



MINISTERIO DE
AGRICULTURA, PESCA Y
ALIMENTACION



INFORME DE RESULTADOS DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA 2015-2016 SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS

DESCRIPCIÓN BREVE

Este informe tiene como objetivo presentar los principales resultados obtenidos en España a lo largo del periodo 2015-2016 en relación a las pérdidas de colonias de abejas así como la prevalencia de todas las enfermedades apícolas más importantes que afectan a la sanidad apícola

*Subdirección General de Sanidad e Higiene
Animal y Trazabilidad*

COORDINADORES PARTICIPANTES		ORGANISMO DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA/MAPAMA
Cid González	Carlos	Subdirección Xeral de Ganadería - Consellería do Medio Rural e do Mar - Xunta de Galicia
De Abajo	Miguel Ángel	Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León
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 y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente
Fernández Feijoo	Beatriz	Subdirección Xeral de Ganadería - Consellería do Medio Rural e do Mar - Xunta de Galicia
Fernández Zapata	Carlos	Dirección General de Agricultura y Ganadería. Subdirección General de Recursos Agrarios de la comunidad de Madrid
Llorens García	Salvador	Consejería de Agro-ganadería y Recursos Autóctonos del Principado de Asturias
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 y Pesca, Alimentación, y Medio Ambiente
Plaza Pérez	Margarita	Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia
Rodríguez Correa	Jose Antonio	Consejería de Agricultura, Desarrollo Rural, Medio Ambiente y Energía de la Junta de Extremadura
Ruiz Casas	Juan Manuel	Consejería de Agricultura de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha
Romero González	Luis José	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Mº Agricultura y Pesca, 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

RED DE LABORATORIOS PARTICIPANTES	PROVINCIA	NOMBRE DEL LABORATORIO
MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente)	Madrid	Laboratorio Central de Veterinaria de Algete-Sanidad Animal (LNR)
Universidad de Almería	Almería	Laboratorio de Referencia de la UE de Residuos de Pesticidas en Frutos y Hortalizas.
Aragón	Zaragoza	Laboratorio Agroalimentario
Asturias	Asturias	Laboratorio de Sanidad Animal
Castilla-La Mancha	Toledo	Laboratorio Regional Agroalimentario y Ambiental (Laraga)
Castilla y León	León	Laboratorio Regional de Sanidad Animal de Castilla y León
Cataluña	Lleida	Laboratori de Sanitat Animal de Catalunya
Extremadura	Badajoz	Laboratorio de Sanidad Animal
Galicia	Lugo	Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia
Madrid	Madrid	Regional de Sanidad Animal
Murcia	Murcia	Laboratorio Agroalimentario y de Sanidad Animal
Navarra	Navarra	Laboratorio de Calidad Agroalimentaria de Navarra
La Rioja	La Rioja	Laboratorio Regional

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.).

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 piloto europeo sobre las pérdidas de colonias de abejas (EPILOBEE 2012-14) y su continuación en España (2012-17) se ha podido establecer por vez primera la situación de mortalidad 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 a la vigilancia sistemática de la presencia de residuos de fitosanitarios y otras sustancias.

*La **mortalidad invernal** en España para el periodo 2015-16 fue del 10,8% cifra similar a las registradas durante las campañas 2012-13 (10,2%) y 2014-15 (11,2%), sin llegar a apreciarse ninguna variación importante por territorios. No hay establecidos valores históricos en relación a los niveles aceptables de mortalidad invernal en Europa ni en España. Distintas publicaciones científicas consideran que un valor del 10% es el límite aceptable de tasa de mortalidad invernal para la apicultura europea, siendo éste el considerado en la evaluación de este informe.*

*La **mortalidad primaveral** registrada en España durante esta campaña ha sido la más elevada de las registradas hasta el momento (7,7%), similar a las campañas 2012-13 (6,5%) y 2014-15 (6,6%) y significativamente superior a la campaña 2013-14 (4,2%).*

*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 (2017-2019). Los resultados obtenidos durante las cuatro campañas indican una elevada presencia en otoño del ácaro Varroa destructor en apiarios (78,2%) y colonias (44,5%), así como un aumento progresivo de los niveles de infestación otoñal moderados a graves (>5% en abejas). En otoño de 2015, periodo en el que un 84,5% de los apicultores ya habían realizado un tratamiento previo a la primera visita*

prevista en el programa, la prevalencia fue superior al promedio interanual situándose en un 82,8% en los apiarios y en un 53,4% en las colonias de abejas estudiadas de forma sistemática. En relación a los **niveles de infestación**, un 28,1% presentaron parasitaciones moderadas a muy graves.

La evolución de la **prevalencia clínica de varroosis** a lo largo de las cuatro campañas ha mostrado variaciones anuales entre el 23,7% y el 11,7%, situándose la prevalencia anual en el periodo 2015-16 en el 17,7%, 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 cuatro campañas, detectándose en un 78,2% de los apiarios. La prevalencia en las colonias fue siempre inferior, afectando a un promedio de 31,2 % en esta época. De los estudios de tipificación molecular se deriva que el 90,6% de las colonias positivas lo eran exclusivamente a *Nosema ceranae* y un 6,5% 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** fue del 4,4% varió entre campañas entre el 4,4% y 6,3% anual, siendo la campaña 2014-15 la que mayor prevalencia mostró.

La **loque americana** afectó anualmente a un 4,7 % de los apiarios investigados durante los cuatro años, viéndose incrementada su prevalencia de forma significativa durante la campaña 2014-15, hasta un 8,1%. En el periodo 2015-16 la prevalencia anual se situó en un 3,5%. 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%. Durante la campaña 2015-16 no se detectó ningún caso clínico. 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. Al igual que para el caso del virus DWV su prevalencia clínica siempre ha sido escasa (<1,6%), no habiéndose detectado ningún caso durante la campaña 2015-16.

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, no detectándose ningún caso clínico durante la campaña 2015-16.

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 (Calabria), donde se confirmaron 41 focos en 2016.

En relación a la **vigilancia sistemática de fitosanitarios y otras sustancias** llevada a cabo durante el verano de 2016, en un 99,9% de las muestras se ha detectado algún tipo de residuo.

En las **muestras sistemáticas de panal de polen** se han detectado 55 residuos de las 207 sustancias analizadas, variando el número encontrado en cada muestra de 2 a 27. Un 53,3% de las muestras presentó de 1 a 2 fitosanitarios muy tóxicos para las abejas. Las cinco sustancias detectadas con mayor frecuencia en las muestras fueron el Coumaphos, el Tau-fluvalinato, el Clorfenvinphos, el Amitraz y la Acrinathrina. La concentración total varió entre 18 y 7.755 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, donde un 58,9% de las muestras presentó una concentración entre 500 y 1500 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, siguiendo un patrón muy similar al registrado durante la campaña 2012-13.

Durante esta campaña por vez primera se han investigado la presencia de residuos en muestras **sistemáticas de abejas**, detectándose hasta 25 residuos de los 207 analizadas, variando el número encontrado por cada muestra entre 0 y 7. Un 10% de las abejas presentó 1 a 2 fitosanitarios muy tóxicos, no detectándose ninguno en el 88,8% de las abejas analizadas. Las cinco sustancias detectadas con mayor frecuencia en las muestras de abejas fueron el Coumaphos, el Amitraz, el Tau-fluvalinato, el Carbendazim y el Orthophenylphenol. La concentración total de residuos varió entre 0 y 320 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ y la de fitosanitarios muy tóxicos entre 0 y 80 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

En relación a los **fitosanitarios sujetos a restricciones por la Directiva 2010/21/UE** (neonicotinoides y Fipronil) no se detectaron en ningún caso ni Clotianidina, Tiametoxam, ni Fipronil. La frecuencia del Imidacloprid aumentó considerablemente con respecto a la campaña 2012-13, de un 2,8% a un 13,3% para el mismo periodo (verano) y sólo en un caso se detectó en panal de polen a una concentración que podía suponer un riesgo de toxicidad.

No se ha detectado clínicamente durante este programa ninguna sospecha de intoxicación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS	PÁGINA	
1.	INTRODUCCIÓN	7
2.	DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2015-16	7
2.1.	OBJETIVOS DEL PROGRAMA	7
2.2.	ENFERMEDADES OBJETO DE VIGILANCIA DEL PROGRAMA	7
2.3.	PROTOCOLO DE ESTUDIO Y VIGILANCIA. RECOGIDA Y GESTIÓN DE DATOS. CÁLCULO DE MORTALIDAD Y PREVALENCIAS DE LAS ENFERMEDADES INVESTIGADAS.	9
3.	RESULTADOS DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE LAS PRÉDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2015-16	10
3.1.	APIARIOS Y COLONIAS INSPECCIONADAS	10
3.2.	ÍNDICES DE MORTALIDAD	12
3.3.	ENFERMEDADES DE LAS ABEJAS	15
3.3.1.	INFESTACIÓN POR <i>Varroa destructor</i> Y VARROOSIS	15
3.3.1.1.	Infestación por <i>Varroa destructor</i>	15
3.3.1.2.	Varroosis	19
3.3.1.3.	Aplicación de tratamientos para el control de la varroosis	21
3.3.2.	INFESTACIÓN POR <i>Nosema spp</i> y NOSEMOSIS	23
3.3.2.1.	Tasa de infestación de <i>Nosema spp</i>	23
3.3.2.2.	Nosemosis	29
3.3.3.	VIRUS DE LAS ALAS DEFORMADAS (DWV),	31
3.3.4.	VIRUS DE LA PARÁLISIS AGUDA (ABPV)	32
3.3.5.	VIRUS DE LA PARÁLISIS CRÓNICA	33
3.3.6.	LOQUE AMERICANA	34
3.3.7.	LOQUE EUROPEA	35
3.3.8.	PARÁSITOS EXÓTICOS: <i>Aethina tumida</i> y <i>Tropilaelaps spp</i>	35
3.4.	VIGILANCIA SISTEMÁTICA DE RESIDUOS DE PESTICIDAS EN PANAL DE POLEN Y ABEJAS (VERANO 2016)	36
3.4.1.	ANÁLISIS DESCRIPTIVO	36
3.4.1.1.	Residuos de pesticidas detectados	36
3.4.1.2.	Residuos de pesticidas muy tóxicos para las abejas	38
3.4.1.3.	Distribución de residuos de pesticidas por frecuencia de detección	42
3.4.2.	EVALUACIÓN DE RIESGO (VERANO 2016)	47
3.4.2.1.	Evaluación de riesgo por intoxicación aguda y toxicidad acumulada en panal de polen y abejas	49
3.4.2.2.	Distribución geográfica del riesgo acumulado por apiario de los pesticidas con un riesgo superior al 5%	51
3.5.	INVESTIGACIÓN DE SOSPECHAS DE INTOXICACIÓN	54
4.	CONCLUSIONES	56
ANEXO I:	Pesticidas analizados en las muestras de panal de polen y abejas.	57
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.	60
ANEXO III:	Técnicas de laboratorio utilizadas para el análisis de muestras recogidas.	64
ANEXO IV:	Referencias bibliográficas	66

1 INTRODUCCIÓN

Este informe tiene como objetivo presentar los principales resultados obtenidos en España a lo largo del periodo 2015-2016 así como la evolución de cada variable estudiada a lo largo del tiempo.

Durante los **cuatro años de investigación** evaluados (otoño 2012- otoño 2016) 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 563 fueron análisis de residuos de pesticidas que incluían la determinación de un total 306 residuos en cada muestra.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA PILOTO SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2015-16

2.1- OBJETIVOS DEL PROGRAMA.

Los principales objetivos que se han establecido para el Programa son la estimación de las pérdidas de colonias de abejas durante el invierno y la primavera, así como las mortalidades anuales, la implementación de estudios de prevalencia de las enfermedades apícolas prioritarias, la vigilancia sistemática de residuos de fitosanitarios y otras sustancias (a partir de ahora las nombraremos como *pesticidas*) para la evaluación del riesgo de producir intoxicaciones agudas y crónicas (en verano) así como la investigación de las sospechas clínicas 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 *Ascosphaera apis*; *Acarapis woodi* o *Vespa velutina*.

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 el Programa ha incluido una vigilancia sistemática de la presencia de 207 residuos de pesticidas en panal de polen y abejas durante el verano de 2016 así como la investigación de las sospechas clínicas de intoxicación por pesticidas durante toda la campaña.

Así, los objetivos específicos de este programa están encaminados a:

- Estimar la **tasa de mortalidad invernal, primaveral y anual** de los apiarios seleccionados.
- Estimar la **tasa de infestación por *Varroa destructor* y de *Nosema spp*** por colmena y apiario antes de la estación invernal.
- Estimar la **prevalencia clínica por apiario** de las principales enfermedades de las abejas antes y después de la estación invernal y durante el periodo de actividad apícola (verano): Loque americana, loque europea; varroosis, nosemosis, virus DWV, virus ABPV y virus de la parálisis crónica (CBPV).
- Asegurar una alerta temprana en el caso de la detección de los **artrópodos exóticos, *Aethina tumida* y *Tropilaelaps spp***.
- **Vigilancia sistemática de fitosanitarios y otras sustancias y evaluación de riesgo de producir intoxicaciones agudas y crónicas**, al objeto de cumplir 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, ampliando la vigilancia a otras sustancias activas para verificar la exposición real de las abejas a las mismas.
- Estimación de la **prevalencia clínica de intoxicaciones por fitosanitarios u otras sustancias para las abejas** por apiario.

2.3. PROTOCOLO DE ESTUDIO Y VIGILANCIA. RECOGIDA Y GESTIÓN DE DATOS. CÁLCULO DE MORTALIDAD Y PREVALENCIAS DE LAS ENFERMEDADES INVESTIGADAS.

El Programa de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas 2015-2016 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 entre las comunidades autónomas participantes.

Tanto los diferentes programas como sus respectivos protocolos de vigilancia, formularios de inspección y fichas de enfermedades, la recogida y gestión de datos, el cálculo de la mortalidad y las prevalencias de las enfermedades objeto de estudio están disponibles en el siguiente enlace de la página web del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (<http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/sanidad-animal/enfermedades/otras-enfermedades-abejas/otras-enf-abejas.aspx>).

En la evaluación de las muestras sistemáticas (verano 2016) se ha llevado a cabo tanto un análisis descriptivo como un análisis de riesgo nacional por intoxicación siguiendo la metodología desarrollada para la evaluación realizada en la campaña 2012-2013. La estimación del riesgo se ha calculado teniendo en cuenta la matriz (panel de polen y abejas) en dos estratos, nacional y por apiario.

3. RESULTADOS DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2015-16

3.1. APIARIOS Y COLONIAS INVESTIGADAS

Durante la campaña 2015-2016 han participado 11 comunidades autónomas, excluyéndose del muestreo inicialmente previsto Andalucía, Valencia, País Vasco y las Islas Canarias. Otras comunidades autónomas, dado su reducido tamaño censal, no han participado, como ha sido el caso de Baleares y Cantabria, permitiéndose su participación en caso de solicitud, como ha ocurrido para el caso de la Comunidad de Madrid. Extremadura y Castilla La-Mancha no realizaron la primera visita de otoño. Esta situación se ha tenido en cuenta en relación a los cálculos de la mortalidad invernal y anual así como en las prevalencias de enfermedades.

En la tabla 1 se recogen la evolución del número de CCAA participantes y nº de apiarios y colonias investigadas durante los cuatro años evaluados del programa de vigilancia.

APIARIOS Y COLONIAS INSPECCIONADAS	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL 2015-16	TOTAL
CCAA PARTICIPANTES	14	13	10	11	
Nº de apiarios investigados	203	190	111	113	617
Nº de visitas realizadas	586	565	317	271	1.739
Nº de colonias inspeccionadas al azar	6.561	6.219	3.360	3.029	19.169
Nº de extracolonia investigadas (en base a las observaciones con síntomas)	48	30	9	4	91

Tabla 1: evolución del número de CCAA participantes y nº de apiarios y colonias investigadas durante los cuatro años evaluados del programa de vigilancia

En las siguientes figuras se recogen los apiarios que participaron en el programa durante las tres visitas efectuadas:

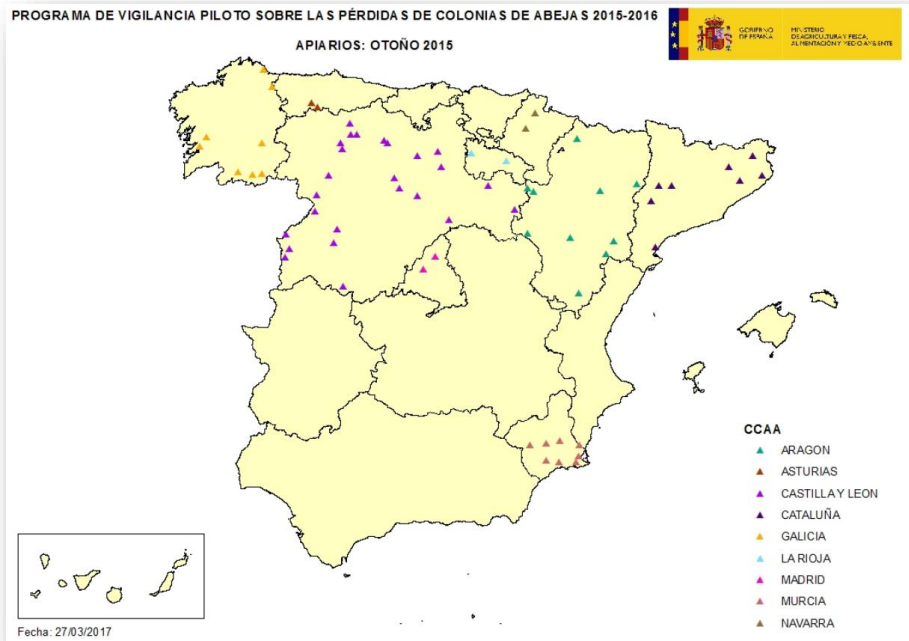


Figura 1: Apiarios investigados durante la visita de otoño de 2015

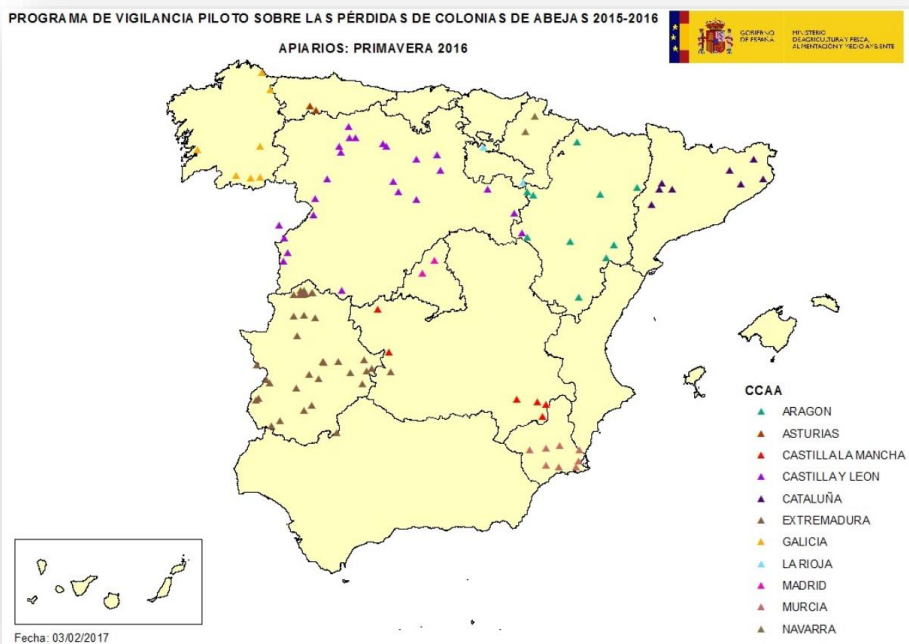


Figura 2: Apiarios investigados durante la visita de primavera de 2016

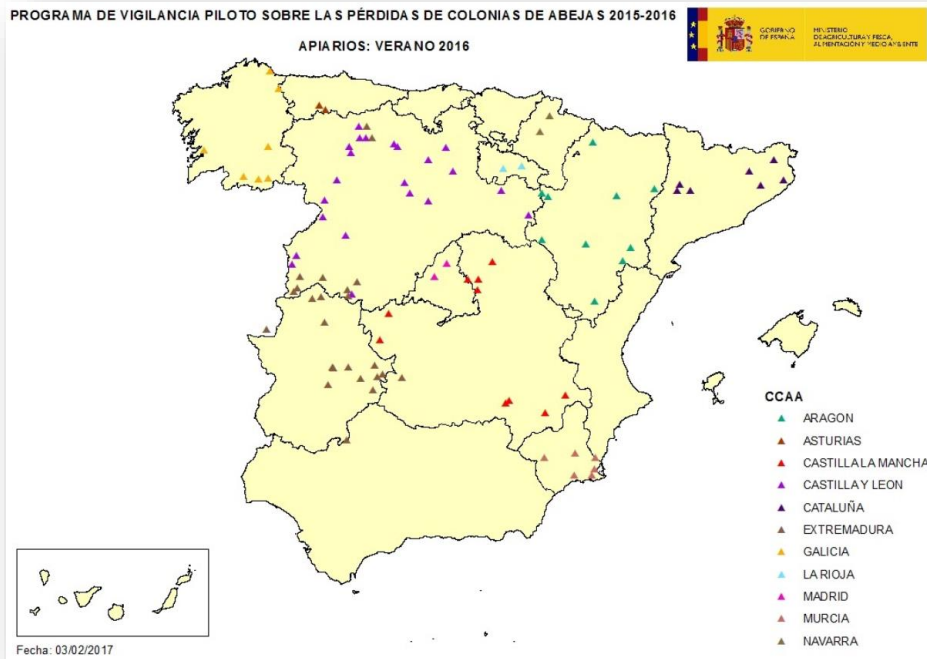


Figura 3: Apiarios investigados durante la visita de verano de 2016

3.2. ÍNDICES DE MORTALIDAD.

Mortalidad invernal durante la campaña 2015-16

La mortalidad invernal fue del 10,8%, con valores que variaron desde el 53,8 %, máximo registrado en Navarra, al 1,7% registrado en Murcia. Esta mortalidad fue similar a las registradas durante las campañas 2012-13 (10,2%), 2014-15 (11,2%) y significativamente superior a la registrada durante el periodo 2013-14 (5,5%). 4 de 9 CCAA evaluadas sufrieron mortalidades por encima del 10%, representando el 54,4% del censo de colmenas investigadas. Sólo Cataluña y Murcia presentaron mortalidades inferiores al 5%, representando al 21,6% de las colonias investigadas.

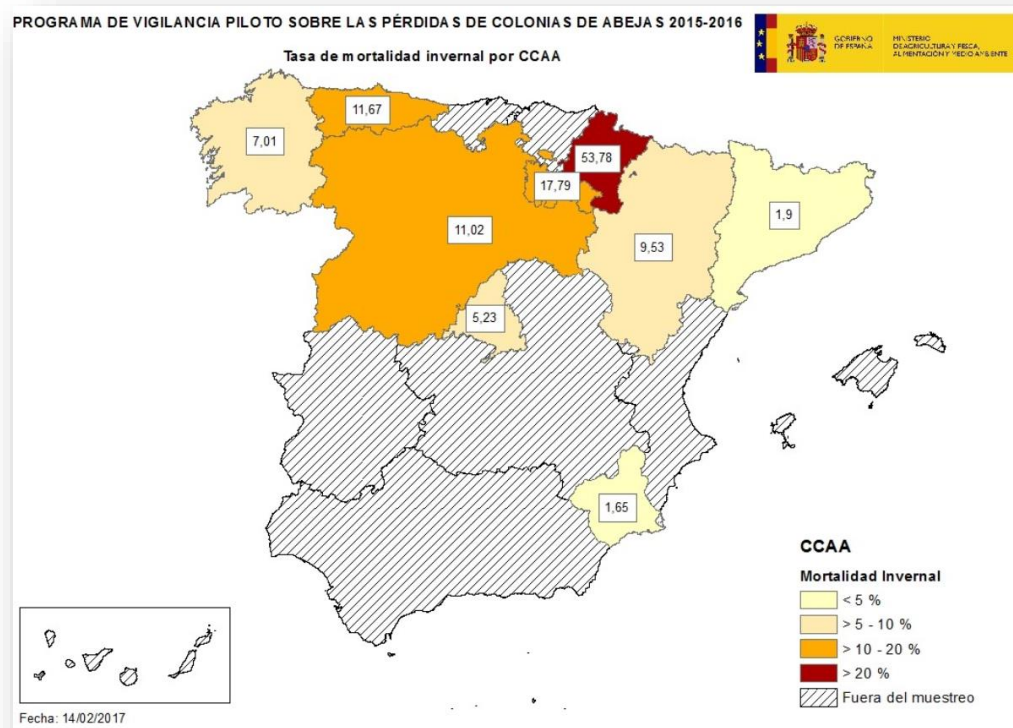


Figura 4: Mortalidad invernal por CCAA (2015-16)

Mortalidad primaveral durante la campaña 2015-16

En España la mortalidad primaveral fue del 7,7 %, con valores que variaron desde el 15,3 %, máximo registrado en Navarra, al 2,9% registrado en Castilla-La Mancha. Esta mortalidad fue similar a las registradas durante las campañas 2012-13 (6,5%), 2014-15 (6,6%) y significativamente superior a la registrada durante el periodo 2013-14 (4,2%). 5 de 11 CCAA evaluadas sufrieron mortalidades por encima del 10%, representando el 17,8% del censo de colmenas investigadas. Sólo Castilla-La Mancha presentó una mortalidad inferior al 5%, representando al 12,0% de las colonias investigadas.

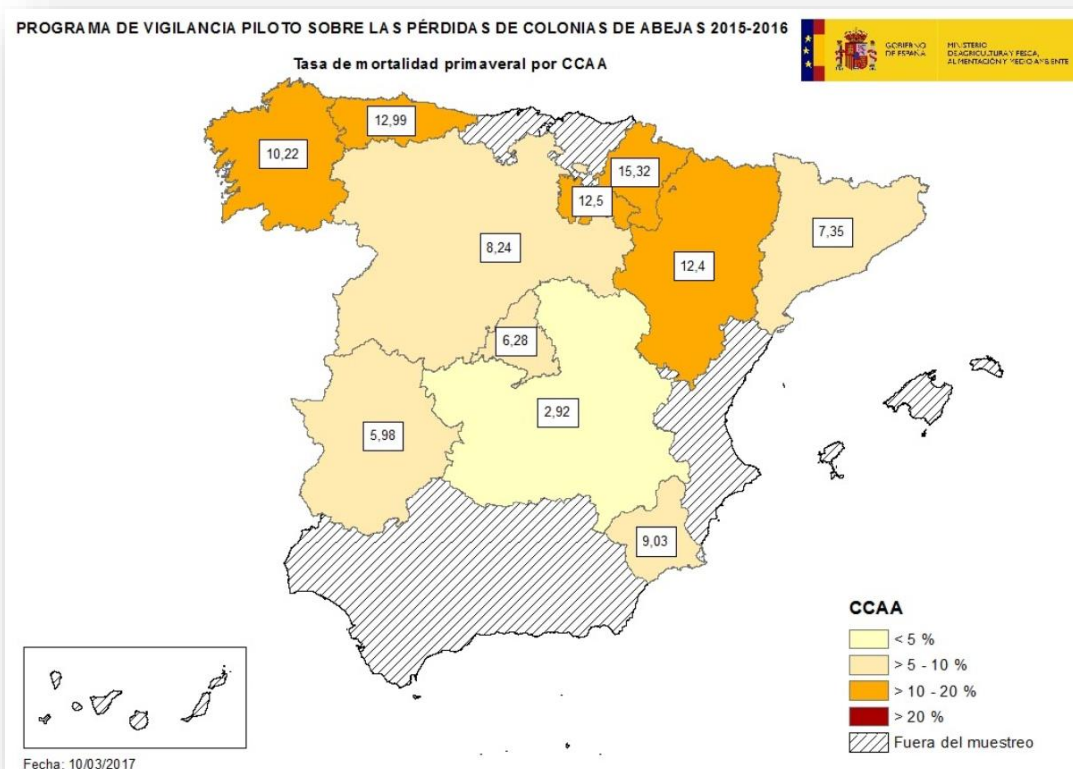


Figura 5: Mortalidad primaveral por CCAA (2015-16)

Mortalidad anual durante la campaña 2015-2016

La mortalidad anual para la campaña 2015-2016 fue del 16,7% siendo superior a la campaña anterior (15,1%), aunque hay que tener en cuenta que no participaron las mismas CCAA. Las mayores tasas de mortalidad, superiores al 20%, se dieron en 4 de 9 CCAA analizadas, representando el 23,9% de las colonias analizadas.

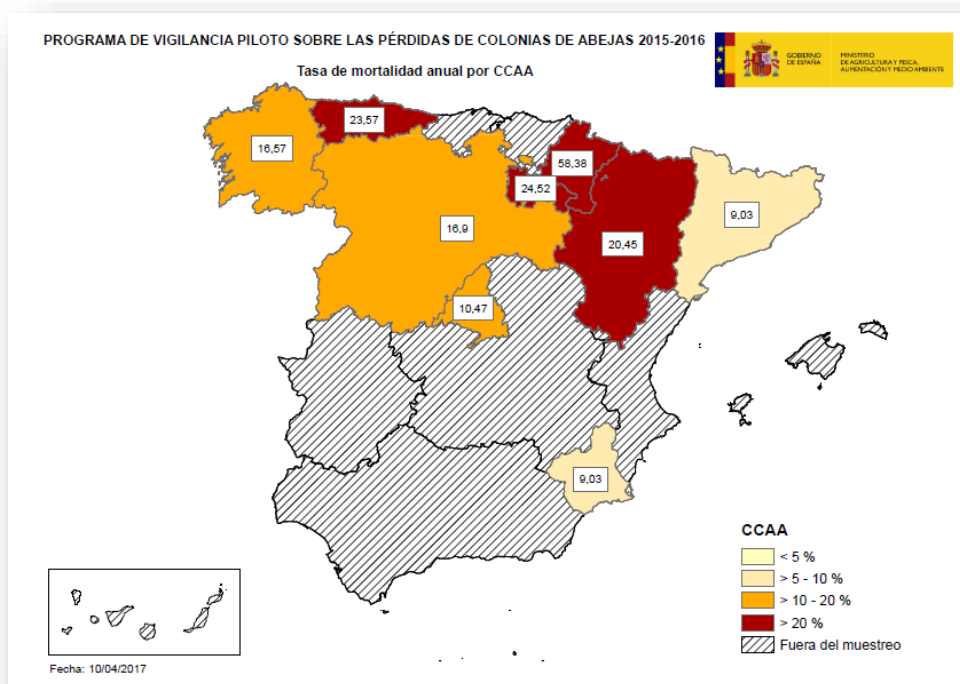


Figura 6: Mortalidad anual por CCAA (2015-16)

3.3. ENFERMEDADES DE LAS ABEJAS.

3.3.1. INFESTACIÓN POR *Varroa destructor* y VARROOSIS.

3.3.1.1. INFESTACIÓN POR *Varroa destructor*.

Durante la campaña 2015-2016 se han analizado 1.203 muestras para el recuento de las tasas de parasitación por *Varroa destructor*, cifra similar a la campaña anterior.

RECuento TASAS INFESTACIÓN VARROA (muestras sistemáticas)	TOTAL 2012- 13	TOTAL 2013- 14	TOTAL 2014- 15	TOTAL 2015- 16	TOTAL
Nº de muestras sistemáticas (recuento de varroa)	2325	2147	1188	1204	6.864
Nº de análisis recuento de varroa	2320	2143	1185	1203	6.842

Tabla VI: Nº de análisis realizados durante el periodo 2012-2016

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.

Distribución de las tasas de infestación promedio en apiarios por CCAA (otoño de 2015).

En otoño de 2015, *Varroa destructor* se detectó en un 82,8% de los apiarios y el 53,4% de las colonias investigadas.

Solamente un 43,8% de los apiarios presentó **niveles muy leves o nulos de infestación ($\leq 1\%$)**. La única comunidad autónoma que presentó en otoño más del 75% de los apiarios con promedios de infestación muy débiles o nulos ($\leq 1\%$) fue Asturias.

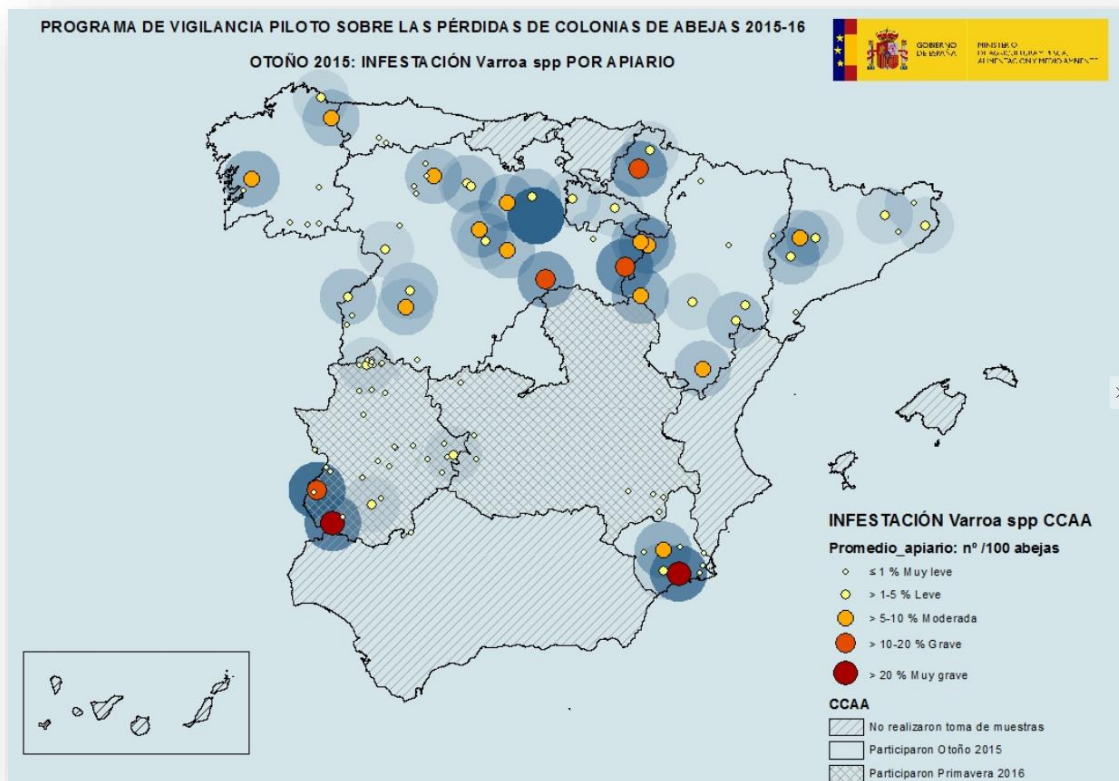


Figura V1: Distribución geográfica de las tasas de parasitación promedio por apiario (otoño de 2015)

Un **28,1%** de los apiarios evaluados en otoño presentaron niveles de parasitación moderados a muy graves, la tasa más elevada registrada en otoño en relación con las campañas anteriores. Es probable a que este incremento se deba a la no realización en otoño de este muestreo de Castilla-La Mancha y Extremadura.

En **primavera** en Extremadura y Castilla-La Mancha más de un 75% presentaron niveles leves o nulos de infestación.

Evolución de la tasa de parasitación por *Varroa destructor* entre campañas por 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 V2, V3 y V4, muestra un **aumento de la prevalencia en apiarios y colonias de *Varroa destructor* en otoño a lo largo de las cuatro campañas, así como del porcentaje de apiarios y colonias parasitados de forma moderada a muy grave** (ver tablas V2 y V3), especialmente significativo durante desde la campaña 2015-2016. También resulta significativo el descenso del porcentaje de apiarios que en otoño presentaron parasitaciones muy leves o nulas en estas dos últimas campañas.

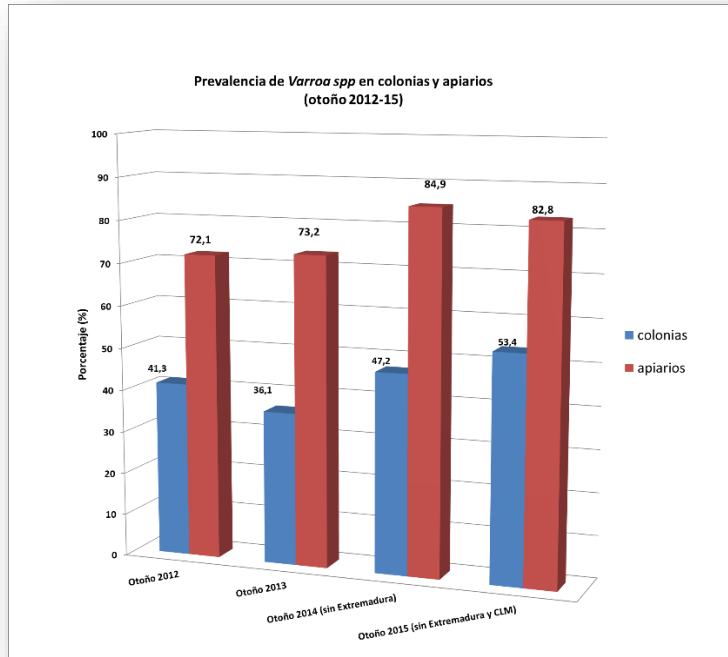


Figura V2: Evolución de la prevalencia de *Varroa destructor* en colonias y apiarios (otoño 2012-15).

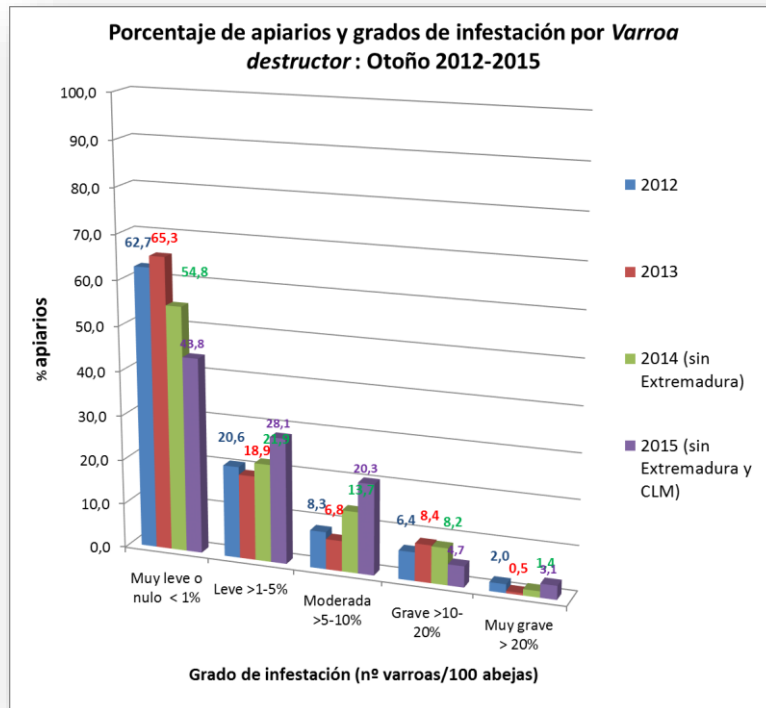


Figura V3: Evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño 2012-2015)

	Tasas de moderadas a muy graves			
CAMPAÑA	2012-13	2013-14	2014-15	2015-16
% Apiarios	16,7	15,8	23,3	28,1

Tabla V2: Evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en apiarios (otoño 2012-2015).

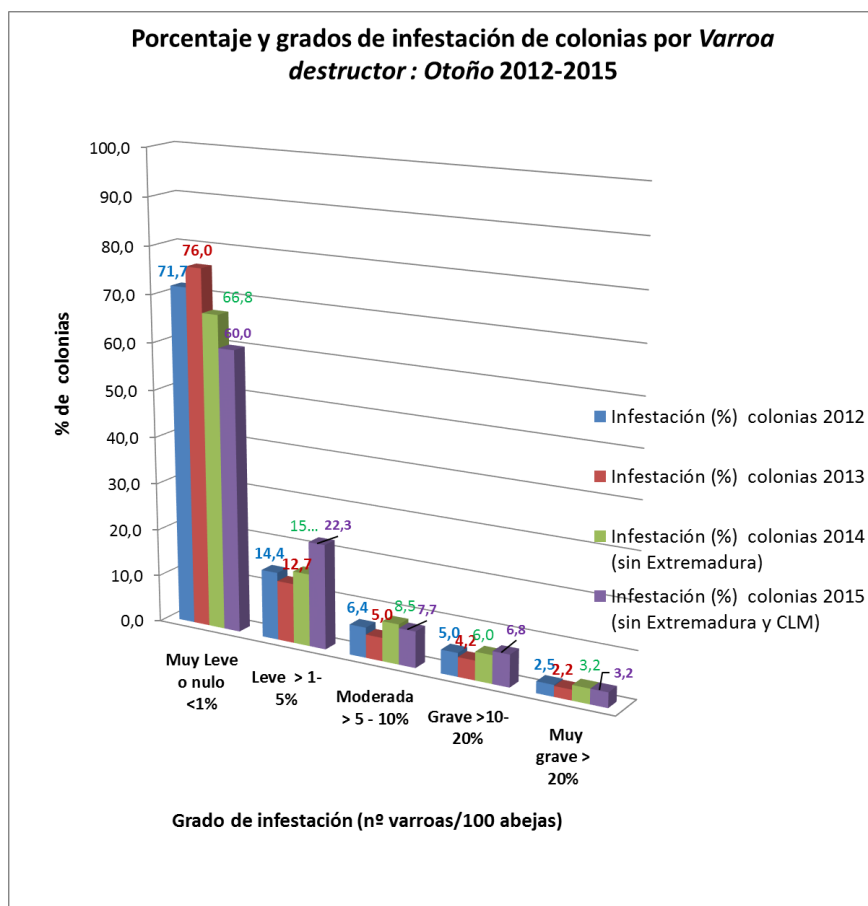


Figura V4: Evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por colonia (otoño 2012-2015).

	Tasas de moderadas a muy graves			
CAMPAÑA	2012-13	2013-14	2014-15	2015-16
% Colonias	13,9	11,3	17,8	17,8

Tabla V3: Evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en colonias (otoño 2012-15).

3.3.1.2. VARROOSIS.

En relación a la manifestación clínica de varroosis, ésta se detectó en las tres visitas (otoño, primavera y verano). En la tabla siguiente se recogen el número de colonias con varroosis

que se confirmaron en campo, así como el número de análisis solicitados para su confirmación laboratorial.

VARROOSIS en muestras con síntomas (colonias seleccionadas al azar con síntomas)	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL 2015-16	TOTAL
Nº de colonias sospechosas de varroosis (detección en campo)	251	235	48	104	638
Nº de análisis realizados en muestras con síntomas (varroosis)	50	31	36	33	150

Tabla V4: Evolución del nº de colonias positivas en campo a varroosis y de análisis laboratoriales realizados durante las campañas 2012-16.

En el siguiente mapa (figura V5) se representan los casos de varroosis clínica confirmados a lo largo de la campaña. Se observa que el incremento en la detección de *Varroa destructor* en apiarios que muestran los resultados del muestreo sistemático de otoño no tienen un claro reflejo en la detección clínica de varroosis en este periodo (ver figura V1 y V5).

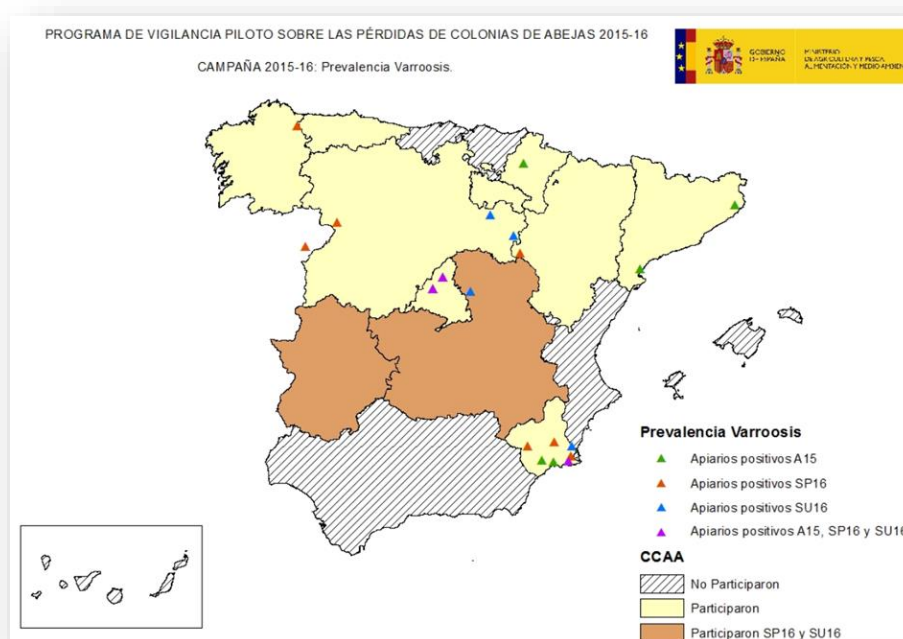


Figura V5: Prevalencia clínica de la varroosis en apiarios durante la campaña 2015-2016.

En la figura V6, se muestra la evolución de la prevalencia clínica a lo largo de las cuatro 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 13,1% los apiarios afectados, registrándose prevalencias inferiores en primavera y en verano.

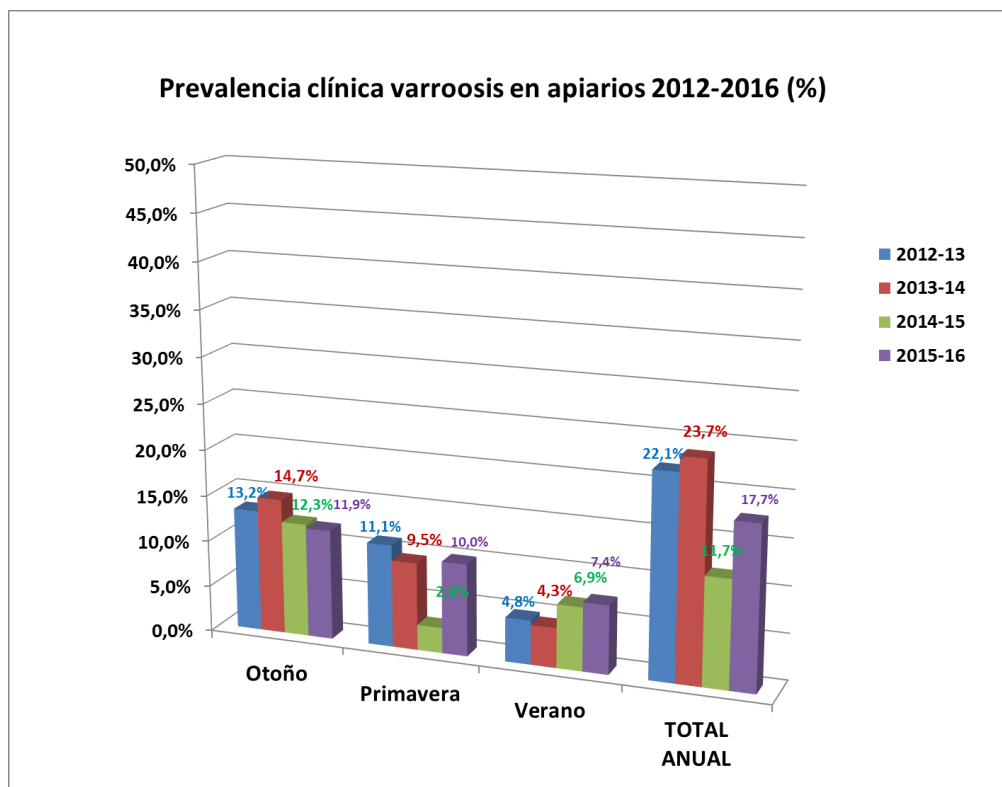


Figura V6: evolución de la prevalencia clínica (2012-2015).

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 se ha demostrado, para las campañas 2012-15, que presentan una correlación significativa con la mortalidad invernal.

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.

A lo largo de las cuatro campañas analizadas en otoño, un 82,4% de los apiarios aplicaron algún tratamiento para el control de *Varroa destructor*. En el otoño de 2016, a pesar de que un 73,6% lo hicieron antes de la visita otoñal, de éstos un 24 % 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 44,8% de los apiarios investigados se aplicaron correctamente los tratamientos durante la campaña 2016, parámetro valorado en función de la dosis empleada y el tiempo de permanencia del tratamiento en las colonias, observándose una tendencia similar a las campañas anteriores. Esta situación puede contribuir a la disminución de la eficacia en el control y favorecer la aparición de resistencias.

Por otro lado, en cuanto al grado de elección de tratamientos declarados para esta campaña se observa una utilización mayoritaria de Amitraz, y una disminución importante del Coumaphos respecto de campañas anteriores, siendo el uso de tratamientos autorizados para la apicultura ecológica y métodos biotécnicos de manejo muy residual.

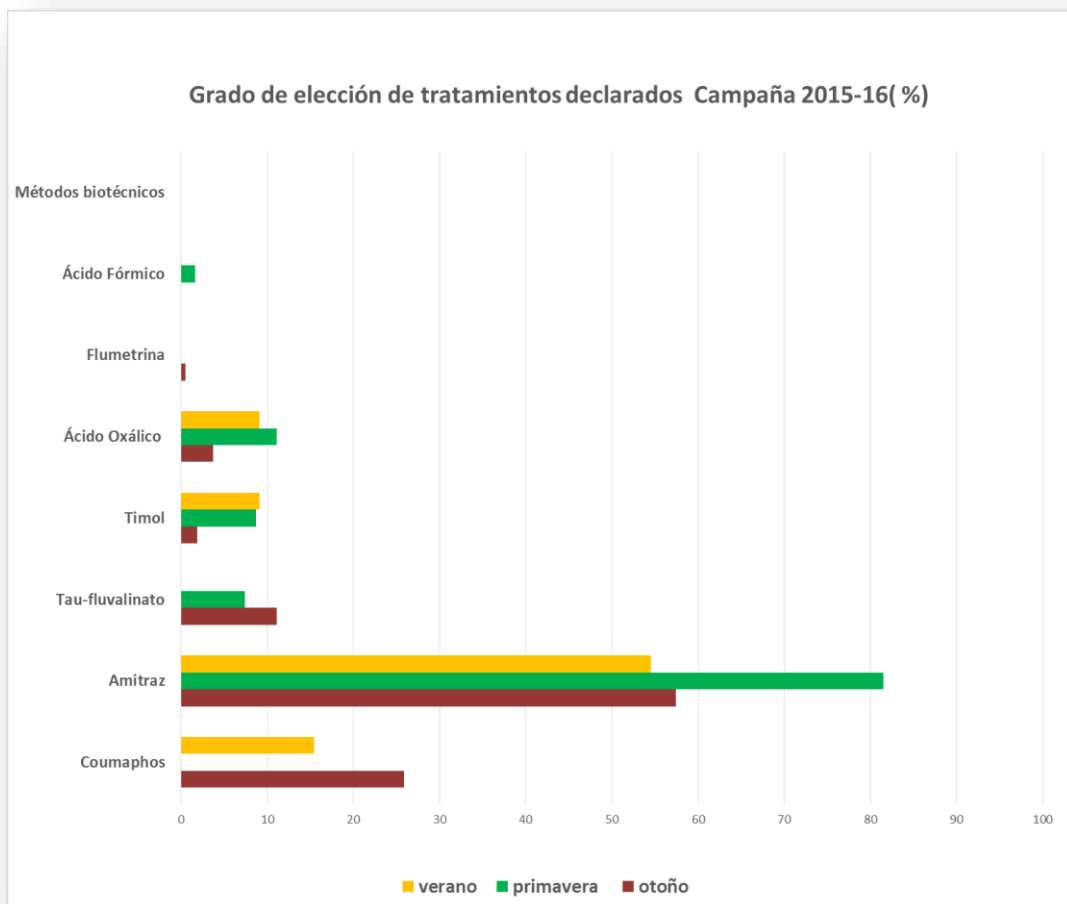


Figura V7: % de elección de tratamientos declarados durante la Campaña 2015-16 (por principios activos)

3.3.2. INFESTACIÓN POR *Nosema spp* y NOSEMOSIS

3.3.2.1. INFESTACIÓN POR *Nosema spp*

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 seleccionadas al azar. Las tasas de infestación se han valorado como número de esporos por abeja. Se han analizado en total 722 muestras procedentes de 1/3 al menos de las colonias seleccionadas al azar (tabla N1).

RECUESTO DE ESPOROS DE <i>Nosema spp</i>	TOTAL 2012- 13	TOTAL 2013- 14	TOTAL 2014- 15	TOTAL 2015- 16	TOTAL
Nº de muestras sistemáticas <i>Nosema spp</i>	2289	707	346	772	4.114
Nº de análisis recuento de esporas <i>Nosema spp</i>	2286	704	344	772	4.106
Nº de PCR (tipificación <i>Nosema spp</i>)	668	205	148	292	1.313

Tabla N1: Nº de muestras sistemáticas y análisis realizados para valorar las tasas de infestación por *Nosema spp*.

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.

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

En otoño de 2015 *Nosema spp.* se detectó en un 87,5 % de los apiarios (ver figura N2).

Un **37,5% de los apiarios** presentó un **nivel nulo o muy leve de infestación** (≤ 100.000) (ver figura N1 y N3). Como puede apreciarse en la figura N1 las menores tasas de infestación se hallaron en Asturias, Murcia y Galicia, con más del 50% de los apiarios con promedios de infestación nulos o muy leves (≤ 100.000).

En otoño, un **21,9%** 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 (ver figura N1, N3 y Tabla 4).

En las 2 CCAA que hicieron este muestreo en primavera, Castilla-La Mancha y Extremadura, se detectaron un 16,7% y un 72,4% de parasitaciones en apiarios moderadas a muy graves respectivamente, pudiéndose observar su distribución espacial en España en el siguiente mapa (figura N1).

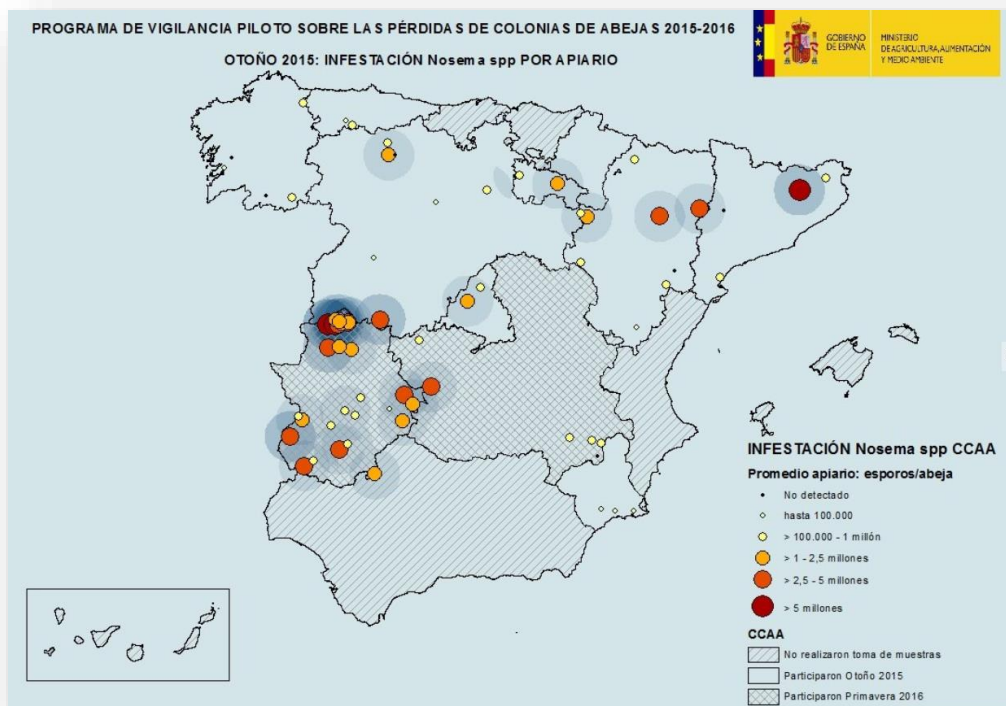


Figura N1: distribución geográfica de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño de 2015).

Evolución de la tasa de parasitación por *Nosema spp* entre campañas por apiarios y colonias.

En otoño, la evolución en relación a la prevalencia de *Nosema spp*, muestra un aumento continuado en apiarios y colonias de abejas desde la campaña 2013 hasta la actualidad, del 76,6% al 87,5% en apiarios y del 26,1% al 37,2% en todas las colonias seleccionadas al azar (ver figura N2).

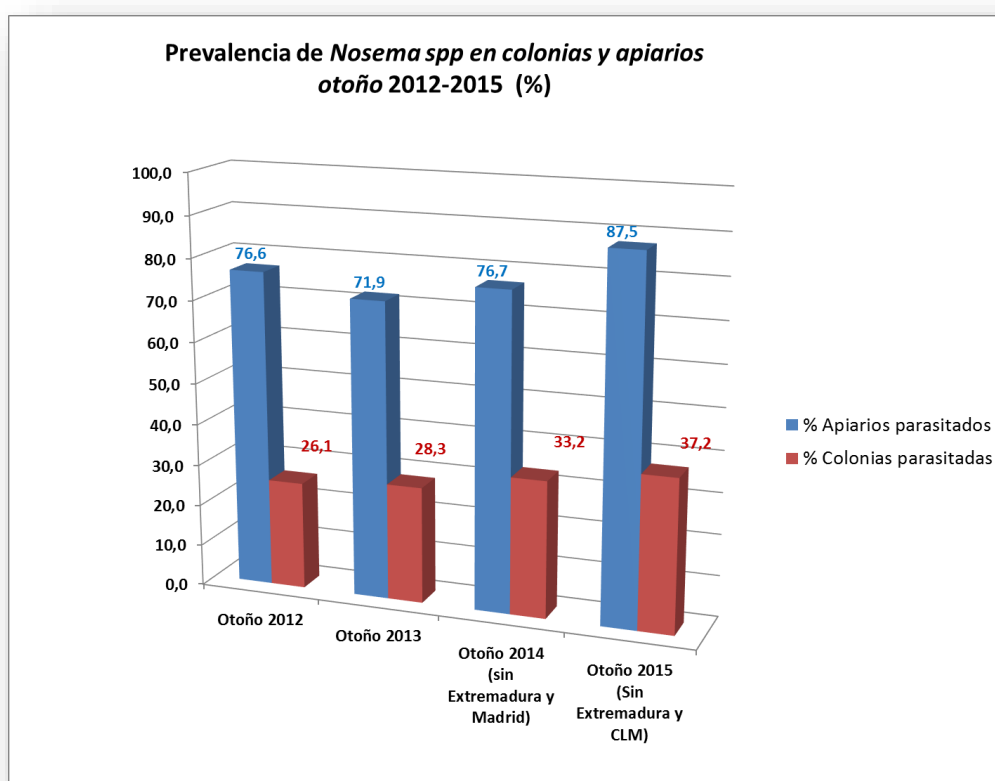


Figura N2: evolución de la prevalencia de *Nosema spp* en colonias y apiarios (otoño 2012-15).

En otoño, las tasas de infestación moderadas a muy graves se han incrementado a lo largo de las tres campañas tanto en apiarios (18,4 al 21,9%) como en las colonias (12,8 al 20,1%) (ver figuras N3, N4 y tablas N2 y N3).

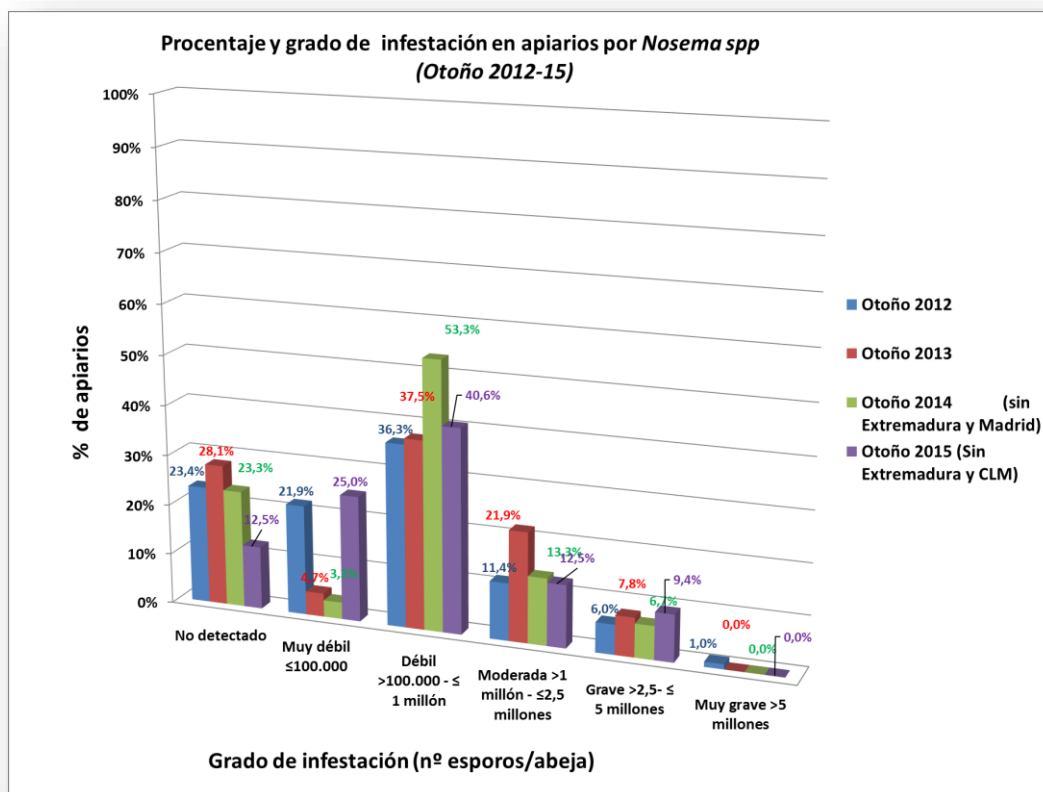


Figura N3: Evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño 2012-2015).

apiarios	Tasas de moderadas a muy graves				
	CAMPAÑA	2012-13	2013-14	2014-15	2015-16
% Apiarios		18,4	29,7	20,0	21,9

Tabla N2: Evolución de las tasas de infestación moderadas a graves por apiario (otoño 2012-2015)

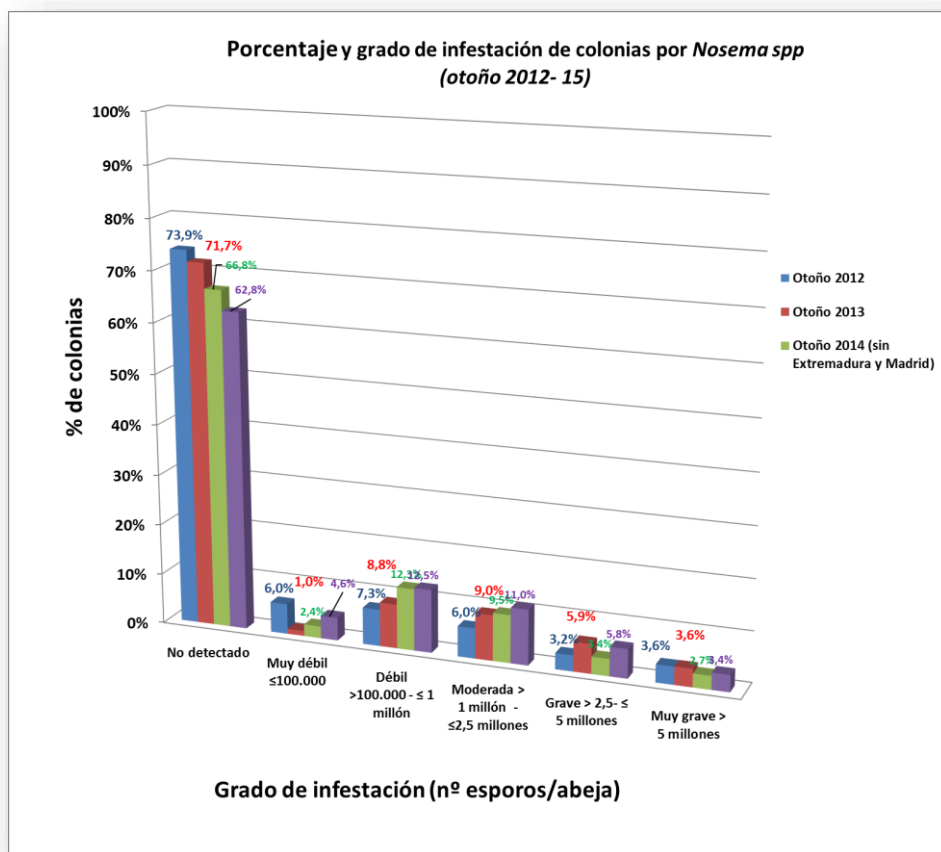


Figura N4: Evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por colonia (otoño 2012- 2015).

	Tasas de moderadas a muy graves			
CAMPAÑA	2012-13	2013-14	2014-15	2015-16
% Colonias	12,8	18,5	15,6	20,1

Tabla N3: Evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en colonias (otoño 2012- 2015).

Tipificación molecular

Tal como se muestra a continuación en la figura N5, para los cuatro períodos estudiados (otoño 2012-2015), las colonias positivas a *Nosema spp* lo fueron a *N. ceranae* en un 90,6% de los casos, llegando a alcanzar el 95,3 % en otoño de 2014. Tan sólo un 6,5% de las infestaciones se debieron a *Nosema apis* y un 2,9% fueron infestaciones mixtas. Las CCAA en las que sólo se detectó *Nosema ceranae* a lo largo de la campaña fueron Asturias, Cataluña, Extremadura, Madrid y Murcia.

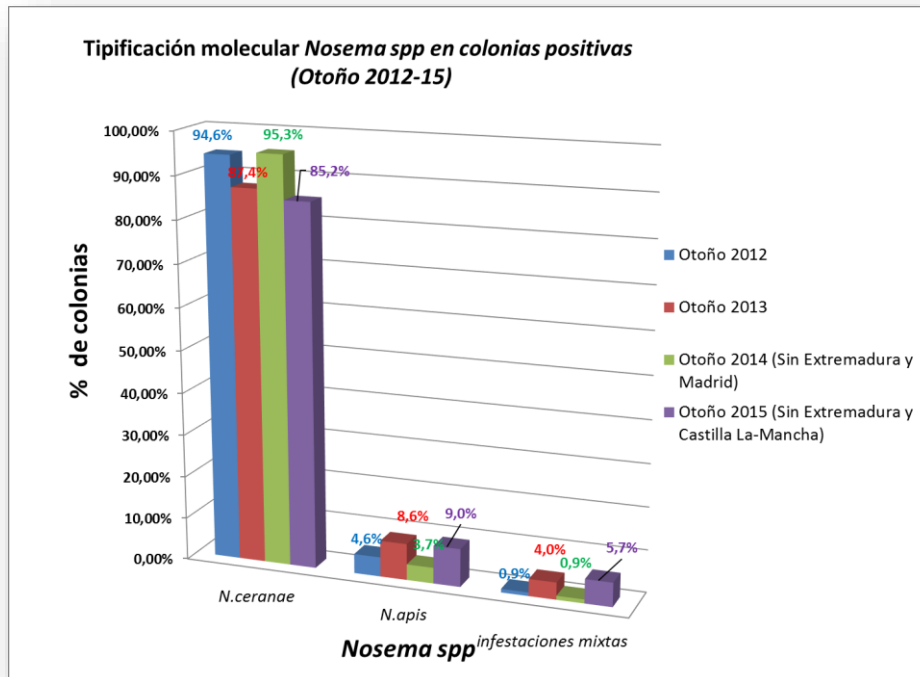


Figura N5: Prevalencias de *N. ceranae* y *N. apis* en colonias positivas (otoño 2012- 2015).

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).

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 (Martin Hernández, R. et al, 2007).

3.3.2.1. NOSEMOSIS

Clínicamente se han registrado trece sospechas de cuyo análisis se deriva una prevalencia muy baja en las tres visitas (otoño, primavera y verano) (ver tabla N4) alcanzándose un 4,4% anual (ver figura N6), cifra similar a la observada en la campaña 2012-13. Todos los casos clínicos confirmados en esta campaña fueron debidos a *Nosema ceranae*.

NOSEMOSIS	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL 2015-16	TOTAL
Nº de muestras con síntomas (nosemosis)	51	54	33	13	138
Nº de recuento de esporas (nosemosis)	49	54	33	13	136
Nº de PCR (tipificación <i>Nosema spp</i>)	52	31	22	8	113

Tabla N4: Número de muestras con síntomas y análisis realizados durante las Campañas (2012-16)

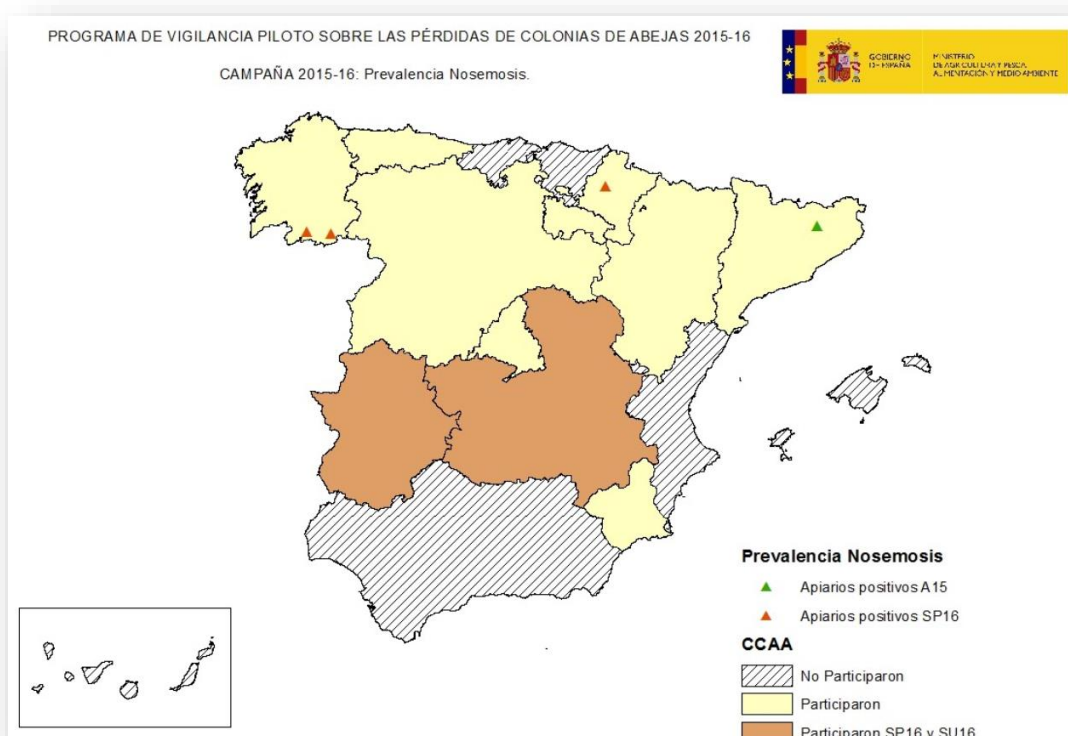


Figura N6: Prevalencia clínica de nosemosis clínica en apiarios durante la campaña 2014-2015

En la figura N7, se muestra la evolución de la prevalencia clínica a lo largo de las cuatro campañas evaluadas, observándose un incremento en su detección hasta campaña 2014-2015, donde se alcanzó la máxima prevalencia, 6,3%.

Se observa que la prevalencia clínica, al igual que para el caso de la varroosis, no está en correspondencia con la prevalencia sistemática.

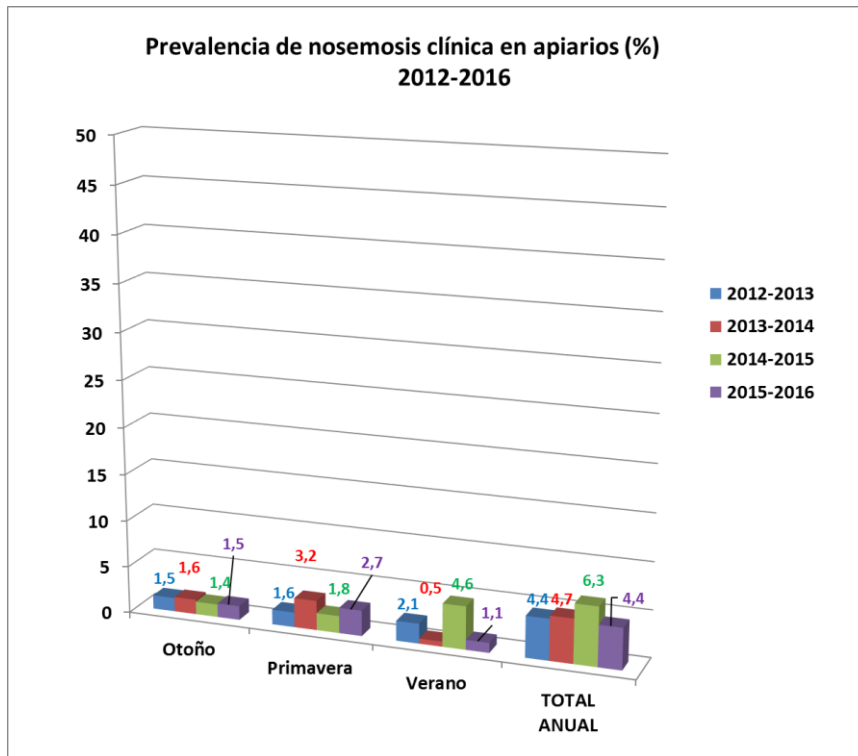


Figura N7: Evolución de las tasas de prevalencia de nosemosis clínica (2012-2016).

3.3.3. VIRUS DE LAS ALAS DEFORMADAS

A pesar de que los resultados obtenidos durante el muestreo sistemático llevado a cabo en otoño de 2012 señalaron una prevalencia muy elevada del DWV, alcanzando al 99% de los apiarios y al 82,8% de las colonias, de nuevo la prevalencia clínica esta campaña ha sido muy reducida tal y como puede apreciarse en las figuras DWV1 y DWV2.

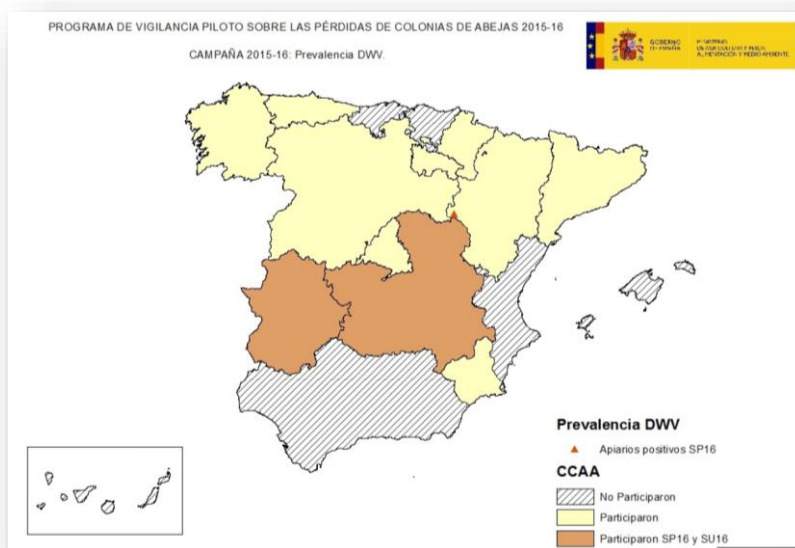


Figura DWV3: distribución geográfica de la prevalencia clínica del virus DWV durante las campañas 2012-2015

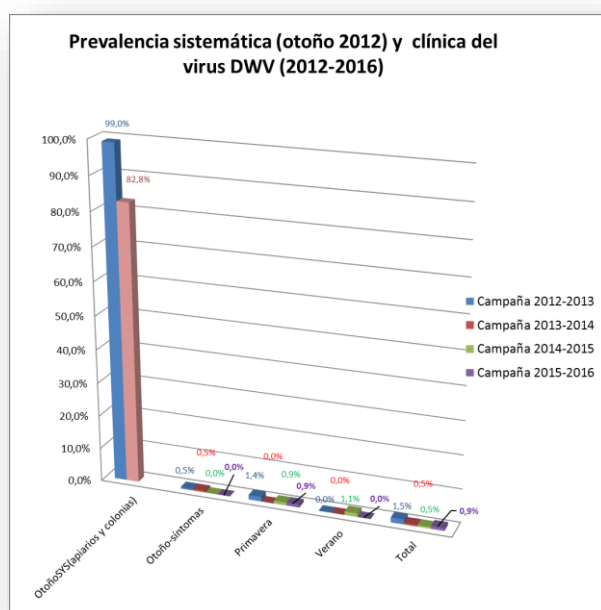


Figura DWV2: prevalencia sistemática (otoño 2012) y clínica del virus DWV en apiarios a lo largo de las campañas (2012-2016).

3.3.4. VIRUS DE LA PARÁLISIS AGUDA

Al igual que sucedió en el periodo anterior, la prevalencia clínica del ABPV ha sido nula durante la Campaña 2015-2016 como puede observarse en la figura ABPV1.

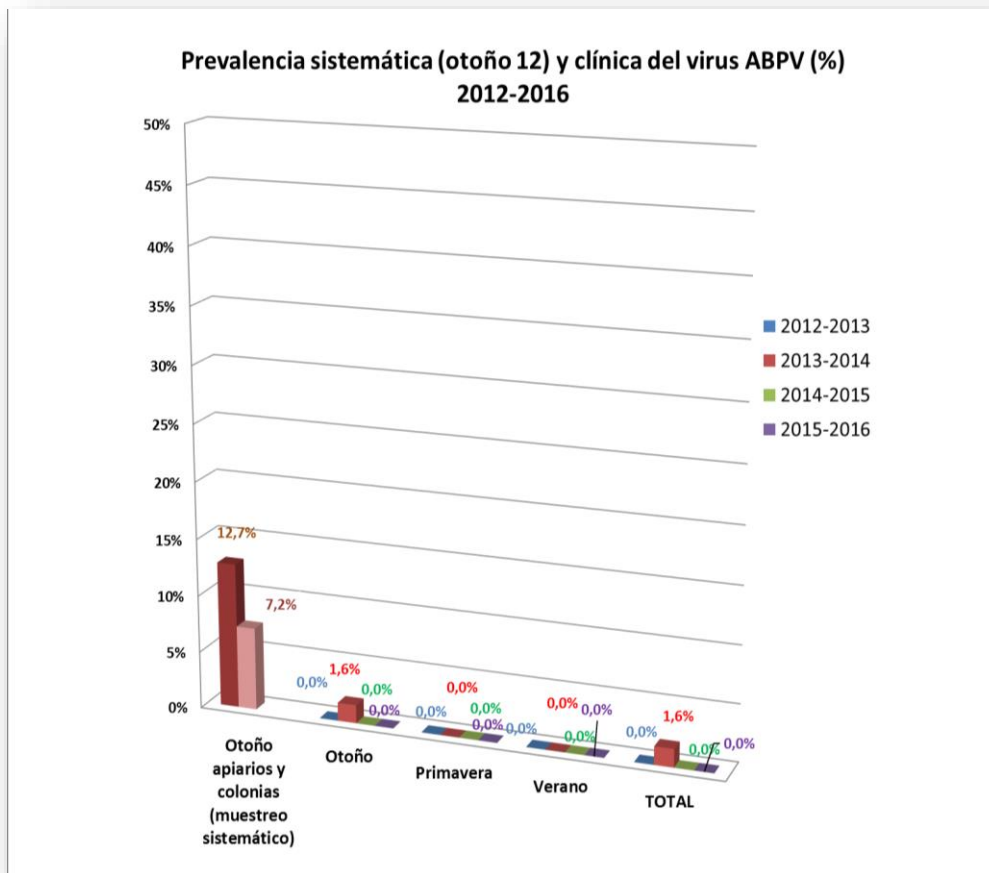
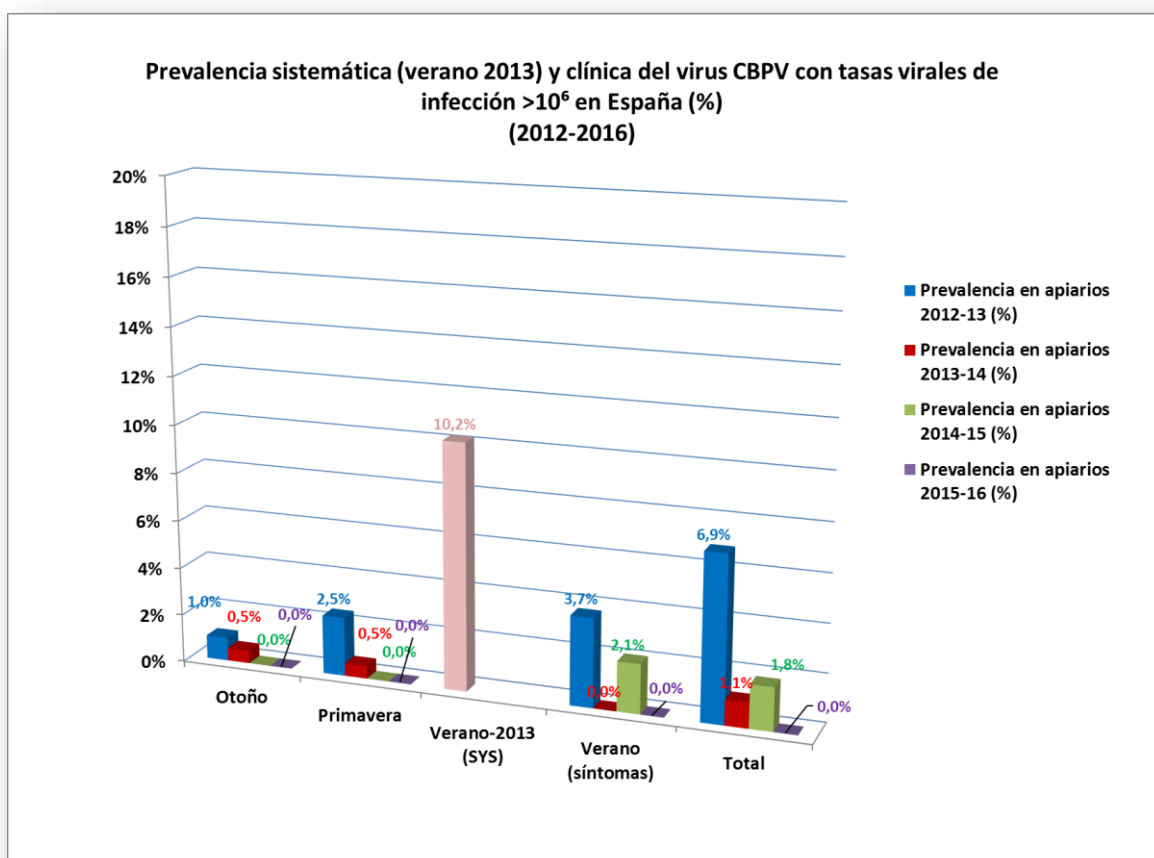


Figura ABPV1: Prevalencia sistemática (otoño 2012) y evolución clínica del virus ABPV en apiarios a lo largo de las campañas (2012-2016).

3.3.5. VIRUS DE LA PARÁLISIS CRÓNICA

A lo largo de la campaña 2015-2016 no se ha detectado ningún caso clínico de parálisis crónica. Teniendo en cuenta que se considera como **caso clínico positivo al virus CBPV** la detección de un **número de partículas virales por abeja superiores a 10^6** , la evolución clínica de la enfermedad puede observarse en el siguiente gráfico.



CBPV1: evolución de la prevalencia clínica de CBPV durante 2012-16 y prevalencia sistemática en verano de 2013 ($> 10^6$ partículas virales/abeja)

3.3.6. LOQUE AMERICANA

Durante la campaña 2015-2016 sólo se han detectado casos de Loque americana en primavera y verano. La prevalencia ha ido aumentando a lo largo de los tres años evaluados, de forma muy significativa durante la campaña 2014-2015 en la que se alcanzó un 8,1% anual, volviendo a tasas similares a la de los años precedentes en la campaña actual.

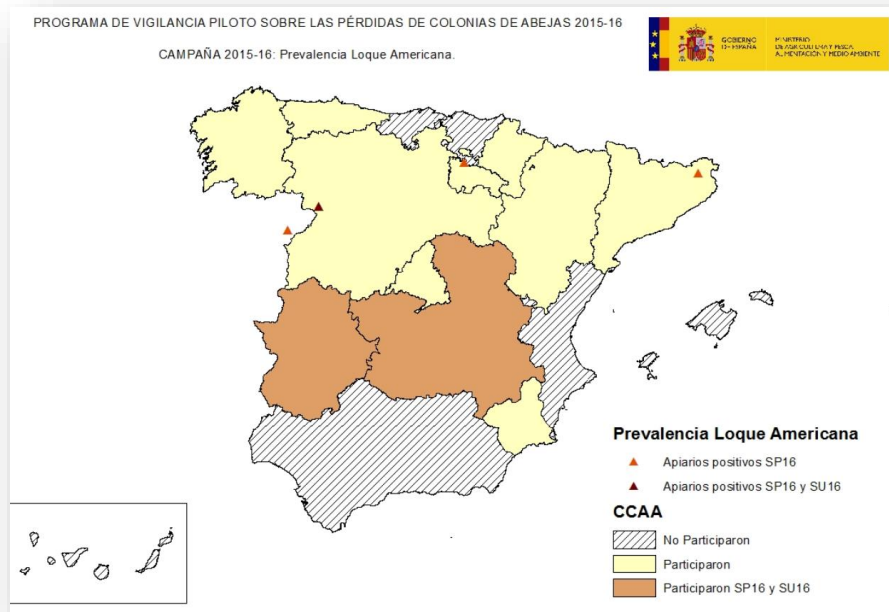


Figura LA1: Distribución espacial de la prevalencia clínica de la Loque americana durante la campaña 2015-2016

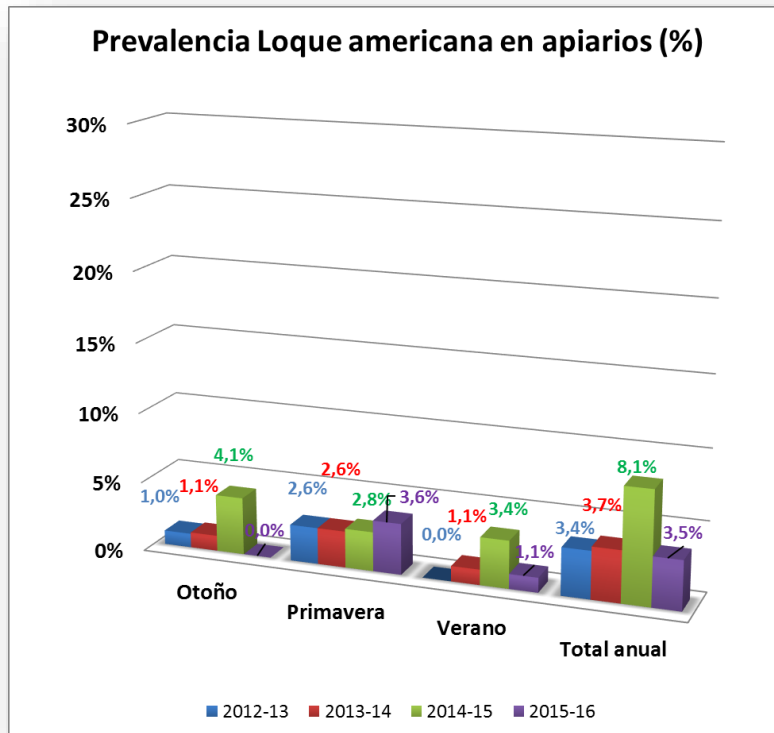


Figura LA2: Evolución de la prevalencia clínica de la Loque americana durante 2012-2016.

3.3.7. LOQUE EUROPEA

A lo largo de las cuatro 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*

No se ha detectado en ningún caso de parásitos exóticos (*Aethina tumida* y *Tropilaelaps spp.*) durante las 4 campañas. 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 41 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 Y ABEJAS (VERANO 2016).

3.4.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

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.

3.4.1.1. Residuos de pesticidas detectados

Se han analizado un total de 207 pesticidas (con un límite de cuantificación entre 5,0 y 10,0 µg/kg) en las 89 muestras de panal y 89 muestras de abejas recogidas durante el verano de 2016, utilizando el método de extracción QuEChERS modificado para cada matriz (panal de polen y abejas) y posterior análisis mediante GC-MS/MS y micro-LC-MS/MS (ver anexo I).

En todas las muestras se detectaron residuos, un total de 77 pesticidas detectados en panal de polen y 55 en abejas, variando el número encontrado en cada muestra entre 2 y 30 en muestras de panal de polen y entre 0 y 9 en muestras de abejas (figura P1).

En la mayoría de las muestras se detectó un promedio de 8,1 pesticidas en muestras de panal de polen, cifra superior al verano de 2013 (6 pesticidas por muestra), y 2,5 en abejas. Así para este periodo en un 66,7% de las muestras de panal de polen se detectaron entre 5-9 pesticidas, % similar al detectado para el verano de 2013 (64%) y ese mismo rango de número de pesticidas por muestra. Un 86,5% de las abejas presentó entre 1-4 pesticidas.

En el siguiente gráfico (**figura P1**) se representa la comparación del número de pesticidas hallados durante el verano de 2016 sobre las muestras de panal de polen y abejas con la campaña 2012-13.

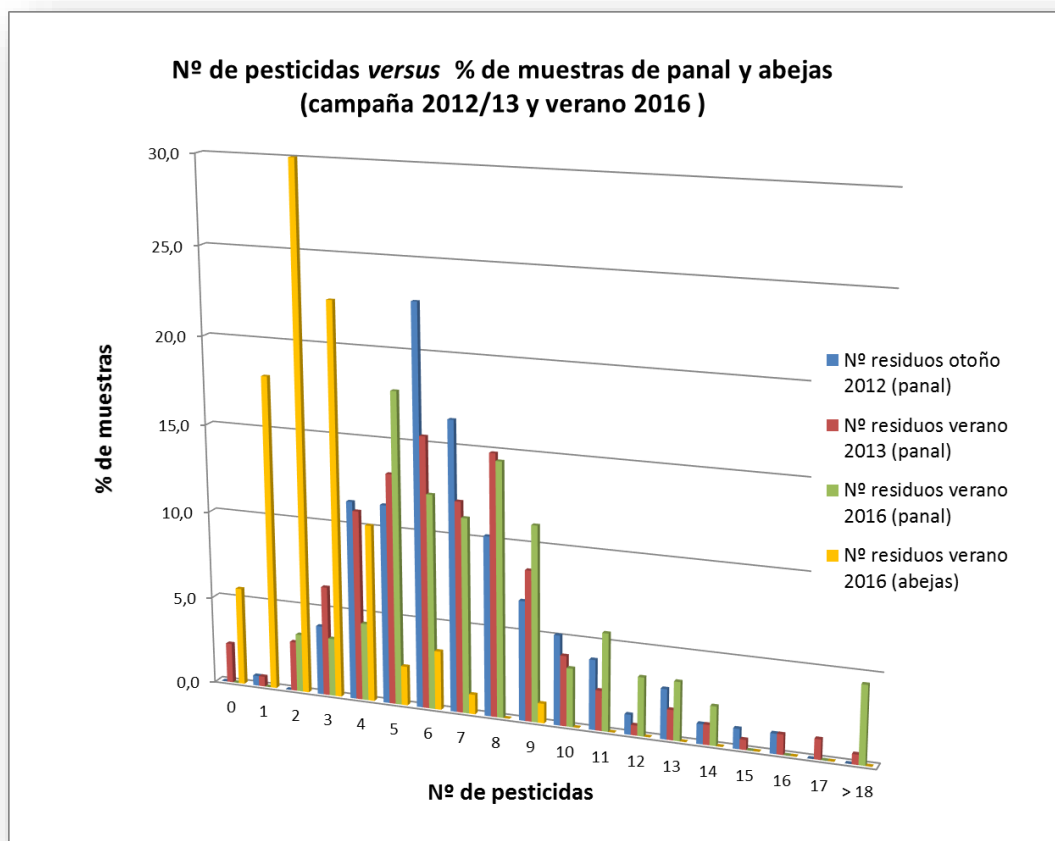


Figura P1: Distribución de número de residuos de pesticidas encontrados versus número de muestras de panal (otoño 2012, verano 2013 y verano 16) y abejas (verano 2016)

La concentración total de pesticidas en todas las muestras de **panal de polen** analizadas durante el verano de 2016 varió entre 16,0 y 7.068,5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. La concentración promedio calculada para el verano de 2016, 1.264,5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, fue muy similar a la del verano de 2013, 1.255 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. La mayoría de las muestras analizadas, 40,0%, contenían una concentración total comprendida entre 500 y 1.500 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, siendo este porcentaje muy superior al registrado en verano de 2013 (28,2%). Sólo el 5,6% de muestras de panal mostraron niveles inferiores a 50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, mientras que ninguna de las muestras analizadas presentó una concentración superior a 10.000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

La concentración total de pesticidas en todas las **muestras de abejas** analizadas durante el verano de 2016 varió entre 0,0 y 243,2 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ en abejas. La concentración promedio detectada es inferior a la de panal polen, un 74,2% de las muestras presentaron una concentración total de pesticidas inferior a 50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

En la **figura P2** se representa la evolución de la concentración total de residuos de pesticidas detectados sobre las muestras (correspondiente a la suma de las concentraciones medidas de cada pesticida detectado) en panal de polen (otoño de 2012, verano de 2013 y 2016) y abejas (verano de 2016).

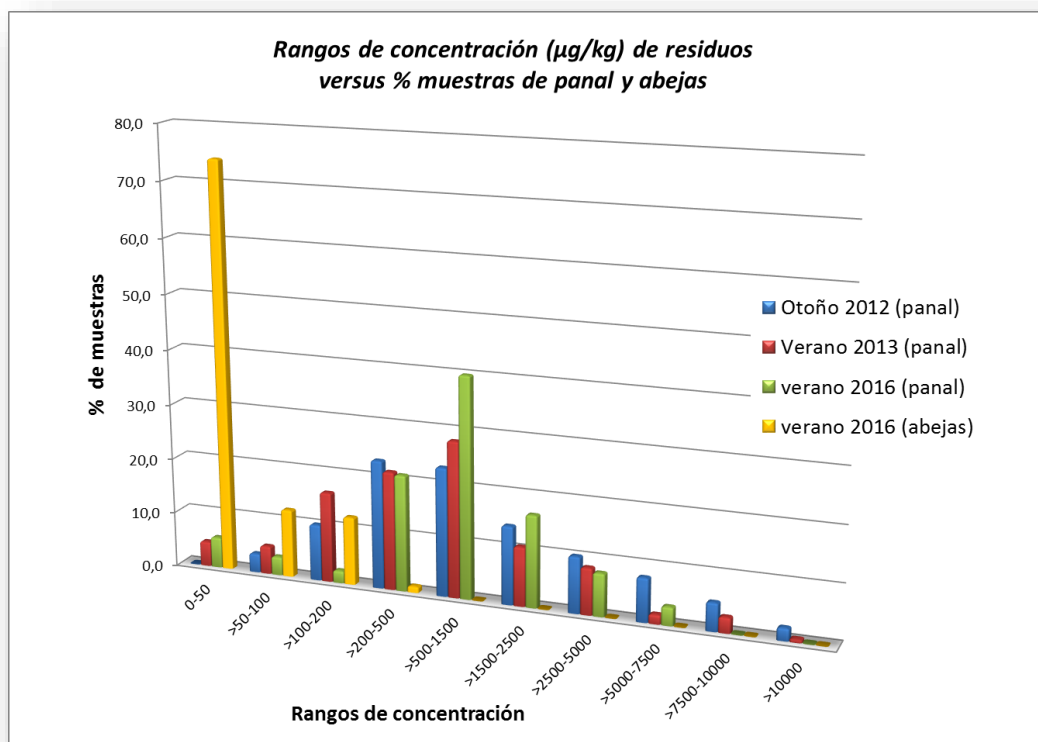


Figura P2: Rangos de concentración total (µg/Kg) de residuos de pesticidas versus % de muestras de panal (otoño 2012, verano 2013 y verano 2016) y abejas (verano 2016).

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 µg/abeja (Washington State Department of Agriculture, 2010). En el verano de 2016, en un 78,9% de las muestras de panal de polen y en un 10,1 % de las muestras de abejas se detectó algún tipo de residuo muy tóxico para las abejas, variando la suma de las concentraciones entre 0,0 y 420,0 µg/kg en panal de polen y de 0 a 87,4 µg/kg en abejas. No se han observado variaciones significativas respecto de los periodos evaluados anteriormente (ver Tabla P1).

	Otoño 2012 (panal)	Verano 2013 (panal)	Verano 2016 (panal)	Verano 2016 (abejas)
% de detección de residuos muy tóxicos	83,5%	80,8%	78,9%	10,1%

Tabla P1: Evolución de la frecuencia de detección de pesticidas muy tóxicos para las abejas

En el siguiente gráfico (figura P3) se muestra la comparación entre el número de pesticidas muy tóxicos hallados en relación al % de muestras de panal y abejas analizados en los muestreos sistemáticos llevados a cabo desde el otoño de 2012. Un 55,6% de las muestras de

panal presentó de 1 a 2 pesticidas muy tóxicos, siguiendo un patrón muy similar al registrado en la campaña 2012-13. Por otro lado, el 88,8% de las abejas analizadas no presentó ningún residuo de pesticida muy tóxico para las abejas y un 9 % presentó de 1 a 2 pesticidas muy tóxicos.

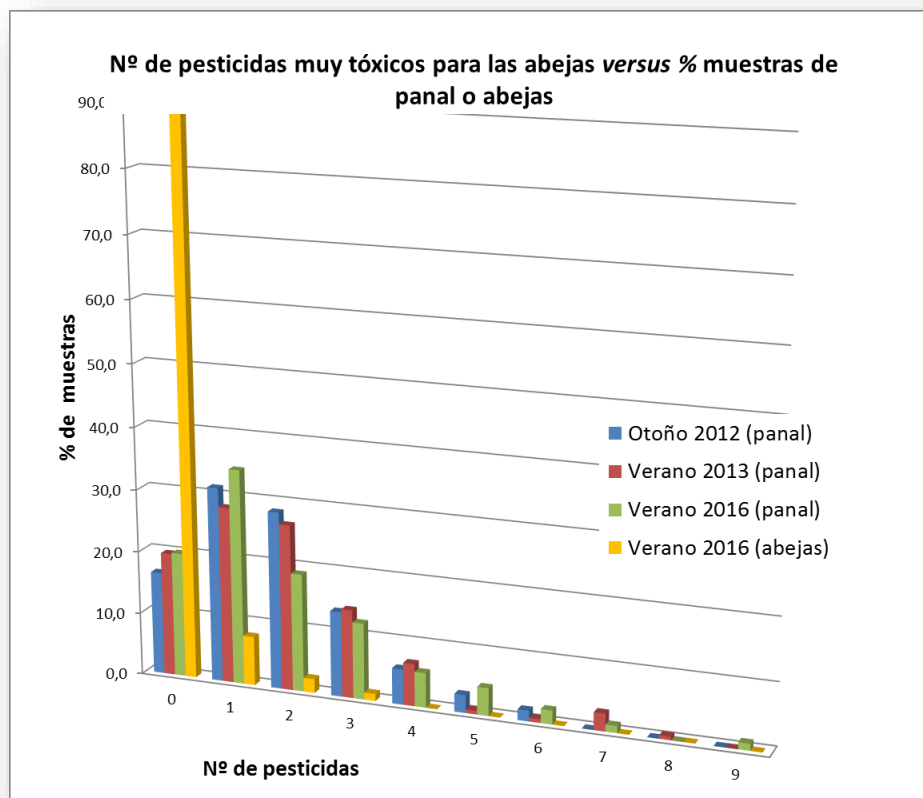


Figura P3: Distribución de número de residuos de pesticidas muy tóxicos para las abejas encontrados versus el % de muestras de panal (otoño 12, verano 13, verano 16) y abejas (verano 2016)

La concentración total de pesticidas muy tóxicos para las abejas en todas las muestras analizadas en el verano de 2016 varió entre 0,0 y 420,0 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ en panal de polen y de 0 a 87,4 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ en abejas. En la **figura P4** se representa la evolución de 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 las distintas campañas. Un 52,2 % de las **muestras de panal de polen** analizadas en verano de 2016 contenían una concentración total de residuos de pesticidas muy tóxicos comprendida entre 5 y 50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Un 10,0 % de las muestras presentaron concentraciones superiores a los 50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. En relación a los rangos de concentraciones detectados en las **muestras de abejas**, en su mayoría (89,9%) no presentó ningún tipo de pesticida tóxico para las abejas. En un 5,6% se detectaron rangos de concentración que variaron entre 5 y 50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

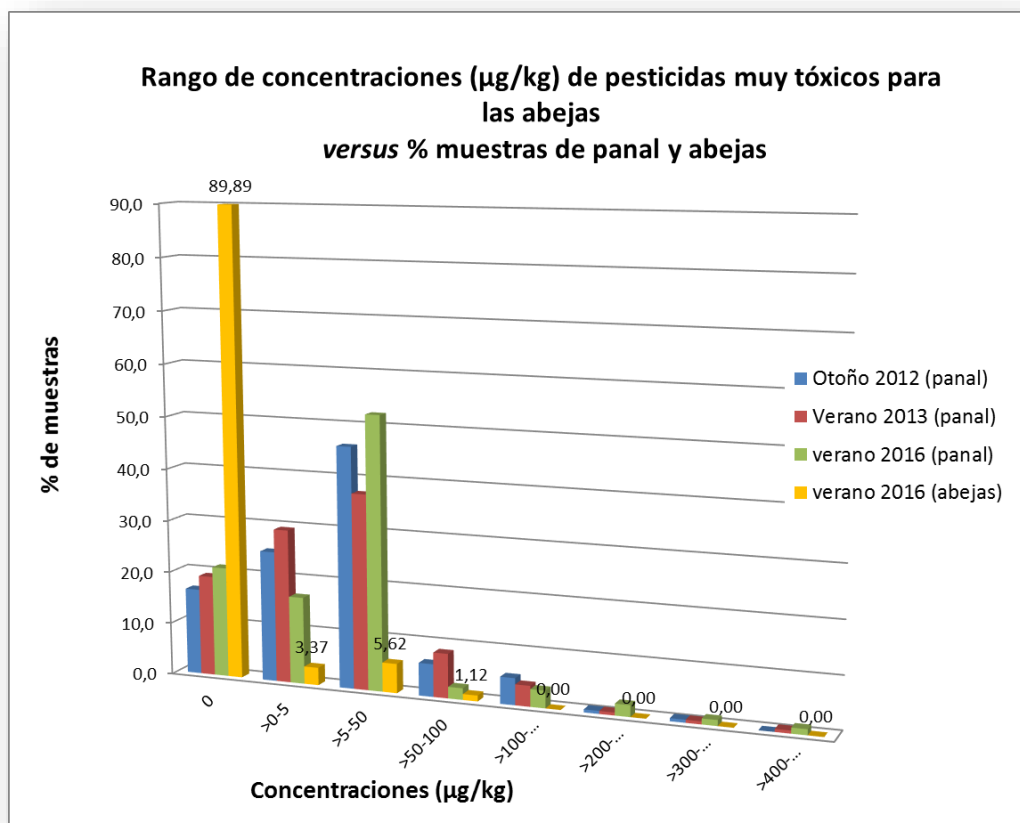


Figura P4: Rangos de concentración total ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) de residuos de pesticidas muy tóxicos para las abejas versus número de muestras de panal (otoño 2012, verano 2013, verano 2016) y abejas (verano 2016)

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 verano de 2016 en panal de polen y abejas, donde las mayores concentraciones se detectaron sobre todo en la mitad sur y levante peninsular.

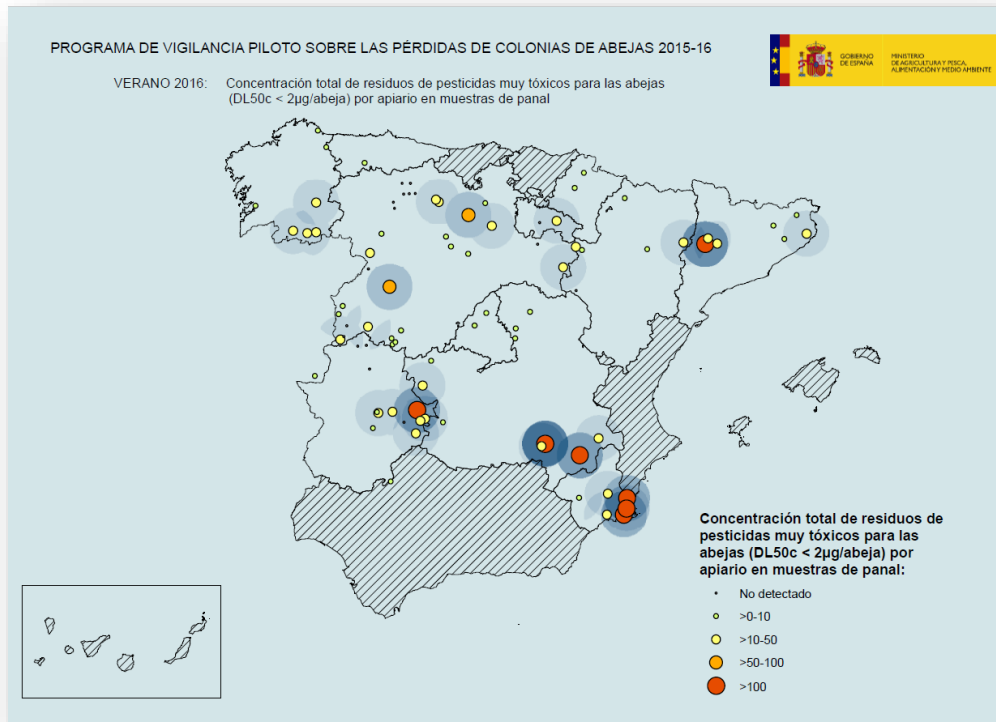


Figura P5: Distribución de la concentración total de residuos muy tóxicos de pesticidas para las abejas por apiario en **muestras de panal** (verano 2016)

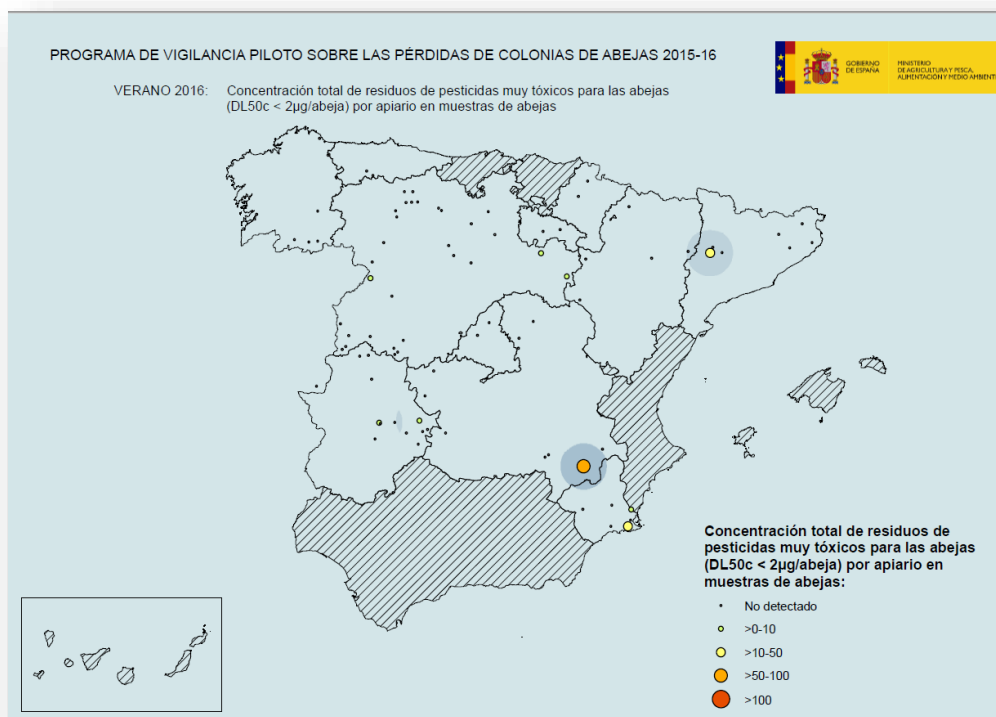


Figura P6: Distribución de la concentración total de residuos muy tóxicos de pesticidas para las abejas por apiario en **muestras de abejas** (verano 2016)

3.4.1.3. Distribución de residuos de pesticidas por frecuencias de detección

Durante el verano de 2016, los **pesticidas que se detectaron con una frecuencia superior al 40%** se recogen en la **figura P7**, donde en las muestras de **panal de polen** se registró un aumento de la prevalencia con respecto del verano de 2013 especialmente del Hexaconazol y el Amitraz, seguido de la Acrinathrina y el Coumaphos. En las muestras de **abejas** los pesticidas que se detectaron con mayor frecuencia fueron el Coumaphos, el Tau-Fluvalinato, el Amitraz, el Carbendazim, el Orthophenilphenol, la Achrinatrina y el Chlorpyrifos.

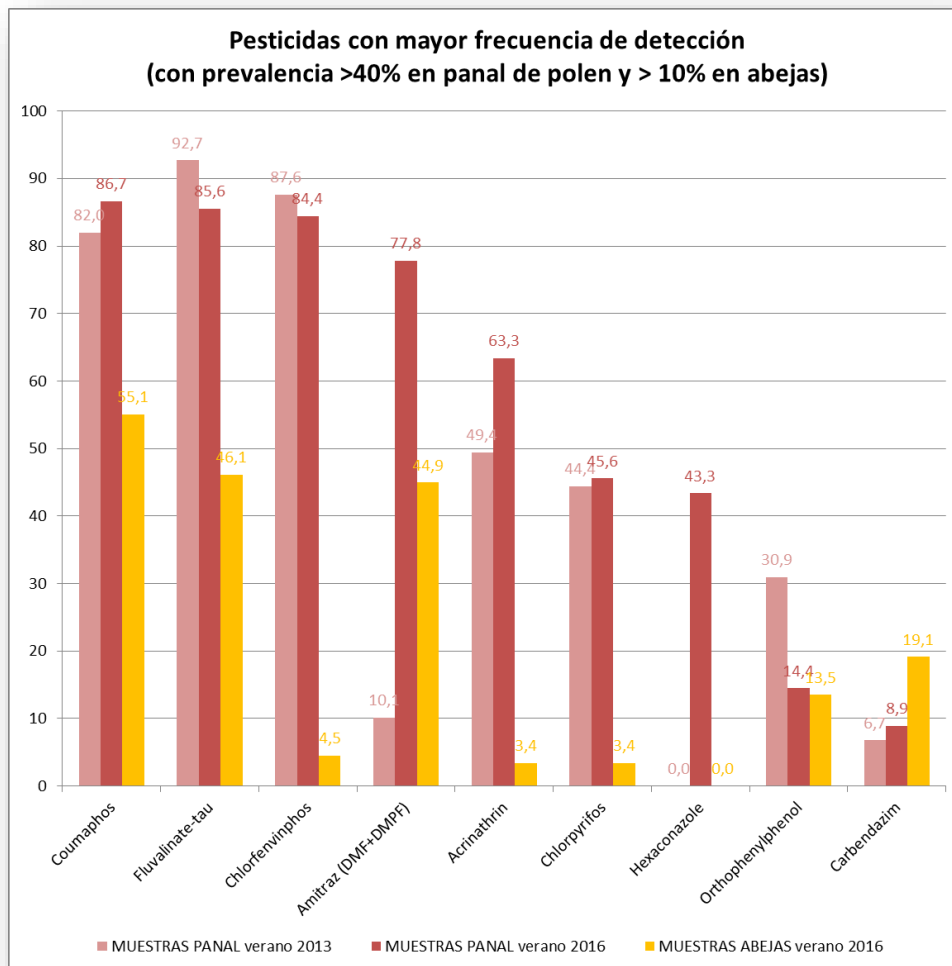


Figura P7 Evolución de la frecuencia de detección de los pesticidas que aparecen con mayor frecuencia en panal de polen (>40%) y en abejas (>10%)

Por otro lado, los **pesticidas muy tóxicos para las abejas** que se detectaron con mayor frecuencia en panal de polen y abejas fueron los que se muestran en la figura P8.

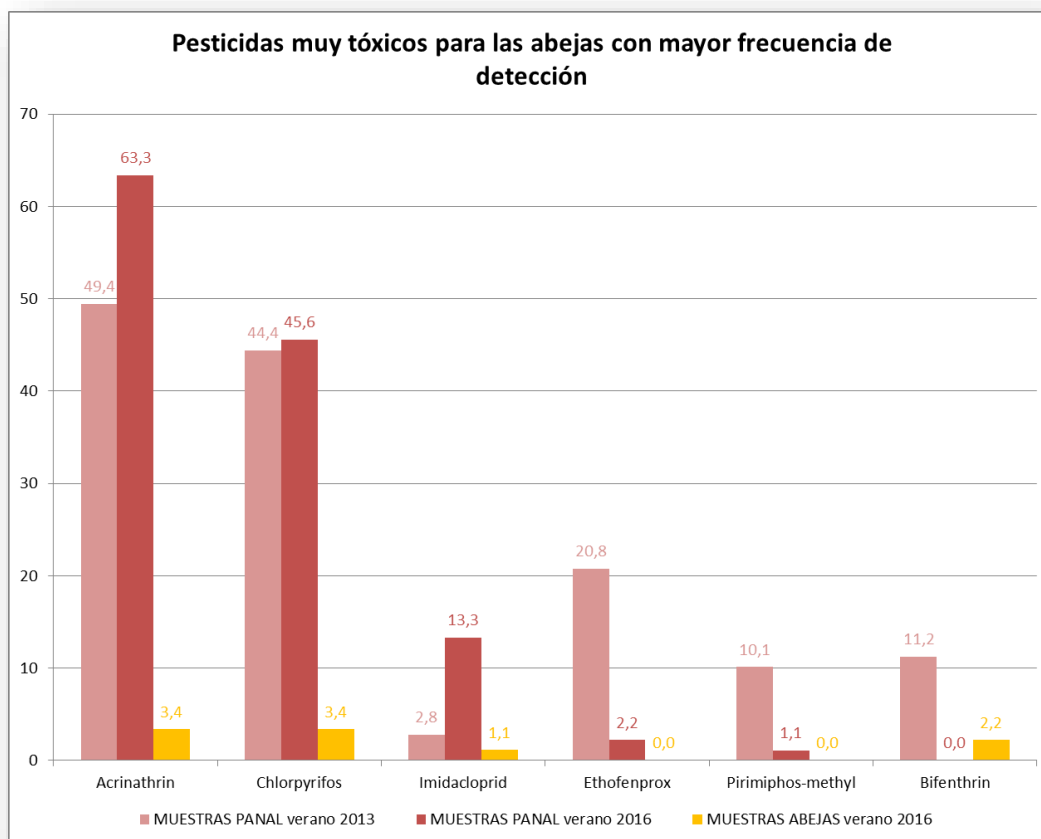
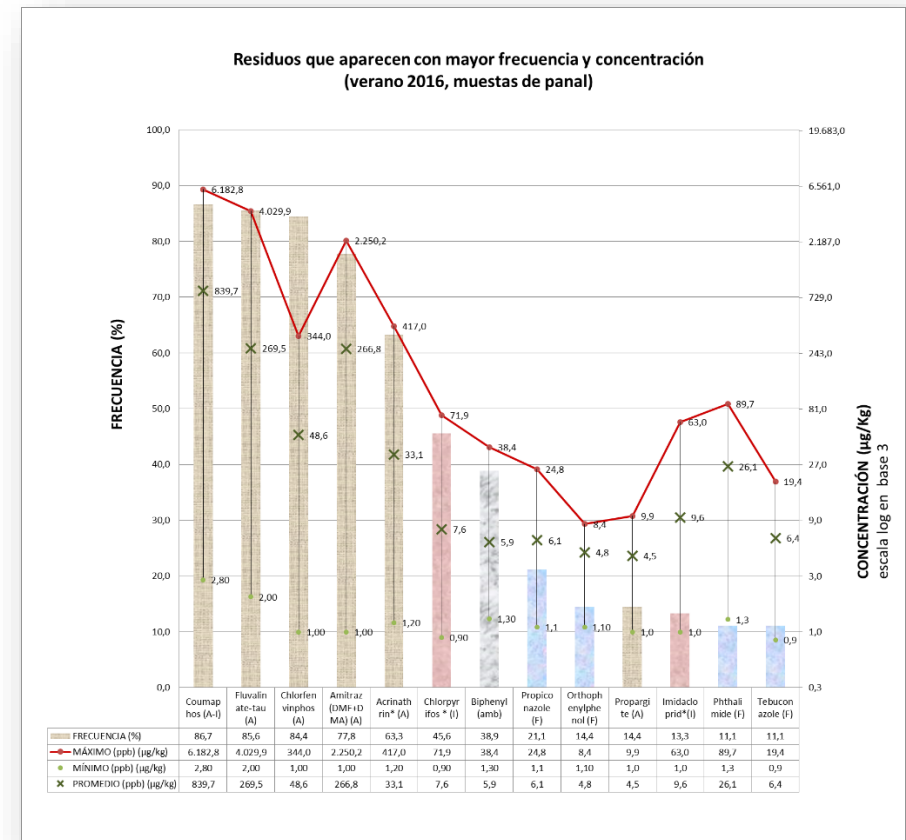
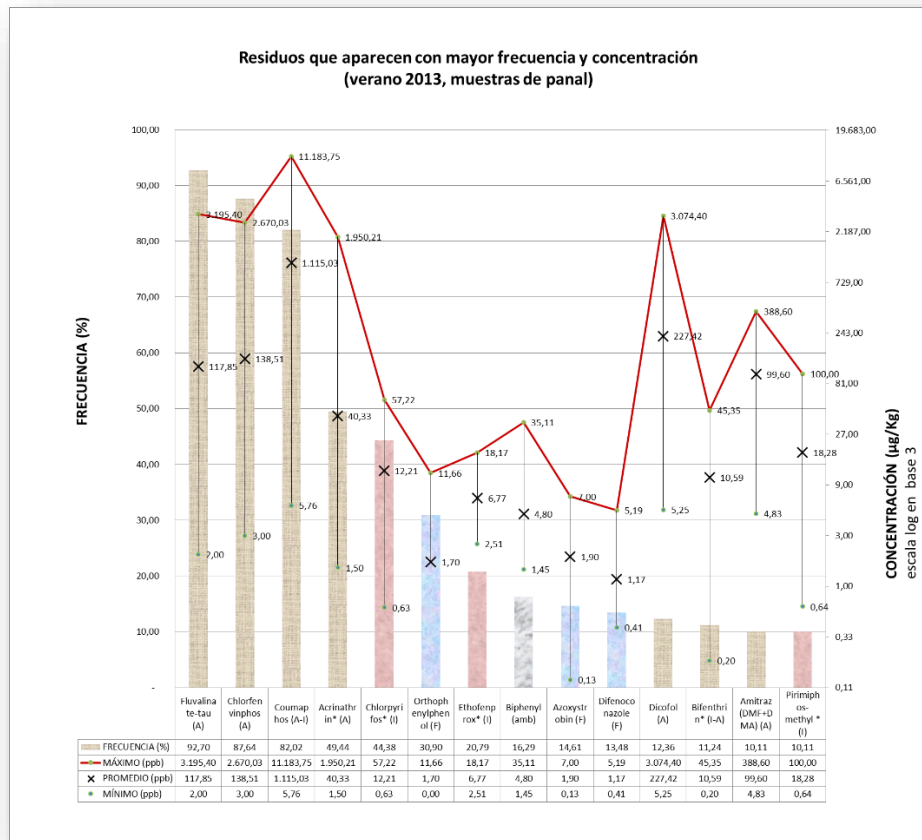


Figura P8: Evolución de la frecuencia de detección de los pesticidas muy tóxicos para las abejas que aparecen con mayor frecuencia en panal de polen (>10%) y en abejas (>10%)

En cuanto a los pesticidas sometidos a prohibiciones y restricciones de uso por la normativa europea (**Clotianidina, Imidacloprid, Tiametoxam y Fipronil**) cabe decir que no detectó en ningún caso Clotianidina, Fipronil ni Tiametoxam. Sin embargo, se detectó Imidacloprid en un 13,3% de las muestras de panal y en 1,1% de las muestras de abejas, porcentaje muy superior detectado en relación al verano de 2013 especialmente si tenemos en cuenta también que no se tomaron muestras ni en la Comunidad Valenciana ni en Andalucía. El riesgo de intoxicación aguda calculado para el imidacloprid en panal de polen fue moderado (2%) y leve el detectado para las abejas (0,01%).

En las Figuras P9, P10 y P11 se relacionan los residuos de pesticidas detectados con mayor frecuencia en **panal de polen (>10%)** y **abejas** y su concentración promedio, máxima y mínima detectadas en las muestras de panal de polen (verano de 2013 y verano de 2016) y abejas (verano de 2016).



Figuras P9 y P10: residuos detectados con mayor frecuencia y concentración en el muestreo sistemático en panal de polen (verano 2013 y verano 2016).

* Pesticidas muy tóxicos para las abejas.

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

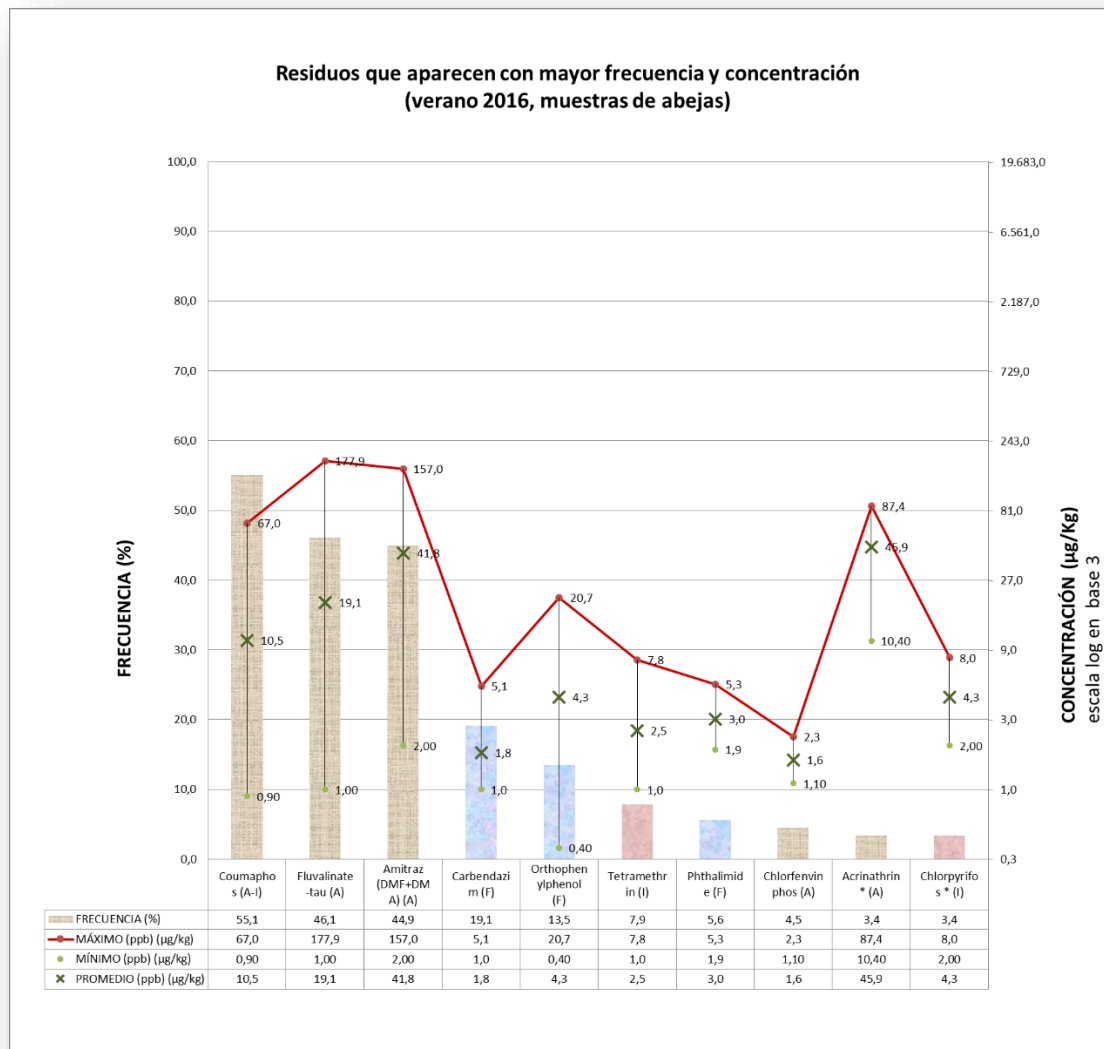


Figura P11: residuos detectados con mayor frecuencia y concentración en el muestreo sistemático de verano de 2016 en abejas.

* Pesticidas muy tóxicos para las abejas.

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

En la tabla P1 se analizan los posibles orígenes de los residuos de pesticidas detectados con una frecuencia superior al 10% en relación a su autorización para usos agrícolas, apícolas u en otras especies ganaderas.

FRECUENCIA (%)	MUESTRAS PANAL verano 2013	MUESTRAS PANAL verano 2016	MUESTRAS ABEJAS verano 2016	Autoriz. uso agrícola	Autoriz. uso apícola	Autoriz. otras especies ganaderas
Coumaphos (I-A)	82	86,7	55,1	NO	SÍ	NO
Fluvalinate-tau (A)	92,7	85,6	46,1	SÍ	SÍ	NO
Chlorfenvinphos (I-A)	87,6	84,4	4,5	NO	NO	NO ⁽¹⁾
Amitraz (DMF+DMPF)(A)	10,1	77,8	44,9	NO ⁽³⁾	SÍ	SÍ
Acrinathrin* (A)	49,4	63,3	3,4	SÍ	NO	NO
Chlorpyrifos* (I)	44,4	45,6	3,4	SÍ	NO	NO
Hexaconazole (F)	0	43,3	0	NO	NO	NO
Biphenyl (PCB)	16,3	38,9	1,1	NO	NO	NO
Propiconazole (F)	0	21,1	2,2	SÍ	NO	NO
Orthophenylphenol** (F)	30,9	14,4	13,5	SÍ**	NO	NO
Propargite (A)	3,4	14,4	0	NO	NO	NO
Imidacloprid*(I)	2,8	13,3	1,1	NO	NO	NO
Tebuconazole(F)	5,6	11,1	0	SÍ	NO	NO
Phthalimide (F)	2,8	11,1	5,6	NO	NO	NO
Diphenylamine (uso industrial)	3,9	10	1,1	NO	NO	NO
Carbendazim (F)	6,7	8,9	19,1	NO	NO	NO
Azoxystrobin (F)	14,6	5,6	0	SÍ		
Dicofol (A)	12,4	5,6	1,1	NO ⁽²⁾	NO	NO
Ethofenprox*(I)	20,8	2,2	0	SÍ	NO	NO
Difenoconazole (F)	13,5	2,2	0	SÍ	NO	NO
Pirimiphos-methyl*(I)	10,1	1,1	0	SÍ	NO	NO
Bifenthrin* (I-A)	11,2	0	2,2	SÍ	NO	NO

* Muy tóxico para las abejas

** Uso restringido postcosecha

⁽¹⁾ desde 22/04/2013

⁽²⁾ 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

⁽³⁾ Sustancia activa excluida del Anexo I de la Directiva 91/414/CEE

Tabla P1: Frecuencias de distribución de los pesticidas que aparecen con una frecuencia superior al 9% en panal de polen y abejas al menos un periodo (otoño 2012, verano 2013 y verano 2016) y autorizaciones de uso de los pesticidas detectados con más frecuencia y posible origen. A: acaricida; I: insecticida; F: fungicida.

3.4.2. EVALUACIÓN DE RIESGO (verano de 2016)

La evaluación de riesgo se ha llevado a cabo, al igual que para la realizada durante el periodo 2012-2013 según la metodología propuesta por Sanchez Bayo, F. et al, 2014, relacionando su frecuencia, concentración y toxicidad para las dos matrices analizadas durante este periodo (panal de polen y abejas).

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 muestras (panal de polen y abejas) y dos estratos (nacional y 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)/o bien en función de la concentración de pesticidas hallados en el cuerpo de una abeja.* 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:

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

$$\text{Riesgo(abejas)} = \frac{\text{Frecuencia (\%)} \times \text{Dosis de residuo} \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg abejas}} \right]}{DL50 \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{abeja}} \right] * 10.000 \left[\frac{\text{abejas}}{\text{kg abejas}} \right]}$$

* 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 para el caso del panal de polen, un contacto diario con 1gr panal de polen (para el caso del cálculo de este parámetro en panal de polen).

Este parámetro se ha aplicado tanto a nivel **nacional** como en 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.

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

$$T50c \text{ abejas (días)} = \frac{LD50c \left[\frac{\mu g}{\text{abeja}} \right] * 10.000 \left[\frac{\text{abejas}}{kg \text{ abejas}} \right]}{\text{Concentración residuo en abejas} \left[\frac{\mu g}{kg \text{ abejas}} \right]}$$

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

3.4.2.1. Evaluación de riesgo de intoxicación aguda y toxicidad acumulada en panal de polen y abejas.

En las **tablas P2 y P3** se muestra el riesgo de intoxicación aguda y acumulada calculado para el **panal de polen y abejas** para cada compuesto detectado en verano de 2016. 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.

La **evaluación de riesgo en panal de polen** muestra que los pesticidas que más riesgo supusieron para las abejas han sido la Acrinathrina, el Ethofenprox, el Spinosad, el Chlorpyrifos, el Coumaphos y el Tau-fluvalinato. Se ha registrado un incremento del riesgo en esta época para el Spinosad y el Tau-fluvalinato. Hay que destacar que el riesgo para el Ethofenprox disminuyó, debido a que su frecuencia de detección bajó notablemente, aunque siguió siendo muy elevado. El imidacloprid pasó de tener un riesgo leve en verano de 2013 a moderado en verano de 2016 debido al incremento de su prevalencia. El riesgo de intoxicación aguda por bifenthrin ha disminuido considerablemente en este periodo pasando a ser despreciable ya que apenas se detectó.

VERANO 2016 (PANAL DE POLEN)				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
Acrinathrin	I-A	SI	0,17	24,64**	5,45**	5,14*	0,41**
Ethofenprox	I	SÍ	0,015	14,17**	7,98**	0,31**	0,28**
Spinosad	I	SÍ	0,003	9,63**	7,71**	0,46**	0,3**
Chlorpyrifos	I	SÍ	0,072	9,60**	2,21*	9,49	1,00**
Coumaphos	I-A	NO	20	7,28**	0,69	23,82	3,24*
Fluvalinate-tau	I-A	SÍ	8,7	5,30**	1,03	32,28	2,16*
Imidacloprid	I	NO	0,061	4,17*	2,29	6,38*	0,97*
Cypermethrin	I-A	SÍ	0,034	3,90*	1,37	4,55*	1,62*
Chlorfenvinphos	I-A	NO	4,1	2,00*	1,86	84,44	11,92
Amitraz (DMF+DMA)	A	NO	50	0,83	0,10	187,42	22,22
Pyridaben	I	SÍ	0,053	0,49	0,42	9,04	5,3*
Malathion	I-A	SÍ	0,47	0,20	0,14	55,89	15,96
Chlorpyrifos Methyl	I	SÍ	0,28	0,14	0,11	47,40	19,67
Phosmet	I	SÍ	0,62	0,09	0,03	153,93	73,74
Dimethoate	I	SÍ	0,12	0,056	0,03	118,83	87,834
Pirimiphos- methyl	I	SÍ	0,27	0,02	0,023	98,05	98,05
Acetamiprid	I	SÍ	7,9	0,012	0,01	908,13	366,55

Tabla P2: 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.

En la **evaluación de riesgo en abejas** no se han detectado pesticidas que supusieran un riesgo de intoxicación aguda sobre ellas, tal y como se puede ver en la tabla P2.

PESTICIDA	VERANO 2016 (ABEJAS)			Riesgo por intoxicación aguda (% probabilidad)		Riesgo por toxicidad acumulada T 50 contacto (días)	
	USO AGRÍCOLA	AUTORIZACI ÓN UE	DL50 (µg/abe ja)	Concentración Promedio	Concentración Máxima	Concentración Promedio	Concentración Máxima
Acrinathrin	I-A	SI	0,17	0,18	0,12	37,01	19,45
Bifenthrin		SÍ	0,015	0,04	0,03	100	75
Chlorpyrifos	I	SÍ	0,072	0,04	0,03	165,78	90,08
Imidacloprid	I	NO	0,061	0,03	0,03	87,09	87,09
Permethrin	I	NO	0,063	0,02	0,02	95,84	95,84
Fluvalinate-tau	I-A	SÍ	8,7	0,02	0,004	4.564,95	489,13
Amitraz (DMF+DMPF)	A	NO	50	0,01	0,0007	11.949,50	3.184,71
Coumaphos	I-A	NO	20	0,01	0,0008	18.985,90	2.985,07

Tabla P3: riesgo de intoxicación aguda en verano por pesticidas (% de probabilidad) y toxicidad en abejas (T50).

-** **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.

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, observándose que con respecto al verano de 2013 el porcentaje de apiarios con riesgo grave a moderado se ha reducido. Ello puede deberse a que en muestreo de 2016 no participaron en el muestreo Andalucía y Valencia.

% APIARIOS	T50 contacto	PROGRAMA		
		Panal verano 2016	Panal verano 2013	Abejas verano 2016
riesgo grave	<2 días	10,0	18,1	0,0
riesgo moderado	2-7 días	24,4	28,2	0,0
riesgo leve/muy leve	>7 días	65,6	53,7	100,0

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 un **riesgo elevado de toxicidad acumulada en panal de polen (T50c inferior a 2 días)** fueron: la Acrinathrina (4), el Spinosad (2), el Ethofenprox (2), el Chlorpyrifos (2), el Imidacloprid (1) y la Cypermethrina (1).

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 en panal de polen (T50c entre 2 y 7 días)** fueron: la Acrinathrina (8), Tau-fluvalinato (6), Chlorpyrifos (5), Coumaphos (5), Cypermethrin (2), Imidacloprid (1), Pyridaben (1).

3.4.2.2. Distribución geográfica del riesgo acumulado (T50 contacto) de los pesticidas con un riesgo superior al 5%

Solamente se han detectado riesgos superiores al 5% en las muestras de panal de polen, en las muestras de abejas el riesgo máximo detectado fue muy leve 0,18%.

En las figuras P10, P11, P12, P13, P14, P15, P16, P17 y P18 se muestra la **distribución de apiarios en España en función del riesgo por toxicidad crónica detectado en panal de polen (T50 por contacto)** para aquellos pesticidas para los que se ha deducido un riesgo nacional elevado de intoxicación aguda (>5%) en verano de 2016, comparándolos con su distribución en verano de 2013.

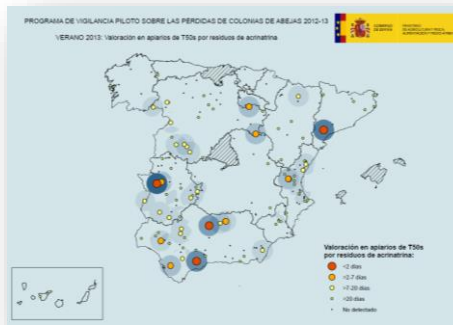
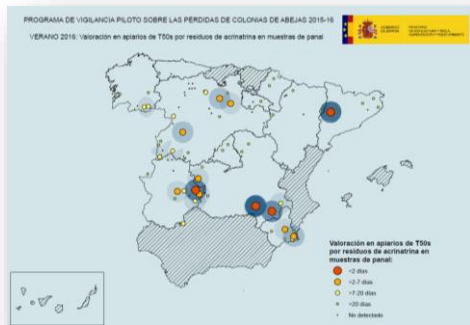


Figura P10 y 11: Valoración por apiario de los T50s por contacto para la Acrinathrina en verano de 2013 y 2016

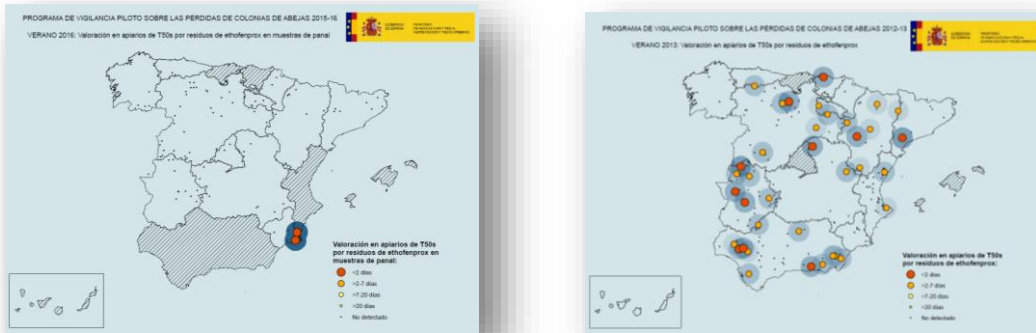


Figura P12 y 13: Valoración por apiario de los T50s por contacto para la Ethofenprox en verano de 2013 y 2016



Figura P14 y P15: Valoración por apiario de los T50s por contacto para la Spinosad en verano de 2013 y 2016

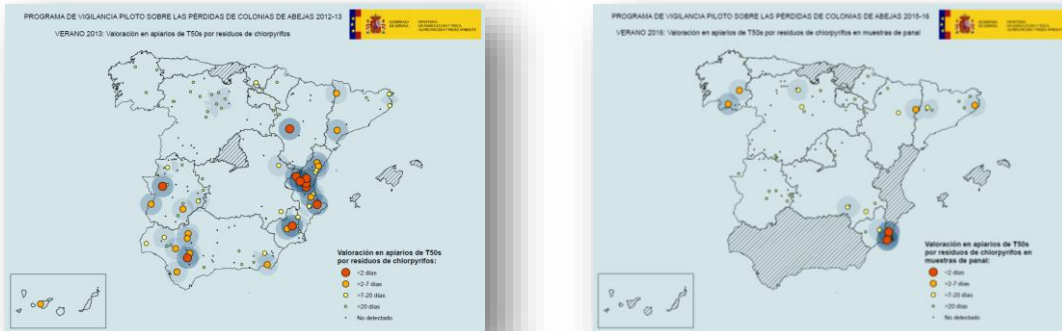


Figura P16 y P17: Valoración por apiario de los T50s por contacto para la Clorpyrifos en verano de 2013 y 2016

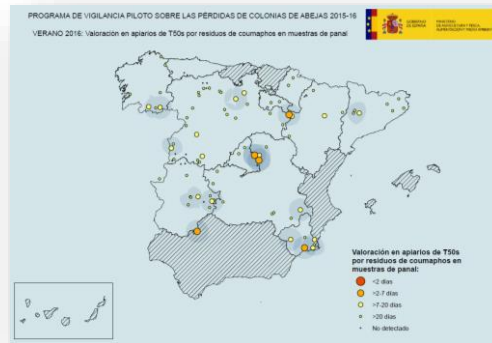


Figura P18 y P19: Valoración por apiario de los T50s por contacto para la Coumaphos en verano de 2013 y 2016

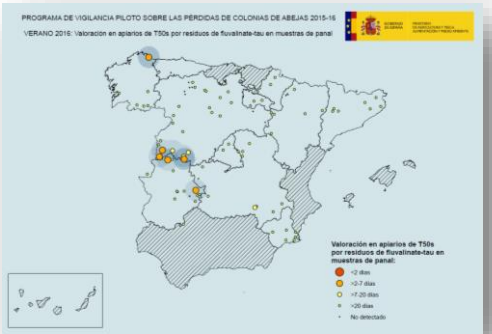


Figura P20 y P21: Valoración por apiario de los T50s por contacto para la Tau-fluvalinato en verano de 2013 y 2016



Figura P21y P22: Valoración por apiario de los T50s por contacto para la Imidacloprid en verano de 2013 y 2016

3.4.2. INVESTIGACIÓN DE SOSPECHAS CLÍNICAS DE INTOXICACIÓN AGUDA

A lo largo de esta campaña de vigilancia no se ha detectado ninguna sospecha clínica de intoxicación.

Fuera del programa de vigilancia, durante el la campaña 2015-2016 se investigaron 7 sospechas de intoxicación en Murcia (3), Cataluña (1), Galicia (1), Aragón (1) e Islas Baleares (1)

confirmándose la sospecha a partir de los resultados toxicológicos en 4 ocasiones (Murcia e Islas Baleares).

Los pesticidas que presentaron en algún momento un valor T50 calculado tanto para el panal de polen inferior a 7 días fueron el Spinosad, el Ometoato, la Acrinathrina, el Methiocarb, la Cypremethrina y el Coumaphos. Los pesticidas que presentaron en algún momento un valor T50 en abejas entre inferior a 7 días fueron: el Spinosad, Methiocarb y Ometoato.

Año	Pesticida T50c < 2 días	Nº apiarios	Pesticida T50c 2-7 días	Nº apiarios
2014 (2)	Diazinón	1	Chlorpyrifos**	1
	Imidacloprid	2		
	Coumaphos**	1		
2015 (6)	Acrinathrina**	2	Imidacloprid	1
	Spinosad*	4	Coumaphos**	1
			Tau-fluvalinato**	1
			Dimetoatho	1
2016 (4)	Spinosad**	2	Acrinathrina**	2
	Acrinathrina**	1	Coumaphos**	1
	Ometoato	1	Cypermethrina*	1
	Methiocarb	1	Clorpyrifos methyl	1

Tabla P5: 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 riesgo

4. CONCLUSIONES

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 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, verano de 2013 verano de 2016, como sintomática a lo largo de todas las campañas, por considerarlos factores importantes que pueden incidir sobre la salud de las abejas.

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. Salvo para la campaña 2012-13 las **mortalidades invernales** registradas en todas las campañas evaluadas superaron ligeramente los límites del 10%, considerada normal por EPILOBEE, y mantienen una tendencia estable. No obstante, en las últimas dos campañas no participaron todo el conjunto de comunidades autónomas, por lo que no ha sido posible establecer con exactitud la evolución anual en el conjunto nacional.

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, como ya se ha podido comprobar estadísticamente para el periodo 2012-15, como las elevadas tasas de infestación de *Varroa destructor* y *Nosema spp*; la detección clínica de la loque americana; la exposición a pesticidas muy tóxicos; la 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 sigue presente en el sur de Italia desde septiembre de 2014, así en 2016 se confirmaron 41, todos situados en la región de Calabria.

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. Es necesario por tanto mejorar la aplicación de los tratamientos para optimizar su eficacia y evitar el desarrollo de resistencias mejorando su uso, aplicaciones de dosis y tiempo de duración estipulada, elección apropiada de principios activos, favoreciendo el uso de medicamentos veterinarios que dejen pocos 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** (acaricidas, insecticidas, pero también fungicidas), con un gran peso de los acaricidas utilizados para el control de la varroosis. Durante el verano de 2016, el 100% de las muestras presentaron algún tipo de residuo, lo que evidencia la gran función de las colonias de abejas como bio-marcadores ambientales. La bio-acumulación de acaricidas en la cera 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 ya que ésta se recicla de forma habitual.

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 se detectan, sirviendo por lo tanto, como herramienta para dirigir acciones que disminuyan el riesgo de exposición a sustancias peligrosas para las abejas. Cuatro pesticidas siguen manteniendo un riesgo elevado de intoxicación aguda para las abejas con respecto de la campaña 2012-2013, por orden de importancia: la Acrinathrina, el Etophenprox, el Chlorpyrifos, el Coumaphos. A este listado hay que añadir derivado de la campaña 2015-16 el Tau-Fluvalinato. Cabe destacar que el riesgo de intoxicación aguda del Bifenthrin ha disminuido de forma muy notable respecto al verano de 2013, a niveles despreciables. El riesgo de intoxicación aguda por Cypermetrina y Chlorfenvinphos también ha disminuido con respecto del verano de 2013, pasando a ser un riesgo moderado.

La evaluación de riesgo en la primera campañas analizada en España (2012-13) ha puesto de manifiesto que el riesgo por intoxicación aguda por **pesticidas sometidos a restricciones comunitarias** (Clotianidina, el Tiametoxam y el Imidacloprid) y el Fipronil, ha sido muy bajo. En esta última campaña evaluada, no se ha detectado Clotianidina, Tiametoxam ni Fipronil, si bien el riesgo de intoxicación aguda por imidacloprid se ha incrementado respecto del año 2013 a un riesgo moderado.

Durante la campaña 2015-16 no se ha detectado ningún caso de intoxicación por pesticidas en los apiarios incluidos dentro del programa.

Este sistema de vigilancia nos permite hacer un **seguimiento y una evaluación continuada de la situación sanitaria de nuestra cabaña apícola** a la vez que armonizado, 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, sirve de **herramienta formativa** para los SSVVOO, laboratorios participantes e inspectores apícolas, y de **comunicación** entre los distintos actores participantes, aspectos claves para comprender y mejorar la situación sanitaria de nuestra cabaña apícola.

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

Pesticida	Método empleado	LOQ Abejas (µg/kg)	LOQ Panales (µg/kg)
3-hydroxy-carbofuran	LC-MS/MS	5	5
Acephate	LC-MS/MS	5	5
Acetamiprid	LC-MS/MS	5	5
Acrinathrin	GC-	5	5
Aldicarb	LC-MS/MS	5	5
Aldicarb Sulfone	LC-MS/MS	5	5
Aldicarb Sulfoxide	LC-MS/MS	5	5
Amitraz	LC-MS/MS	5	5
Azinphos-methyl	LC-MS/MS	5	5
Azoxystrobin	LC-MS/MS	5	5
Benfuracarb	LC-MS/MS	5	5
Benomyl	LC-MS/MS	5	5
Bifenazate	LC-MS/MS	5	5
Bifenthrin	GC-	5	5
Bitertanol	LC-MS/MS	5	5
Boscalid	LC-MS/MS	5	5
Bromopropylate	GC-	5	5
Bromuconazole	LC-MS/MS	5	5
Bupirimate	GC-	5	5
Buprofezin	LC-MS/MS	5	5
Cadusafos	GC-	5	5
Carbaryl	LC-MS/MS	5	5
Carbendazim (sum of benomyl and carbendazim expressed as carbendazim)	LC-MS/MS	5	5
Carbofuran	LC-MS/MS	5	5
Carbosulfan	LC-MS/MS	5	5
Chlorantraniliprole	LC-MS/MS	5	5
Chlorfenapyr	GC-	50	5
Chlorfenvinphos	LC-MS/MS	5	5
Chlorobenzilate	GC-	5	5
Chlorothalonil	GC-	5	5
Chlorpropham	GC-MS/MS	5	5
Chlorpyrifos	GC-	5	5
Chlorpyrifos-methyl	GC-	5	5
Clofentezine	LC-MS/MS	5	5
Clomazone	LC-MS/MS	5	5
Clothianidin	LC-MS/MS	5	5
Cyazofamid	LC-MS/MS	5	5
Coumaphos	GC-	5	5
Cymoxanil	LC-MS/MS	5	5
Cyfluthrin (cyfluthrin incl. other mixtures of constituent isomers (sum of isomers))	GC-MS/MS	5	5

Pesticida	Método empleado	LOQ Abejas (µg/kg)	LOQ Panales (µg/kg)
Cypermethrin (cypermethrin incl. other mixtures of constituent isomers (sum of isomers))	GC-MS/MS	5	5
Cyproconazole	LC-MS/MS	5	5
Cyprodinil	GC-	5	5
Cyromazine	LC-MS/MS	5	-
Deltamethrin	GC-	50	5
Demeton-S-	LC-MS/MS	5	5
Desmethyl-pirimicarb	LC-MS/MS	5	5
Diazinon	LC-MS/MS	5	5
Dichlofluanid	GC-MS/MS	5	5
Dichlorvos	GC-	5	5
Dicloran	GC-	5	5
Dicofol	GC-	5	5
Dicrotophos	LC-MS/MS	5	5
Dietofencarb	LC-MS/MS	5	5
Difenoconazole	LC-MS/MS	5	5
Diflubenzuron	LC-MS/MS	5	5
Dimethoate	LC-MS/MS	5	5
Dimethomorph	LC-MS/MS	5	5
Dimethylaminosulfotoluidide (DMST)	GC-MS/MS	5	5
Diniconazole	LC-MS/MS	5	5
DMF	LC-MS/MS	5	5
DMPF	LC-MS/MS	5	5
Diphenylamine	LC-MS/MS	5	5
Emamectin	LC-MS/MS	5	5
Endosulfan alpha	GC-	5	5
Endosulfan beta	GC-	5	5
Endosulfan sulfate	GC-	5	5
EPN	LC-MS/MS	5	5
Epoxiconazole	LC-MS/MS	50	5
Ethion	GC-	5	5
Ethirimol	LC-MS/MS	5	5
Ethoprophos	GC-	5	5
Etofenprox	GC-	5	5
Fenamidone	LC-MS/MS	5	5
Fenamiphos	LC-MS/MS	5	5
Fenamiphos sulfone	LC-MS/MS	5	5
Fenamiphos sulfoxide	LC-MS/MS	5	5
Fenarimol	LC-MS/MS	5	5
Fenzaquin	GC-	5	5
Fenbuconazole	LC-MS/MS	5	5
Fenhexamid	GC-	5	5
Fenitrothion	GC-	5	5
Fenoxycarb	LC-MS/MS	5	5
Fenpropathrin	GC-	5	5

Pesticida	Método empleado	LOQ Abejas (µg/kg)	LOQ Panales (µg/kg)
Fenpropimorph	LC-MS/MS	5	5
Fenpyrazamine	LC-MS/MS	5	5
Fenpyroximate	LC-MS/MS	5	5
Fenthion	LC-MS/MS	5	5
Fenthion oxon	LC-MS/MS	5	5
Fenthion oxon sulfone	LC-MS/MS	5	5
Fenthion oxon	LC-MS/MS	5	5
Fenthion sulfone	LC-MS/MS	5	5
Fenthion sulfoxide	LC-MS/MS	5	5
Fenvalerate/Esfenval	GC-	5	5
Fipronil	LC-MS/MS	5	5
Flonicamid	LC-MS/MS	5	5
Fludioxonil	GC-	5	5
Flufenacet	LC-MS/MS	5	5
Flufenoxuron	LC-MS/MS	5	5
Fluopicolide	GC-	5	5
Fluopyram	LC-MS/MS	5	5
Fluquinconazole	LC-MS/MS	5	5
Flusilazole	GC-	50	5
Flutolanil	GC-	5	5
Flutriafol	LC-MS/MS	5	5
Folpet	GC-	5	5
Formetanate	LC-MS/MS	5	5
Fosthiazate	GC-	5	5
Haloxifop	LC-MS/MS	5	5
Hexaconazole	LC-MS/MS	5	5
Hexythiazox	LC-MS/MS	5	5
Imazalil	LC-MS/MS	5	5
Imidacloprid	LC-MS/MS	5	5
Indoxacarb (Indoxacarb as sum of the isomers S and R)	LC-MS/MS	5	5
Ioxonil	LC-MS/MS	5	5
Iprodione	GC-	5	5
Iprovalicarb	LC-MS/MS	5	5
Isocarbophos	GC-	5	5
Isoprocarb	LC-MS/MS	5	5
Isofenphos-methyl	GC-	5	5
Isoprotiolane	GC-	5	5
Kresoxim-methyl	LC-MS/MS	5	5
Lambda-Cyhalothrin	GC-	5	5
Linuron	LC-MS/MS	5	5
Lufenuron	LC-MS/MS	5	5
Malaaxon	LC-MS/MS	5	5
Malathion	LC-MS/MS	5	5
Mepanipyrim	GC-	5	5
Meptyldinocap	LC-MS/MS	5	5
Metalaxyl and	LC-MS/MS	5	5
Metconazole	GC-	5	5
Methamidophos	LC-MS/MS	5	5
Methidathion	GC-	5	5
Methiocarb	LC-MS/MS	5	5
Methiocarb sulfone	GC-	5	5
Methiocarb sulfoxide	LC-MS/MS	5	5
Methomyl	LC-MS/MS	50	5

Pesticida	Método empleado	LOQ Abejas (µg/kg)	LOQ Panales (µg/kg)
Methoxyfenozide	LC-MS/MS	5	5
Metobromuron	LC-MS/MS	5	5
Monocrotophos	LC-MS/MS	5	5
Myclobutanil	LC-MS/MS	5	5
Nitempyram	LC-MS/MS	5	5
Omethoate	LC-MS/MS	5	5
Orthophenylphenol	GC-	5	5
Oxadixyl	LC-MS/MS	5	5
Oxamyl	LC-MS/MS	5	5
Oxydemeton-methyl	LC-MS/MS	5	5
Oxyfluorfen	LC-MS/MS	5	5
Paclobutrazole	LC-MS/MS	5	5
Paraoxon-methyl	GC-	5	5
Parathion-ethyl	GC-	5	5
Parathion-methyl	GC-	5	5
Penconazole	LC-MS/MS	5	5
Pencycuron	LC-MS/MS	5	5
Pendimethalin	GC-	5	5
Permethrin	GC-	5	5
Phenthoate	GC-	5	5
Phosalone	LC-MS/MS	5	5
Phosmet	LC-MS/MS	5	5
Phosmet oxon	LC-MS/MS	5	5
Phoxim	LC-MS/MS	5	5
Pirimicarb	LC-MS/MS	50	5
Pirimiphos-methyl	LC-MS/MS	5	5
Prochloraz	LC-MS/MS	5	5
Procymidone	GC-	5	5
Profenofos	LC-MS/MS	5	5
Propamocarb	LC-MS/MS	5	5
Propaquizafop	LC-MS/MS	5	5
Propargite	GC-	5	5
Propiconazole	LC-MS/MS	5	5
Propyzamide	GC-	5	5
Propiconazole	LC-MS/MS	5	5
Propoxur	LC-MS/MS	5	5
Prothioconazole (Prothioconazole-desthio)	LC-MS/MS	5	5
Prothiofos	GC-	5	5
Pymetrozine	LC-MS/MS	5	-
Pyraclostrobin	LC-MS/MS	5	5
Pyrethrin	LC-MS/MS	5	5
Pyridaben	LC-MS/MS	5	5
Pyridate	LC-MS/MS	5	5
Pyrimethanil	GC-	5	5
Pyriproxyfen	LC-MS/MS	5	5
Quinoxifen	LC-MS/MS	5	5
Quinoclamine	LC-MS/MS	5	5
Quinalofop-ethyl	LC-MS/MS	5	5
Rotenone	LC-MS/MS	5	5
Spinosad (sum of spinosyn A and spinosyn D, expr. as spinosad)	LC-MS/MS	5	5

Pesticida	Método empleado	LOQ Abejas (µg/kg)	LOQ Panales (µg/kg)
Spirodiclofen	GC-	5	5
Spiromesifen	LC-MS/MS	5	5
Spirotetramat	LC-MS/MS	5	5
Spiroxamine	LC-MS/MS	50	5
Tau-Fluvalinate	GC-	5	5
Tebuconazole	LC-MS/MS	5	5
Tebufenozide	LC-MS/MS	5	5
Tebufenpyrad	LC-MS/MS	5	5
Teflubenzuron	LC-MS/MS	5	5
Terbuthylazine	LC-MS/MS	5	5
Tefluthrin	GC-	5	5
Tetraconazole	LC-MS/MS	5	5
Tetradifon	GC-	5	5
Thiabendazole	LC-MS/MS	5	5
Thiacloprid	LC-MS/MS	5	5
Thiamethoxam	LC-MS/MS	5	5
Thiodicarb	LC-MS/MS	5	-
Thiophanate-methyl	LC-MS/MS	5	5
Tolclofos-methyl	GC-	5	5
Tolyfluanid	GC-	5	5
Triadimefon	LC-MS/MS	5	5
Triadimenol	LC-MS/MS	5	5
Triazophos	GC-	5	5
Trichlorfon	LC-MS/MS	50	5
Trifloxystrobin	LC-MS/MS	5	5
Triflumuron	LC-MS/MS	5	5
Trifluralin	GC-	5	5
Triticonazole	LC-MS/MS	5	5
Vinclozolin	GC-	5	5
Zoxamide	LC-MS/MS	5	5

ANEXO II: Listado de pesticidas: Toxicidad aguda (Dosis Letal 50) por contacto para las abejas. Autorización europea y uso habitual de cada pesticida.

PESTICIDA	DL50 contacto (µg/abeja)	USO AUTORIZADO EN AGRICULTURA	Concentraciones (µg/kg) asociadas a T50<2 días (ABEJAS)	Concentraciones (µg/kg) asociadas a T50<2 días (PANAL)
2,4D	nd	NO	na	na
2,4-DDE	nd	NO	na	na
4,4-DDE	nd	NO	na	na
4,4-DDT	nd	NO	na	na
Acetamiprid	7,9	SI (I)	39.500,0	3.950,0
Acrinathrin	0,17**	SI (I-A)	850,0	85,0
Alachlor	nd	NO	na	na
Amitraz (DMF+DMA)	50	NO (A)	250.000,0	25.000,0
Azoxystrobin	>200	SI (F)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Benalaxyl	>100	SI (F)	500.000,0	superior a 50.000,0
Bifenthrin	0,015**	SI (I-A)	75,0	7,5
Biphenyl	nd	NO (PCB)	na	na
Boscalid	>200	SI (F)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Bromopropylate	183	NO (A)	915.000,0	91.500,0
Bupirimate	>500	SI (F)	2.500.000,0	superior a 250.000,0
Buprofezin	20	SI (IGR)	100.000,0	10.000,0
Captan	215	SI (F)	1.075.000,0	107.500,0
Carbaryl	0,84**	NO (I)	4.200,0	420,0
Carbendazim	>50	NO (F)	250.000,0	superior a 25.000,1
Chlorantraniliprole	4	SI (I)	20.000,0	2.000,0
Chlorfenvinphos	4,1	NO (I-A)	20.500,0	2.050,0
Chlorobenzilate		NO	-	0,0
Chlorothalonil	135	NO	675.000,0	67.500,0
Chlorpyrifos	0,072**	SI (I)	360,0	36,0
Chlorpyrifos Methyl	0,28**	SI (I)	1.400,0	140,0
Chlothianidin	0,039**	NO (I)	195,0	19,5
clofentezine	48	SI (A)	240.000,0	24.000,0

Coumaphos	20	NO (I-A)	100.000,0	10.000,0
Cymoxanil	>25	SI (F)	125.000,0	superior a 12.500,0
Cypermethrin	0,034**	SI(I-A)	170,0	17,0
Diazinon	0,38**	NO(I-A)	1.900,0	190,0
Dicofol	19	NO (A)	95.000,0	9.500,0
Diethofencarb	20	SI (F)	100.000,0	10.000,0
Difenoconazole	100	SI (F)	500.000,0	50.000,0
Dimethoate	0,12**	SI (I)	600,0	60,0
Diphenylamine	nd	NO	na	na
Disulfoton	3,7	NO (I)	18.500,0	1.850,0
Endosulfan Alpha	6,3	NO (I-A)	31.500,0	3.150,0
Endosulfan Beta	nd	NO (I-A)	na	na
Epoxiconazole	>100	SI (F)	500.000,0	superior a 50.000,0
Esfenvalerate	0,06**	SI (I)	300,0	30,0
Ethion	11	NO (A)	55.000,0	5.500,0
Ethofenprox	0,015**	SI (I)	75,0	7,5
Fenazaquin	7,4	SI (A)	37.000,0	3.700,0
Fenbuconazole	290	SI (F)	1.450.000,0	145.000,0
Fenhexamid	207	SI (F)	1.035.000,0	103.500,0
Fenitrothion	0,52**	NO (I)	2.600,0	260,0
Fenoxycarb	>100	SI (A)	500.000,0	superior a 50.000,0
Fenpropathrin	nd	NO (I-A)	na	na
Fenpropimorph	>100	SI (F)	500.000,0	superior a 50.000,0
Fenpyroximate	11	SI (A)	55.000,0	5.500,0
Fipronil	0,007**	NO (I)	35,0	3,5
Fipronil sulfona	nd	no aplicable	na	na
Flucythrinate	0,3**	NO (I)	1.500,0	150,0
Fludioxonil	50	SI (F)	250.000,0	25.000,0
Flufenoxuron	>100	NO (IGR)	500.000,0	superior a 50.000,0
Flumethrin	0,05**	ND (I)	250,0	25,0
Flutriafol	72	SI (F)	360.000,0	36.000,0
Fluvalinate-tau	8,7	SI (I-A)	43.500,0	4.350,0
Folpet	49	SI (F)	245.000,0	24.500,0
Hexythiazox	>200	SI (A)	1.000.000,0	superior a 100.000,0

Imidacloprid	0,061**	NO (I)	305,0	30,5
Indoxacarb	0,59**	SI (I)	2.950,0	295,0
Iprodione	400	SI (F)	2.000.000,0	200.000,0
Iprovalicarb	>200	SI (F)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Isofenphos Methyl	nd	NO (I)	na	na
Kresoximmethyl	22	SI (F)	110.000,0	11.000,0
lambda cihalotrin	0,048**	SI (I)	240,0	24,0
Lindane	nd	NO	na	na
Linuron	nd	SI	na	na
Lufenuron	>200	SI (IGR)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Malathion	0,47**	SI (I-A)	2.350,0	235,0
Metalaxyl	141	SI (F)	705.000,0	70.500,0
MetalaxylM	25	SI (F)	125.000,0	12.500,0
Methamidophos	0,97**	NO (I-A)	4.850,0	485,0
Methiocarb	0,29**	SI (B)	1.450,0	145,0
Methiocarb Sulfone	nd	no aplicable	na	na
metiocarbSO	nd	no aplicable	na	na
Metolachlor	nd	NO	na	na
Metoxychlor	20	NO (I)	100.000,0	10.000,0
Myclobutanil	>40	SI (F)	200.000,0	superior a 20.000,0
ometoato	No evaluado (tox oral 0,05)	NO (I)	na	na
Orthophenylphenol	nd	SI (F)	na	na
Oxydemetonmethyl	7,4	NO	37.000,0	3.700,0
paclobutrazol	nd	SI	na	na
Pebulate	nd	NO	na	na
Penconazole	12	SI (F)	60.000,0	6.000,0
Pendimethalin	nd	SI	na	na
Permethrin	0,063**	NO (I)	315,0	31,5
Phenthoate	0,31**	NO (I)	1.550,0	155,0
Phosmet	0,62**	SI (I)	3.100,0	310,0
Phthalimide	nd	NO (F)	na	na
Pirimicarb	36	SI (I)	180.000,0	18.000,0
Pirimiphos-methyl	0,27**	SI (I)	1.350,0	135,0
Procymidone	nd	NO	na	na
Profenofos	0,32**	NO (I)	1.600,0	160,0

Propargite	62	NO (A)	310.000,0	31.000,0
Propyzamide	nd	SI	na	na
Prothiophos	nd	NO	na	na
Pyraclostrobin	>100	ND (F)	500.000,0	superior a 50.000,0
Pyridaben	0,053**	SI (I)	265,0	26,5
Pyriproxifen	>100	SI (I)	500.000,0	superior a 50.000,0
Quinalphos	0,44**	NO (I)	2.200,0	220,0
Quinoxifen	79	SI (F)	395.000,0	39.500,0
Spinosad	0,003**	SI (I)	15,0	1,5
Spirodiclofen	256	SI (A)	1.280.000,0	128.000,0
Spiroxamine	4,2	SI (F)	21.000,0	2.100,0
Sulfotep	nd	NO	na	na
Tebuconazole	>200	SI (F)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Tebufenpyrad	6,8	SI (A)	34.000,0	3.400,0
Terbuthylazine	nd	SI	na	na
Tetradifon	1250	NO (A)	6.250.000,0	625.000,0
Tetrahydrophthalimide	nd	no disponible	na	na
Tetramethrin	nd	NO (I)	na	na
Thiacloprid	36	SI (I)	180.000,0	18.000,0
Thiametoxam	0,025**	NO (I)	125,0	12,5
Thiodicarb	12	NO (I)	60.000,0	6.000,0
trifloxiestrobina	nd	SI (F)	na	na
Trifluralin	nd	NO	na	na

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

⁽²⁾ **(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"> • Cría con síntomas (panal 10 x 10) • Abejas adultas interior de la colmena ⇒ vivas internas
		■ 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"> • Cría con síntomas (panal 10 x 10) con al menos 15 larvas enfermas • Larvas, escamas enfermas en tubos Eppendorf
		■ 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"> • Cría con síntomas (panal 10 x 10) con al menos 15 larvas enfermas • Larvas, escamas enfermas en tubos Eppendorf
		■ 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	<p>Muestra sistemática:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Abejas vivas del interior de la colmena (> 60) cuadros externos ♂ vivas internas <p>Muestra sintomática:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Al menos 30 abejas adultas con síntomas (recogidas de la piquera) ⇒ vivas externas • En ausencia de abejas vivas, al menos 30 abejas muertas ⇒ muertas externas
	<i>N. ceranae</i>	■ Diferenciación molecular de especies de <i>Nosema apis</i> / <i>Nosema ceranae</i> por PCR	Siguiendo las recomendaciones del EU-RL adaptadas de las recomendaciones de la OIE	08/04/2016	
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"> • Al menos 30 abejas adultas con síntomas (recogidas de la piquera) ⇒ vivas externas • En ausencia de abejas vivas, al menos 30 abejas muertas ⇒ muertas externas
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"> • Abejas vivas del interior de la colmena (> 60) ⇒ vivas internas
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"> • Abejas vivas del interior de la colmena (> 60) ⇒ vivas internas
Aethinosis (SHB)	<i>A. tumida</i>	■ Detección durante el lavado de las abejas	Recomendaciones de la OIE	NA	<ul style="list-style-type: none"> • Abejas vivas del interior de la colmena (> 300) ⇒ vivas internas
		■ Detección durante el examen de muestras sintomáticas		NA	

		<ul style="list-style-type: none"> ■ Identificación del escarabajo adulto, larva por examen morfológico 		NA	<ul style="list-style-type: none"> • Formas adultas del escarabajo, larvas o huevos • Panales de cría /miel/polen dañados
Tropilaelapsosis	<i>Tropilaelaps spp</i>	<ul style="list-style-type: none"> ■ Detección durante el lavado de las abejas 	Recomendaciones de la OIE	NA	<ul style="list-style-type: none"> • Abejas vivas del interior de la colmena (> 300) ⇔ vivas internas • Ácaros sospechosos • Cría con síntomas (panal 10 x 10) en apiarios con riesgo introducción artrópodos exóticos
		<ul style="list-style-type: none"> ■ Detección durante el examen de muestras sintomáticas 		NA	
		<ul style="list-style-type: none"> ■ Identificación por examen morfológico directo de los ácaros (recomendaciones de la OIE) 		NA	
Ascospferosis	<i>Ascospaera apis</i>	<ul style="list-style-type: none"> ■ Detección por microscopía óptica 		NA	<ul style="list-style-type: none"> • Cría con síntomas (panal 10 x 10)
Acarapisosis	<i>Acarapis woodi</i>	<ul style="list-style-type: none"> ■ Detección por microscopía óptica 	Recomendaciones de la OIE	NA	<ul style="list-style-type: none"> • Al menos 30 abejas adultas vivas con síntomas
		<ul style="list-style-type: none"> ■ Detección por digestión enzimática 			
		<ul style="list-style-type: none"> ■ 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. | Volume 7 | Issue 1 | e29268
- Dainat, B.; Evans, D. Chen, Y.P.; Gauthier, L.; Neumann, 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 proteína nutrion 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., Gonzalez-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 Microbiolgy 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
- 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.
- 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.; Cunnngham 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-Píñar 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 beewax. (2010).** Society of Chemical Industry. 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. Volume 6 | Issue 2 | e14720.