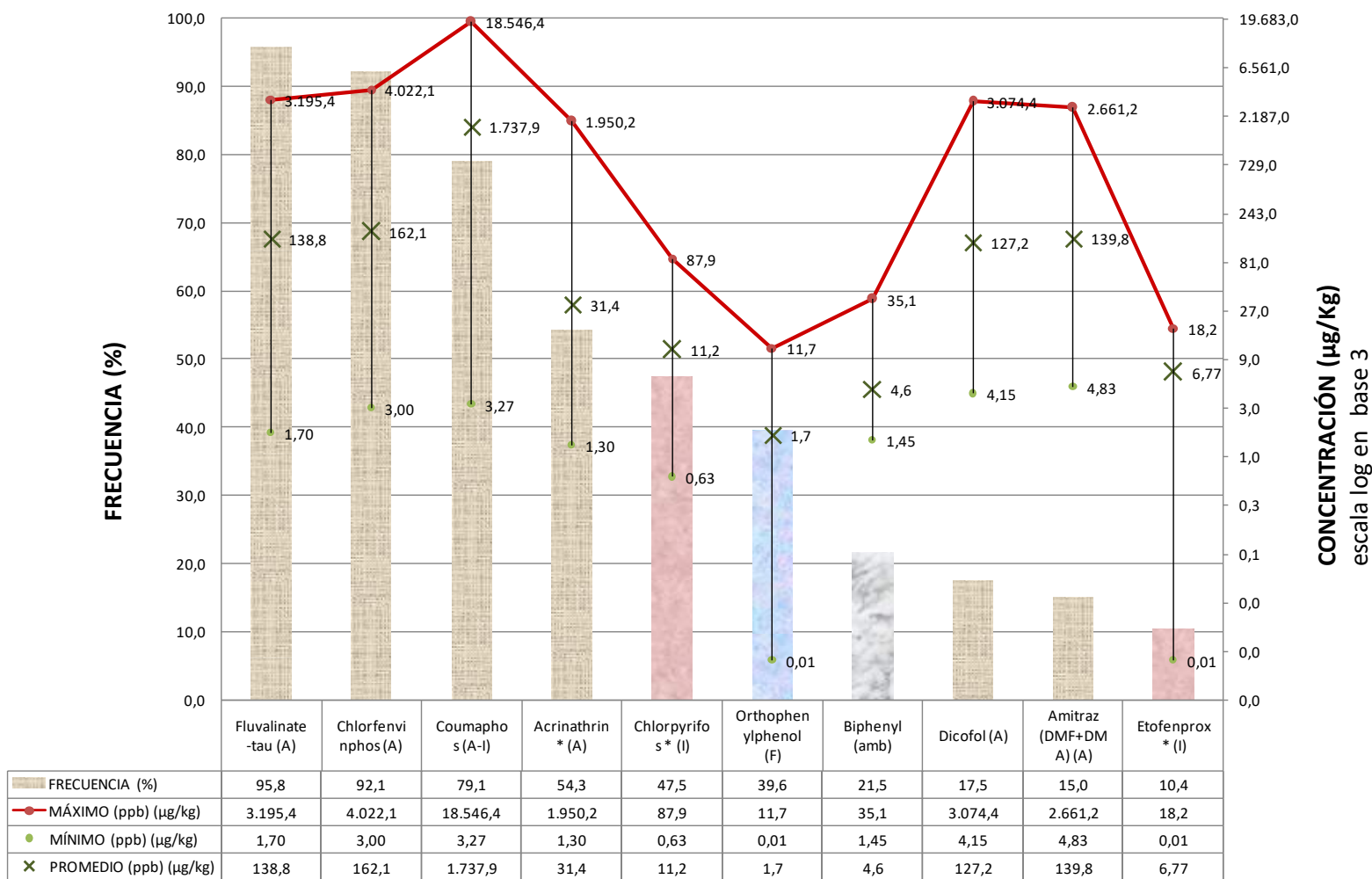


Figura P8: residuos detectados con mayor frecuencia y concentración en el muestreo sistemático de otoño y verano.

\* Pesticidas muy tóxicos para las abejas.

■ A: acaricida; ■ I: insecticida; ■ F: fungicida; ■ amb: contaminante ambiental.

En la **tabla 1** se han recogido los **usos posibles** de las sustancias anteriores y **orígenes** a los que pueden deberse las elevadas frecuencias y concentración en las que aparecen.

PESTICIDAS MÁS FRECUENTES	Autorización uso agrícola	Autorización uso apícola	Autorización otras especies ganaderas	Posible origen (según frecuencia y concentración)
Fluvalinate-tau (A)	SÍ	SÍ	NO	Apícola-Agrícola
Chlorfenvinphos (A)	NO	NO	SÍ **	Apícola
Coumaphos (A-I)	NO	SÍ	NO	Apícola
Acrinathrin* (A)	SÍ	NO	NO	Agrícola - Apícola
Chlorpyrifos*(I)*	SÍ	NO	NO	Agrícola
Orthophenylphenol (F)	SÍ***	NO	NO	Agrícola
Biphenyl	NO	NO	NO	Ambiental
Dicofol (A)	NO <sup>(1)</sup>	NO	NO	Apícola-Agrícola
Amitraz (A)	NO <sup>(2)</sup>	SÍ	SÍ	Apícola
Etofenprox* (I)	SÍ	NO	NO	Agrícola

**Tabla P1:** autorizaciones de uso de los pesticidas detectados con más frecuencia y posible origen. A: acaricida; I: insecticida; F: fungicida.

\*Muy tóxico para las abejas; \*\* desde 22/04/2013 no está autorizada la comercialización de (Supona®)

\*\*\* Uso restringido postcosecha

<sup>(1)</sup> REGLAMENTO (UE) No 899/2012 DE LA COMISIÓN no autorizado en todos los productos excepto los tomates, los cítricos y las uvas de mesa y de vinificación

<sup>(2)</sup> Sustancia activa excluida del Anexo I de la Directiva 91/414/CEE

El **Tau-fluvalinato** es el acaricida que con más frecuencia se detectó (en un 95,8% de las muestras analizadas) con un promedio de 138,8 µg/kg de panal, llegándose a detectar hasta 3.195,4 µg/kg en una muestra. Su uso está autorizado en la lucha contra la varroosis (Apistan®) así como en tratamientos agrícolas (klartan®). A pesar de que no se considera una sustancia peligrosa para las abejas, concentraciones superiores a 4.350 y 1.243 µg/kg pueden originar intoxicaciones graves y moderadas por contacto (T50 contacto inferior a 2 y 7 días respectivamente) (ver anexo II). En otoño de 2012 sólo un 6,4 % de los apicultores declararon su utilización, detectándose sin embargo residuos por encima de los 300 µg/kg en un 9,1 % de los apiarios analizados que no lo habían declarado y en un 13,7 % por encima de 200 µg/kg. En verano un 6,25 % de apiarios que no lo declararon presentaron concentraciones superiores a 300 µg/kg y un 9,6% superiores a 200 µg/kg.

El **Clorfenvinphos** se detectó en un 91,2% de las muestras analizadas, con un promedio de 162,1 µg/kg de panal, llegándose a detectar hasta 4.022,1 µg/kg en una muestra. A pesar de que no se considera una sustancia peligrosa para las abejas, concentraciones superiores a 2.050 y 586 µg/kg pueden originar intoxicaciones graves y moderadas por contacto (T50 contacto inferior a 2 y 7 días respectivamente) (ver anexo II). Ha sido una sustancia habitualmente utilizada para el control de varroosis en su preparado artesanal (ilegal) a partir de antiparasitarios autorizados en otras especies ganaderas (Supona®). En otoño de

2012 un 17,7% de los apiarios analizados presentaron concentraciones superiores a 200 µg/kg y en verano el 13,6%.

El **Coumaphos** es el tercer acaricida detectado con mayor frecuencia en ambos periodos, en un 79,1% de las muestras analizadas, con un promedio de 1.737,9 µg/kg de panal, llegándose a detectar hasta 18.546,4 µg/kg en una muestra. A pesar de que no se considera una sustancia peligrosa para las abejas, concentraciones superiores a 10.000 µg/kg y 2.857 µg/kg pueden originar intoxicaciones graves y moderadas por contacto (T50 contacto inferior a 2 y 7 días respectivamente) (ver anexo II). Es el principio activo de Checkmite®, producto autorizado para el control de la varroosis. En otoño de 2012 se declaró la utilización Checkmite® en la lucha contra la varroosis en un 41,7 % de los apiarios analizados, sin embargo se han detectado residuos de Coumaphos por encima de 500 µg/kg en un 8,6 % de los apiarios analizados que no lo habían declarado y por encima de 200 µg/kg en un 18,3%. En verano de 2013, sólo un 6,8% de los apiarios analizados declararon haber utilizado Checkmite®, sin embargo un 36,2 % que no lo declararon presentaron residuos superiores a 500 µg/kg y un 45,8% por encima de los 200 µg/kg.

La **Acrinathrina** es un insecticida únicamente autorizado en **agricultura**, detectado en un 54,3% de las muestras analizadas, a una concentración promedio de 54,3 µg/kg, llegándose a detectar en algún caso concentraciones muy elevadas de hasta 1.950,0 µg/kg, considerándose un insecticida muy peligroso para las abejas (DL50 contacto= 0,17 µg/abeja), pudiendo originar a partir de 84 µg/kg intoxicaciones agudas por contacto (T50 contacto inferior a 2 días) y moderadas a partir de 24 µg/kg (T50 contacto inferior a 7 días) (ver anexo II).

El **Chlorpyrifos**, es un insecticida aprobado en agricultura que aparece con una frecuencia muy elevada, detectándose en un 47,5% de las muestras. A pesar de que las concentraciones promedio y máxima detectadas en panal, 11,2 y 87,9 µg/kg respectivamente, no son tan elevadas como en los principios activos anteriores, al igual que la Acrinathrina es un pesticida considerado muy tóxico para las abejas (DL50 contacto = 0,072 µg/abeja), pudiendo originar intoxicaciones agudas y moderadas por contacto a partir de 36 y 10,3 µg/kg de panal (T50 contacto inferior a 2 y 7 días respectivamente) (ver anexo II), este último próximo a la concentración promedio detectada.

El **Orthophenyl fenol** y el **Biphenyl** se han detectado con una frecuencia moderada, en el 39,6 y 21,5% de las muestras respectivamente. El **Orthophenyl fenol** es un fungicida aprobado sólo para determinados uso como el tratamiento post cosecha de cítricos, desinfectantes de establecimientos ganaderos o como tratamiento fungicida de la madera. El **Biphenyl** es un contaminante ambiental de la familia de los bifenilos policlorados (PCB) que se encuentran hoy en día ampliamente difundidos en el medio ambiente, ya sea por vertido directo a partir de industrias que los utilizan o por combustión y vertido a ríos y aguas marinas de desechos contaminados. No se han estudiado las DL50 de estas sustancias sobre las abejas, por lo que se desconoce su efecto sobre ellas. En mamíferos la toxicidad de Biphenil toxicidad es moderada a crónica con efectos cancerígenos (<http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad06.pdf>).

El **Dicofol** es un acaricida cuyo uso agrícola no está aprobado aunque sí se permite su utilización en jardinería. Se ha detectado con una frecuencia moderada (17,5%) en las muestras analizadas en una concentración promedio de 127,2 µg/kg. Aunque es un insecticida no peligroso para las abejas, a partir de 2.714 µg/kg puede originar intoxicaciones moderadas (T50 contacto inferior a 7 días) (ver Anexo II), llegándose a detectar residuos de este compuesto en un apiario de hasta 3.074 µg/kg.

El **Amitraz** es un acaricida autorizado para el control de la varroosis que se ha detectado en un 15% de las muestras analizadas, a una concentración promedio de 139,8 µg/kg. No se trata de un acaricida tóxico para las abejas y en ningún caso se han detectado concentraciones que pudieran originar un riesgo de intoxicación moderada o grave. Por otro lado, en un 56,1% y 55% de los apiarios que declararon haberlo utilizado para el control de la varroosis no se detectó amitraz ni sus metabolitos de degradación ni en otoño ni verano.

El **Etofenprox** es un insecticida de uso agrícola detectado en un 10,4% de las muestras con una concentración promedio de 6,8 µg /kg. Es considerado muy tóxico para las abejas pudiendo originar intoxicaciones agudas y moderadas por contacto a partir de 2,1 y 7,5 µg /kg (ver anexo II).

### 3.4.2. EVALUACIÓN DE RIESGO

Sólo un estudio llevado a cabo por Sanchez Bayo, F. et al, 2014, ha evaluado el riesgo por intoxicación para las abejas que múltiples pesticidas suponen en diversos países del mundo (USA, Francia, España, India entre otros), relacionando su frecuencia, concentración y toxicidad a partir de estudios realizados en los que se determinaban la presencia y concentración de pesticidas en cera, miel y polen ensilado.

Utilizando este modelo, en este trabajo hemos podido evaluar el **riesgo por intoxicación** en España para el conjunto de apiarios investigados de un total de 86 pesticidas detectados en el muestreo sistemático, realizándose la **estimación de riesgo en dos estratos**:

- **nacional**
- **por apiario**

La valoración del riesgo ha tenido en cuenta dos parámetros:

- **% Riesgo de intoxicación aguda (parámetro probabilístico):** *probabilidad de causar un 50% de mortalidad de abejas de una colonia que entre en contacto con un panal de polen contaminado durante un periodo corto de exposición (dos días).* Se trata de un parámetro extrapolable para el conjunto de apiarios a **nivel nacional** donde se han calculado dos tipos de riesgo:
  - en función de la **concentración promedio** de cada pesticida, valor promedio de detección calculado para el conjunto de apiarios evaluados;
  - en función de la **concentración máxima** detectada para cada pesticida, valor máximo de detección hallado en el conjunto de apiarios evaluados, que representaría el peor escenario.

Teniendo en cuenta que el Coeficiente de Riesgo Estándar (HQ) se calcula como  $HQ = \text{Concentración medioambiental estimada} / DL50$ , en esta aproximación, el cálculo del riesgo se ha llevado a cabo de la siguiente forma:

$$Riesgo = \frac{Frecuencia (\%) \times Dosis de residuo * [\mu g]}{DL50 [\frac{\mu g}{abeja}]}$$

\* La *dosis de residuo* se ha calculado a partir de las *concentraciones de residuos promedios y máximas* halladas en el panal de polen o abejas, estableciéndose para el caso del panal de polen que una abeja puede tener contacto con 1 gr de panal al día.

- **Riesgo por toxicidad acumulada (T50 por contacto):** valora el riesgo por la acumulación de residuos en el tiempo y está representado por los días en que cada residuo detectado tardaría en alcanzar la DL50c en una abeja, asumiendo un contacto diario con 1gr panal de polen. Este parámetro se ha aplicado tanto a nivel

**nacional** como a nivel de cada **apiario**. Así mismo se han calculado dos tipos de T50c:

- en función de la **concentración promedio y máxima** (peor escenario) de cada pesticida a nivel nacional;
- en función de la **concentración detectada** para cada pesticida por apiario.

$$T50c \text{ (días)} = \frac{LD50c [\mu\text{g abeja}^{-1}]}{\text{Dosis diaria de residuo} [\mu\text{g día}^{-1}]}$$

Derivado este análisis se han establecido **tres niveles de riesgo**:

- Riesgo elevado de intoxicación: cuando la estimación del riesgo es superior a un 5% de probabilidad, correspondiendo normalmente a un T50c por debajo de 2 días.
- Riesgo moderado de intoxicación: cuando la estimación del riesgo se sitúa entre el 1 y el 5% de probabilidad, correspondiendo normalmente a T50c entre 2 y 7 días.
- Riesgo leve de intoxicación: cuando la estimación del riesgo se sitúa por debajo del 1% de probabilidad, correspondiéndose normalmente a un T50c superior a 7 días (hasta 30, 60 o más días), lo que cubre la vida media de las abejas pecoreadoras en verano y la mayor parte de la vida de las abejas de invierno

En las **tablas P2 y P3** se muestra el riesgo de intoxicación aguda y acumulada para las abejas para cada compuesto detectado en otoño de 2012 y verano de 2013. Sólo se han incluido aquellos pesticidas que presentaron un riesgo de intoxicación aguda superior al 0,01%, considerándose despreciables aquéllos por debajo de esa cifra y se han ordenado según el riesgo calculado a partir de las concentraciones promedio.

#### **3.4.2.1. Otoño de 2012**

Los resultados de la evaluación de riesgo del muestreo sistemático se muestran en la tabla P2. Estos resultados indican que en España el 70,9 % de los compuestos sometidos a la evaluación de riesgo presentaron un riesgo insignificante o no riesgo (no se detectaron).

##### **Evaluación de riesgo por intoxicación aguda (%)**

En España, en exposiciones a la **concentración promedio** sólo cinco compuestos mostraron un **riesgo elevado de intoxicación aguda** (*probabilidad superior al 5% de alcanzar la DL50c*): el Coumaphos, la Acrinathrina, el Chlorpyrifos, la Cypermethrina y el Chlorfenvinphos (ver tabla P2). La Acrinatrina, el Chlorpyrifos y la Cypermethrina son pesticidas muy tóxicos para las abejas, presentan DL50c inferiores a 2 µg/abeja (ver anexo II), habiéndose detectado una elevada prevalencia en las dos primeras (superior al 45%). Aunque el Coumaphos y el Clorfenvinfos no se consideran pesticidas muy tóxicos para las abejas, su riesgo elevado de toxicidad a la **concentración promedio** es debido a las elevadas concentraciones y frecuencia a las detectadas. Cinco compuestos presentaron un **riesgo moderado de intoxicación aguda** (*probabilidad de alcanzar la DL50c entre el 1 y 5% a la concentración promedio*): el Bifenthrin, el Tau-fluvalinato, el Spinosad, el Pyridaben y la Permethrina. Todos, salvo el



Tau-fluvalinato, son acaricidas/insecticidas muy tóxicos para las abejas presentándose con una frecuencia que varió entre el 4,6 y 7,4% de los apiarios. El Tau-fluvalinato no se considera un pesticida altamente tóxico para las abejas, sin embargo se detectó de forma muy elevada, alcanzando el 98,9% de las muestras, y a concentraciones elevadas, lo que ha pesado en el cálculo de su riesgo. El riesgo más elevado hallado para la **concentración máxima** se encuentra en la Cypermethrina (6,2% de probabilidad) siendo el riesgo para el Coumaphos, Acrinathrina, Chlorpyrifos y Chlorfenvinphos moderado (entre el 1 y 5% de probabilidad) (ver tabla P2).

### Evaluación de riesgo por toxicidad acumulada (T50 por contacto)

Para exposiciones a la **concentración promedio** en España sólo la cypermethrina presentó un riesgo elevado, T50c inferior a dos días, mientras que para el Bifenthrin y el Spinosad se situó entre 2 y 7 días. El riesgo por intoxicación acumulada a la **concentración máxima** para la mayoría de los compuestos con un riesgo de intoxicación aguda superior al 1% fue muy elevado (T50c inferior a 2 días). Dentro de este grupo, sólo el Tau-fluvalinato, el Pyridaben y la Permethrina presentaron valores de riesgo moderado, entre 2 y 7 días (ver tabla P2).

OTOÑO 2012				Riesgo por intoxicación aguda (% probabilidad)		Riesgo por toxicidad acumulada T 50 contacto (días)	
PESTICIDA	USO AGRÍCOLA	AUTORIZACIÓN UE	DL50 (µg/abeja)	Concentración Promedio	Concentración Máxima	Concentración Promedio	Concentración Máxima
Coumaphos	I-A	NO	20	17,974**	1,057*	8,472	1,078**
Acrinathrin	I-A	SÍ	0,17	15,642**	2,002*	7,555	0,569**
Chlorpyrifos	I	SÍ	0,072	14,429**	1,391*	7,009	0,819**
Cypermethrin	I-A	SÍ	0,034	8,932**	6,213**	0,891**	0,183**
Chlorfenvinphos	I-A	NO	4,1	8,750**	1,118*	22,079	1,019**
Bifenthrin	I-A	SÍ	0,015	4,051*	0,746	3,086*	1,528**
Fluvalinate-tau	I-A	SÍ	8,7	3,633*	0,325	54,428	3,510*
Spinosad	I	SÍ	0,003	3,379*	0,646	2,691*	1,765**
Pyridaben	I	SÍ	0,053	1,415*	0,556	8,834	2,049*
Permethrin	I	NO	0,063	1,234*	0,179	11,969	6,386*
Imidacloprid	I	NO	0,061	0,555	0,127	14,345	8,971
Phenthoate	I	NO	0,31	0,301	0,268	11,314	4,259*
Chlorpyrifos Methyl	I	SÍ	0,28	0,273	0,111	29,155	10,302
Pirimiphos-methyl	I	SÍ	0,27	0,198	0,169	51,607	6,750*
Fipronil	I	NO	0,007	0,174	0,174	6,542*	6,542*
Diazinon	I-A	NO	0,38	0,146	0,029	140,047	38,879
Amitraz (DMF+DMA)	A	NO	50	0,143	0,061	277,809	18,789
Malathion	I-A	SÍ	0,47	0,138	0,074	49,480	15,466
Dicofol	A	NO	19	0,065	0,009	703,151	126,293
Dimethoate	I	SÍ	0,12	0,052	0,021	64,982	53,239
Indoxacarb	I	SÍ	0,59	0,047	0,035	72,075	32,633

Fenitrothion	I	NO	0,52	0,037	0,012	154,916	96,853
Phosmet	I	SÍ	0,62	0,036	0,034	62,463	33,068
Flucythrinate	I	NO	0,3	0,026	0,026	44,292	44,292
Endosulfan Alpha	I-A	NO	6,3	0,014	0,014	83,374	83,374

**Tabla P2:** riesgo de intoxicación aguda en otoño por pesticidas (% de probabilidad) y toxicidad acumulada (tiempo estimado en alcanzar la DL50 por contacto con 1 gr con panal de polen para las abejas durante 2 días a exposiciones promedio y máximas).

-\*\* **Riesgo elevado de intoxicación:** cuando la estimación del riesgo es superior a un 5% de probabilidad, correspondiendo normalmente a un T50c por debajo de 2 días.

-\* **Riesgo moderado de intoxicación:** cuando la estimación del riesgo se sitúa entre el 1 y el 5% de probabilidad, correspondiendo normalmente a T50c entre 2 y 7 días.

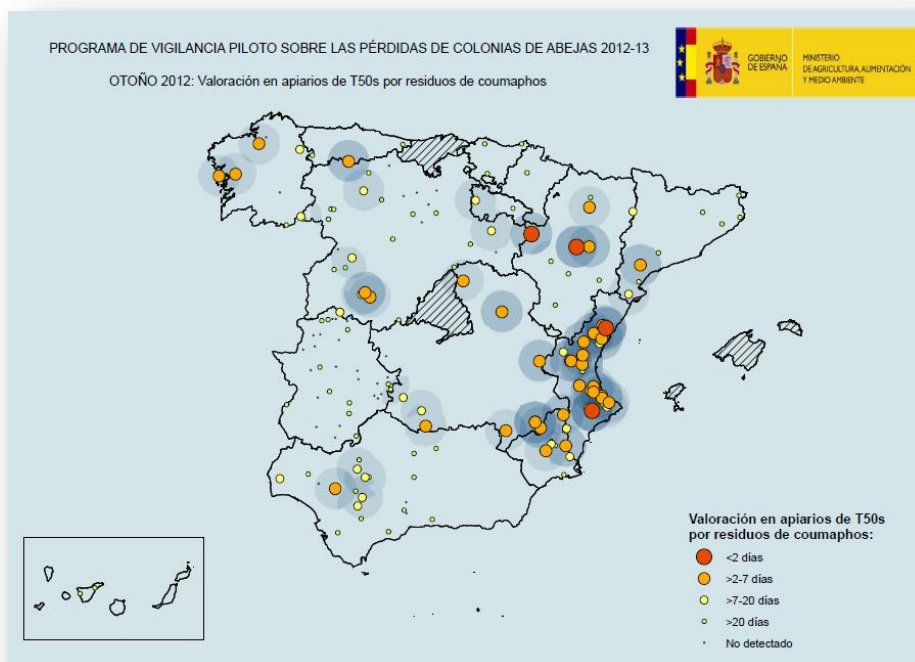
- **Riesgo leve de intoxicación:** cuando la estimación del riesgo se sitúa por debajo del 1% de probabilidad, correspondiéndose normalmente a un T50c superior a 7 días (hasta 30, 60 o más días), lo que cubre la vida media de las abejas pecoreadoras en verano y la mayor parte de la vida de las abejas de invierno.

### Distribución geográfica del riesgo acumulado por apiario de los pesticidas con un riesgo superior al 5%

En las figuras P9, P10, P11, P12 y P13 se muestra la **distribución de apiarios en España** en función del riesgo por toxicidad crónica detectado (**T50 por contacto**) para aquellos pesticidas para los que se ha deducido un riesgo elevado de intoxicación aguda durante este periodo (probabilidad superior al 5%), partiendo del supuesto de una dosis diaria por contacto de 0,001 kg de panal por abeja. Valores inferiores a 2 días indican exposiciones a concentraciones elevadas de residuos y un riesgo elevado de mortalidad para las abejas.

#### **Coumaphos**

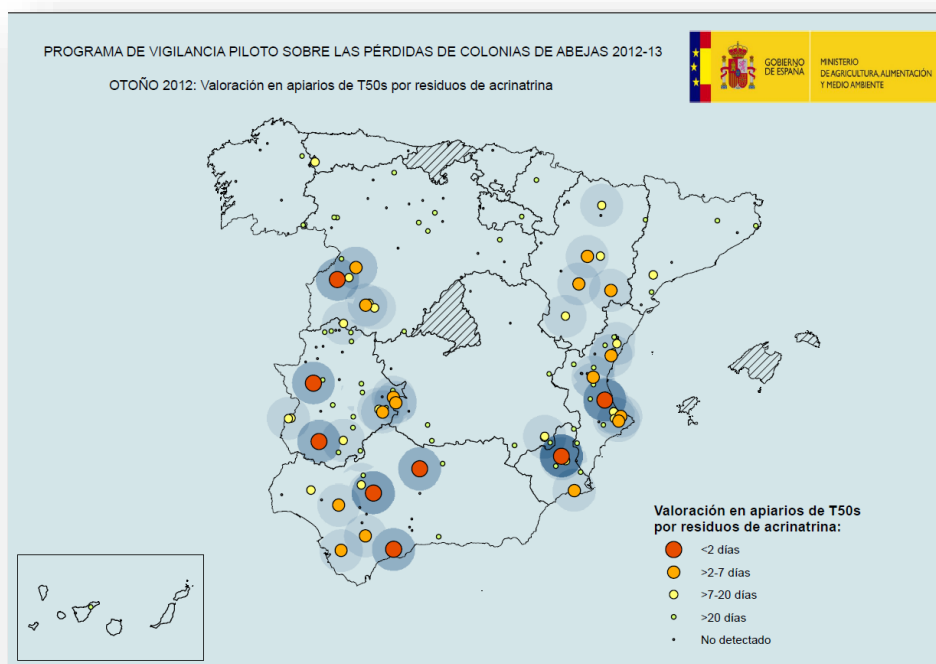
Se detectó en un 76,1% de los apiarios. Los menores T50s por contacto, y por tanto mayores concentraciones de Coumaphos, se hallaron en el este español (Comunidad Valenciana, Murcia, Castilla-La Mancha y norte de Aragón) (ver figura P8). Un 20,6 % de los apiarios presentó un T50c entre 2 y 7 días, y un 2,3% inferior a 2 días. A pesar de presentar un riesgo elevado de intoxicación aguda para las abejas (un 18% de probabilidad de alcanzar la DL50c), estadísticamente se ha observado que los incrementos en las concentraciones de Coumaphos están relacionados de forma inversamente proporcional con la mortalidad invernal ( $p < 0,05$ ) debido al efecto acaricida de este principio activo sobre *Varroa destructor*.



**Figura P9:** valoración por apiario de los T50s por contacto para el **Coumaphos**

### **Acrinathrina**

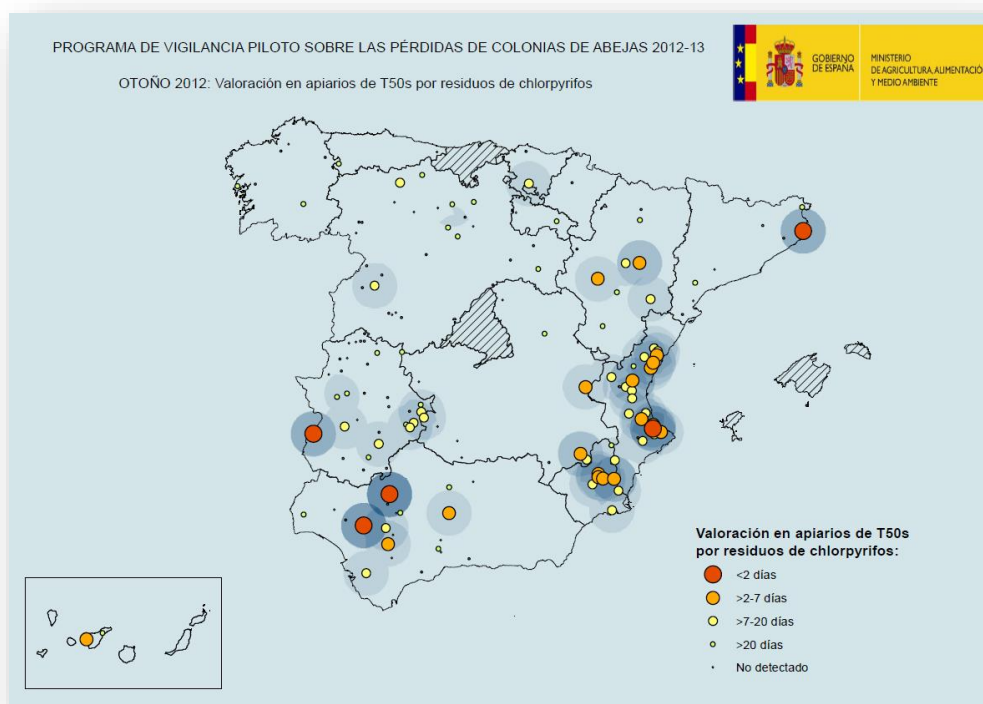
La frecuencia de su detección fue del 59,1% en los apiarios analizados en otoño, localizándose los apiarios con un mayor riesgo de toxicidad acumulada (T50c) en el sudoeste peninsular (Extremadura, oeste de Andalucía), suroeste de Castilla y León y este peninsular (Aragón, Murcia y Valencia,) (ver figura P10). En otoño un 8,1% de los apiarios presentó un T50c entre 2 y 7 días y un 4,6% un T50c inferior a 2 días.



**Figura P10:** valoración por apiario de los T50s por contacto para la **Acrinathrina**.

## Chlorpyrifos

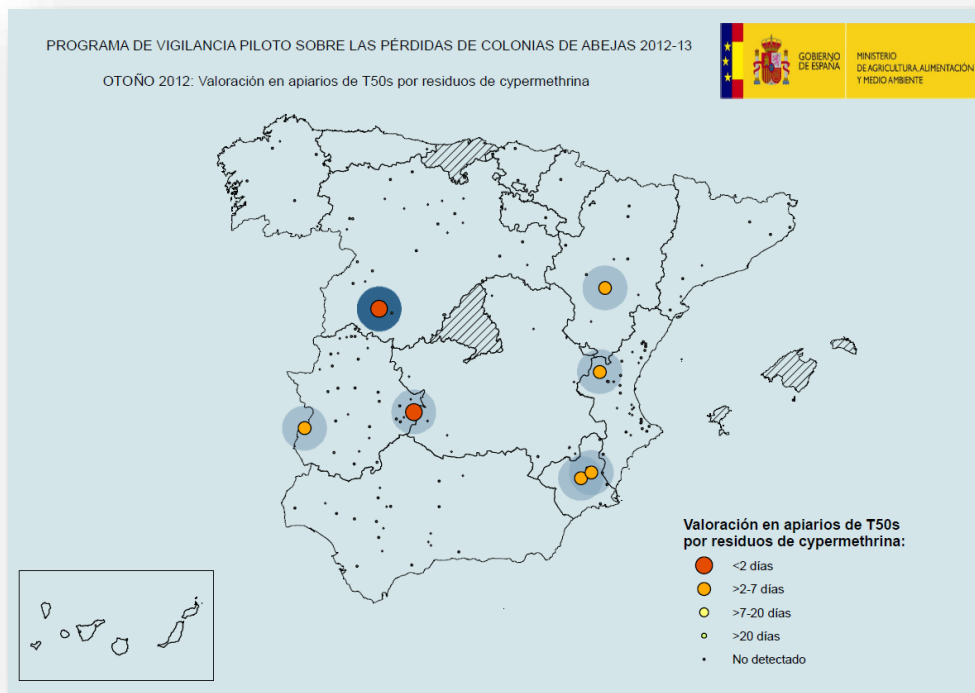
Su distribución fue muy amplia también, detectándose en un 50,6% de los apiarios, y su presencia está asociada a cultivos intensivos de frutas y hortalizas. Se observa que las concentraciones más peligrosas se detectan por en este (Comunidad Valenciana, Murcia y Aragón) y sudoeste (Extremadura, Salamanca y Oeste de Andalucía) peninsular (ver figura 10). Un 10,5% de los apiarios investigados mostró un T50c entre 2 y 7 días, mientras que en un 2,9% se halló un T50c inferior a 2 días.



**Figura P11:** valoración por apiario de los T50s por contacto para el Clorpyrifos.

## Cypermethrina

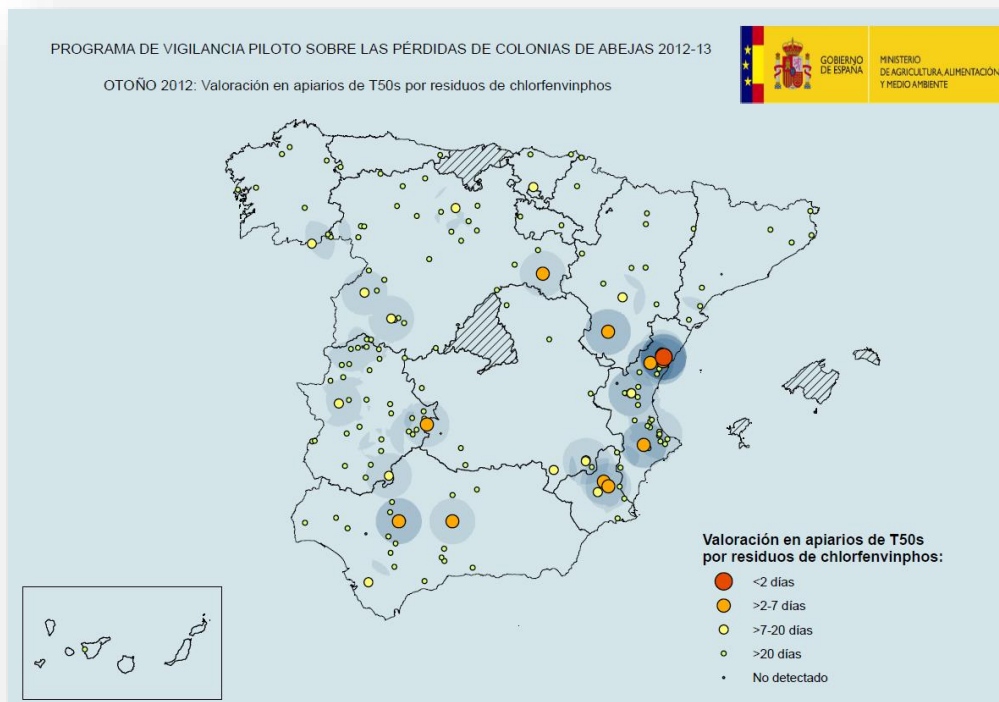
Su detección en España fue escasa durante el otoño, sólo en un 4% de los apiarios investigados, pero siempre a concentraciones que podían originar toxicidad para las abejas (T50 inferiores a 7 días), como puede apreciarse en la figura P12. El 2,9% de los apiarios presentó un T50 para este pesticida entre 2 y 7 días y un 1,1% inferior a 2 días.



**Figura P12:** valoración por apiario de los T50s por contacto para la para la **Cypermethrina**.

### Chlorfenvinphos

Su detección fue amplia, uniformemente distribuida por toda España en un 96,6% de los apiarios investigados. Un 5,7% de los apiarios presentó un T50c entre 2 y 7 días. En sólo un apiario se detectó un T50c inferior a 2 días (ver figura P13).



**Figura P13:** valoración por apiario de los T50s por contacto para el **Chlorfenvinphos**.

### 3.4.2.2. Verano de 2013

Los resultados de la evaluación de riesgo del muestreo sistemático indican que el 76,7% de los compuestos sometidos a la evaluación presentó un riesgo insignificante o no riesgo (no se detectaron).

#### Evaluación de riesgo por intoxicación aguda (%)

En exposiciones a la **concentración promedio** se detectaron siete insecticidas-acaricidas con un **riesgo elevado de intoxicación aguda** (*probabilidad superior al 5% de alcanzar la DL50c a la concentración promedio*) en España, número superior a los detectados en otoño, como se recoge en la Tabla P3, siendo por orden de riesgo: la Acrinathrina, el Ethofenprox, el Bifenthrin, el Chlorpyrifos, el Coumaphos, la Cypermethrina y el Chlorfenvinphos. Todos estos compuestos, salvo el Chlorfenvinphos y el Coumaphos, son pesticidas muy tóxicos para las abejas (ver anexo II), si bien, al igual que en otoño, el riesgo de que se alcance la DL50c es elevado (superior al 5% de probabilidad) por las elevadas concentraciones y frecuencia con las que se han detectado. El Ethofenprox se detectó sólo durante este periodo, con una frecuencia moderada, un 20,8% de los apiarios, resultando su riesgo por intoxicación aguda elevado debido a que a la concentración promedio puede originar un T50c por debajo de los dos días, dada su elevada toxicidad (ver anexo II). Lo mismo ocurre con la Cyperpermethrina, cuyo T50c promedio está por debajo de los dos días. Cuatro compuestos presentaron un **riesgo moderado de intoxicación aguda** (*probabilidad entre el 1 y el 5% de alcanzar la DL50c a la concentración promedio*): el Tau-Fluvalinato, el Dimethoato, el Pyridaben y el Pirimiphos-metil. Cabe destacar que en el riesgo calculado para el Tau-fluvalinato pesó especialmente su frecuencia de detección.

En exposiciones a la **concentración máxima** sólo la Acrinathrina presentó un riesgo elevado de toxicidad aguda a nivel nacional. Ethofenprox, Bifenthrin y Cypermethrina presentaron un riesgo moderado y el resto riesgo leves.

#### Evaluación de riesgo por toxicidad acumulada (T50 por contacto)

Para las exposiciones a la **concentración promedio** sólo el **Bifenthrin** y la **Cypermethrina** mostraron un T50c por debajo de los 2 días. La Acrinathrina, el Etufenprox y el Chlorpyrifos presentaron un T50c, entre 2 y 7 días.

En exposiciones a **concentraciones máximas** el riesgo por toxicidad crónica resultó muy peligroso (T50c en menos de 2 días) para la mayoría de pesticidas que presentaron un riesgo superior al 1%,. Dentro de esta categoría sólo el Tau-fluvalinato y el Pirimiphos-methyl presentaron un T50c entre 2 y 5 días.

VERANO 2013			Riesgo de intoxicación aguda (% probabilidad)		Riesgo por toxicidad acumulada T 50 contacto (días)		
PESTICIDA	USO AGRÍCOLA	AUTORIZACIÓN UE	DL50 (µg/abeja)	Concentración Promedio	Concentración Máxima	Concentración Promedio	Concentración Máxima
Acrinathrin (1)	I-A	SI	0,17	23,592** 10,751**	12,848** 2,038*	4,215* 9,249	0,087** 0,549**
Ethofenprox	I	Sí	0,015	18,860**	1,357*	2,217*	0,826**
Bifenthrin	I-A	Sí	0,015	15,961**	3,386*	1,416**	0,331**
Chlorpyrifos	I	Sí	0,072	15,144**	0,890	5,894*	1,258**
Coumaphos	I-A	NO	20	9,197**	0,626	17,937	1,788**
Cypermethrin	I-A	Sí	0,034	8,589**	4,797*	1,842**	0,233**
Chlorfenvinphos	I-A	NO	4,1	5,955**	0,729	29,601	1,536**
Fluvalinate-tau	I-A	Sí	8,7	2,526*	0,411	73,820	2,723*
Dimethoate	I	Sí	0,12	2,516*	0,704	5,389*	1,591**
Pyridaben	I	Sí	0,053	1,499*	1,125*	2,262*	0,996**
Pirimiphos-methyl	I	Sí	0,27	1,377*	0,415	14,769	2,700*
Imidacloprid	I	NO	0,061	0,478	0,165	11,821	6,778*
Permethrin	I	NO	0,063	0,463	0,132	12,197	8,510
Dicofol	A	NO	19	0,298	0,181	83,546	6,180*
Spinosad	I	Sí	0,003	0,264	0,187	8,571	6,000*
Phenthoate	I	NO	0,31	0,263	0,065	25,821	17,280
Quinalphos	I	NO	0,44	0,238	0,236	4,754*	4,754*
Chlorpyrifos Methyl	I	Sí	0,28	0,203	0,080	39,053	13,937
Disulfoton	I	NO	3,7	0,136	0,077	16,646	14,474
Fenitrothion	I	NO	0,52	0,106	0,094	32,050	11,950
Phosmet	I	Sí	0,62	0,077	0,027	73,801	41,218
Malathion	I-A	Sí	0,47	0,064	0,027	122,827	41,228
Diazinon	I-A	NO	0,38	0,054	0,012	186,769	92,683
Amitraz (DMF+DMA)	A	NO	50	0,041	0,009	502,010	128,667
Acetamiprid	I	Sí	7,9	0,036	0,009	476,593	131,667
Methamidophos	I-A	NO	0,97	0,031	0,011	144,817	99,102
Methiocarb	B	Sí	0,29	0,019	0,019	58,000	58,000
Indoxacarb	I	Sí	0,59	0,015	0,008	231,584	142,340
Carbendazim	F	NO	50	0,015	0,005	933,269	242,834
Endosulfan Alpha	I-A	NO	6,3	0,010	0,005	338,373	204,950

**Tabla P3:** riesgo de intoxicación aguda en verano por pesticidas (% de probabilidad) y toxicidad acumulada (tiempo estimada en alcanzar la DL50 por contacto con 1 gr con panal de polen para las abejas durante 2 días a exposiciones promedio y máximas).

-\*\* Riesgo elevado de intoxicación: cuando la estimación del riesgo es superior a un 5% de probabilidad, correspondiendo normalmente a un T50c por debajo de 2 días.

-\* Riesgo moderado de intoxicación: cuando la estimación del riesgo se sitúa entre el 1 y el 5% de probabilidad, correspondiendo normalmente a T50c entre 2 y 7 días.

*-Riesgo leve de intoxicación: cuando la estimación del riesgo se sitúa por debajo del 1% de probabilidad, correspondiéndose normalmente a un T50c superior a 7 días (hasta 30, 60 o más días), lo que cubre la vida media de las abejas pecoreadoras en verano y la mayor parte de la vida de las abejas de invierno.*

*(1) se ha eliminado del tratamiento a un apiario por desviarse excesivamente de la media de concentración hallada en otros apiarios*

### **Distribución geográfica del riesgo acumulado de los pesticidas con un riesgo superior al 5%**

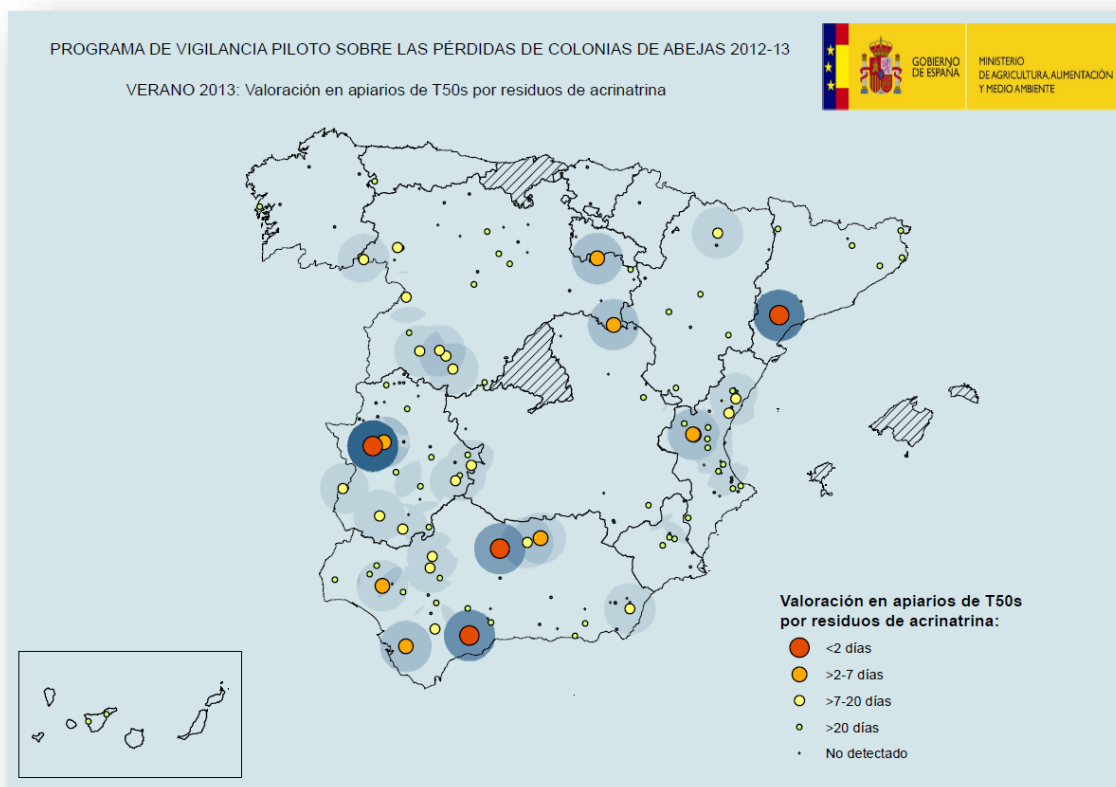
En las figuras P14, P15, P16, P17, P18, P19 y P20 se muestra la **distribución de apiarios en España en función del riesgo por toxicidad crónica detectado (T50 por contacto)** para aquellos pesticidas para los que se ha deducido un riesgo nacional elevado de intoxicación aguda (>5%) en verano partiendo de una dosis diaria de contacto de 0,001 kg de panal. Valores inferiores a 2 días indican exposiciones a concentraciones elevadas de residuos y un riesgo elevado de mortalidad para las abejas.

#### **Acrinathrina**

Es el pesticida que mayor probabilidad de riesgo por intoxicación aguda presentó en verano, incrementándose con respecto a la registrada en otoño de un 15,3 a un 23,4%. Aunque en el mapa de distribución se observa que se detectó con una menor frecuencia, en un 49,4% de los apiarios (ver figura P14), la *concentración promedio y máxima* hallada en verano fue 2 y 20 veces superior a la del otoño debido a que en un apiario se detectó 1.950,2 µg/kg, desviándose mucho del resto de la media. Si eliminamos a este apiario, el riesgo por intoxicación aguda disminuye un poco al 10,8%.

Las mayores concentraciones de Acrinathrina y menores T50s por contacto se localizan de nuevo en el sudoeste peninsular (Extremadura, oeste de Andalucía), así como en algún apiario del este de Castilla y León, Cataluña y Valencia. En verano un 4,4 % de los apiarios analizados presentó un T50c entre 2 y 7 días y un 2,25 % inferior a 2 días.

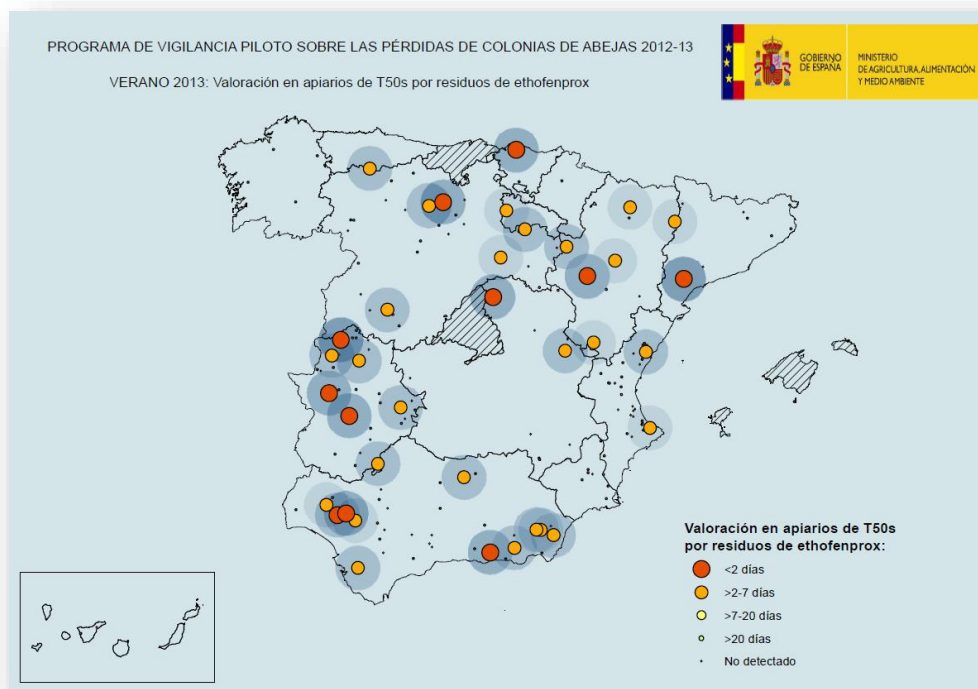




**Figura P14:** valoración por apiario de los T50s por contacto para la Acrinathrina.

### Ethofenprox

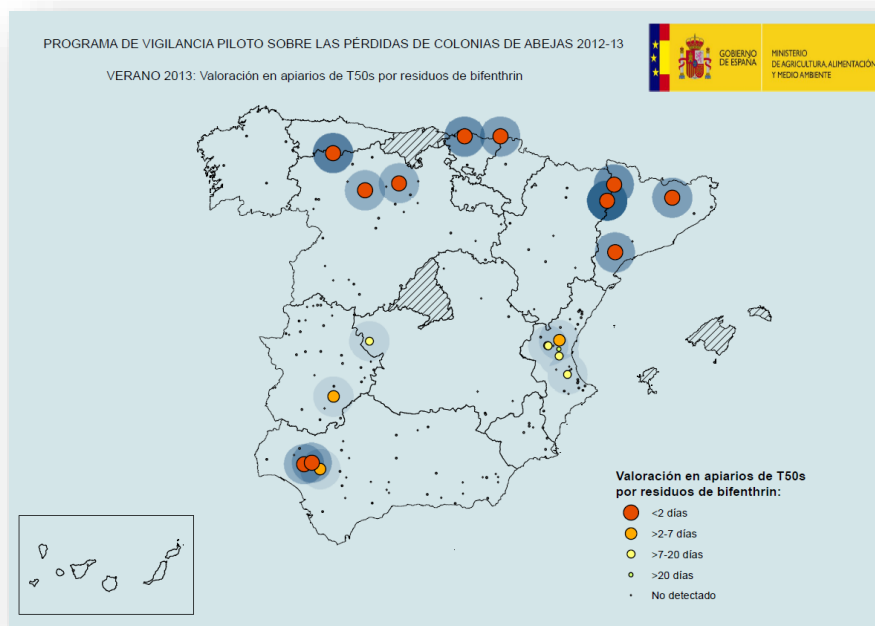
No se detectó en el otoño pero se halló de forma amplia en verano en un 25,7% de los apiarios analizados, principalmente en el suroeste peninsular (Extremadura y Andalucía) y noreste (este de Castilla y León, La Rioja, País Vasco, Aragón y Cataluña), presentando un riesgo nacional muy elevado de intoxicación aguda (18,9%). Se ha detectado a concentraciones muy pequeñas, sin embargo debido a que su DL50c es extremadamente reducida (0,015 µg/abeja), el 100% de los apiarios positivos presentó un riesgo de intoxicación aguda. Así, un 17,4% de los apiarios analizados mostró un T50c resultante entre 2 y 7 días y un 8,33% inferior a 2 días.



**Figura P15:** valoración por apiario de los T50s por contacto para el Ethofenprox.

### Bifenthrin

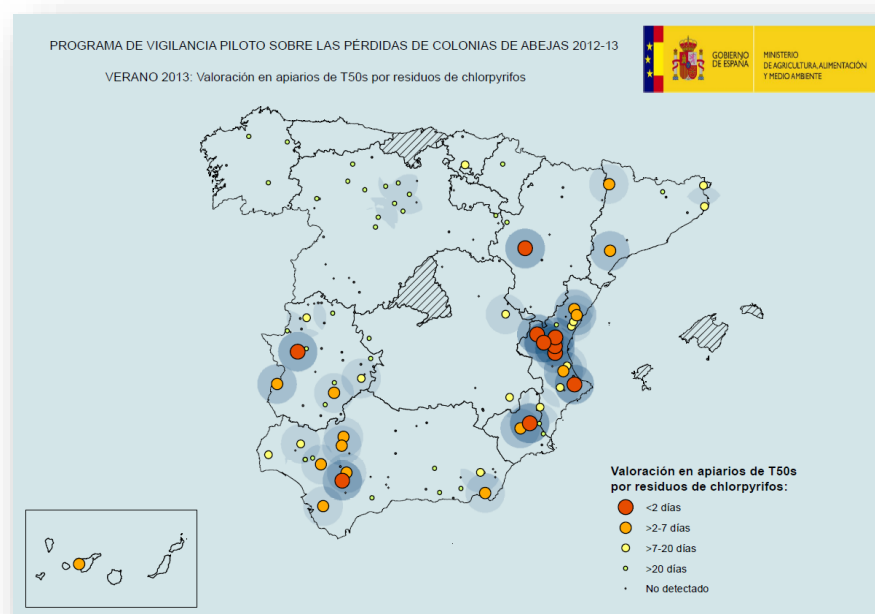
En verano su riesgo resultó más elevado que en otoño, pasando de un 4 a un 16%, detectándose en un 8,5% de los apiarios en el norte y este peninsular con algún caso puntual en el oeste de Andalucía y sur de Extremadura. Casi siempre se detecta a concentraciones peligrosas, un 1,7 % de los apiarios analizados presentó T50s por contacto entre 2 y 7 días y un 6,2 % inferior a 2 días.



**Figura P16:** valoración por apiario de los T50s por contacto para el Bifenthrin.

### Chlorpyrifos

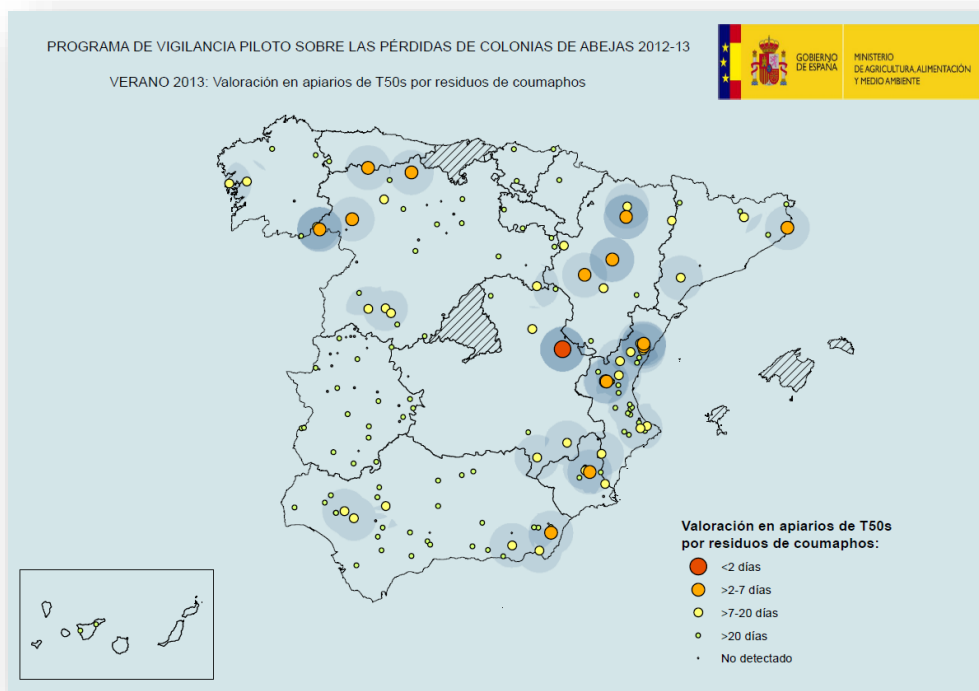
No se ha detectado una gran variación en el riesgo de intoxicación aguda con respecto del otoño (de un 14,4 a un 15,1%), apreciándose una distribución elevada, muy similar a la del otoño (en el 47,5% de los apiarios). Los T50s por contacto más peligrosos detectados fueron en el este peninsular, con una especial incidencia en la Comunidad Valenciana y suroeste peninsular (Extremadura y oeste de Andalucía). Un 9 % de los apiarios investigados presentó un T50 por contacto entre 2 y 7 días y un 5,7% por debajo de 2 días.



**Figura P17:** valoración por apiario de los T50s por contacto para el Chlorpyrifos.

## Coumaphos

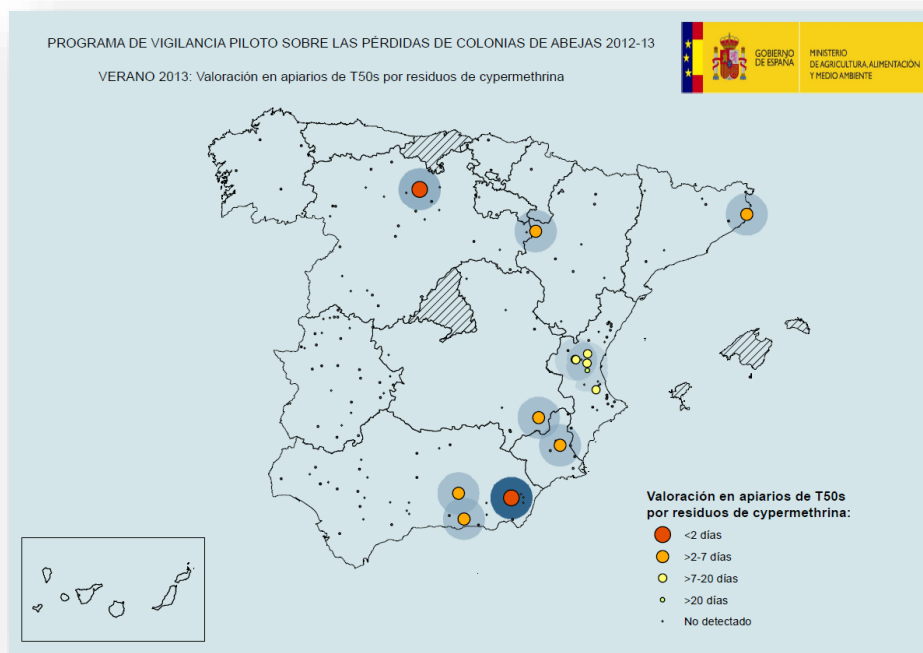
Se aprecia una bajada del riesgo de intoxicación aguda en el verano, del 18 al 9,2%. Su detección continúa siendo amplia, en el 71,9 % de los apiarios. Un 7,9 % de los apiarios analizados presentó un T50c entre 2 y 7 días y sólo un 0,6% inferior a 2 días. Las concentraciones más peligrosas se detectaron también en el este peninsular y noreste de Castilla y León.



**Figura P18:** valoración por apiario de los T50s por contacto para el Coumaphos.

## Cypermethrina

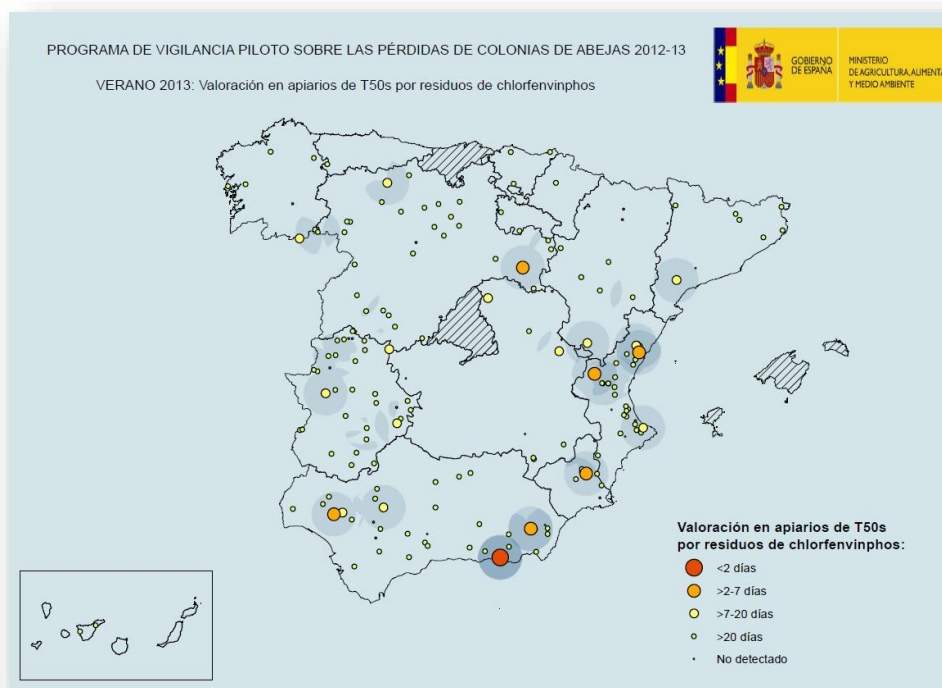
A pesar de que se ha detectado con escasa frecuencia en verano, en un 7,9% de los apiarios analizados, su riesgo elevado de intoxicación aguda radica en que las concentraciones a las que se ha detectado han sido peligrosas, no habiendo diferencia entre el riesgo detectado en otoño y en verano (8,6% de riesgo de intoxicación). Así, un 3,4% de apiarios analizados presentó un T50 entre 2 y 7 días y un 1,3% por debajo de 2 días.



**Figura P19:** valoración por apiario de los T50s por contacto para la **Cypermethrina**.

### Chlorfenvinphos

El riesgo para el **Chlorfenvinphos** disminuyó en verano (de 8,8 a un 6%), pero continuó resultando superior al 5% debido a su elevada frecuencia de detección (86,7% de los apiarios analizados). Un 6,4% de los apiarios investigados presentaron T50s por contacto entre 2 y 7 días y sólo un 0,6% por debajo de 2 días.



**Figura P20:** valoración por apiario de los T50s por contacto para el **Chlorfenvinphos**

### 3.4.2.3. Análisis de la Toxicidad acumulada por apiario

Para cada apiario investigado, independientemente del tipo de pesticida detectado, se han establecido tres niveles de riesgo de toxicidad acumulada en función del menor T50 por contacto calculado para cada pesticida analizado.

- Riesgo grave de intoxicación: cuando en un apiario la T50 por contacto con panal de al menos uno de los pesticidas analizados es inferior a 2 días.
- Riesgo moderado de intoxicación: cuando en un apiario la T50 por contacto con panal de al menos uno de los pesticidas analizados es entre 2 y 7 días. Riesgo leve/muy leve de intoxicación: cuando en un apiario la T50 por contacto con panal todos los pesticidas analizados es superior a 7 días.

En la tabla P4 se recoge la distribución de apiarios en función de este criterio, así como su relación con mortalidades invernales y primaverales superiores al 30% y vigor (primavera y verano) registrados para cada caso.

% APIARIOS	T50 contacto	Otoño 2012	>30% mortalidad invernal	Vigor SP13 (0-5)	Verano 2013	>30% mortalidad primaveral	Vigor SU13 (0-5)
riesgo grave	<2 días	14,6%	12,0%	2,9	18,1%	3,1%	3,16
riesgo moderado	2-7 días	35,7%	6,9%	2,9	28,2%	10,0%	3,14
riesgo leve/muy leve	> 7 días	51,5%	9,1%	3,2	53,7%	3,2%	3,45

**Tabla P4:** frecuencia de detección de apiarios en función de su riesgo por toxicidad acumulada, mortalidad y vigor invernal y primaveral

Los pesticidas para los que la evaluación de la toxicidad acumulada por apiario dio como resultado en algún momento un **riesgo elevado de toxicidad acumulada** (T50c inferior a 2 días) fueron: la Acrinathrina, el Bifenthrin, el Chlorfenvinphos, el Chlorpyrifos, el Coumaphos, la Cypermethrina, el Dimethoate, el Ethofenprox, el Pyridaben y el Spinosad.

Los pesticidas para los que la evaluación de la toxicidad acumulada por apiario dio como resultado en algún momento un **riesgo moderado de toxicidad acumulada** (T50c entre 2 y 7 días) fueron: el Dicofol, el Fipronil, el Fluvalinate-Tau, el Imidacloprid, el Phenthoate, la Permethrina, el Pirimiphos-methyl y el Quinalphos.

Además en la tabla P5 se expone una comparativa relativa a la frecuencia de detección (%) y el porcentaje de apiarios cuya valoración T50c fue por debajo de 7 días para aquellos pesticidas que presentaron un riesgo de intoxicación aguda superior al 5% en otoño y verano. Para el Coumaphos y la Acrinathrina la frecuencia de apiarios con un T50c inferior a 7 días fue superior en el otoño, a diferencia de lo que ocurre con el Ethofenprox y el Bifenthrin que fue superior en verano. Para el Clorfenvinphos y la Cypermethrina fue similar en otoño y en verano.

APIARIOS	OTOÑO				VERANO			
	Frecuencia detección (%)	T50 < 2 días (%)	T50 entre 2 y 7 días (%)	T50 < 7 días (%)	Frecuencia detección (%)	T50 < 2 días (%)	T50 entre 2 y 7 días (%)	T50 < 7 días (%)
Coumaphos	76,1	2,3	20,6	<b>22,9</b>	71,9	2,25	4,55	6,8
Acrinathrina	59,1	4,6	8,1	<b>12,7</b>	49,44	2,25	4,55	6,8
Clorpyrifos	50,6	2,9	10,5	<b>13,4</b>	47,5	5,7	9	<b>14,7</b>
Cypermethrina	4	1,14	2,86	<b>4</b>	7,9	1,13	3,39	<b>4,52</b>
Chlorfenvinphos	96,6	0,6	5,7	<b>6,3</b>	86,7	0,6	6,4	<b>7</b>
Biphenthrin	6,25	1,14	4	5,14	8,5	6,21	1,7	<b>7,91</b>
Etofenprox	0	0	0	0	25,7	8,33	17,37	<b>25,7</b>

**Tabla P5:** frecuencia de detección (%) y % de apiarios con valoración T50c por debajo de 7 días de pesticidas con un riesgo superior al 5% en otoño y verano

#### 3.4.2.4. Valoración estadística

En relación a la influencia de la presencia de pesticidas sobre la mortalidad invernal y primaveral de las colonias, se ha encontrado que la mortalidad invernal de los apiarios guarda una correlación negativa significativa tanto con la **concentración total de pesticidas** como con la **concentración total de acaricidas** utilizados en el control de la varroa ( $p < 0,05$ ), es decir, a medida que aumenta su concentración se observa una menor mortalidad invernal. Esta misma relación se ha hallado para las concentraciones de **Coumaphos** otoñales ( $p < 0,05$ ). Esto es lógico si tenemos en cuenta que la mayoría de los pesticidas que se han detectado en panal de polen son acaricidas que se utilizan para el control de la varroosis, cuyas tasas de infestación otoñal, como ya se ha visto, guardan una correlación positiva con la mortalidad invernal ( $p < 0,05$ ).

Sin embargo se ha demostrado que el aumento de la concentración total de **pesticidas muy tóxicos para las abejas** detectada en la visita de verano guarda una correlación positiva con la mortalidad primaveral en los apiarios ( $p < 0,05$ ). Esta misma relación se ha establecido para las concentraciones de **Acrinathrina** y **Etopenprox** para la visita de verano y el cómputo total de la campaña 2012-2013. En relación al neonicotinoide **Imidacloprid** esta correlación positiva ( $p < 0,05$ ) se ha detectado para el cómputo anual (otoño y primavera).

El **Orthophenyl fenol** es un fungicida aprobado cuya toxicidad sobre las abejas no ha sido evaluada. Entre otros usos, se utiliza para el tratamiento post cosecha de cítricos, desinfectantes de establecimientos ganaderos o como tratamiento fungicida de la madera. Los apiarios que presentaron mayores concentraciones de esta sustancia, tuvieron una mortalidad primaveral y anual significativamente inferior ( $p < 0,05$ ).

En relación a la **toxicidad acumulada** calculada para cada apiario (**T50c**), no se pudo establecer ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la mortalidad (invernal y primaveral) de apiarios que presentaban un T50c inferior a 7 días y la de los que presentaban un T50c superior a 7 días en el muestreo de otoño y de verano. Sin embargo, esta diferencia sí se pudo establecer con el vigor ( $p < 0,05$ ). La presencia de pesticidas a niveles de riesgo de toxicidad ( $T50 < 7$  días) no implica generalmente una mortalidad completa de la colonia de abejas, pero sí la disminución del vigor de las colonias de abejas, debido a la reducción de población de abejas que experimentan.

### 3.4.3. EVOLUCIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE PESTICIDAS DESDE EL AÑO 2003 EN ESPAÑA

En España se han realizado en los últimos años varios estudios sobre la frecuencia y concentración de residuos de pesticidas en polen ensilado y cera de abejas (Orantes-Bermejo F. J, et al 2010, Bernal J et al, 2010), pero nunca se ha llevado a cabo una evaluación de riesgo en relación a su toxicidad para las abejas. En la tabla P6 se muestra una comparativa de las concentraciones de los principales residuos de pesticidas hallados y la evolución de su concentración al cabo de los años. Hay que tener en cuenta para su interpretación que la concentración de residuos pesticidas en polen ensilado es habitualmente inferior a la concentración de residuos en cera y que la matriz utilizada en nuestro estudio es una mezcla de cera de abejas (80%) y polen ensilado (20%).

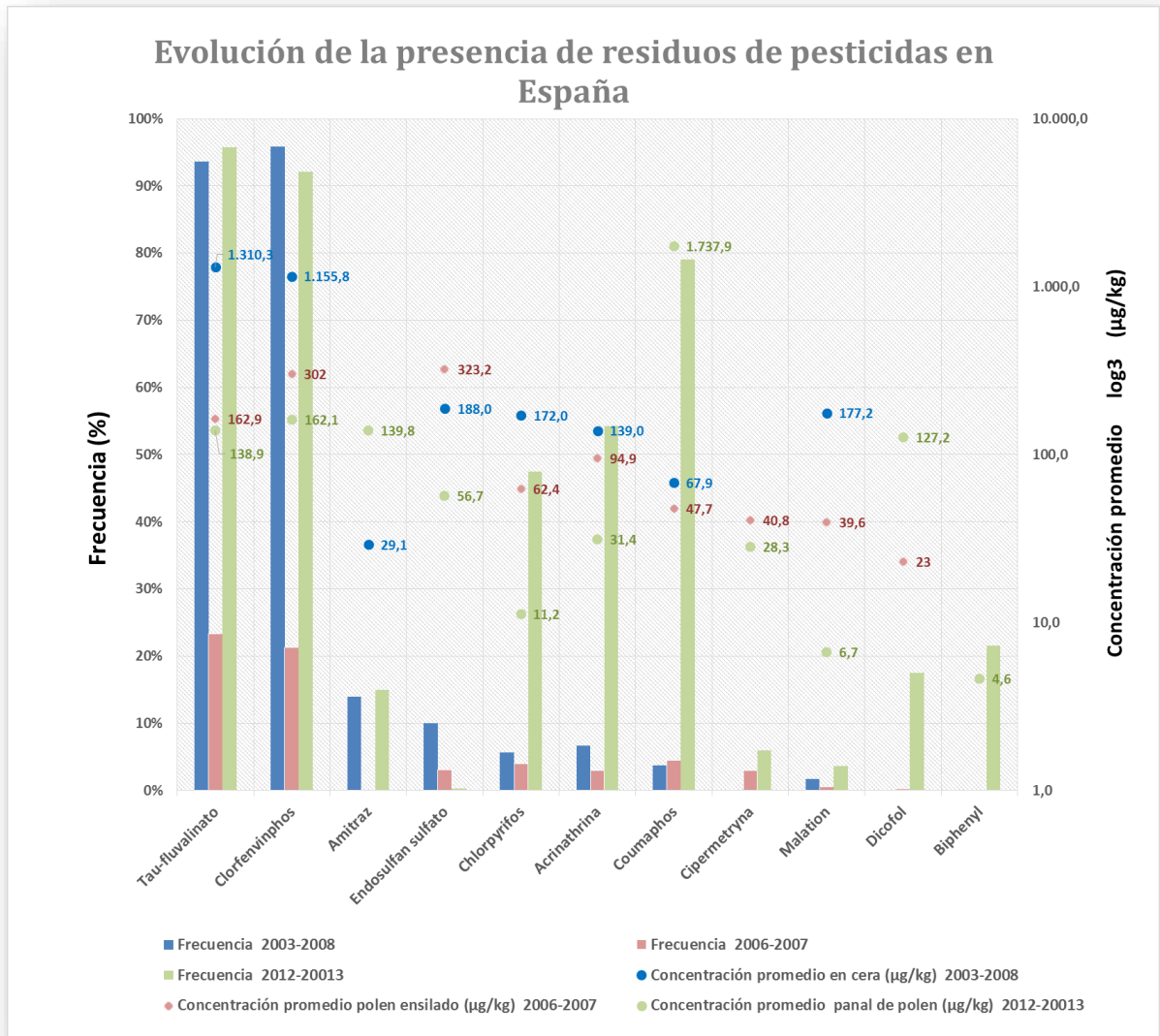
Pesticida	Cera (2003/08)		Polen ensilado (2006/07)		Panal de polen (2012/13)	
	Frecuencia	Concentración promedio (µg/kg)	Frecuencia	Concentración promedio (µg/kg)	Frecuencia	Concentración promedio (µg/kg)
<b>Tau-fluvalinato</b>	93,60%	1.310,30	23,30%	162,9	95,78%	138,85
<b>Clorfenvinphos</b>	95,90%	1.155,80	21,30%	302	92,12%	162,10
<b>Amitraz</b>	14,00%	29,1	na	na	15,00%	139,79
<b>Endosulfan sulfato</b>	10,00%	188	3,10%	323,2	0,30%	56,70
<b>Chlorpyrifos</b>	5,60%	172	4,00%	62,4	47,50%	11,24
<b>Acrinathrina</b>	6,70%	139	3,00%	94,9	54,26%	31,42
<b>Coumaphos</b>	3,70%	67,9	4,50%	47,7	79,08%	1.737,90
<b>Cipermetryna</b>	na	na	3,00%	40,8	5,92%	28,32
<b>Malation</b>	1,70%	177,2	0,50%	39,6	3,67%	6,66
<b>Dicofol</b>	na	na	0,20%	23	17,54%	127,22
<b>Biphenyl</b>	na	na	na	na	21,50%	4,64
<b>Etofenprox</b>	na	na	na	na	10,39%	6,77

**Tabla P6:** evolución de la frecuencia y concentración promedio de residuos de pesticidas en los últimos años en España en cera, polen ensilado y panal de polen.

La **frecuencia de detección** del **Coumaphos**, la **Acrinathrina**, el **Chlorpyrifos** y el **Dicofol** en los últimos diez años se ha elevado 21 veces para el Coumaphos, 8 veces para la Acrinathrina, Chlorpyrifos y 88 veces para el Dicofol. En el caso del Coumaphos y Dicofol además se han visto aumentados sus niveles de concentración promedio en 26 y 6 veces respectivamente. Para el Coumaphos este incremento se debe a la reciente autorización de Checkmite® para el control de la varroosis. A pesar de que el Chlorpyrifos y la Acrinathrina se detectan con mayor frecuencia, los niveles de concentración promedio han disminuido considerablemente en 15 y 4 veces respectivamente. En relación al Tau-fluvalinato y el Clorfenvinphos, aunque su



frecuencia de detección no ha variado significativamente sí lo han hecho sus concentraciones promedio, entre 9 y 7 veces inferior respectivamente, lo que puede estar indicando un menor uso como acaricida en el control de varroosis, apreciándose de nuevo su gran capacidad de persistencia en la cera (figura P21).



**Figura P21:** evolución de la frecuencia y concentración promedio de residuos de pesticidas en los últimos años en España en cera, polen ensilado y panel de polen

### 3.4.4. COMPARATIVA DE ESPAÑA CON LA SITUACIÓN EN OTROS PAÍSES SOBRE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE PESTICIDAS EN CERA Y POLEN

El estudio llevado a cabo por Sanchez Bayo, F. et al, 2014, ha evaluado el riesgo por intoxicación que múltiples pesticidas suponen para diversos países del mundo (USA, Francia, España, India entre otros), relacionando su frecuencia, concentración y toxicidad para las abejas a partir de estudios realizados en varios años en los que se determinaban la presencia y concentración de residuos de pesticidas en cera, miel y polen ensilado. Seguir este modelo nos ha permitido comparar los resultados nacionales con el conjunto de países evaluados. Así, en la tabla P7 se recoge el riesgo de aquellos pesticidas que han presentado en ambos estudios un riesgo superior al 1% en función de sus concentraciones promedio y máximas halladas en España (otoño 2012-verano 2013) en panal de polen, y en el conjunto de países evaluados por Sanchez Bayo F. et al (2014) en el polen.

Pesticida	Uso	Riesgo concentraciones promedio			Riesgo concentraciones máximas		
		ESP otoño	ESP verano	Mundial	ESP otoño	ESP verano	Mundial
Coumaphos	I-A	17,97**	9,2**	0,41	1,06*	0,626	0,28
Acrinathrin	A	15,64**	23,59**	3,44*	12,84**	2	1,21*
Chlorpyrifos	I	14,42**	15,14**	12,92**	1,39*	0,89	10,33**
Cypermethrin	I-A	8,93**	8,59**	2,4*	6,21**	4,8*	1,75*
Chlorfenvinphos	I-A	8,75**	5,96**	0,22	1,12*	0,73	0,05
Ethofenprox	I	no detectado	18,86**	no evaluado	no detectado	1,36*	no evaluado
Bifenthrin	I-A	4,05*	0,74	<0,01	16,96**	3,39*	<0,01
Tau-fluvalinato	I-A	3,63*	0,33	0,92	2,53*	0,41	0,28
Spinosad	I	3,38*	0,65	no evaluado	0,26	0,19	no evaluado
Dimethoate	I	0,05	0,02	<0,01	2,51*	0,7	<0,01
Pyridaben	I	1,42*	0,56	1	1,5*	1,13*	0,29
Pirimphos-methyl	I	0,2	0,17		1,38*	0,42	
Permethrin	I	1,23*	0,46	0,6	0,18	0,13	1,9
Thiamethoxam	I	no detectado	no detectado	29,58**	no detectado	no detectado	3,66*
Phosmet	I	0,04	0,08	14,56**	0,03	0,03	23,89**
Imidacloprid	I	0,55	0,478	10,34**	0,127	0,165	16**
Cyhalothrin+propiconazole	I+F	no evaluado y no autorizado en la UE	no evaluado y no autorizado en la UE	8,79**	no evaluado y no autorizado en la UE	no evaluado y no autorizado en la UE	5,9**
Cyhalothrin+myclobutanil	I+F	no evaluado y no autorizado en la UE	no evaluado y no autorizado en la UE	7,86**	no evaluado y no autorizado en la UE	no evaluado y no autorizado en la UE	5,52**
Cyhalothrin+penconazole	I+F	no evaluado y no autorizado en la UE	no evaluado y no autorizado en la UE	7,23**	no evaluado y no autorizado en la UE	no evaluado y no autorizado en la UE	3,68**
Clothianidina	I	no detectado	no detectado	5,28**	no detectado	no detectado	0,99
Thiacloprid	I	no detectado	no detectado	4,21*	no detectado	no detectado	7,43**

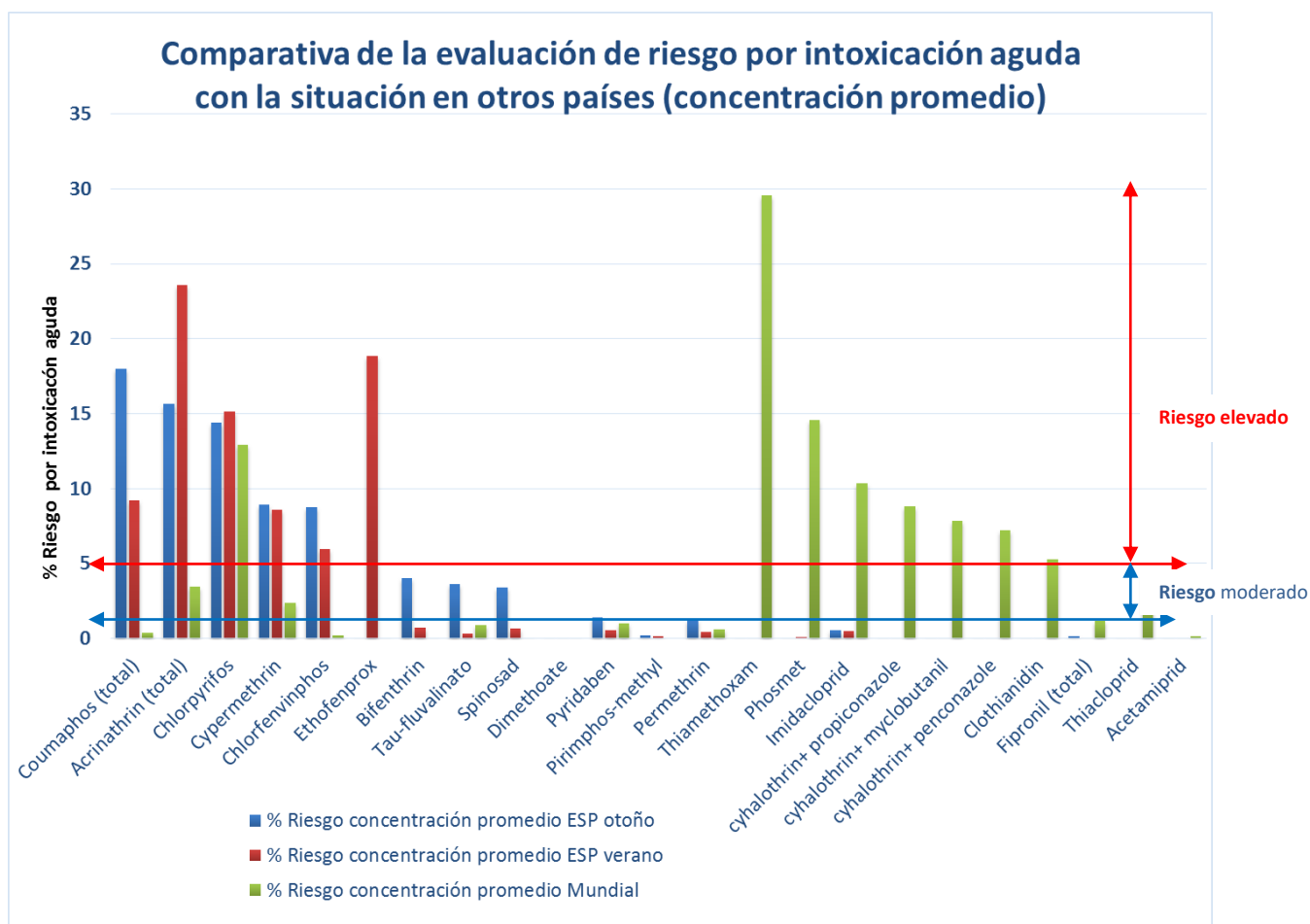
<b>Fipronil (total)</b>	l	0,174	0	1,19*	0,174	0	2,49
<b>Acetamiprid</b>	l	<0,01	<0,01	0,14	0,04	<0,01	0,85

**Tabla P7:** comparación de residuos de pesticidas en cera y polen entre los diferentes estudios nacionales e internacionales.

\*\* riesgo de intoxicación aguda elevado

\* riesgo de intoxicación aguda moderado

La evaluación de riesgo muestra que la situación en España en relación a la presencia de residuos de neonicotinoides (Imidacloprid, Tiametoxam, Clotianidina) y Fipronil no parece preocupante, con riesgos leves o no detectados, si la comparamos con la situación que hay en otros países más si tenemos en cuenta que en el año de realización del muestreo sistemático aún no se habían puesto en marcha las restricciones de uso que afectaban a estos principios activos, por lo que es previsible que en la actualidad su riesgo sea inferior. Sin embargo, el riesgo por intoxicación aguda de Coumaphos, Acrinathrina, Cypermetrina y Chlorfenvinphos es muy elevado en comparación con los hallados en otros países (Sanchez Bayo et al, 2014). Sólo el riesgo de intoxicación por Clorpyriphos es comparable al hallado en el conjunto de estos países



**Figura 22:** comparación de residuos de pesticidas en cera y polen entre los diferentes estudios nacionales e internacionales

### 3.5. INVESTIGACIÓN DE SOSPECHAS DE INTOXICACIÓN (2012-13, 2013-14, 2014-15)

Durante los tres años de vigilancia se han originado 47 sospechas de intoxicación por pesticidas, de las cuales sólo se confirmaron como intoxicaciones un 53%, detectándose el mayor número de casos en verano (ver tabla P8). La prevalencia media anual fue del 5%, no evidenciándose variaciones por campaña significativas. La evaluación de toxicidad demostró que en un 93% de los casos confirmados aparecían pesticidas a concentraciones que originaban T50s por contacto inferiores a dos días.

INTOXICACIONES	Otoño	Primavera	Verano	Total casos campaña	Prevalencia intoxicaciones campaña
2012-13	1	3	7	11	5,4%
2013-14	1	2	5	8	4,2%
2014-15	3	2	1	6	5,4%
<b>TOTAL</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>13</b>	<b>25</b>	<b>5,0%</b>

Tabla P8: prevalencia anual y número de casos de intoxicaciones confirmadas en otoño, primavera y verano.

Los pesticidas que en la evaluación de toxicidad originaron en algún momento un *T50s por contacto* inferior a 2 días, *T50s por contacto* entre 2 y 7 días y el número de apiarios en los que se ha detectado se recogen en la tabla P9. Como puede apreciarse, la mayoría de los pesticidas relacionados con las intoxicaciones dieron como resultado en la evaluación de riesgo un riesgo elevado de intoxicación aguda, superior al 5% (en rojo), o un riesgo moderado entre el 1-5% (en azul). La presencia del número residuos a concentraciones tóxicas ha variado entre 1 y 4 por muestra analizada.

El pesticida más involucrado en las intoxicaciones fue el **Chlorpyrifos**: en un 78,6% de los apiarios afectados presentó valores *T50 por contacto* inferiores a 7 días. La detección de intoxicaciones en las que han intervenido sustancias que han podido utilizarse en el control de *Varroa destructor* también es preocupante: **Coumaphos** y **Acrinathrina**, se han detectado a niveles tóxicos en el 64,3% y 42,9% de los de los apiarios intoxicados.

En relación a la presencia de **neonicotinoides**, sólo en un caso se ha detectado Imidacloprid en un apiario durante la campaña 2012-13 a un T50c entre 2 y 7 días, pesticida sometido a restricciones de uso por la normativa comunitaria. Sin embargo, para este apiario también se detectó Clorpyrifos, a una concentración muy tóxica (T50c <2 días) y Acrinathrina a una concentración de toxicidad moderada (T50c entre 2-7 días).

También se han detectado pesticidas no autorizados para uso agrícola como el Sulfotep, en dos apiarios, a concentraciones peligrosas.

Campaña	Pesticida T50c < 2 días	Nº apiarios	Pesticida T50c 2-7 días	Nº apiarios
2012-13	Chlorpyrifos**	4	Chlorpyrifos** Coumaphos** Acrinathrina** Bifenthrin** Dimethoate* Pirimiphos-methyl* Imidacloprid Clorphenvinphos**	5 4 3 2 2 2 1 1
2013-14	Dimethoate Chlorpyrifos** Ethofenprox** Sulfotep	2 2 1 1	Coumaphos** Dimethoate* *Ethofenprox** Sulfotep Bifenthrin**	2 1 1 1 1
2014-15	Acrinathrina** Spinosad* Coumaphos** Dimethoate* Permethrina	2 2 2 1 1	Acrinathrina** Coumaphos**	1 1

**Tabla P9:** pesticidas involucrados en las intoxicaciones confirmadas, que en la evaluación de toxicidad originaron un T50s por contacto inferior a dos días o entre 2 y 7 días y el número de apiarios en los que se ha detectado

\*\*Rojo: pesticida con riesgo elevado de intoxicación aguda (> 5%) en la evaluación de riesgo

\*Azul: pesticida con riesgo moderado de intoxicación aguda (1-5%) en la evaluación de riesgo

Fuera del programa de vigilancia, durante el periodo 2014-2015 se investigaron 8 sospechas de intoxicación en Murcia (5) y Cataluña (3), confirmándose la sospecha a partir de los resultados toxicológicos en 7 ocasiones. Los principales pesticidas involucrados en función de la evaluación de toxicidad fueron el Spinosad, detectado a concentraciones muy tóxicas en más de la mitad de los apiarios positivos, seguido de la Acrinathrina y el Imidacloprid. Al igual que en el Programa de vigilancia, también se han detectado intoxicaciones por el posible uso de pesticidas para el control de varroosis con Coumaphos y formulaciones artesanales a base de Acrinathrina (tabla P10):

Año	Pesticida T50c < 2 días	Nº apiarios	Pesticida T50c 2-7 días	Nº apiarios
2014 (2)	Diazinón Imidacloprid Coumaphos**	1 2 1	Chlorpyrifos**	1
2015 (6)	Acrinathrina** Spinosad*	2 4	Imidacloprid Coumaphos** Tau-fluvalinato** Dimetoatho	1 1 1 1

**Tabla P10:** pesticidas involucrados en las intoxicaciones confirmadas fuera del Programa de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas.

\*\*Rojo: pesticida con riesgo elevado de intoxicación aguda (>5%) en la evaluación de riesgo

\*Azul: pesticida con riesgo moderado de intoxicación aguda (1-5%) en la evaluación de riesgos

riesgos

## 4. DISCUSIÓN

El **Programa de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas** ha sido el primer programa europeo (EPILOBEE) y nacional que se ha llevado a cabo de forma armonizada en materia de sanidad apícola, lo que ha implicado un gran esfuerzo de coordinación, colaboración y participación de apicultores, inspectores veterinarios y administraciones públicas. A pesar de que el programa europeo finalizó en septiembre de 2014, España decidió darle continuidad de forma voluntaria y con financiación propia durante al menos dos años más, dada la relevancia que tiene el sector apícola en nuestro país, para poder realizar un seguimiento por un periodo más amplio que EPILOBEE con el objetivo de dilucidar y vigilar la evolución y tendencias de la mortalidad y de la prevalencia de las principales enfermedades que afectan a la salud de las abejas. Además, el programa español ha ampliado los objetivos de estudio de EPILOBEE al estudio sistemático en todas las colonias de la carga parasitaria por *Nosema spp* todos los otoños, del virus CBPV durante el verano de 2013 así como la vigilancia de residuos de pesticidas tanto de forma sistemática, durante el otoño de 2012 y verano de 2013, como sintomática a lo largo de todas las campañas, por considerarlos factores importantes que pueden incidir sobre la salud de las abejas.

### Evolución de la mortalidad

En España, la **mortalidad anual** ha variado durante los tres años de estudio, siendo la campaña 2012-13 y la campaña 2014-15, los periodos dónde mayores mortalidades se registraron (15,9 y 15,1% respectivamente). La **mortalidad invernal** fue siempre superior a la registrada en primavera, superando ligeramente el 10% de las colonias en la primera y tercera campaña, tasa a partir de la cual podría considerarse una mortalidad invernal por encima de lo normal (EPILOBEE, 2014). La **mortalidad primaveral** está relacionada de forma significativa con la mortalidad invernal, según los primeros resultados estadísticos de EPILOBEE (ESFA, marzo 2016), aquellos apiarios que presentaron una mayor mortalidad invernal también tuvieron una mayor mortalidad primaveral.

### Enfermedades objeto de estudio

En relación a la prevalencia de las distintas enfermedades objeto de estudio, **Varroa destructor** ha sido uno de los patógenos más prevalentes durante el otoño con una prevalencia promedio del 76,6% en apiarios y del 41,5% colonias, así como la **varroosis clínica**, con una prevalencia anual máxima del 23,7% durante la campaña 2013-14. Es preocupante que las **prevalencias otoñales de infestación por Varroa spp** se hayan incrementado a lo largo de las tres campañas, así como los niveles de infestación moderados a muy graves tanto en colonias (de 13,9 a 17,7%) como en apiarios (de 16,7 a 23,3%), dado que estos niveles de infestación comprometen gravemente la supervivencia invernal de las colonias de abejas. Esto podría deberse a **una disminución de la eficacia en el control sobre Varroa destructor**, condicionado por la reducida disponibilidad de principios activos eficaces, el desarrollo de resistencias a acaricidas por el parásito y el uso incorrecto de los tratamientos, que sólo se aplicaron de forma adecuada en un 49,4% de los apiarios en otoño. Además se ha detectado un uso muy frecuente de tratamientos ilegales (otoño de 2012 y verano 2103), especialmente en verano,

cuando no existe la obligatoriedad de llevar a cabo un tratamiento. El **grado de profesionalidad del apicultor** es un factor de riesgo asociado al control de *Varroa spp*, registrándose tasas de infestación otoñales significativamente superiores en aquellos apiarios de apicultores que contaban con menos de 150 colonias de abejas (a tiempo parcial, aficionados), especialmente concentrados en la mitad norte peninsular.

La **prevalencia media de *Nosema spp*** en apiarios (75,1%) y en colonias (30,3%) también ha sido elevada durante los tres otoños. A lo largo las tres campañas se ha ido incrementando su detección del 75,9 al 77,4% en apiarios y del 26,1 al 36,6% en colonias. La prevalencia de apiarios parasitados de forma moderada a grave se situó en un promedio del 22,7% sin observarse un incremento lineal a lo largo de los años, como sucede para el caso de *Varroa destructor*. Se ha confirmado el desplazamiento de *Nosema apis* por *Nosema ceranae*. Se ha producido un incremento en la detección clínica anual de **nosemosis** a lo largo de todos los periodos evaluados, alcanzando un máximo de 6,3% de los apiarios en la campaña 2014-2015. En la actualidad no existe ningún tratamiento autorizado para su control. Por otro lado, parece necesario seguir investigando posibles soluciones que permitan reducir las cargas parasitarias, así por ejemplo, del estudio nacional sobre las pérdidas de colonias de abejas en USA (2014-2015) se ha evidenciado que el uso de fumagilina (no autorizado en la UE desde el año 2005) como tratamiento preventivo no parece disminuir de forma significativa la mortalidad invernal de las colonias.

La **Loque Americana**, es una enfermedad bacteriana cuya prevalencia anual ha ido también en aumento a lo largo de los tres años evaluados, de forma muy significativa durante la campaña 2014-2015 (8,1%).

La prevalencia del **virus DWV** es la más elevada de todos los patógenos estudiados, alcanzando al 99% de los apiarios y al 82,8% de las colonias investigadas durante el otoño de 2012. A pesar de su gran distribución, hay que señalar que su prevalencia clínica fue muy baja durante las tres campañas, siempre inferior al 1,5% anual. Es posible que este resultado se deba a las diferentes variantes del virus, donde no todas son patógenas (variante DWV-B).

La prevalencia sistemática del **virus ABPV** durante el otoño de 2012 alcanzó al 12,7 % de los apiarios y al 7,2% de las colonias investigadas, concentrándose su distribución de forma significativa en la región costa sur oriental, siendo su prevalencia clínica siempre por debajo del 2,5% anual.

El **virus CBPV**, mostró una clínica siempre por debajo del 2,5% anual, si consideramos como caso clínico la detección de más de  $10^8$  partículas virales/abeja, aunque en la actualidad este límite se está reconsiderando a la baja ( $10^6$  partículas virales/abeja). En verano de 2013, la detección del virus CBPV por encima de  $10^8$  partículas virales/abeja fue algo superior en el muestreo sistemático (5,7%). Su presencia también se ha detectado por encima de estos niveles en un 28% de los casos confirmados de intoxicación, sin que se haya podido demostrar una asociación significativa con la presencia de residuos de pesticidas totales y muy tóxicos para las abejas.

Al igual que en el caso de la **Loque Europea no se ha detectado en ningún caso ningún parásito exótico (*Aethina tumida* y *Tropilaelaps spp*)**. No obstante para el caso de ***Aethina tumida*** hay que señalar que desde el 19 de septiembre de 2014 en Italia se han detectado 61 focos durante 2014 (60 en Calabria y 1 en Sicilia), 29 focos en 2015 (Calabria) y más recientemente 4 focos a lo largo de 2016 (Calabria), por lo que es necesario seguir alerta ante el riesgo de entrada de esta plaga.

### **Vigilancia sistemática de residuos de pesticidas y evaluación de riesgo de intoxicación**

La **vigilancia sistemática de residuos de pesticidas**, ha permitido llevar a cabo, por vez primera en nuestro país, una evaluación de riesgo de toxicidad sobre las muestras de panal de polen que se tomaron de forma sistemática durante el otoño de 2012 y el verano de 2013, que constituyen una fuente de exposición a pesticidas importante para las abejas dentro de la colonia (larvas, abejas nodrizas), tratándose de un buen marcador biológico de exposición crónica y aguda a pesticidas. Para realizar esta evaluación de riesgo se ha seguido la metodología propuesta por Sánchez Bayo F. et al (2014).

Se ha investigado un espectro muy amplio de residuos de pesticidas (306), de los que se han detectado 104, siendo los límites de cuantificación muy bajos entre 0,1 y 10 µg/kg. De éstos, 17 principios activos se presentaron con una prevalencia superior al 10%, siendo cinco los que detectaron con una mayor frecuencia: el Tau- Fluvalinato (95,8%), el Chlorfenvinphos (92,1%), el Coumaphos (79,1%), la Acrinathrina (54,3%) y el Clorpyrifos (47,5%). En relación a los **pesticidas muy tóxicos para las abejas, fueron tres los que con mayor frecuencia se detectaron: Acrinathrina (54,3%), Clorpyrifos (47,5%) y Ethofenprox (20,8%)**.

En cuanto a los pesticidas sometidos a prohibiciones y restricciones de uso por la normativa europea (**Clotianidina, Imidacloprid, Tiametoxam y Fipronil**), éstos se hallaron con muy baja o nula frecuencia, no detectándose en ningún caso ni Clotianidina ni Tiametoxam. Además, hay que tener en cuenta que este muestreo se realizó antes de las restricciones de uso, por lo que es previsible que su frecuencia de detección en la actualidad sea inferior.

Se han detectado algunos residuos de pesticidas por encima de los niveles esperados en cuanto a frecuencia y/o concentración, como ocurre en el caso de varios principios activos que, por su estado de autorización de uso (agrícola, apícola u otras especies ganaderas) y las declaraciones de los apicultores recogidas en las encuestas epidemiológicas sobre el uso de medicamentos para el control de la varroosis, sugieren un uso presumiblemente ilegal en algunas ocasiones. Esto sucede en particular con la Acrinathrina, el Tau-fluvalinate, el Chlorfenvinphos y el Dicofol; la elevada prevalencia de detección del Coumaphos por su parte parece ser debida a la bioacumulación de esta sustancia en las ceras:

- La **Acrinathrina** es un acaricida de la familia de los piretroides autorizada como fitosanitario de uso agrícola. Sin embargo, su elevada frecuencia de detección, en un 54,3% de las muestras analizadas, y las elevadas concentraciones detectadas sugieren que en algunos casos se utilizó de forma ilegal para el control de la varroosis, ya que se trata de una sustancia que no está autorizada en España para este fin y además presenta una toxicidad muy elevada para las abejas (DL50 contacto = 0,17 µg/abeja). Su elevada frecuencia de



detección muestra que es un acaricida con una elevada capacidad de bioacumulación en la cera, al igual que ocurre con otros piretroides de la familia, como el Tau-fluvalinato.

- El uso del **Tau-Fluvalinato** está permitido tanto en agricultura como en apicultura como acaricida. Sin embargo, en base a las declaraciones de uso de tratamientos para el control de la varroosis se ha detectado un porcentaje de hasta un 9,1% de apiarios en otoño que no declaraban haberlo utilizado a concentraciones superiores a 300 µg/kg. Puede deducirse que esta sustancia podría estarse aplicando de forma artesanal, probablemente a partir de Klartan®, fitosanitario acaricida autorizado para un uso agrícola, como tratamiento de lucha frente a la varroosis. Por otro lado, es un acaricida que se bioacumula con gran facilidad en la cera, de forma que en otoño de 2012 se detectó en un 92,9% de las muestras, pero sólo declararon su utilización un 5,5% de los apicultores.
- El **Clorfenvinphos** es un acaricida cuyo uso sólo estaba permitido en otras especies ganaderas distintas a *Apis mellifera* hasta abril de 2013. Sin embargo se han detectado residuos de esta sustancia en un 91,2% de las muestras de panal de polen, y hasta un 17,7% de apiarios en verano de 2013 presentaron concentraciones por encima de 200 µg/kg, lo que sugiere un uso artesanal así como una gran bioacumulación en la cera.
- El **Dicofol** se detectó en un 17,5% de las muestras analizadas, pudiéndose haber sido utilizado como tratamiento de preparación artesanal para el control de la varroosis, ya que se han detectado dos explotaciones en verano de 2013 con residuos por encima de 1.500 µg/kg.

El origen del resto pesticidas que también aparecen con frecuencia elevada es diverso:

- El **Coumaphos** es un acaricida autorizado exclusivamente para el control de la varroosis detectándose en un 79,1% de las muestras analizadas. Los datos de su prevalencia y concentración y declaraciones de uso sugieren que es una sustancia que se bioacumula y persiste en la cera. Su uso artesanal es menos probable, ya que este principio no se encuentra autorizado para otros usos distintos.
- Se han detectado frecuencias más elevadas de las esperadas del fitosanitario **Chlorpyrifos** (47,5%). Su origen más probable es su uso agrícola debido a que las concentraciones promedio y máxima detectadas en panal, 11,2 y 87,9 µg/kg respectivamente, no fueron tan elevadas como las detectadas para el Chlorfenvinphos, la Acrinathrina, el Tau-fluvalinate o el Coumaphos. Una concentración superior a 10,3 µg/kg en panal de polen pueden originar toxicidad moderada-aguda por contacto sobre las abejas (T50c inferior a 7 días), límite también próximo a la concentración promedio calculada para el conjunto de apiarios, lo que hace pensar que se está utilizando en concentraciones que pueden resultar tóxicas para las abejas. En relación a esta sustancia, recientemente la Comisión Europea ha reducido los límites máximos de residuos (LMR) hasta los límites de detección en los cultivos de tomate, pimiento, melón, sandía, patata, coles, alcachofa, manzana, pera, melocotón, uva de mesa, frambuesa y arándanos. Debido a esta bajada de LMR, el pasado 10 de julio de 2015 se procedió por parte del MAGRAMA a remitir a los titulares de productos fitosanitarios formulados a base de Chlorpyrifos, las resoluciones de retirada de los usos siguientes: peras, manzanas, melocotones, uva de mesa, alcachofas, tomates, pimientos y frambuesas. El Chlorpyrifos-Etil sigue siendo una sustancia activa permitida en la Unión Europea y siguen existiendo productos fitosanitarios autorizados en España en determinados cultivos. Por el momento no se

modifican las autorizaciones de productos formulados como granulados o las existentes para otros cultivos (como es el caso de cítricos, platanera, uva de vinificación y cereales).

- En relación al **Orthophenyl fenol** y el **Biphenyl**, por sus frecuencias, 39,6% y 21,5% respectivamente, así como por sus niveles de detección sus posibles orígenes los podemos encontrar en el uso post cosecha y la contaminación medioambiental.
- No se ha detectado una frecuencia elevada de residuos para el **Amitraz**, un 17,5%. En más de un 50% de apiarios que declararon haberlo utilizado no se detectaron residuos de esta molécula, por lo que estos niveles de residuos en cera se consideran bajos si los comparamos con el resto de sustancias autorizadas para este uso. Estos resultados sugieren su rápida degradación y una menor bio-acumulación en la cera.
- La presencia del **Etofenprox** en las colmenas puede tener un origen agrícola, detectándose siempre a concentraciones que podían producir toxicidad para las abejas.

El gran número de pesticidas hallados ha hecho necesario llevar a cabo una **evaluación de riesgo de intoxicación aguda y por acumulación en el tiempo** para cada uno de ellos, con el objetivo de poder establecer en un futuro medidas específicas que disminuyan el riesgo de intoxicación para las abejas. Esta evaluación de riesgo tiene un carácter probabilístico, teniendo en cuenta la exposición real y la prevalencia de cada sustancia a diferencia de las evaluaciones llevadas a cabo para la autorización de fitosanitarios que son de carácter determinista, y valoran el riesgo para unas condiciones de aplicación y exposición previstas sin tener en cuenta la prevalencia y ni las exposiciones reales al producto. A modo de ejemplo, la Acrinathrina y el Dimethoato tienen una toxicidad por contacto muy similar, por lo que si asumiéramos las mismas concentraciones de detección el “Hazard Quotient” (coeficiente de riesgo) sería similar. Sin embargo, el riesgo de producir una intoxicación aguda por la Acrinathrina ha sido muy superior ya que se detecta en un 54,3% de las muestras frente al 4,2% del Dimethoato. Así, también para el Coumaphos y el Chlorfenvinfos, que no son pesticidas muy tóxicos para las abejas, su elevada prevalencia hace que el riesgo por intoxicación aguda estimado fuese muy elevado. Por otro lado, se ha optado por determinar aquel riesgo derivado de la exposición por contacto, más sencillo de calcular y normalmente superior al riesgo por intoxicación por vía oral. Sin embargo, es posible que la evaluación de riesgo por contacto esté infraestimada para algunos residuos de pesticidas, ya que no todos los residuos son biodisponibles por esta vía de exposición.

Los **pesticidas asociados a un riesgo elevado** (probabilidad de intoxicación aguda superior al 5%) **fueron siete para la campaña 2012-2013**: Coumaphos, Acrinathrina, Chlorpyrifos, Etofenprox, Bifenthrin, Cypermethrina, Chlorfenvinfos. Cinco se repitieron tanto en invierno como en verano y dos de ellos sólo en verano (Ethophenprox, Bifenthrin). Hay que destacar que tres de ellos son acaricidas que se están utilizando de forma legal (Coumaphos) y presumiblemente ilegal (Chlorfenvinfos y Acrinathrina), por lo que el riesgo de intoxicación para las colonias de abejas no proviene solamente de un uso agrícola, sino también apícola.

A pesar de resultar un problema grave en otros países del mundo, los **pesticidas sometidos a restricciones comunitarias** por la Directiva 2010/21/UE de la Comisión de 12 de marzo de 2010, por la que se modifica el anexo I de la Directiva 91/414/CEE por lo que respecta a las disposiciones específicas relativas a la Clotianidina, el Tiametoxam y el Imidacloprid

(Neonicotinoides), y Fipronil, de acuerdo con los resultados de la evaluación de riesgo en España, ninguno de ellos ha presentado un nivel de riesgo moderado o grave, por lo que se ha demostrado que el uso de este tipo de sustancias no suponen un problema grave en nuestro país.

El estudio de la **toxicidad acumulada asociada a cada apiario (T50 contacto)** y su distribución peninsular ha permitido comprobar qué áreas tienen más riesgo de intoxicación por pesticidas. Estas áreas de distribución están asociadas tanto al uso de fitosanitarios agrícolas como de acaricidas para el control de la varroosis, observándose que las mayores concentraciones de pesticidas más tóxicos para las abejas se localizan en la mitad sur peninsular.

En otros países la evaluación de riesgo (Sanchez Bayo F. et al, 2014) mostró que los pesticidas que presentaban mayores riesgos de intoxicación aguda (riesgo superior al 5%) fueron por orden de peligrosidad el Phosmet, Imidacloprid, Clorpyrifos, Cyhalothrin+Propiconazole, Cyhalothrin+ Myclobutanil, Cyhalothrin+Penconazole y Clothianidina, seguidos de Thiacloprid y Fipronil, con un riesgo de intoxicación entre el 1 y 5 %. En estos países evaluados sí hay un riesgo considerable relacionado con los neonicotinoides bajo restricciones, especialmente con el Tiametoxam, el Imidacloprid y la Clotianidina.

En resumen, la **situación en España** en relación a los neonicotinoides y Fipronil no es una situación preocupante, con riesgos leves o no detectados, más si tenemos en cuenta que en el año de realización del muestreo sistemático aún no se habían puesto en marcha las restricciones de uso del Imidacloprid, el Tiametoxam, la Clotianidina y el Fipronil, por lo que es previsible que en la actualidad su riesgo sea inferior. Sin embargo, el riesgo por intoxicación aguda por el Coumaphos, la Acrinathrina, la Cypermetrina y el Chlorfenvinphos es elevado en comparación con los hallados en otros países (Sanchez Bayo et al, 2014). Sólo el riesgo de intoxicación por Clorpyrifos es comparable al hallado en el conjunto de estos países. Tres de estos pesticidas son **acaricidas que usan en el control de la varroa** de forma legal (Coumaphos) e ilegal (Acrinathrina y Chlorfenvinphos), lo cual es un factor a tener en cuenta en la lucha de esta enfermedad.

A lo largo de este periodo 2012-2015, la **prevalencia clínica de intoxicaciones** fue del 5%. La mayoría de los pesticidas asociados a un riesgo elevado fueron detectados como agentes causales en las **sospechas de intoxicación confirmadas**, lo que reafirma la utilidad de la evaluación de riesgo y la fiabilidad de los resultados.

Un porcentaje muy elevado de residuos de pesticidas en el panal de polen son **acaricidas**, tanto en concentración como en frecuencia, detectándose una disminución significativa de la mortalidad invernal proporcional a su presencia. Sin embargo, algunos de ellos son muy tóxicos, como la Acrinathrina, pudiendo causar mortalidad y podrían estar utilizándose presumiblemente de forma **ilegal**, como el Chlorfenvinphos, Tau-fluvalinato o el Dicofol. Por otro lado, se ha puesto de manifiesto la bioacumulación de muchos acaricidas en el panal de polen (Tau-fluvalinato, Acrinathrina, Clorfenfvinphos, Coumaphos), lo que podría favorecer el desarrollo de resistencias de *Varroa destructor*, con la consiguiente disminución de la eficacia de los tratamientos disponibles actualmente para su control, más si tenemos en cuenta que

actualmente los sistemas de reciclado industriales de la cera que tenemos en España no eliminan estos residuos.

### **Factores de riesgo asociados a la mortalidad**

Del estudio de los diferentes **factores que influyeron sobre la mortalidad invernal** se han podido asociar varios factores de riesgo de forma objetiva, entre los que destacan:

- las **tasas otoñales de infestación por *Varroa destructor* y *Nosema spp***, que a mayor grado de infestación provocan una mayor mortalidad en las apiarios ( $p < 0,05$ );
- la **detección clínica de loque americana** podría ser otro factor de riesgo a considerar ( $p < 0,05$ ), pero su baja prevalencia hace que este resultado se deba tomar con precaución, que no obstante sí se ha podido confirmar este resultado para el conjunto de los Estados Miembros participantes en EPILOBEE (ESFA, marzo 2016);
- las **concentraciones totales de pesticidas** como la **concentración total de acaricidas** utilizados en el control de la varroa guardó una correlación negativa significativa ( $p < 0,05$ ) con la mortalidad invernal. Esto significa que a medida que aumentó su concentración se observó una menor mortalidad. Hay que tener en cuenta que **la mayor parte de residuos de pesticidas encontrados son acaricidas para el control de la varroosis**, por lo que con seguridad disminuyeron las tasas de infestación por *Varroa destructor* y consecuentemente la mortalidad de las colonias de abejas. Esta misma relación se ha hallado específicamente también para el **Coumaphos** (otoño 2012) ( $p < 0,05$ ); No obstante hay que tener muy presente que el uso de algunos de estos acaricidas a dosis muy elevadas produjo también casos de intoxicación en algunos apiarios (Coumaphos, Acrinathrina);
- **otros factores** como la influencia climatológica no se han podido confirmar, inviernos duros y largos como el que tuvo lugar durante la campaña 2012-13 podrían condicionar la supervivencia de las colonias de abejas.

En relación a los factores que influyeron en la **mortalidad primaveral** se ha demostrado que:

- En España, los apiarios que presentaban una mayor concentración de pesticidas muy tóxicos para las abejas presentaron una mayor **mortalidad primaveral** ( $p < 0,05$ ). Esta misma relación se ha establecido para las concentraciones de **Acrinathrina** y **Etophenprox** para la visita de verano y el cómputo anual de la campaña 2012-2013 ( $p < 0,05$ ).

No se ha podido demostrar que la **prevalencia clínica y sistemática de las virosis (ABPV, DWV, CBPV)**, la **prevalencia clínica de la varroosis y la nosemosis** guarden una correlación significativa con la mortalidad invernal o primaveral ( $p > 0,05$ ), a diferencia de lo que ocurre con las tasas de infestación de *Varroa spp* y *Nosema ssp* y la mortalidad invernal. A la vista de los resultados parece necesario llevar a cabo una cuantificación de las tasas de infestación de ambos patógenos para llevar a cabo una evaluación correcta del riesgo de mortalidad sobre las colonias de abejas.

En relación a la **toxicidad acumulada calculada para cada apiario (T50 contacto)**, no se ha podido establecer ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la mortalidad (invernal y primaveral) de apiarios que presentaban al menos un principio activo cuya

concentración y toxicidad originaba un T50c inferior a 7 días y la de los que presentaban un T50c superior a 7 días ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, esta diferencia sí se ha podido establecer con el vigor, que fue significativamente inferior en aquellos que presentaban al menos para una sustancia a concentraciones que originaban un T50c inferior a 7 días ( $p < 0,05$ ). Ello es debido a que la presencia de residuos de pesticidas a niveles de riesgo de toxicidad ( $T50 < 7$  días) no implica una mortalidad completa de la colonia de abejas, pero sí la disminución del vigor de las colonias de abejas debido a la reducción de población de abejas que experimentan.

Otro factor de riesgo evaluado en España fue el grado de profesionalidad para el que no se encontraron diferencias significativas entre la **mortalidad invernal y primaveral** entre profesionales y no profesionales (a tiempo parcial y aficionados) ( $p > 0,05$ ).

En la Unión Europea, los resultados estadísticos publicados recientemente por EPILOBEE apuntan a que los principales factores de riesgo sobre la mortalidad invernal/primaveral son la prevalencia de **varroosis clínica** y de la **loque americana**, la **edad del apicultor**, el **tamaño del apiario**, **manejo reproductivo** y la **formación** (ESFA, marzo 2016). Los cuatro últimos factores no han sido analizados estadísticamente para el caso concreto de España.

## 5. PRINCIPALES CONCLUSIONES

Las **tasas de mortalidad** en España registradas durante las campañas 2012-2014 fueron inferiores a las registradas en los países del norte europeo, siendo similares a las registradas en otros países mediterráneos. Las mortalidades invernales registradas durante la campaña 2012-13 y 2014-15 superaron ligeramente los límites del 10% de mortalidad invernal considerada normal por EPILOBEE. Sin embargo, se hace necesario continuar evaluando la tendencia de la mortalidad en España a lo largo de un periodo más prolongado para poder evaluar los factores que intervienen en ella.

Para la comprensión de las causas de mortalidad en las colonias de abejas es necesario hacer un enfoque holístico, no pudiéndose establecer una causa única, ya que son numerosos los factores de riesgo que influyen en la mortalidad (elevadas tasas de infestación de *Varroa destructor* y *Nosema spp*; loque americana; exposición a pesticidas muy tóxicos; edad, formación, grado de profesionalización del apicultor; manejo reproductivo, etc.).

Se confirma la **ausencia de parásitos exóticos en España** (*Aethina tumida* y *Tropilaelaps spp*), siendo necesario estar alerta ante la posible entrada de *Aethina tumida* que está presente en el sur de Italia desde septiembre de 2014.

Se ha puesto de manifiesto que es necesario mejorar el control integral sobre **Varroa destructor**, a la vista de los incrementos otoñales de los índices de infestación moderados a muy graves, especialmente intenso en apicultores no profesionales. Es preocupante que los tratamientos otoñales sólo se hayan aplicado correctamente en un 49,9% de los casos, evidenciándose además un uso elevado de tratamientos ilegales, algunos de ellos muy tóxicos para las abejas como la Acrinathrina. Es necesario por tanto mejorar la aplicación de los

tratamientos para optimizar su eficacia y evitar el desarrollo de resistencias a través de la alternancia de principios activos, aplicaciones de dosis y tiempo de duración estipulada, utilización de sustancias que no dejen residuos en la cera, introducción de pautas de manejo que ayuden a reducir los niveles de infestación, etc.

Será preciso seguir investigando la evolución de la infestación por *Nosema spp* para evaluar su tendencia sobre la mortalidad en las abejas, aunque en la actualidad no hay productos autorizados para su control.

Se evidencia una **exposición elevada a residuos de pesticidas** (acaracidas, insecticidas, pero también fungicidas), con un gran peso de los acaricidas utilizados para el control de la varroosis. Un 99,9% de las muestras presentaron algún tipo de residuo, lo que evidencia la gran función de las colonias de abejas como biomarcadores ambientales. La bio-acumulación de acaricidas en la cera (salvo para el caso de Amitraz) es preocupante ya que puede favorecer el desarrollo de resistencias de *Varroa destructor* a los mismos, por lo que parece necesario investigar el desarrollo de sistemas que permitan una descontaminación adecuada de pesticidas en la cera.

La **evaluación de riesgo** es una herramienta útil para determinar la relación de pesticidas (tanto de uso apícola como agrícola) que se deben de tener en cuenta por su peligrosidad, no sólo por su toxicidad sino por las concentraciones de uso y frecuencia con las que aparecen, sirviendo de herramienta para dirigir acciones que disminuyan el riesgo de exposición de las abejas y a pronosticar posibles casos de intoxicación. Han sido siete los pesticidas que suponen un riesgo muy elevado de intoxicación aguda para las abejas, por orden de importancia: Coumaphos, Acrinathrina, Chlorpyrifos, Etophenprox, Bifenthrin, Cypermetrina, Chlorfenvinphos. La evaluación de riesgo ha puesto de manifiesto que en España el riesgo por intoxicación aguda por **pesticidas sometidos a restricciones comunitarias** como ciertos neonicotinoides (Clotianidina, el Tiametoxam y el Imidacloprid) y el Fipronil, es muy bajo (imidacloprid, fipronil) o nulo (Tiametoxam y Clotianidina).

Este sistema de vigilancia ha permitido hacer un **seguimiento y una evaluación continuada de la situación sanitaria de nuestra cabaña apícola** a la vez que implementar un sistema armonizado de vigilancia, fundamental para dilucidar y comparar de forma objetiva todos los resultados de las investigaciones realizadas permitiendo a su vez dar traslado de los resultados a los apicultores participantes. Por otro lado, ha servido de **herramienta formativa** para los SSVVOO, laboratorios participantes e inspectores apícolas, y de **comunicación** entre los distintos actores participantes, aspectos claves para alcanzar los objetivos establecidos en el programa.

**ANEXO I: Pesticidas analizados en las muestras de panal de polen y abejas.**

No	Pesticida	No	Pesticida	No	Pesticida
1	2,4-DDE	95	EPN	189	Metconazole
2	2,4-D	96	Epoxiconazole	190	Methamidophos
3	2,4-DDT	97	Ethion	191	Methidathion
4	3,5-Dichloroaniline	98	Ethirimol	192	Methiocarb
5	3-chloroaniline	99	Ethofenprox	193	Methiocarb-sulfone
6	3-hidroxicarbofuran	100	Ethofumesate	194	Methiocarb-sulfoxide
7	4,4-DDD	101	Ethoprophos	195	Methomyl
8	4,4-DDE	102	Etoxiquina	196	Methoxyfenozide
9	4,4-DDT	103	Etrifos	197	Metobromuron
10	Acephate	104	Famoxadone	198	Metolachlor
11	Acetamiprid	105	Fenamidone	199	Metoxychlor
12	Acrinathrin	106	Fenamiphos	200	Mevinphos
13	Alachlor	107	Fenamiphos-sulfone	201	Miclobutanil
14	Aldicarb	108	Fenamiphos-sulfoxide	202	Molinate
15	Aldicarb-Sulfone	109	Fenarimol	203	Monocrotophos
16	Aldicarb-Sulfoxide	110	Fenazaquin	204	Myclobutanil
17	Aldrin	111	Fenbuconazole	205	Napropamide
18	Ametryn	112	Fenclophos	206	Nitenpyram
19	Amitraz	113	Fenhexamid	207	Nuarimol
20	Anthraquinone	114	Fenitrothion	208	o-fenilfenol
21	Azinphos-methyl	115	Fenoxycarb	209	Ofurace
22	Azoxystrobin	116	Fenpropathrin	210	Omethoate
23	Benalaxyl	117	Fenpropidin	211	Oxadixyl
24	Benomyl	118	Fenpropimorph	212	Oxamyl
25	Bifenox	119	Fenpyroximate	213	Oxydemeton-methyl
26	Bifenthrin	120	Fenthion	214	Paclobutrazole
27	Biphenyl	121	Fenthion Oxon	215	Paraoxon-methyl
28	Bitertanol	122	Fenthion Oxon Sulfone	216	Parathion-ethyl
29	Bixafen	123	Fenthion Oxon Sulfoxide	217	Parathion-methyl
30	Boscalid	124	Fenthion-sulfone	218	Pebulate
31	Bromopropylate	125	Fenthion-sulfoxide	219	Penconazole
32	Bromuconazole	126	Fenvalerate-Esfenvalerate	220	Pencycuron
33	Bupirimate	127	Fipronil	221	Pendimethalin
34	Buprofezin	128	Fipronil-sulfone	222	Pentachloroaniline
35	Butralin	129	Fipronil-desulfinil	223	Permethrin I
36	Butylate	130	Flamprop-isopropyl	224	Phenothrin
37	Cadusafos	131	Flamprop-methyl	225	Phenthoate
38	Captan	132	Fonicamid	226	Phorate

39	Carbaryl	133	Fluacrypyrim	227	Phorate-sulfone
40	Carbendazim	134	Fluazifop	228	Phosalone
41	Carbofuran	135	Fluazifop-p-butyl	229	Phosmet
42	Carbophenothion	136	Flubendiamide	230	Phosmet-oxon
43	Carbosulfan	137	Flucythrinate	231	Phoxim
44	Chinomethionat	138	Fludioxonil	232	Phtalimide
45	Chlorantranilprole	139	Flufenoxuron	233	Picolinafen
46	Chlorbromuron	140	Flumethrin	234	Picoxistrobin
47	Chlordane	141	Fluopicolide	235	Pirimicarb
48	Chlorfenapyr	142	Fluopyram	236	Pirimiphos-methyl
49	Chlorfenvinphos	143	Fluquinconazole	237	Prochloraz
50	Chlorobenzilate	144	Flusilazole	238	Procymidone
51	Chlorpropham	145	Flutolanil	239	Profenofos
52	Chlorpyrifos	146	Flutriafol	240	Prometon
53	Chlorpyrifos-methyl	147	Fluvalinate-tau	241	Prometryn
54	Chlorthalonil	148	Folpet	242	Propamocarb
55	Chlozolate	149	Fonofos	243	Propaphos
56	Ciflutrin	150	Formetanate	244	Propargite
57	Cipermetrin	151	Formothion	245	Propazine
58	Clofentezine	152	Fosthiazate	246	Propiconazole
59	Clortal-dimethyl	153	Haloxypop	247	Propoxur
60	Clothianidin	154	HCB	248	Propyzamide
61	Coumaphos	155	HCH_alpha	249	Prosulfocarb
62	Cymoxanil	156	HCH_beta	250	Prothioconazole
63	Cyproconazole	157	Heptachlor	251	Prothioconazole-desthio
64	Cyprodinil	158	Heptachloroepoxide_cis	252	Prothiophos
65	Cyromazine	159	Heptachloroepoxide_trans	253	Pymetrozine
66	Deltamethrin	160	Heptenophos	254	Pyraclostrobin
67	DemetonS-methylsulfone	161	Hexaconazole	255	Pyrazofos
68	Desmethyl-pirimicarb	162	Hexythiazox	256	Pyrethrin
69	Diazinon	163	Imazalil	257	Pyridaben
70	Dichlofluanid	164	Imidacloprid	258	Pyrifenox
71	Dichlorvos	165	Indoxacarb	259	Pyrimethanil



<b>72</b>	Diclobutrazole	<b>166</b>	Iprodione	<b>260</b>	Pyriproxyfen
<b>73</b>	Dicloran	<b>167</b>	Iprovalicarb	<b>261</b>	Quinalphos
<b>74</b>	Dicofol	<b>168</b>	Isazofos	<b>262</b>	Quinoxifen
<b>75</b>	Dicrotophos	<b>169</b>	Isocarbophos	<b>263</b>	Quintozene
<b>76</b>	Dieldrin	<b>170</b>	Isofenphos-ethyl	<b>264</b>	Rotenone
<b>77</b>	Diethofencarb	<b>171</b>	Isofenphos methyl	<b>265</b>	RR/SS
<b>78</b>	Difenoconazole	<b>172</b>	Isoprocarb	<b>266</b>	RS/SR
<b>79</b>	Diflubenzuron	<b>173</b>	Isoprothiolane	<b>267</b>	Secbumeton
<b>80</b>	Dimethenamid	<b>174</b>	Isopyrazam	<b>268</b>	Spinosad
<b>81</b>	Dimethipin	<b>175</b>	Kresoxim-methyl	<b>269</b>	Spirodiclofen
<b>82</b>	Dimethoate	<b>176</b>	Lambda-Cihalotrin	<b>270</b>	Spiromesifen
<b>83</b>	Dimethomorph	<b>177</b>	Lindane	<b>271</b>	Spiroxamine
<b>84</b>	Diniconazole	<b>178</b>	Linuron	<b>272</b>	Spiroxamine II
<b>85</b>	Diphenylamine	<b>179</b>	Lufenuron	<b>273</b>	Sulfotep
<b>86</b>	Disulfoton	<b>180</b>	Malaoxon	<b>274</b>	Sulprofos
<b>87</b>	Disulfoton-sulfoxide	<b>181</b>	Malathion	<b>275</b>	Tebuconazole
<b>88</b>	DMST	<b>182</b>	Mandipropamid	<b>276</b>	Tebufenozide
<b>89</b>	Dodemorph	<b>183</b>	Mecarbam	<b>277</b>	Tebufenpyrad
<b>90</b>	Dodine	<b>184</b>	Mepanipirim	<b>278</b>	Tecnazeno
<b>91</b>	Endosulfan-alpha	<b>185</b>	Merphos	<b>279</b>	Teflubenzuron
<b>92</b>	Endosulfan-beta	<b>186</b>	Metalaxyl	<b>280</b>	Teflutrin
<b>93</b>	Endosulfan-sulfate	<b>187</b>	Metalaxyl-M	<b>281</b>	Terbufos
<b>94</b>	Endrin	<b>188</b>	Metazachlor		

**ANEXO II: Listado de pesticidas: Toxicidad aguda (Dosis Letal 50) por contacto para las abejas. Autorización europea y uso habitual de cada pesticida. Concentraciones en panal asociadas a toxicidad suponiendo un contacto diario de 1 gr de panal de polen por abeja.**

	DL50 contacto (µg/abeja)	USO AUTORIZADO EN AGRICULTURA (1)	Concentraciones asociadas a T50c< 7 días (µg/kg panal polen) (2)	Concentraciones asociadas a T50c<2 días (µg/kg panal polen)
2,4D	nd	NO	nd	nd
2,4-DDE	nd	NO	nd	nd
4,4-DDE	nd	NO	nd	nd
4,4-DDT	nd	NO	nd	nd
Acetamiprid	7,9	SÍ (I)	1.128,6	3.950,0
Acrinathrin	0,17**	SÍ (I-A)	24,3	85,0
Alachlor	nd	NO	nd	nd
Amitraz (DMF+DMA)	50	NO (A)	7.142,9	25.000,0
Azoxystrobin	>200	SÍ (F)	superior a 28.571,4	superior a 100.000,0
Bendlaxyl	>100	SÍ (F)	superior a 14.285,7	superior a 50.000,0
Bifenthrin	0,015**	SÍ (I-A)	2,1	7,5
Biphenyl	nd	NO (PCB)	nd	nd
Boscalid	>200	SÍ (F)	superior a 28.571,4	superior a 100.000,0
Bromopropylate	183	NO (A)	26.142,9	91.500,0
Bupirimate	>500	SÍ (F)	superior a 71.428,6	superior a 250.000,0
Buprofezin	20	SÍ (IGR)	2.857,1	10.000,0
Captan	215	SÍ (F)	30.714,3	107.500,0
Carbaryl	0,84**	NO (I)	120,0	420,0
Carbendazim	>50	NO (F)	superior a 7.142,9	superior a 25.000,1
Chlorantraniliprol e	4	SÍ (I)	571,4	2.000,0
Chlorfenvinphos	4,1	NO (I-A)	585,7	2.050,0
Chlorobenzilate		NO	0,0	0,0
Chlorothalonil	135	NO	19.285,7	67.500,0
Chlorpyrifos	0,072**	SÍ (I)	10,3	36,0
Chlorpyrifos Methyl	0,28**	SÍ (I)	40,0	140,0

Chlothianidin	0,039**	NO (I)	5,6	19,5
clofentezine	48	SÍ (A)	6.857,1	24.000,0
Coumaphos	20	NO (I-A)	2.857,1	10.000,0
Cymoxanil	>25	SÍ (F)	superior a 3.571,4	superior a 12.500,0
Cypermethrin	0,034**	SÍ(I-A)	4,9	17,0
Diazinon	0,38**	NO(I-A)	54,3	190,0
Dicofol	19	NO (A)	2.714,3	9.500,0
Diethofencarb	20	SÍ (F)	2.857,1	10.000,0
Difenocondzole	100	SÍ (F)	14.285,7	50.000,0
Dimethoate	0,12**	SÍ (I)	17,1	60,0
Diphenylamine	nd	NO	nd	nd
Disulfoton	3,7	NO (I)	528,6	1.850,0
Endosulfan Alpha	6,3	NO (I-A)	900,0	3.150,0
Endosulfan Beta	nd	NO (I-A)	nd	nd
Epoxicondazole	>100	SÍ (F)	superior a 14,285,0	superior a 50.000,0
Esfenvalerate	0,06**	SÍ (I)	8,6	30,0
Ethion	11	NO (A)	1.571,4	5.500,0
Ethofenprox	0,015**	SÍ (I)	2,1	7,5
Fendzaquin	7,4	SÍ (A)	1.057,1	3.700,0
Fenbucondzole	290	SÍ (F)	41.428,6	145.000,0
Fenhexamid	207	SÍ (F)	29.571,4	103.500,0
Fenitrothion	0,52**	NO (I)	74,3	260,0
Fenoxycarb	>100	SÍ (A)	superior a 14,285,0	superior a 50.000,0
Fenpropathrin	nd	NO (I-A)	nd	nd
Fenpropimorph	>100	SÍ (F)	superior a 14,285,0	superior a 50.000,0
Fenpyroximate	11	SÍ (A)	1.571,4	5.500,0
Fipronil	0,007**	NO (I)	1,0	3,5
Fipronil sulfond	nd	no aplicable	nd	nd
Flucythrindte	0,3**	NO (I)	42,9	150,0
Fludioxonil	50	SÍ (F)	7.142,9	25.000,0
Flufenoxuron	>100	NO (IGR)	superior a 14,285,0	superior a 50.000,0
Flumethrin	0,05**	ND (I)	7,1	25,0
Flutriafol	72	SÍ (F)	10.285,7	36.000,0
Fluvalindte-tau	8,7	SÍ (I-A)	1.242,9	4.350,0
Folpet	49	SÍ (F)	7.000,0	24.500,0

Hexythiazox	>200	SÍ (A)	superior a 28.571,4	superior a 100.000,0
Imidacloprid	0,061**	NO (I)	8,7	30,5
Indoxacarb	0,59**	SÍ (I)	84,3	295,0
Iprodione	400	SÍ (F)	57.142,9	200.000,0
Iprovalicarb	>200	SÍ (F)	superior a 28.571,4	superior a 100.000,0
Isofenphos Methyl	nd	NO (I)	nd	nd
Kresoximmethyl	22	SÍ (F)	3.142,9	11.000,0
lambda cihalotrin	0,048**	SÍ (I)	6,9	24,0
Lindane	nd	NO	nd	nd
Linuron	nd	SÍ	nd	nd
Lufenuron	>200	SÍ (IGR)	superior a 28.571,4	superior a 100.000,0
Malathion	0,47**	SÍ (I-A)	67,1	235,0
Metalaxyl	141	SÍ (F)	20.142,9	70.500,0
MetalaxylM	25	SI (F)	3.571,4	12.500,0
Methamidophos	0,97**	NO (I-A)	138,6	485,0
Methiocarb	0,29**	SÍ (B)	41,4	145,0
Methiocarb Sulfone	nd	no aplicable	nd	nd
metiocarbSO	nd	no aplicable	nd	nd
Metolachlor	nd	NO	nd	nd
Metoxychlor	20	NO (I)	2.857,1	10.000,0
Myclobutanil	>40	SÍ (F)	superior a 5.714,3	superior a 20.000,0
ometoato	No evaluado (tox oral 0,05)	NO (I)	nd	nd
Orthophenylphen ol	nd	SÍ (F)	nd	nd
Oxydemetonmeth yl	7,4	NO	1.057,1	3.700,0
paclobutrazol	nd	SÍ	nd	nd
Pebulate	nd	NO	nd	nd
Pencondzole	12	SÍ (F)	1.714,3	6.000,0
Pendimethalin	nd	SÍ	nd	nd
Permethrin	0,063**	NO (I)	9,0	31,5
Phenthoate	0,31**	NO (I)	44,3	155,0
Phosmet	0,62**	SÍ (I)	88,6	310,0
Phthalimide	nd	NO (F)	nd	nd
Pirimicarb	36	SÍ (I)	5.142,9	18.000,0

Pirimiphos-methyl	0,27**	SÍ (I)	38,6	135,0
Procymidone	nd	NO	nd	nd
Profenofos	0,32**	NO (I)	45,7	160,0
Propargite	62	NO (A)	8.857,1	31.000,0
Propyzamide	nd	SÍ	nd	nd
Prothiophos	nd	NO	nd	nd
Pyraclostrobin	>100	ND (F)	superior a 14,285,0	superior a 50.000,0
Pyridaben	0,053**	SÍ (I)	7,6	26,5
Pyriproxyfen	>100	SÍ (I)	superior a 14,285,0	superior a 50.000,0
Quindlphos	0,44**	NO (I)	62,9	220,0
Quinoxifen	79	SÍ (F)	11.285,7	39.500,0
Spinosad	0,003**	SÍ (I)	0,4	1,5
Spirodiclofen	256	SÍ (A)	36.571,4	128.000,0
Spiroxamine	4,2	SÍ (F)	600,0	2.100,0
Sulfotep	nd	NO	nd	nd
Tebucondzole	>200	SÍ (F)	superior a 28.571,4	superior a 100.000,0
Tebufenpyrad	6,8	SÍ (A)	971,4	3.400,0
Terbuthylazine	nd	SÍ	nd	nd
Tetradifon	1250	NO (A)	178.571,4	625.000,0
Tetrahydrophthalimide	nd	no disponible	nd	nd
Tetramethrin	nd	NO (I)	nd	nd
Thiacloprid	36	SÍ (I)	5.142,9	18.000,0
Thiametoxam	0,025**	NO (I)	3,6	12,5
Thiodicarb	12	NO (I)	1.714,3	6.000,0
trifloxiestrobind	nd	SÍ (F)	nd	nd
Trifluralin	nd	NO	nd	nd

<sup>(1)</sup> **(A):** acaricida; **(I):** insecticida; **(F):** fungicida **(HB):** herbicida; **(A):** acaricida; **(I-A):** insecticida-acaricida; **(F):** fungicida; **(IGR):** regulador del crecimiento de insectos

<sup>(2)</sup> **(nd):** no determinado

**\*\*** *pesticida muy tóxico para las abejas (DL50<2 µg/abeja)*

### ANEXO III: Técnicas de laboratorio utilizadas para el análisis de muestras recogidas.

Enfermedad diana	Patógeno	Método de laboratorio	Método de diagnóstico	Fecha Acreditación	Muestra analizada
Varroosis	<i>V.destructor</i>	■ Detección de la presencia del parásito	Recomendaciones de la OIE	19/04/2013	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cría con síntomas (panal 10 x 10)</li> <li>• Abejas adultas interior de la colmena ⇒ <b>vivas internas</b></li> </ul>
		■ Lavado de abejas	Recomendaciones de la OIE		
Loque americana	<i>P. larvae</i>	■ Diagnóstico bacteriológico	Recomendaciones de la OIE (método validado por el EU-RL)	08/04/2016	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cría con síntomas (panal 10 x 10) con al menos 15 larvas enfermas</li> <li>• Larvas, escamas enfermas en tubos Eppendorf</li> </ul>
		■ Identificación molecular por PCR	Recomendaciones de la OIE (método validado por el EU-RL)	NA	
Loque europea	<i>M. plutonius</i>	■ Diagnóstico bacteriológico	Recomendaciones de la OIE (método validado por el EU-RL)	NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cría con síntomas (panal 10 x 10) con al menos 15 larvas enfermas</li> <li>• Larvas, escamas enfermas en tubos Eppendorf</li> </ul>
		■ Identificación molecular por PCR	Recomendaciones de la OIE (método validado por el EU-RL)	NA	
Nosemosis	<i>N.apis</i>	■ Detección y cuantificación de esporos de <i>Nosema</i> spp por microscopía óptica	Recomendaciones de la OIE	19/04/2013	Muestra sistemática: • Abejas vivas del interior de la colmena (> 60) cuadros externos ♂ <b>vivas internas</b>
	<i>N.ceranae</i>	■ Diferenciación molecular de especies de <i>Nosema apis/ Nosema ceranae</i> por PCR	Siguiendo las recomendaciones del EU-RL adaptadas de las recomendaciones de la OIE	08/04/2016	Muestra sintomática: • Al menos 30 abejas adultas con síntomas (recogidas de la piquera) ⇒ <b>vivas externas</b> En ausencia de abejas vivas, al menos 30 abejas muertas ⇒ <b>muertas externas</b>
Virus de la Parálisis Crónica	CBPV	■ Diagnóstico molecular: detección y cuantificación (RT-qPCR)	Siguiendo las recomendaciones del EU-RL	08/04/2016	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Al menos 30 abejas adultas con síntomas (recogidas de la piquera) ⇒ <b>vivas externas</b></li> <li>• En ausencia de abejas vivas, al menos 30 abejas muertas ⇒ <b>muertas externas</b></li> </ul>
Virus de las Alas Deformadas	DWV	■ diagnóstico molecular: detección (RT-PCR)	Siguiendo las recomendaciones del EU-RL	28/11/2014	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abejas vivas del interior de la colmena (&gt; 60) ⇒ <b>vivas internas</b></li> </ul>
Virus de la Parálisis Aguda	ABPV	■ Diagnóstico molecular: detección (RT-PCR)	Siguiendo las recomendaciones del EU-RL	28/11/2014	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abejas vivas del interior de la colmena (&gt; 60) ⇒ <b>vivas internas</b></li> </ul>
Aethinosis (SHB)	<i>A. tumida</i>	■ Detección durante el lavado de las abejas	Recomendaciones de la OIE	NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abejas vivas del interior de la colmena (&gt; 300) ⇒ <b>vivas internas</b></li> <li>• Formas adultas del escarabajo, larvas o huevos</li> <li>• Panales de cría /miel/polen dañados</li> </ul>
		■ Detección durante el examen de muestras sintomáticas		NA	
		■ Identificación del escarabajo adulto, larva por examen morfológico		NA	
Tropilaelapsosis	<i>Tropilaelaps spp</i>	■ Detección durante el lavado de las abejas	Recomendaciones de la OIE	NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abejas vivas del interior de la colmena (&gt; 300) ⇒ <b>vivas internas</b></li> <li>• Ácaros sospechosos</li> <li>• Cría con síntomas (panal 10 x 10) en apiarios con riesgo introducción artrópodos exóticos</li> </ul>
		■ Detección durante el examen de muestras sintomáticas		NA	
		■ Identificación por examen morfológico directo de los ácaros (recomendaciones de la OIE)		NA	
Ascosferosis	<i>Ascosphaera apis</i>	■ Detección por microscopía óptica		NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cría con síntomas (panal 10 x 10)</li> </ul>
Acarapisosis	<i>Acarapis woodi</i>	■ Detección por microscopía óptica	Recomendaciones de la OIE	NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Al menos 30 abejas adultas vivas con síntomas</li> </ul>
		■ Detección por digestión enzimática			
		■ Identificación del parásito por microscopía óptica			

## ANEXO IV: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antúnez Anido, K.; M. Garrido-Bailón, E.; Botías, C.; Zunino, P.; Martínez-Salvador, A. (2012) **Low prevalence of honeybee viruses in Spain during 2006 and 2007**. Research in Veterinary Science: pp1441–1445.
- Belzunces L., P.; Tchamitchaia, S.; Brunet, J-L. (2012). **Neural effects of insecticides in the honey bee**. Apidologie Volume 43, Issue 3, pp 348-370.
- Bernal, J.; Garrido-Bailon, E; Del Nozal, M.; Gonza, A. V.; Lez-Porto; Martín-Hernandez, R; Diego, J. C.; Jimenez, J. J; Bernal, J. L and Higes, M. (2010). **Overview of Pesticide Residues in Stored Pollen and Their Potential Effect on Bee Colony (*Apis mellifera*) Losses in Spain**. Apiculture And Social Insects. Vol. 103, no. 6: pp (1964-1971).
- Bernardi, S. and Venturino, E. **Viral epidemiology of the adult *Apis Mellifera* infested by the Varroa destructor mite** (2016). Heliyon 2, e00101.
- Charrière, J.-D. and Neumann, P. (2010). **Surveys to estimate winter losses in Switzerland**. Journal of Apicultural Research and Bee World 49, 132-123
- Chauzat, M-P.; Ribière, M.;Blanchard, P.; Schurr, F;Faucon, J-P; Allier F., L.; Bournez, De Boyer A.; Britten, V.; Jourdan, P.; Leoncini, I.; Vallon, J.; Navajas, M. ; Le Conte, Y. (2009). **Colony losses in France**. 4th COLOSS Conference – Zagreb, Croatia, 3-4 March 2009
- Christian, H, Krupke; Greg J., Hunt; Brian D, Eitzer; Andino Gladys, Krispn Given. (2012) **Multiple Routes of Pesticide Exposure for Honey Bees Living Near Agricultural Fields**. PLoS ONE | [www.plosone.org](http://www.plosone.org) | Volume 7 | Issue 1 | e29268
- Dainat, B.; Evans, D. Chen, Y.P.; Gauthier, L.; Neumanna, P.; De la Rua, P.; Jaffe, R.; Dall’Olio, R.; Munoz, I.; Serrano, J. (2009). **Dead or Alive: Deformed Wing Virus and Varroa destructor Reduce the Life Span of Winter Honeybees**. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. Apidologie 40, 263–284
- DIRECTIVA 2010/21/UE DE LA COMISIÓN de 12 de marzo de 2010 por la que se modifica el anexo I de la Directiva 91/414/CEE por lo que respecta a las disposiciones específicas relativas a la clotianidina, el tiametoxam, el fipronil y el imidacloprid
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR) (2012). **Scientific opinion on de science behind the development of a risk assessment of Plant Protection Products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus spp.* and solitary bees)**. EFSA Journal 2012; 10(5):2668. Pp: 238-39.
- EFSA External Scientific Report. Jacques, A.; Larurent, M.; Ribiere-Chabert, M.; Saussac, M.; Bougeard S.; Hendrikx, P. and Chauzat, M.P. (2016). **Statistical analysis on the EPILOBEE dataset: explanatory variables related to honeybee colony mortality in EU during 2 year survey. (ANSES)**.

- Ellis, J. D.; Evans, J. D.; Pettis J. S. (2010). **Colony losses, managed colony population decline and Colony Collapse Disorder in the United States**. Journal of Apicultural Research 49(1): 134-136. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.30
- European Commission (2008). **Virology and the Honeybee**. <http://bookshop.europa.eu/es/virology-and-the-honey-bee-pbKINA21937/>.
- Genersch, E.; Von der Ohe, W.; Kaatz, H.; Schroeder, A.; Otten, C.; Büchler R.; Berg, S.; Ritter, W.; Mühlen, W.; Gisder, S.; Meixner, M.; Liebig, G., Rosenkranz, P. (2010). **The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies**. Apidologie 41: 332-352
- Gómez Pajuelo A., Torres C., Orantes Bermejo F.J. (2008). **Colony losses: a double blind trial on the influence of supplementary proteíná nutrition and preventative treatment with fumagillin against *Nosema ceranae***. Journal of Apicultural Research and Bee World 47(1): p. 84-86
- Guzmán-Novoa, E.; Eccles, L.; Calvete, Y. and Mcgowan, J. (2010). ***Varroa destructor* is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada**. Apidologie 41,443-450
- Hendriks, P., Debin, M., and Chauzat, M.P. (2010). **Bee mortality and bee surveillance in Europe**. EFSA Report 1-278.-doi:10.2903/j.efsa.2008.154r
- Higes M., Martín-Hernandez R., Martínez Salvador A., Garrido Bailón E., González-Porto A. Virginia, Meana A; Bernal J., del Nozal M.J. (2009). **A preliminary study of the epidemiological factors related to honey bee colony loss in Spain**. Environmental Microbiology Reports 2(2), 243-250.
- Johnson, M.; Ellis M.D; Mullin, A.; Frazier, M. (2010). **Pesticides and honey bee toxicity – USA**. Apidologie 41, 312–331
- Kukielka, D.; Perez A.; Higes, M; Bulboa, M.C.; Sánchez-Vizcaíno, J.M. (2008). **Analytical sensitivity and specificity of a RT-PCR for the diagnosis and characterization of the spatial distribution of three *Apis mellifera* viral diseases in Spain**. Apidologie 39, pp 607-617.
- Laurent, M.; Hendriks, P.; Ribiere-Chabert, M. and Chauzat, M.P., on behalf of the EPILOBEE consortium (2014). **A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2013**. [http://ec.europa.eu/food/animals/live\\_animals/bees/study\\_on\\_mortality/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/animals/live_animals/bees/study_on_mortality/index_en.htm)
- Laurent, M.; Hendriks, P.; Ribiere-Chabert, M. and Chauzat, M.P., on behalf of the EPILOBEE on behalf of the EPILOBEE consortium (2015). **A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2014**. [http://ec.europa.eu/food/animals/live\\_animals/bees/docs/bee-report\\_2012\\_2014\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/animals/live_animals/bees/docs/bee-report_2012_2014_en.pdf).



- Le Conte, Y.; Ellis, M. and Ritter, W. **(2010) Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses?\*** Apidologie 41, pp: 353–363
- Martín-Hernández, R; Higes, M.; Aizen, A.; Garibaldi Lucas, A.; Cunningham Saul, A.; M.Klein, A. **(2009) How much does agriculture depend on pollinator?** Lessons from long term trends in crop production. Annals of Botany 103, pp: 1579-1588.
- Martín-Hernández, R.; Meana, A.; Prieto, L.; Martínez Salvador, A; Garrido-Bailón, E. and Higes, M. **(2007) Outcome of Colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*.** Applied and Environmental Microbiology, pp: 6331–6338.
- Mullin Christopher, A.; Frazier, M., Frazier, J.L.; Ashcraft, S.; Simonds, R.; vanEngelsdorp, D. and Pettis, J. S. **(2010) High Level of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health.** PlosOne (vol 5, issue 3, e9754)
- Mordecai, G. J.; Brettell, L. E.; Martin, S. J.; Dixon, D.; Jones, Ian M and Schroeder and Declan C. **(2016) Superinfection exclusion and the long-term survival of honey bees in Varroa-infested colonies.** The ISME Journal 10, pp: 1182–1191.
- Mordecai, G J.; Wilfert, L.; Martin, S. J.; Jones, I. M. and Schroeder, D.C. **(2016) Diversity in a honey bee pathogen: first report of a third master variant of the Deformed Wing Virus quasispecies.** The ISME Journal 10, pp: 1264–1273.
- Morse, R. A.; Calderone, N. W. Cornell University Ithaca **(2000). The Value of Honey Bees As Pollinators of U.S. Crops in 2000.** Bee culture magazine.
- Orantes-Bermejo, F. J.; Gómez Pajuelo, A.; Megías Megías, M. and Torres 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 48(1): 243-250
- REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) No 485/2013 DE LA COMISIÓN de 24 de mayo de 2013 por el que se modifica el Reglamento de Ejecución (UE) no 540/2011 en lo relativo a las condiciones de aprobación de las sustancias activas clotianidina, tiametoxam e imidacloprid, y se prohíben el uso y la venta de semillas tratadas con productos fitosanitarios que las contengan
- REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) No 781/2013 DE LA COMISIÓN de 14 de agosto de 2013 por el que se modifica el Reglamento de Ejecución (UE) no 540/2011 en lo relativo a las condiciones de aprobación de la sustancia activa fipronil, y se prohíben el uso y la venta de semillas tratadas con productos fitosanitarios que la contengan.
- Rennich, K.; Pettis, J.; Vanengelsdorp, D.; Bozarth, R.; Eversole, H.; Roccasecca, K.; Smith, M.; Stitzinger, Jennie, A.; Snyder, R.; Rice, N.; Evans, J; Levi, V.; Lopez, D. and Robyn, R. **(2011-2012) National Honey Bee Pests and Diseases Survey Report (USA).**
- Sanchez-Bayo, F. y Goka, K. (2014). **Pesticide Residues and Bees- A risk Assesment.** Plos One. Vol 9, Issue 4: e94482.  
<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0094482>.

- Schneider, C. W.; Tautz, J.; Grünewald, B. and Fuchs, S. (2012). **RFID tracking of sublethal effects of two neonicotinoid insecticides on the foraging behavior of *Apis mellifera***. PLoS ONE 7, e30023
- Tentcheva, D.;† Gauthier, L.;\*† Zappulla, N.; Dainat, B.; Cousserans, F.; Colin, M.E.; and Bergoin, M. (2004) **Prevalence and Seasonal Variations of Six Bee Viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* Mite Populations in France**. Applied and Environmental Microbiology, pp: 7185–7191.
- Tomlin, CDS (2009) **The e-Pesticide Manual**. In: Tomlin CDS, editor. 12 ed.
- Serra J., Orantes-Bermejo, J.F. **Acaricides and their residues in Spanish commercial beeswax. (2010)**. Society of Chemical Industry. [www.interscience.wiley.com](http://www.interscience.wiley.com). DOI 10.1002/ps. 1999.
- Stoner, K.A. and Eitzer, B.D. (2013). **Using a hazard quotient to evaluate pesticide residues detected in pollen trapped from honey bees (*Apis mellifera*) in Connecticut**. PLoS One 8, e77550.
- Surrey, U.K.: British Crop Protection Council. Topolska, G.; Gajda, A. and Hartwig, A. **(2008) Polish honey bee colony losses during the winter of 2007/2008**, J. Apic. Sci. 52, 95–104.
- Van Engelsdorp, D.; Hayes, Jr J.; M Underwood, R, S.; Pettis, J. **(2010) A survey of honey bee colony losses in the United States**, fall 2008 to spring 2009. Journal of Apicultural Research 49(1): 7-14.
- Washington State Department of Agriculture. Pesticide management division. Registration Services Program. **Pollinator Protection Requirements for Section 18 Emergency Exemptions and Section 24 (C). Special local need registrations in Washington State**. AGR PUB 631-225 (R/03/30/2010).
- Whitehorn, P.R.; O’Connor, S.; Wackers, F.L. and Goulson, D. **(2012). Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production**. Scienceexpress 1215025
- Willians, I. **(2002) Insect Pollination and Crop Production: A European Perspective**. IN: **Kevan P & Imperatriz Fonseca VL (eds) - Pollinating Bees - The Conservation Link Between Agriculture and Nature** - Ministry of Environment / Brasília:59-65.
- Willians, I.H.; Corbet, A.S. and Osborne, J.L. (1991) **Beekeeping, wild bees and pollination in the European Community**. Bee World 72 (4):170-80.
- Wu Judy, Y.; Anelli, C. M. and Sheppard W. S. **Sub-Lethal Effects of Pesticide Residues in Brood Comb on Worker Honey Bee (*Apis mellifera*) Development and Longevity**.(2011) PLoS ONE | [www.plosone.org](http://www.plosone.org). Volume 6 | Issue 2 | e14720.