



## **Algunas causas del Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (SDC)**

**Solange Huaiquil, Gustavo Briones, Isabel González y Marta Albornoz**

**Programa Manejo Territorial de Insectos. Centro Regional de Innovación Hortofrutícola de la Región de Valparaíso, Ceres. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.**

Abril del 2016



## Índice

Resumen .....	2
Abstract.....	3
Introducción .....	4
I.- Estado actual del problema. ....	5
II.- Distribución y avance del SDC .....	7
III.- Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (SDC) .....	9
IV.- Causas del Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (SDC) .....	10
1.- Parásitos y patógenos.....	10
2.- Factores estresantes.....	14
3.- Uso de Productos Agroquímicos.....	15
V.- Estado sanitario actual en Chile .....	25
VI. Reflexiones finales .....	27
Bibliografía.....	30

## Resumen

El Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (SDC) o Colony Collapse Disorder (CCD) define la inexplicable y masiva desaparición de abejas denunciada por los apicultores norteamericanos causando pérdidas de 50 % a 90 % de las colmenas de abejas en pocas semanas, lo que se tradujo en una repentina desaparición de apiarios. se extendió rápidamente a nivel mundial. Hasta la fecha no se tiene claridad de las causas que desencadenan este problema multifactorial. El desarrollo de plagas como *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) y *Acarapis woodi* (Rennie), de enfermedades nuevas o preexistentes, como Nosema (*Nosema ceranae* o *N. apis*), los virus de la parálisis crónica (CBPV), de la



parálisis aguda (ABPV), de las alas deformes (DWV), de la cría ensacada (SBV) y de las celdas reales negras (BQCV), ha aumentado en el último tiempo y se pueden encontrar asociados a los integrantes de la colmena, la que se debilita en pocos días y a menudo causan su colapso. La aplicación de insecticidas neonicotinoides en agricultura también deteriora la colmena, con diversos efectos subletales, como la muerte de larvas, reducción de las habilidades de orientación de pecoreo y alteraciones del comportamiento higiénico, entre otros efectos. Las abejas no solo entregan alimento en forma directa, sino además son de vital importancia en la agricultura por su alta capacidad de polinización en muchos cultivos.

## **Abstract**

The Colony Collapse Disorder (CCD) or Colony Collapse Disorder (CCD) defines the inexplicable and massive disappearance of bees reported by USA beekeepers, in some cases caused losses of 50% to 90% of bee hives in a few weeks, which resulted in a sudden disappearance of apiaries has spread worldwide rapidly. Today there is no clear knowledge of the causes of this multifactor problem. The development of pests like *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) and *Acarapis woodi* (Rennie), new or pre-existing diseases like Nosema (*Nosema ceranae* or *N. apis*), the viruses of chronic paralysis (CBPV), acute paralysis (ABPV), deformed wings (DWV), chalk brood (SBV), and black queen cells (BQCV), have increased recently and may be found associated to the individuals of the colony, which weakens in a few days and often cause it to collapse. The application of neonicotinoid insecticides in agriculture also deteriorates the apiary, with diverse sub lethal effects, such as brood death, a reduction in the orientation capacity during flower forage, and a decrease of hygienic behavior, among other effects. Bees not only deliver food directly, also are vital in agriculture for its high capacity pollination for many crops.



**Palabras Clave:** *Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (SDC), neonicotinoides, manejo de colmenas.*

**Keywords:** *Colony Collapse Disorder (CCD), neonicotinoids, bee management.*

## **Introducción**

La apicultura constituye una de los segmentos más importantes de la economía agrícola mundial, y no solo se relaciona directamente con la polinización, sino también con el desarrollo de diversos productos de la colmena, los que se utilizan en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética (2). Debido a esto, es de sumo interés poner atención a los problemas que presentan las abejas a nivel mundial y que causan un claro deterioro en esta actividad (18). Así, el Síndrome de Despoblamiento de Colmenas se instaló a nivel mundial, desde las ya conocidas desapariciones de abejas sin causa aparente, lo que llevó a investigar y comprender que no se trata solo de un factor, sino a una suma de ellos, que en conjunto logran despoblar una colmena en pocos días (2, 3, 9, 10, 15, 18, 21).

El Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (SDC), el cual se define como la inexplicable y masiva desaparición de abejas denunciada por los apicultores, especialmente Norteamericanos, mantiene preocupados a los productores apícolas a nivel mundial y centrando la atención de toda la comunidad científica, quienes han buscado diversas explicaciones para entender y dar solución al despoblamiento de las colmenas (1- 5). Los factores involucrados son varios, entre los cuales se pueden mencionar, plagas, enfermedades, uso de agroquímicos, trashumancia, manejos inadecuados de parte de los productores, factores ambientales y las interacciones entre ellos, que podrían ser aún más perjudiciales estresando a la colonia (4,6).



Uno de los factores más importantes es el indiscriminado de insecticidas químicos para control de diversas plagas agrícolas, entre ellos los neonicotinoides, son prácticas rutinarias de los agricultores para proteger sus cultivos, debido al excelente control en los insectos presentes en los cultivos, sin embargo, la alta capacidad de controlar insectos presentada por los neonicotinoides conlleva al problema de que no discriminan a los agentes polinizadores de las plagas objetivo que se encuentran asociados a los cultivos (3, 7-9, 14-18).

Bajo este marco de referencia, se investigaron los principales factores asociados al Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (SDC) a nivel mundial, identificando dichos factores y como pueden afectar el desarrollo de la colonia. Lo anterior, para disminuir los riesgos asociadas a las prácticas de manejos a la colmena inadecuados, evitando la propagación de plagas y enfermedades a otras colonias, y finalmente, permitir una mayor resistencia natural de la colonia, aumentando los rendimientos.

## **I.- Estado actual del problema.**

El actual modelo agroindustrial desarrollado a nivel mundial, basado en una baja diversidad de cultivos y reducida base genética, utilizando variedades de alto rendimientos, híbridos y transgénicos, para la búsqueda de alimentar a más de mil millones de personas en el planeta, ha impulsado la producción de monocultivos, destinando cada año una mayor superficie para su cultivo, los que en muchas ocasiones no poseen rotaciones con otras especies. Por lo tanto, Las tecnologías que han permitido el desarrollo de estos monocultivos son la mecanización, la manipulación genética de las variedades cultivadas y el desarrollo de agroquímicos para fertilización, disminución de malezas y control de plagas y enfermedades (1 - 3, 5). Estas prácticas agrícolas, realizada por los agricultores modernos, han afectado negativamente la apicultura mundial (5), ya que las colonias de abejas deben ser sobre estimuladas para cubrir los requerimientos de polinización en los cultivos (3-5).



Las abejas, son las responsables del 80 al 90% de la polinización de plantas cultivadas y no cultivadas a nivel mundial (1, 2, 4-6). Si bien, existen un porcentaje menor de otros polinizadores, como: moscas, mariposas, polillas, entre otras, estos no logran cubrir los requerimientos de la totalidad de las plantas existentes en el planeta (1, 2, 4, 5, 10), evidenciando su importancia en la diversidad de la producción de alimentos para la población mundial, evitando quedar solo a expensas de cultivos como arroz, trigo, maíz y papas, los cuales no requieren de polinización para su desarrollo (5). Por lo tanto, las abejas proporcionan un servicio vital a la agricultura, aumentando la producción de alimentos, manteniendo la complejidad de los ecosistemas naturales y protegiendo la diversidad genética de las plantas, ya que la polinización comprende un sistema integrado en las interacciones que vinculan la vegetación, la vida silvestre y el bienestar humano (4, 19, 20).

En la actualidad el rubro apícola, es importante en la industria agro productiva (especialmente en el área frutícola), la industria alimentaria (productos elaborados en base a miel, como barras energéticas mezcladas con cereales, infusiones, alimentos para bebés, galletas, caramelos, etc.), la industria farmacológica (elaboración de estimulantes y nutraceúticos en base a propóleo, jalea real, polen y miel; jarabes y suplementos alimenticios) y por último, la industria cosmética (cremas, jabones, esencias y productos para el cabello). La diversidad de usos, posiciona a la apicultura, como un rubro emergente en el tiempo, con complejos y versátiles canales de comercialización (5, 20).

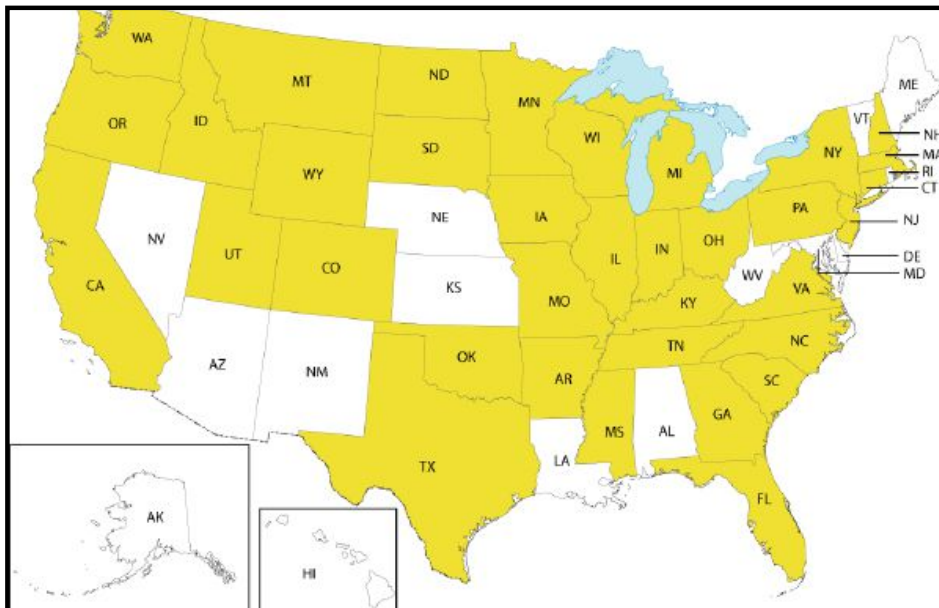
Diversos elementos afectan el desarrollo de la apicultura a nivel local y mundial, sin embargo, el Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (SDC) o Colony Collapse Disorder (CCD), ha sido el tema más estudiado a nivel mundial, desde el año 2005, tratando de explicar la desaparición de las abejas desde una colonia sin causa aparente.



## II.- Distribución y avance del SDC

El SDC, no es un suceso aislado, ni exclusivo de un área específica, la primera denuncia fue realizada el año 2006 en Estados Unidos en el Estado de Pensilvania (7, 14, 18), posteriormente, su avance fue detectado en casi la totalidad del país (figura 1). Además, se han reportado casos en Europa (Francia, Suecia, Alemania, Italia, Austria, Eslovenia entre otros países; 20, 21), Sudáfrica (Egipto), Asia (China y Japón) (24), América del sur (específicamente Brasil) (4). Quizás el caso más extremo fue en Sichuan al oeste de China, en donde el despoblamiento de las colmenas fue tan abrumador, que los productores tuvieron que cubrir los requerimientos de polinización de sus cultivos en forma manual, utilizando personas que tomaron el papel de las abejas. Estos acontecimientos, provocaron el estudio del génesis del SDC con equipos multidisciplinarios para identificar la o las posibles causas involucradas (3, 7, 18).

**Figura 1.** Síndrome del Despoblamiento de colmenas en EE.UU. Las áreas coloreadas son los estados afectados (Bee Alert Inc. Actualizado a diciembre de 2009).





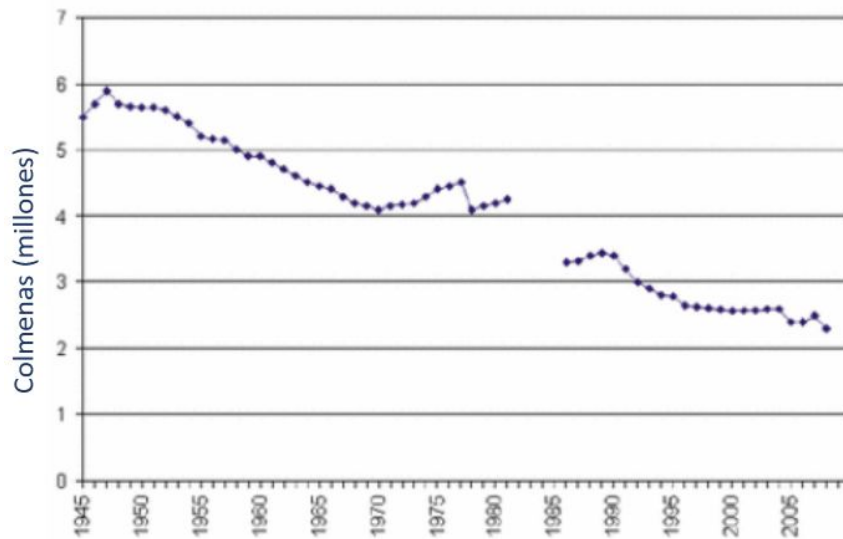
El proceso de polinización de cultivos a nivel mundial, tiene una valoración estimada anual de \$217 mil millones de dólares/año (4). Para el caso de EE. UU., el valor monetario de las abejas, se calcula en alrededor de US\$ 15 a US\$ 20 mil millones de dólares anuales; el número de colmenas administradas para polinización en la temporada 2006/2007 disminuyó 31,8%, en 2007/2008 35,8% y para la temporada 2008/2009 se informó preliminarmente una disminución del 28,6%. Considerando esto, no es extraña la iniciativa tomada por Estados Unidos, que al observar el desarrollo del síndrome en el país (descrito en 35 estados el año 2009), destinó recursos monetarios, para desarrollar diversos estudios que puedan identificar la o las causas de esta problemática, de esta manera, para el período 2007/2008 invirtió más de US\$ 7,7 millones de dólares, para el año 2009 la cifra aumentó a US\$ 8.3 millones y para el 2010 se entregaron US\$ 9.8 millones para investigación (3, 7). La encuesta del USDA (United States Department of Agriculture. 2012) (18), identificó una pérdida de abejas de 22% para el período 2011/2012 a nivel país, bastante inferior al porcentaje inicial, lo que puede deberse a las medidas de acción tomadas para sobrellevar el síndrome.

En la actualidad, la cantidad de abejas es bajo en Estados Unidos, ocasionando pérdidas por falta de polinización, por ejemplo en California se necesitan 1,5 millones de colmenas para la polinización de almendros, al considerar pérdidas del orden del 30% durante tres años consecutivos, implica que en este país se pone bajo amenaza la capacidad de entregar el servicio de polinización (3, 19).

Pettis y Delaplane (2010) (3), analizaron datos del Servicio Nacional de Estadísticas Agrícolas del USDA, para graficar la evolución de la disminución de colmenas desde el año 1945 al 2008 (Figura 2), esta grafica muestra inicialmente 5.5 millones de colmenas en 1945 a poco más de dos millones de colmenas al año 2008, este período se asociado al aumento paulatino del uso de productos agroquímicos en el país.



**Figura 2.** Número de colmenas de abejas manejadas en EE.UU. de 1945 a 2008, según reportes del Servicio Nacional de Estadísticas Agrícolas del USDA. No existen registros entre 1982 y 1985 (3).



Kevan y Menzel (2012) (4) señalan, que dentro de las problemáticas causada por la disminución de polinizadores en el último tiempo, se encuentran la reducción en el rendimiento de los cultivos, disminución de la calidad del fruto, aumento de los costo de producción e indirectamente inducen a un cambio en la oferta y la demanda de los productos en el mercado.

### III.- Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (SDC)

De acuerdo al USDA (2012) (18), el SDC corresponde al despoblamiento inexplicable y en un corto periodo de tiempo, de la totalidad o casi la totalidad de la población adulta de una colmena, aún cuando en su interior se puede observar crías operculadas (sin evidencia de atención por parte de las nodrizas) y reservas de alimentos. En casos extremos de despoblamiento, se puede observar a la reina con un pequeño séquito de abejas obreras



entre los marcos (3). Aún cuando existe un evidente despoblamiento, no se encuentran evidencias de cadáveres de abejas, en el interior o en los alrededores de la colmena (3; 18). Una de las posibilidades de detectar el síndrome con mayor facilidad es en primavera, una vez que las abejas ya invernaron y debieran comenzar con las labores propias de la temporada como es la recolección y pecoreo (18).

#### **IV.- Causas del Síndrome de Despoblamiento de Colmenas (SDC)**

El USDA (18) concluye en su informe final en el año 2012, que las causas del SDC son multifactoriales y que cada factor afecta sinérgicamente al desarrollo del síndrome. Sin embargo, los factores se han agrupados en tres causas principales (2, 3, 15, 18, 23):

- Parásitos y patógenos nuevos o existentes que atacan a las abejas.
- Combinación de factores estresantes que puedan comprometer el sistema inmunológico de las abejas, alterando su sistema social siendo más susceptibles a adquirir plagas y enfermedades.
- Plaguicidas que pueden perjudicar el desarrollo normal de las abejas o causarles muerte.

##### **1.- Parásitos y patógenos**

Hanzelou (2007) (14), plantea que las abejas pueden ser más susceptibles a las plagas y enfermedades, cuando su sistema inmunológico se encuentra debilitado por los antibióticos utilizados en las colmenas, las dietas insuficientes durante la etapa de escasez de alimentos, el estrés por manejo inadecuado y el movimiento constante de las colmenas cuando se realizan los servicios de polinización.

Uno de los parásitos encontrados atacando a las abejas es *Acarapis woodi*, corresponde a un ácaro traqueal que reduce la tasa metabólica de las abejas limitando actividades tan importantes como volar debido a la alteración de los músculos de las alas. En casos graves



de abejas infestadas, es posible identificar además *Varroa destructor* (ácaro ectoparásito), cuando ambos ácaros actúan en conjunto disminuye la expectativa de vida de la colonia (2).

Weinstein *et al.* (24) señalan que en el sureste de Brasil se identificó una disminución inusual de abejas, asociado a un aumento en la tasa de fecundidad del ácaro *Varroa destructor* desde 1998, se cree que se trataría de un haplotipo más virulento del ácaro, que no infestaría a las colonias en poco tiempo, también transmitiría virus.

*Varroa* es vector de virus dentro de la colmena, se le asocia a la transmisión del virus de la parálisis crónica (CBPV), esta enfermedad se presenta con sintomatología parecida a otras enfermedades que afectan a las abejas, pero que sin embargo no obedece a la medicación entregada por los apicultores, este virus provoca la merma de los integrantes de la colonia o eliminándolas sin causa aparente (2, 3, 15, 23).

Se han descrito alrededor de dieciocho virus que afectan a las abejas, inicialmente se distribuían solo en zonas geográficas más aisladas. Sin embargo, hoy en día la proliferación de los virus ha ido en aumento, siendo detectados a nivel mundial (2, 24). Las enfermedades virales, a menudo persisten como infecciones subclínicas, lo que hace problemática su detección, para su localización e identificación se utiliza el método de la Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa (RT-PCR) de ARN viral, técnica que ofrece una forma rápida, sensible y específico para los virus que afectan las abejas (24).

Dentro de los virus que más se detectan en la colmena y que se asocian al SDC son: Virus de la parálisis aguda (ABPV), Virus de las alas deformes (DWV), Virus de la parálisis crónica (CBPV) y Virus de las celdas reales negras (BQCV) (24).

Estudios desarrollados en *São Paulo* (Brasil), en donde se colectaron abejas de veinte colonias, y se analizaron con técnicas moleculares para su identificación, mostraron que el 27,1% de las muestras presentaron virus de la parálisis aguda (ABPV), el 20,3% presentaban el virus de las alas deformes (DWV) y el 37% de las muestras habían desarrollado el virus de



las celdas reales negras (BQCV), esta enfermedad presentada por las abejas, coincidió con la disminución de colmenas en la zona (24).

Estudios en el Peloponeso (Grecia), donde las colmenas presentaban muerte de individuos, abejas con movimientos temblorosos y despoblamiento de colmenas determinaron la presencia, los virus de la parálisis crónica (CBPV), de la parálisis aguda (ABPV), de las alas deformes (DWV), de la cría ensacada (SBV) y de las celdas reales negras (BQCV), además del acaro *Varroa destructor*, y otras enfermedades como *Nosema ceranae* (2).

La nosemosis, enfermedad provocada preferentemente por *Nosema apis* y actualmente también atribuida a *Nosema ceranae*, afecta las funciones digestivas de las abejas debido a los microsporidios presentados por el hongo. Inicialmente *N. ceranae* se atribuía solo a *Apis cerana*, actualmente es posible identificarla en *Apis mellifera*. Este microsporidio, es mucho más virulento que *N. Apis*, motivo por el cual se cree que corresponde a una de las principales causas de pérdida de abejas a nivel mundial (2, 14, 15). *N. ceranae* es altamente mortal en colmenas con alto nivel de estrés (un ejemplo de ello, son las abejas expuestas a altas dosis agroquímicos) o con nutrición deficiente (abejas alimentadas solo con jarabe de sacarosa o expuestas solo a monocultivos) (2, 15). La presencia de la enfermedad se caracteriza generalmente por la muerte prematura de abejas, incapacidad de volar, temblores en las alas, movimientos espasmódicos causados por la inanición, en un periodo avanzado de la enfermedad se puede observar heces claras en los bordes externos de las celdas, deficiencia en la atención de la cría, muerte de abejas adultas, debilitamiento de la colmena, entre otras (2). Con el fin de evitar el desarrollo de la enfermedad en la colmena, es preciso mantenerla seca y evitar los lugares húmedos para instalar el colmenar, invernar con buenas reservas de miel y polen, tener colmenas con una población adecuada durante el año, realizar cambios de reinas por lo menos cada dos años y realizar una vez al año un análisis de laboratorio para detectar a tiempo la aparición de enfermedades (2).

El USDA (2012) (18) indica que se deben realizar más estudios enfocados en la epidemiología que afecta a las abejas, identificar el umbral de daño económico y desarrollar



nuevos productos para el control de las enfermedades, ya que en el mercado solo se encuentra autorizado el antibiótico fumagilina (con diferentes nombres de fantasía). En Chile, según el registro del Servicio Agrícola y Ganadero, no se encuentran productos autorizados para el control de esta enfermedad (25).

Otra enfermedad que afecta a las abejas es loque americano (*Paenibacillus larvae*) es un bacilo cuya característica fundamental es la formación de endosporas extremadamente resistente al calor. Dentro de los daños que se le atribuyen a esta enfermedad se encuentra la muerte de las crías una vez terminada la etapa larvaria (principalmente en estado de pre-pupa), los opérculos de las crías se tornan húmedos y de color más oscuro hundiéndose en el interior de la celdilla, momento en el cual las obreras encargadas comienzan a retirar los restos de las crías muertas, las que toman un color café, con consistencia chiclosa (pueden estirarse hasta por 4 cm) y olor desagradable (2).

Entre las principales causas de dispersión de la enfermedad están el pillaje, deriva de abejas, alimentación (miel y polen contaminado proporcionado por el apicultor u obtenido después del pillaje a colmenas afectadas), intercambio de cría de una colmena a otra (práctica propia realizada por los apicultores en la formación de núcleos) y manejo inadecuado del apicultor a las colmenas (uso de herramientas sin desinfectar, utilización de material infectado acopiado de diferentes colmenas, traslado de colmenas en vehículos infectados, entre otras)(2).

En las colmenas afectadas por Loque americano, se puede observar disminución de la población, hasta que la reina con un pequeño sequito de abejas obreras abandona el nido, diseminando la enfermedad a otras áreas. Existen casos en que la enfermedad se presenta en la colmena por un periodo de tiempo y luego desaparece, lo que no significa que se haya erradicado, debido a que es improbable que las abejas eliminen las esporas que ya están en las colmenas, sin embargo, la ausencia clínica de la enfermedad se puede deber a que al aumentar la producción de néctar, las esporas se diluyan en él, siendo menos susceptibles a contagiar a las abejas jóvenes; otra causa es que las abejas acopiadoras eviten almacenar



alimento en celdas que contengan restos larvales y por último, un aumento en la producción de néctar estimula el desarrollo del comportamiento higiénico por parte de las nodrizas (2).

Johnson (2010) (7), señala que la pérdida de abejas se atribuye a diversas causas como: presencia del ácaro *Varroa*, a enfermedades nuevas o emergentes (especialmente *Nosema ceranae*), la exposición de las abejas a agroquímicos utilizados en los cultivos y factores estresantes (manejo inadecuado, mala alimentación, etc.), concluyendo que la disminución de las abejas, no es solo una causa, sino más bien la suma de varios factores.

## **2.- Factores estresantes**

Dentro de factores estresantes que se deben considerar para evitar el estrés en las abejas y por ende el desarrollo de síntoma de SDC tenemos: los parásitos y patógenos, malas prácticas apícolas, mala nutrición de las abejas, (alimentadas solo con jarabe de sacarosa, sin adicionar suplementos alimenticios), traslado de colmenas para realizar el servicio de polinización (trashumancia) en malas condiciones o a horas inapropiadas (2, 7, 15) y uso indiscriminado de plaguicidas en la producción de cultivos, aun cuando no se trate de cultivos que requieran polinización (15). Estos factores pueden actuar en forma individual o pueden producirse en combinaciones entre ellos (7).

El desarrollo de monocultivos, como práctica habitual de la agricultura moderna en los últimos años, no logran cubrir las necesidades nutricionales de las abejas, debido a que se ven obligadas a alimentarse solo de una fuente nutricional, sin posibilidad de obtener otros elementos necesarios en su dieta, ya que plantas que no correspondan al cultivo son eliminadas por considerarse malezas, provocando que desarrollen una mayor susceptibilidad a plagas y enfermedades (1, 2, 6, 7, 15). Kevan y Menzel (2012) (4) señalan que debido a que las abejas son insectos generalistas, es poco probable que puedan mantenerse sanas al depender de un solo tipo de alimento. Sin embargo, la pérdida de cobertura vegetal, no solo se debe al desarrollo de monocultivos, sino también a la urbanización y áreas residenciales ubicadas en zonas de pastizales y de cultivos. El desarrollo de pequeños jardines y áreas de



esparcimiento no son suficientes para cubrir los requerimientos nutricionales de los insectos polinizadores. Naug (2009) (1) señala como consecuencia un descenso evidente en la cantidad de colmenas desde 1980 en EE.UU., lo que previamente fue confirmado por Pettis y Delaplane (3) en la figura 2 (Figura 3).

La diversidad florística que presenta un sector es importante para el buen desarrollo de las colmenas que viven allí (6). Algunas plantas contienen compuestos importantes, que por ejemplo ayudan a eliminar el ácaro varroa de las abejas, como es el caso de *Chrysanthemum coccineum*, *C. cinerarifolium*, *C. marshalli* y otras especies a fines, ellas contienen un compuesto químico llamado pelitre, cuyo análogo sintético son los piretroides, los cuales no pueden ser adicionados en forma sintética a las colmenas debido a su alta toxicidad para las abejas (6).

Bacandritsos *et al.* (2010) (2) mencionan otros factores que inducen estrés en las abejas, entre ellos se mencionan el agua contaminada, uso indiscriminado de antibióticos, sequías, fluctuaciones de temperatura, entre otras.

Otro factor muy importante para un adecuado desarrollo de las abejas es la nutrición, una nutrición deficiente de las abejas puede ser un factor altamente extresante en el adecuado desarrollo de la colmena, el USDA (2012) (18), señala en su último informe, sobre la importancia del desarrollo de dietas comerciales y suplementos alimenticios en especial para el periodo de hibernación de las abejas. Se observó que algunas dietas eran suficientes para el desarrollo de la cría y mantención de abejas adultas. Un producto es MegaBee® (distribuido por Dadant & Sons), este corresponde a un sustituto del polen (formulación líquida y sólida) que estimula la producción de cría y la respuesta inmune de las abejas.

### **3.- Uso de Productos Agroquímicos**

Cresswel (2011) (9) señala la importancia del uso de los agroquímicos (insecticidas, fungicidas, fertilizantes, etc.) en la productividad de los sistemas agrícolas intensivos, no



obstante, su evolución ha llevado a desarrollar nuevos formulados, que están presentes desde el momento en que se trata la semilla hasta el desarrollo final del cultivo (8, 9, 14-17). El uso de insecticidas, logra un importante control de plagas, sin embargo, afecta de igual forma a los insectos benéficos que trasladan estos productos a sus nidos, contaminando el alimento almacenado, las crías y los adultos (8, 9, 11-14, 16).

Durante los últimos años se ha centrado la atención en los productos neonicotinoides, estos corresponden a productos de segunda generación diseñados en los años '80, son neurotoxinas que actúan como receptores de acetilcolina y son letales al interrumpir los procesos del sistema nervioso central, provocando la muerte de los insectos (5,9, 11, 12, 16, 17). Poseen un modo sistémico de acción dentro de la planta, ya que son transportados por el xilema y floema, traslocándose a todos los órganos de la planta (20). Dentro de los neonicotinoides destacan imidacloprid (segundo agroquímico más utilizado en el mundo), thiametoxam, tiacloprid y clotianidina; capaces de causar efectos letales y subletales (importantes por el daño silencioso causado a las colmenas) (8, 9, 11, 17, 20). Estos productos neonicotinoides ocuparon el 26% del mercado mundial el año 2010, ya que se encuentran autorizados en más de 120 países, con más de mil usos, en diferentes cultivos como: arroz, papa, maíz, remolacha azucarera, cereales, aceite de colza, girasol, frutas, verduras, soja, plantas ornamentales, viveros, semillas para exportación y algodón (20).

Van der Sluijs *et al.* (2013)(20), señalan que de las semillas tratadas con neonicotinoides, entre el 1,6% al 20% del producto utilizado queda en las plantas hasta la cosecha del cultivo, además, el 80 a 98,4% del producto contamina al medio ambiente y por lixiviación contamina las aguas superficiales y subterráneas. Con respecto a esto último, los autores señalan que un estudio realizado en los Países Bajos, donde se tomaron nueve mil treinta y siete muestras de agua en ochocientos un lugares diferentes entre los años 1998 y 2003 al 2009, se obtuvieron resultados con valores sobre lo permitido en la norma de calidad de agua, superando los 13 ng l<sup>-1</sup> para imidacloprid, donde la mediana de la concentración fue 80 ng l<sup>-1</sup> y la concentración máxima encontrada fue de 320 µg l<sup>-1</sup>, lo que es muy tóxico para las



abejas. Por otro lado, un estudio realizado en Estados Unidos el año 2005, con ciento ocho muestras de agua, se identificó tiametoxam con una concentración media de  $3,6 \mu\text{g L}^{-1}$  y acetamiprid con  $2,2 \mu\text{g L}^{-1}$ (20).

Los neonicotinoides pueden interactuar con otros agroquímicos, como fungicidas, herbicidas, acaricidas, fitoreguladores, entre otros, una vez aplicados se potencian sinérgicamente, desarrollándose mezclas que en algunos casos son extremadamente tóxicas (8, 9, 11, 20), reforzando el desarrollo de agentes infecciosos como *N. ceranae*, apareciendo los síntomas del SDC (20).

Estudios realizados con neonicotinoides evidencian la toxicidad de estos productos, lo que se explica debido a que las plantas los absorben y los distribuyen de forma sistémica a todos sus órganos, trasasándolos a las plagas y a los polinizadores que las visitan, sin discriminar ningún tipo de insectos (9, 11, 12,16, 24). El periodo de latencia de estos químicos en la plantas como en el suelo es variado, pero amplio, dependiendo el neonicotinoide (tabla 1), lo que implica que cultivos no tratados con estos productos, los pueden absorber de trazas presentes en el suelo, traslocarlos por toda la planta y entregarlo a los insectos plagas y polinizadores (11, 20).

**Tabla 1. Vida media de neonicotinoides en el suelo (11, 20).**

<b>Neonicotinoides</b>	<b>Vida media (días) en el suelo (bajo metabolismo aeróbico)</b>
<b>Acetamiprid</b>	<b>1 – 8</b>
<b>Clothianidin</b>	<b>148 – 1.155</b>
<b>Dinotefuran</b>	<b>138</b>
<b>Imidacloprid</b>	<b>40 – 997</b>



<b>Thiacloprid</b>	<b>1 – 27</b>
<b>Tiametoxam</b>	<b>25 – 100</b>

El tiempo de vida media para algunos productos neonicotinoides es amplio quedando disponibles en el suelo para los cultivos posteriores. De esta forma, son absorbidos y distribuidos por la planta, entregándolos a los insectos plagas o polinizadores de igual forma (11, 20).

Las abejas se ven expuestas a los neonicotinoides ya sea por contacto directo (pulverización en las plantas), ingesta de polen y néctar con residuos o por consumo de agua contaminada, provocando efectos letales y subletales, y por ende una alteración en la convivencia normal de los integrantes de la colonia, estos efectos pueden ser observados en la tabla 2 (11, 20).

Tabla 2. Efectos letales y subletales de los insecticidas neonicotinoides para las abejas y los cultivos (5, 8, 11, 16, 20, 25, 26).

<b>Efectos letales</b>	<b>Efectos subletales</b>
<b>Muerte de las abejas</b>	<b>Polinización menos eficiente.</b>
<b>Cultivos de menor calidad.</b>	<b>Reducción en las habilidades de orientación.</b>
	<b>Comportamiento anormal de alimentación.</b>
	<b>Reducción de la actividad de la colonia.</b>
	<b>Menor frecuencia de visitas de pecoreo.</b>
	<b>Desarrollo anormal de las crías.</b>
	<b>Daño en el sistema nervioso central.</b>
	<b>Mayor susceptibilidad a las enfermedades.</b>



## Deterioro en el comportamiento higiénico.

Los efectos subletales se hacen visibles a corto y largo plazo, debido a que los agroquímicos utilizados en los cultivos o en las labores propias del campo, son acumulativas en los nidos de los insectos polinizadores y en sus cuerpos (5, 8, 11, 16, 20, 25, 26).

Sin embargo, los polinizadores en general, se ven expuestos a estos productos debido a: inhalación de aire contaminado, ingesta de alimento con residuos, material contaminado utilizado en la nidificación (resinas, ceras, etc), contacto directo con la deriva durante la aplicación, contacto con suelo, agua y plantas contaminadas (20). Estos mismos investigadores señalan que los efectos subletales no serían identificables en laboratorio, debido a que las pruebas tradicionales de agroquímicos se centran en la mortalidad aguda.

Cressey (2013)(5), menciona que un estudio realizado por el DEFRA (Departamento para el Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales de Londres), donde expusieron veinte colonias de abejorros en tres sitios de cultivo realizados con semillas tratadas con neonicotinoides, encontrando relaciones claras entre el uso de este plaguicidas y el daño presentado por los insectos.

Estudios realizados por Mullin *et al.* (2010)(29), Decourtye *et al.*, (2004) (26) e Iwasa *et al.*, (2004) (31), mencionan la eficacia de imidacloprid en el control de artrópodos como áfidos, cochinillas, moscas blancas; heterópteros, coleópteros y en algunas especies de lepidópteros, lo que muestra el amplio rango de control que puede ejercer este ingrediente activo. Por otro lado, van Engelsdorp, (23, 32) identificó en numerosas muestras de polen, presentes en las celdas de los marcos de miel, diversas cantidades de productos agroquímicos, en especial de clorotalonil (un fungicida de uso común en cultivos agrícolas). Las colmenas que presentaban estos pólenes mostraron una mortalidad mayor en comparación a aquellas que no lo presentaban (43% y 20% respectivamente). La tabla 4 muestra los compuestos identificados en el polen y la figura 4 presenta los productos agroquímicos identificados en diversas muestras de pólenes combinados, operculados y sepultados.

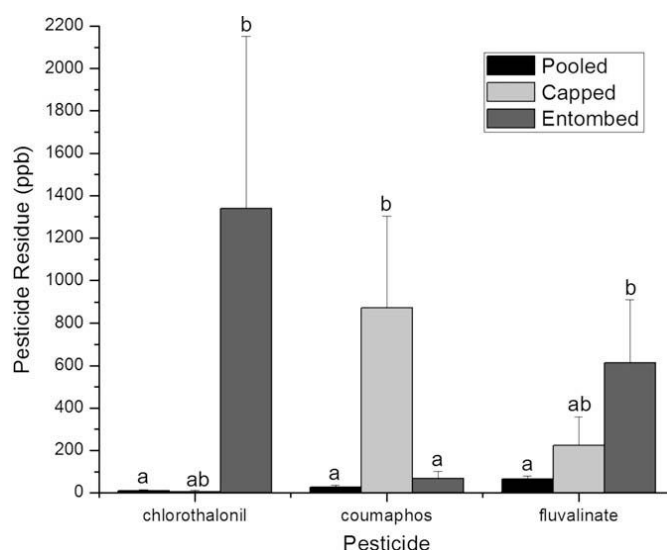


**Tabla 3. Productos agroquímicos detectados en una muestra de polen sepultado en marcos de colmena (26)**

Plaguicidas	% del producto en la muestra
Acaricida Cumafos	100
Fluvalinato	96
Fungicida Clorotalonil	100 (polen enterrado) 45,5 (polen normal)

Las abejas depositan el alimento recolectado en las celdillas de los marcos. Sin embargo, la aplicación de diversos productos agroquímicos (herbicidas, insecticidas, fitoreguladores, coadyuvantes, entre otros) en cultivos presenta sinergia entre productos, con un aumento de toxicidad hacia los polinizadores (26).

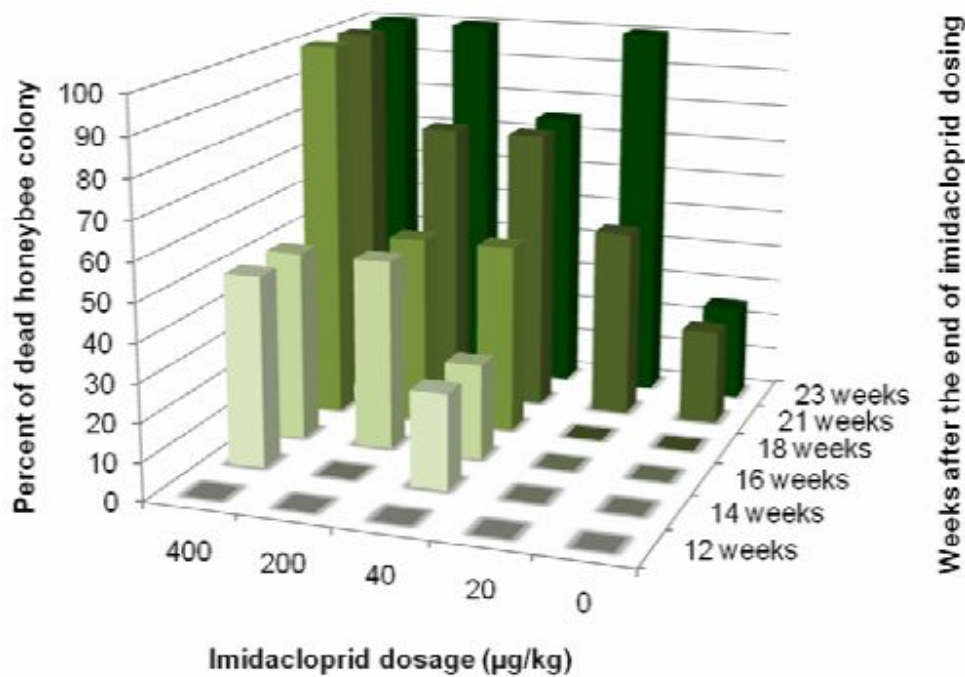
**Figura 4.** Niveles de plaguicidas en 14 muestras de polen (operculado n = 6; enterrado = 10). Las diferencias de residuos en los plaguicidas está indicado por letras diferentes sobre las barras (Tukey – Kramer HDS,  $P < 0,05$ ) (26).





Imidacloprid es el producto de mayor uso a nivel mundial (5, 9, 12, 31, 33), su efecto sistémico es efectivo en el control de insectos chupadores, pero no discrimina entre los polinizadores. Lu *et al.* (2012) (12) presentan en la Figura 5, la mortalidad en veinte colmenas tratadas con imidacloprid, a las doce semanas tras la aplicación de este neonicotinoide no se observó mortalidad, sin embargo, las colmenas se debilitaron; a la semana dieciocho se comenzó a observar mortalidad importante y al término del experimento (23 semanas), sólo una de las colmenas tratadas sobrevivió.

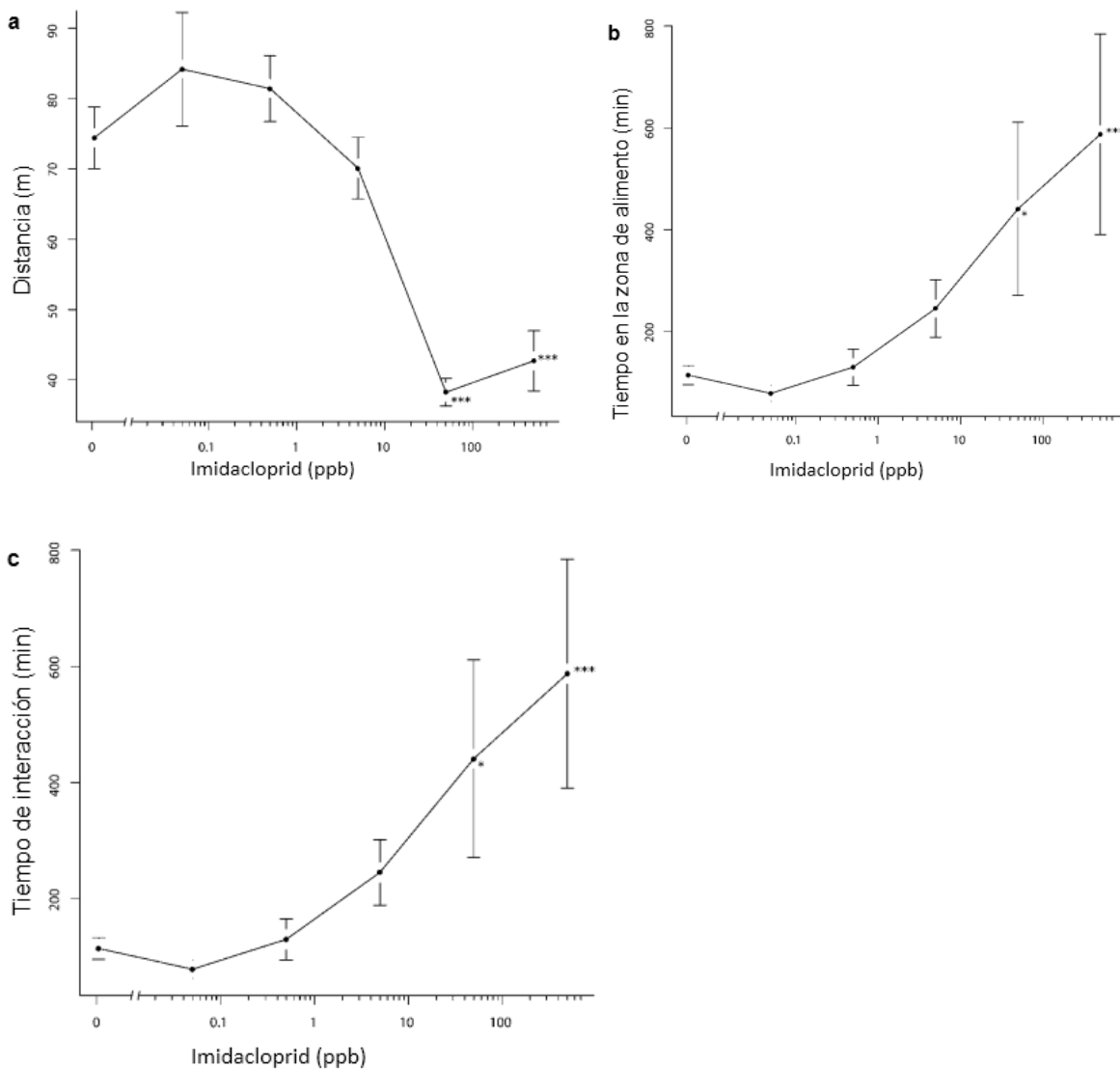
**Figura 5.** Progresión de la mortalidad en la colmena asociada a dosis de imidacloprid evaluadas en 23 semanas. Grupos tratados con imidacloprid y controles ubicados en cuatro apiarios (12).



Teeters *et al.* (2012) (34) graficaron los efectos presentados por abejas expuestas a alimento con imidacloprid, para identificar problemas en el vuelo. Ellos graficaron la distancia recorrida, el tiempo transcurrido de la alimentación y el tiempo que transcurre entre una

interacción y otra entre abejas, en un periodo de 24 horas (figura 6), notándose una evidente disminución en cada una de las actividades.

**Figura 6.** Efecto en abejas de la administración oral de imidacloprid en (a) distancia recorrida, (b) tiempo transcurrido de alimentación, y (c) tiempo de interacción entre abejas en 24 horas (34).

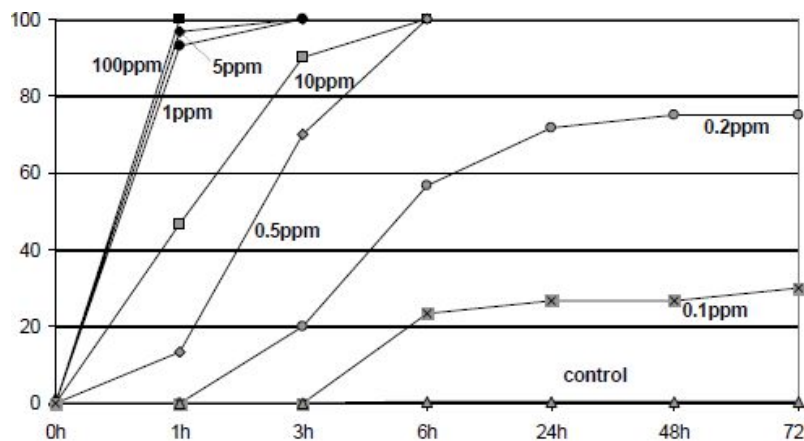


El neonicotinoide tiametoxam se aplica como polvo, granulado y diluido en agua, y presenta una gran movilidad en la planta (9, 11, 27, 31). En las evaluaciones en un ensayo de ingesta



directa de Laurino *et al.* (27), tiametoxam causó la muerte de todas las abejas a una concentración de 0,5 ppm, 200 veces menor que lo utilizado en campo en un período de 6 horas. Además, el producto causó la muerte hasta una concentración de 0,1 ppm, 1000 veces menor que lo utilizado en campo. A concentraciones de 10 ppm, la mortalidad fue más lenta que a concentraciones de 5, 2 y 1 ppm (Figura 7).

**Figura 7.** Mortalidad de abejas en forrajeo libre alimentadas durante 1 h con solución de sacarosa con 8 concentraciones decrecientes de tiametoxam (27).



Cresswell (2011) (9) indica que Francia y Alemania restringieron el uso de productos neonicotinoides en los cultivos, debido a la preocupación por los efectos que éstos tenían en el desarrollo de las abejas. Actualmente, estos plaguicidas se han restringido por dos años a partir de julio de 2013 en toda la Unión Europea; al término del segundo año se harán estudios para evaluar la continuidad de estos productos en el mercado.

Köhler *et al.* (2012) (28) señalan que los productos con nicotina son beneficiosos para las plantas debido a que reducen su carga de patógenos y parasitoides, y son utilizados como insecticidas naturales en agricultura orgánica. El consumo de néctar con nicotina por las abejas en dosis altas no las disuadió a alimentarse por ser un repelente sólo parcial, y los



polinizadores lo siguen consumiendo, sin embargo, esas concentraciones disminuyen la supervivencia de las pecoreadoras y afectan su adecuación en la colonia.



## V.- Estado sanitario actual en Chile

El SAG (2014), en el “Informe sanidad animal 2012”, indica que en el país se encuentra presente acariosis, loque amaericana, loque europea y varroa. Sin embargo, un estudio reciente realizado por investigadores de la ciudad de Concepción, reveló la presencia de tres virus sindicados como uno de los factores que intervienen en el desarrollo del síndrome de colapso de colmenas, a continuación, la tabla 5 da a conocer la situación sanitaria actual de Chile.

En Chile todos los factores mencionados anteriormente están presentes, sin embargo el mayor problema que tenemos en nuestro país y que probablemente también sea común en otros lugares del mundo son los alimentos que le damos a nuestras colmenas. Durante el invierno es necesario alimentar a las abejas ya que, aunque invernan y tienen mucha menos actividad que en primavera y verano, necesitan respirar, mantener la temperatura en la colmena y a la reina. Lo ideal es alimentarlas con su propia miel (requisito indispensable si se tiene certificación orgánica), pero como la cantidad de miel cosechada fluctúa mucho de año en año, muchos apicultores optan por otras alternativas, desde fructosa, azúcar disuelta en agua, o machacado de maíz. Esto último es muy grave ya que las abejas no están acostumbradas a este u otro tipo de alimento ajeno a la dieta normal de las abejas.

Por Otra parte, el SAG (2014), señalan que están presente Loque Americano, Loque Europeo, Nosema, Varroa y Acariosis, sin embargo, los estudios realizados por Rodríguez *et al.*, (2014), dan cuenta de una nueva realidad sanitaria que se deberá enfrentar, indicando la presencia de los virus ABPV, BQCV y DWV, los cuales son silenciosos y fácilmente confundibles con sintomatología descrita para nosema o el ácaro varroa

Tabla 5: Enfermedades que afectan a las abejas en Chile, según su estado de desarrollo.



ENFERMEDADES QUE AFECTAN A LA CRÍA						
ENFERMEDAD	AGENTE CAUSAL	NOMBRE CIENTÍFICO	PRESENCIA O AUSENCIA EN CHILE	VÍA DE INFECCIÓN	LOCALIZACIÓN PRINCIPAL	SÍNTOMAS GENERALES
<b>LOQUE EUROPEA*</b>	Bacteria	<i>Melissococcus pluton</i> W. <i>Bacillus alvei</i>	Presente	Alimentación Equipo apícola	Larva joven sin opercular	Muerte de larvas de 4 – 5 días Cría salteada
<b>LOQUE AMERICANO*</b>	Bacteria	<i>Paenibacillus larvae</i> <i>larvae</i> Withe	Presente	Alimentación Panales contaminados	Larvas operculadas Ninfas jóvenes	Muerte de larvas operculadas
<b>ASCOSFAERA CRIA DE CAL O YESIFICADA</b>	Hongo	<i>Ascosphaera apis</i> Maassen Claussen.	Presente	Ingestión de esporas	Larvas	Momias de pollo ensacado
ENFERMEDADES QUE AFECTAN A LA ABEJA ADULTA						
<b>NOSEMOSIS</b>	Protozoo	<i>Nosema apis</i> Zander	Presente	Ingestión de esporas	Aparato digestivo	Diarrea Muerte
		<i>Nosema ceranae</i>	Presente	Ingestión de esporas	Aparato digestivo	Diarrea Muerte
<b>AMEBIASIS</b>	Protozoo	<i>Malpighamoeba mellifica</i> Prell	Presente	Ingestión de quistes	Tubos de Malpighi	Diarrea
<b>ACARIOSIS*</b>	Ácaro	<i>Acarapis woodi</i> Rennie	Presente	Penetración por espiráculos torácicos	Tráqueas torácicas	Dislocación de alas Daño de músculos del vuelo
ENFERMEDADES QUE AFECTAN A AMBOS ESTADIOS						
<b>VARROASIS*</b>	Ácaro	<i>Varroa destructor</i> Anderson & Trueman	Presente	Abejas, material contaminado	Adultos y larvas	Muerte de adultos y larvas
VIRUS						
<b>PARALISIS AGUDA</b>	Virus	ABPV	Presente	Ingestión de polen fermentado	Partes bucales salientes	Muerte rápida
<b>PARALISIS CRÓNICA</b>	Virus	BQCV	Presente	Ingestión de polen fermentado	Dificultad para volar	Muerte rápida
<b>ALAS DEFORMES</b>	Virus	DWV	Presente	Alimentación de pupas, transmitido por el ácaro Varroa.	Alas deformes, abdomen hinchado y pérdida de color.	Muerte rápida

\*Enfermedad de denuncia obligatoria ante el Servicio Agrícola y Ganadero. Fuente: Adaptado desde Lesser (2004); Delamoy, 2006; Rodríguez et al., 2014; Servicio Agrícola y Ganadero (2014); Moreno (Sin fecha).



## VI. Reflexiones finales

Con los antecedentes presentados no es posible atribuir el Síndrome de Despoblamiento de Colmenas solo a una causa, sino más bien a la combinación de agentes estresantes, bióticos, abióticos y de manejo de los apicultores, que tienen un efecto sinérgico negativo en un adecuado funcionamiento de las colmenas (2, 3, 15, 18).

Si bien la Unión Europea suspendió algunos agroquímicos para determinar realmente cual es su efecto sobre las abejas (9), en nuestro país estos productos siguen siendo utilizados por los agricultores en distintos cultivos, el país no ha tomado conciencia de la importancia de los polinizadores en la producción de alimentos.

Los productos neonicotinoides se han convertido en uno de los tipos de insecticidas más utilizados a nivel mundial, se ha reportado que más de ciento veinte países y en unos mil cultivos los utilizan, este tipo de insecticidas representan al menos una cuarta parte del mercado de los insecticidas, por lo que se encuentran constantemente en contacto con los insectos polinizadores, en los que tienen efectos letales y subletales (20). Mientras no se demuestre el efecto que ejerce sobre los polinizadores su utilización se mantendrá por mucho tiempo.

Al parecer, el síndrome de despoblamiento de las colmenas empieza a desarrollarse en áreas aisladas y luego se fue extendiendo a nuevas zonas (6, 14), esto es relacionado según algunos autores con el aumento del uso de agroquímicos cada vez más sofisticados en la agricultura moderna (1, 3), es por ello que estos autores indican que este es el principal factor involucrado en el SDC.

La aparición de nuevas enfermedades que afectan a las abejas, como hongos, bacterias y virus son factores silenciosos, los cuales si no son detectados a tiempo en la colmena, pueden ocasionar el debilitamiento y posterior muerte de las abejas (2, 14 y 15), es por ello



que los apicultores deben estar atentos a las condiciones de manejo de sus apiarios, desinfectando herramientas de trabajo, eliminar materiales contaminados y manteniendo las colmenas bien alimentadas (2, 7 y 15), ya que para el caso de algunos virus en Chile aún no hay registros de productos que controlen la enfermedad (25).

El síndrome del despoblamiento de la colmena se debe a varios factores, entre ellos se pueden mencionar, contaminación medioambiental (4), presencia de plagas y enfermedades (7), traslados de colmenas para polinización (2, 7, 15), malas prácticas de manejo por parte de los apicultores (2, 7), uso indiscriminado de agroquímicos (15), entre otros. Es la combinación entre estos factores, la que se cree más perjudicial para el desarrollo de las colonias, debido a que en conjunto aumentan el estrés en los integrantes de las colonias, debilitándolas y dejándolas más propensas a que otros factores bióticos o abióticos las afecten (8, 9, 11-17).

El desarrollo de plagas y enfermedades y el manejo del apicultor en sus colmenas para controlarlas cobra así gran importancia (1, 2, 6, 7, 14, 18). Hoy se sabe que los ácaros *Varroa destructor* y *Acarapis woodi*, no solo dañan a las abejas por si solos, sino que además son vectores de varios virus en la colmena (CBPV, ABPV, DWV, SBV y BQCV), los que a menudo se confunden con otras enfermedades o simplemente no presentan un cuadro clínico definido. Además, ya es común encontrar en la colmena la presencia de Nosema, que en primera instancia solo se atribuía a *N. apis*, aunque hoy es posible identificar a *N. ceranae*, microsporidio más virulento y agresivo que su antecesor, el cual puede debilitar y eliminar una colmena en días. Esta nueva realidad sanitaria en Chile, la utilización de productos agroquímicos, los malos manejos realizados por parte del apicultor y la suma de nuevos factores estresantes, nos indica lo cercano que nos encontramos a denunciar posibles despoblamientos de colmenas.

Es importante destacar que el desarrollo de plagas y enfermedades se puede atribuir al debilitamiento de las abejas por dietas pobres a las se exponen a diario durante el periodo de polinización en monocultivos o con poca diversidad florística y en el invierno alimentadas con



jarabe de sacarosa, alimentos con los cuales no se alcanzan los requerimientos nutricionales de los individuos de la colmena

Aun cuando algunos creen que el uso de productos agroquímicos puede no ser la causa directa del síndrome de despoblamiento de las colmenas, existen evidencias claras de los efectos letales y subletales que éstos pueden tener sobre los integrantes de la colonia, generando un estrés propio que la aplicación de estos productos induce, trayendo como consecuencia el debilitamiento en las abejas de cada colmena (5, 8, 11, 16, 20, 27, 28).

Es importante tomar medidas concretas para el manejo de colmenas. Por ejemplo, el USDA (2012) (18) indica que es importante implementar mejores prácticas de manejo apícola en las colmenas y que no vayan en desmedro de sus integrantes; debe existir una evaluación constante de las plagas y enfermedades; implementar una encuesta anual que involucre a todo tipo de apicultores (hobbistas y profesionales); implementar la selección de las reinas no solo a mejores productoras, sino que además tengan buen comportamiento higiénico, medida para la que se debe orientar a los apicultores para la toma de decisiones sobre qué reproductora elegir y los tratamientos apropiados que esto conlleva; y como último punto, concientizar a los agricultores y a los productores de semillas, el valor las abejas como agentes polinizadores y su importancia en la producción de sus cultivos, para que aumenten o incluyan otras plantas atractivas para los polinizadores en sus cultivos, con la finalidad de no confinarlos solo a una fuente nutricional, sino que puedan acceder a una fuente más variada de alimentos.



## Bibliografía

1. **Naug D.** 2009. Nutritional stress due to habitat loss may explain recent honeybee colony collapses. *Biological Conservation* 142: 2369-2372.
2. **Bacandritsos N, Granato A, Budge G, Papanastasiou I, Roinioti E, Caldon M, Falcaro C, Gallina A, Mutinelli F.** (2010). Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies. *Journal of Invertebrate Pathology* 105: 335-340.
3. **Pettis J, Delaplane K.** (2012). Coordinated responses to honey bee decline in the USA. *Apidologie* 41(3):256-263.
4. **Kevan P, Menzel R.** (2012). The plight of pollination and the interface of neurobiology, ecology and food security. *Environmentalist* 32: 300-310.
5. **Cressey D.** (2013). Europe debates risk to bees. *Nature* 496: 408. doi:10.1038/496408a
6. **Sharpe R, Heyden L.** (2009). Honey bee colony collapse disorder is possibly caused by a dietary pyrethrum deficiency. *Bioscience Hypotheses* 2: 439-440.
7. **Johnson R.** 2010. Honey Bee Colony Collapse Disorder. Congressional Research Service. Prepared for Members and Committees of Congress 20 p.
8. **Brittain C, Potts S.** (2011). The potential impacts of insecticides on the life history traits of bees and the consequences for pollination. *Basic and Applied Ecology* 12: 321-331.
9. **Cresswell J.** (2011). A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honey bees. *Ecotoxicology* 20: 149-157.
10. **Anonymous.** 2012. Colony collapse disorder. *The Economist* 402(8769): 78.



11. **Hopwood J, Vaughan M, Shepherd M, Biddinger D, Mader E, Hoffman S, Mazzacano C.** (2012). Are neonicotinoids killing bees? A review of research into the effects of neonicotinoid insecticides on bees, with recommendations for action. The Xerces Society for Invertebrate Conservation. USA 31 p.
12. **Lu Ch, Warchol K, Callahan R.** (2012). In situ replication of honey bee colony collapse disorder. *Bulletin of insectology* 65(1): 99-106.
13. **Pochi D, Biocca M, Fanigliulo R, Pulcini P, Conte E.** (2012). Potential exposure of bees, *Apis mellifera* L., to particulate matter and pesticides derived from seed dressing during maize sowing. *Bull Environ Contam Toxicol.* 89: 354-361.
14. **Hanzelou J.** (2007). Where have all the bees gone?. *The Lancet* 370(9588): 639.
15. **Kaplan J.** (2012). Colony Collapse Disorder: An incomplete puzzle. *Agricultural Research magazine* 60: 4-6.
16. **Rozen D.** Drugged bees go missing. *J. Exp. Biol.* (2012) 215:17,iv.
17. **Stokstad E.** (2012). Field research on bees raises concern about low-dose pesticides. *Science* 335(6076): 1555.
18. **USDA (United States Department of Agriculture).** 2012. Colony Collapse Disorder: 2012 Annual Progress Report. CCD Steering Committee 2012: 7 p.
19. **Winfrey R, Gross B, Kremen C.** (2011). Valuing pollination services to agriculture. *Ecological Economics* 71: 80-88.
20. **van der Sluijs J, Simon-Delso N, Goulson D, Maxim L, Bonmatin J, Belzunces L.** (2013). Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* 5(3-4): 293-305.
21. **Hanzelou, J.** 2007. Where have all the bees gone? *The Lancet* 370(9588): 639.



22. **McCrink, M.** 2014. Pollution: A global threat. *Environment International* 68: 162-170.
23. **van Engelsdorp D, Evans J, Donovall L, Mullin C, Frazier M, Frazier J, Tarpy D, Hayes J, Pettis J.** (2009). "Entombed Pollen": A new condition in honey bee colonies associated with increased risk of colony mortality. *Journal of Invertebrate Pathology* 101: 147-149.
24. **Weinstein E, Chen Y, Message D, Pettis J, Evans D.** (2008). Virus infections in Brazilian honey bees. *Journal of invertebrate Pathology* 99: 117-119.
25. **SAG (Servicio Agrícola y Ganadero.** Medicamentos autorizados para abejas. Rev. 23 nov. 2013 en:  
[http://medicamentos.sag.gob.cl/ConsultaUsrPublico/BusquedaMedicamentos\\_1.asp](http://medicamentos.sag.gob.cl/ConsultaUsrPublico/BusquedaMedicamentos_1.asp).
26. **Decourtye A, Lacassie E, Pham-Delegue MH.** 2003. Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L) are differentially affected by imidacloprid according to the season. *Pest Manag. Sci.* 59(3): 269-278.
27. **Laurino D, Porporato M, Patetta A, Manino A.** 2011. Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees: laboratory tests. *Bulletin of Insectology* 64: 107-113.
28. **Köhler A, Pirk Ch, Nicolson W.** (2012). Honeybees and nectar nicotine: Deterrence and reduced survival versus potential health benefits. *Journal of insect Physiology* 58: 286-292.
29. **Mullin C, Frazier M, Frazier J, Ashcraft S, Simonds R, van Engelsdorp D, Pettis J.** (2010). High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *Plos One* 5(3):e9754.
30. **Decourtye A, Armengaud C, Renou M, Devillers J, Clauzeau S, Gauthier M, Pham-Delègue.** 2004. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 78: 83-92.



- 31. Iwasa T, Motoyama N, Ambrose J, Roe M.** (2004). Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection* 23: 371-378.
- 32. van Engelsdorp D, Evans J, Saegerman C, Mullin Cr, Haubrug E, Kim B, Nguyen B, M Frazier, J Frazier, Cox-Foster D, Chen Y, Underwood R, Tarpay D, Pettis J.** Colony Collapse Disorder: A descriptive study. *Plos ONE* 4(8): e6481.
- 33. Elbert A, Haas M, Springer B, Thielert W, Nauen R.** 2008. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Manag. Sci.* 64: 1099-1105.
- 34. Teeters B, Johnson R, Ellis M, Siegfried B.** 2012. Using video-tracking to assess sublethal effects of pesticides on honey bees (*Apis mellifera* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry* 31: 1349-1354.