



MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN



INFORME DE RESULTADOS DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA 2020-2021 SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS

DESCRIPCIÓN BREVE

Este informe tiene como objetivo presentar los resultados obtenidos en España en la campaña 2020-2021 en relación a la aplicación del Programa nacional de vigilancia.

*Subdirección General de Sanidad e Higiene
Animal y Trazabilidad*

COORDINADORES PARTICIPANTES		ORGANISMO DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA/MAPA
De Abajo Domingo	Miguel Ángel	Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León
Barroso Casillas	Sara María	Consejería de Agricultura, Desarrollo Rural, Población y Territorio de la Junta de Extremadura
Benito Acero	Gema	Dirección General de Agricultura, Ganadería y Alimentación de la Comunidad de Madrid
Bonilla García	Sergio	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
Cabeza Núñez	Amparo	Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible de la Junta de Andalucía
Cáceres Garrido	Germán	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
Díaz Díaz	Elena	Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca de Cantabria
Escudero Mateo	Joaquín	Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería, Pesca y Medio Ambiente de la Región de Murcia
Fernández Somalo	Pilar	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
Fernández Feijoo	Beatriz	Subdirección Xeral de Ganadería - Consellería do Medio Rural e do Mar - Xunta de Galicia
Fernández-Mardomingo Barriuso	Francisco Javier	Consejería de Agro-ganadería y Recursos Autóctonos del Principado de Asturias
Hermosilla Cabrerizo	Joaquín	Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente de la Diputación General de Aragón
Madrid Escalante	Cristina Belén	Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible de la Junta de Andalucía
Martínez Casas	Carmen	Conselleria de Agricultura, Desarrollo Rural, Emergencia Climática y Transición Ecológica de la Comunidad Valenciana
Mata Bagües	Almudena	Consejería de Agricultura, Agua y Desarrollo Rural de Castilla – la Mancha
Oteiza Orradre	Pedro	Dpto. de Desarrollo Rural, Industria, Empleo y Medio Ambiente de la Comunidad Foral Navarra
Pérez Cobo	Iratxe	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
Pelayo Rincón	Virginia	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
Porres Montoya	Salvador	Consejería de Agricultura, Ganadería, Mundo Rural, Territorio y Población de La Rioja
Romero González	Luis José	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
Salvador Escalona	María José	Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca i Alimentació Generalitat de Catalunya
Vila Serena	Anna	Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca i Alimentació Generalitat de Catalunya

RED DE LABORATORIOS PARTICIPANTES	PROVINCIA	NOMBRE DEL LABORATORIO
MAPA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación)	Madrid	Laboratorio Central de Veterinaria de Algete - Sanidad Animal (LNR)
MAPA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación)	Madrid	Laboratorio Arbitral Agroalimentario (LAA)
Andalucía	Huelva	Laboratorio de Producción y Sanidad Animal
Aragón	Zaragoza	Laboratorio Agroambiental. Centro tecnológico I+D de Seguridad Agroalimentaria
Asturias	Asturias	Laboratorio de Sanidad Animal de Asturias
Castilla y León	León	Laboratorio Regional de Sanidad Animal de Castilla y León
Cataluña	Lleida	Laboratorio de Sanidad Animal y Vegetal de Cataluña
Extremadura	Badajoz	Laboratorio Regional de Sanidad y Producción Animal
Galicia	Lugo	Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia
Madrid	Madrid	Laboratorio Regional de Sanidad Animal
Murcia		Laboratorio Agroalimentario y de Sanidad Animal
Navarra	Navarra	Laboratorio Pecuario de Calidad Agroalimentaria de Navarra
La Rioja	La Rioja	Laboratorio Regional de la C.A. de la Rioja
Valencia	Valencia	Unidad de Análisis en Sanidad Animal de Valencia

RESUMEN

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 (2012-21) se ha podido establecer 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.

El presente informe recopila los resultados del Programa nacional de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas durante el periodo 2020-21, relacionándolos con los de años previos.

*La **mortalidad invernal** en España para el periodo 2020-21 fue del 13,5%, inferior a la registrada la campaña anterior, apreciándose variaciones por territorios que van desde el 7,5% de Aragón hasta el 36,4% registrado en Navarra. 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.*

*Al no haberse realizado visita de verano, no es posible calcular la **mortalidad primaveral** registrada en España durante esta campaña.*

*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, 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, establece medidas específicas para el control 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 (2020-2022). Los resultados obtenidos durante las nueve campañas indican una elevada **prevalencia en otoño** del ácaro Varroa destructor que de media se ha situado en apiarios en un 81,8% y en colonias en un 47,9%, habiéndose registrado un descenso en la campaña 2020-21 respecto a la campaña anterior, si bien continúan siendo valores muy elevados. En otoño de 2020, periodo en el que un 83,2% de los apicultores ya habían realizado un tratamiento previo a la primera visita prevista en el programa, la prevalencia se situó en un 90,2% en los apiarios y en un 54,4% en las colonias de abejas estudiadas de forma sistemática, siendo estos niveles superiores al promedio interanual. En relación a los **niveles de infestación**, un 10,6% de los apiarios presentaron parasitaciones moderadas a muy graves, porcentaje significativamente inferior al registrado en la campaña anterior, que fue del 27,7%.*

Al igual que en las tres campañas anteriores, en la campaña 2020-21 se realizó un segundo muestreo sistemático de Varroa destructor, que se llevó a cabo durante la visita de **primavera**. La prevalencia detectada ha sido inferior a la registrada en otoño, registrándose un 83,2% de los apiarios y 46,7% de las colonias parasitadas. El porcentaje de apiarios con **niveles muy leves o nulos de infestación ($\leq 1\%$)** alcanzó el 67,1% frente al 51,6% en otoño, siendo superior al 75% en 9 de las 14 CCAA participantes: Asturias, Cantabria, Castilla-La Mancha, Castilla y León, Extremadura, Galicia, La Rioja, Murcia y Navarra. **Un 6,3% de los apiarios evaluados en primavera presentaron niveles de parasitación moderados a muy graves**, porcentaje significativamente inferior al registrado en otoño (10,6%).

La evolución de la **prevalencia clínica de varroosis** a lo largo de las nueve campañas ha mostrado variaciones anuales entre el 11,6% y el 26,8%, siendo del 18,1% en el periodo 2020-21, y siendo el otoño el periodo en el que se han encontrado las prevalencias clínicas más elevadas (11,1%).

En el **otoño** la presencia de **Nosema spp.** en los apiarios fue elevada durante las nueve campañas, detectándose en un 85,6% de los apiarios. La prevalencia en las colonias fue siempre inferior, afectando a un promedio de 53,6 % en esta época. En otoño de 2020, se detectó la presencia de Nosema spp. en un 94,3% de los apiarios y un 85,2% de las colonias visitadas. En relación a los **niveles de infestación**, un 29,1% de las colonias presentaron parasitaciones moderadas a muy graves, cifra superior al promedio anual de las nueve campañas anteriores que se sitúa en el 21,8%.

De los estudios de tipificación molecular se deriva que el 93,6% de las colonias positivas lo eran exclusivamente a Nosema ceranae y un 3,4% a Nosema Apis, lo que confirma un desplazamiento de Nosema apis por Nosema ceranae, tendencia que se mantiene en todas las campañas. El porcentaje restante se debieron a infestaciones mixtas.

La **detección anual de nosemosis clínica** fue del 2,9%, variando entre campañas desde dicho 0,7% como valor mínimo y el 6,3% como valor máximo anual, siendo las campañas 2014-15 y 2016-17 las que mostraron esta mayor prevalencia.

La **loque americana** afectó anualmente a un 2,7% de los apiarios investigados durante los nueve años, viéndose incrementada su prevalencia de forma significativa durante la campaña 2014-15, hasta un 8,1%. En el periodo 2020-21 no se registró ningún caso en ninguno de los apiarios participantes. Del mismo modo, 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 las campañas, siempre por debajo del 1,5%, excepto durante la campaña 2017-18, en la que se detectó un 4,3% y en la campaña 2020-21, con un 3,5% de prevalencia. 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, siendo detectada únicamente en la campaña 2013-14, con un 1,6%, y en la campaña 2020-21, en la que se detectó un 3,5%.

En todas las campañas la prevalencia clínica anual del **Virus de la parálisis crónica (CBPV)** se ha situado siempre por debajo del 2,3% de los apiarios investigados, excepto en la campaña 2012-13 (6,9%), siendo el 2,3% en la campaña 2020-21.

*En las nueve camapañas 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 5 focos en 2021.*

En la campaña 2020_21 se han registrado dos sospechas clínicas de intoxicación durante las visitas a los apiarios participantes. Fuera del programa de vigilancia, durante ese mismo período (septiembre 2020 – agosto 2021) se confirmaron dos sospechas de intoxicación de un total de cuatro casos investigados que fueron notificados en el marco de la vigilancia pasiva.

ÍNDICE

1	Introducción	8
2	Descripción del programa de vigilancia piloto sobre las pérdidas de colonias de abejas 2019-20	8
2.1	Objetivos del programa.	8
2.2	Enfermedades objeto de vigilancia en el programa.	8
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 PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2019-20	10
3.1	APIARIOS Y COLONIAS INVESTIGADAS	10
3.2	ÍNDICES DE MORTALIDAD.	12
3.3	ENFERMEDADES DE LAS ABEJAS.	13
3.3.1	INFESTACIÓN POR <i>Varroa destructor</i> y VARROOSIS.	13
3.3.1.1	INFESTACIÓN POR <i>Varroa destructor</i> .	13
3.3.1.2	VARROOSIS.	28
3.3.1.3	APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS PARA EL CONTROL DE LA VARROOSIS	30
3.3.2	INFESTACIÓN POR <i>Nosema spp</i> y NOSEMOSIS	32
3.3.2.1	INFESTACIÓN POR <i>Nosema spp</i>	32
3.3.2.2	NOSEMOSIS	38
3.3.3	VIRUS DE LAS ALAS DEFORMADAS	40
3.3.4	VIRUS DE LA PARÁLISIS AGUDA	42
3.3.5	VIRUS DE LA PARÁLISIS CRÓNICA	44
3.3.6	LOQUE AMERICANA	45
3.3.7	LOQUE EUROPEA	46
3.3.8	PARÁSITOS EXÓTICOS: <i>Aethina tumida</i> y <i>Tropilaelaps spp</i>	46
3.4	INVESTIGACIÓN DE CASOS DETECTADOS POR VIGILANCIA PASIVA	47
4	CONCLUSIONES	49
	ANEXO I: Pesticidas analizados en las muestras de panal de polen y abejas	53
	ANEXO II: LISTADO DE PESTICIDAS: TOXICIDAD AGUDA (DOSIS LETAL 50) POR CONTACTO PARA LAS ABEJAS. AUTORIZACIÓN EUROPEA Y USO HABITUAL	56
	ANEXO III: Técnicas de laboratorio utilizadas para el análisis de muestras recogidas.	60

1 INTRODUCCIÓN

Este informe tiene como objetivo presentar los principales resultados obtenidos en España a lo largo del periodo 2020-2021 así como la evolución de cada variable estudiada a lo largo del tiempo.

Durante los **nueve años de implementación del programa nacional de vigilancia** (otoño 2012-primavera 2021) se han realizado 2.811 visitas a apiarios e investigado un total de 31.318 colonias seleccionadas al azar y 136 colonias fuera del muestreo al azar. En total, en la serie de campañas el número de muestras recogidas ha sido 48.756, sobre las que se han realizado 53.580 análisis laboratoriales, incluyendo análisis de residuos de pesticidas que incluían la determinación de un total de 306 residuos en cada muestra.

2 DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA PILOTO SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2020-21

2.1 OBJETIVOS DEL PROGRAMA.

Los principales objetivos que se han establecido para el programa son la monitorización de las tasas de pérdida de colonias de abejas durante el invierno a nivel nacional, así como la monitorización de tasas de prevalencia de las enfermedades apícolas prioritarias, y 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 la investigación de las sospechas clínicas de intoxicación por pesticidas durante toda la campaña.

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

- Estimar la **tasa de mortalidad invernal** de los apiarios seleccionados.
- Estimar la **tasa de infestación por *Varroa destructor* y de *Nosema spp*** a nivel de colmena y de apiario antes de la estación invernal y en el caso de *Varroa destructor* también en primavera.
- Estimar la **prevalencia clínica a nivel de apiario** de las principales enfermedades de las abejas antes y después de la estación invernal: Loque americana, loque europea; varroosis, nosemosis, virus DWV, virus ABPV y virus CBPV.
- Facilitar la detección temprana de los **artrópodos exóticos, *Aethina tumida* y *Tropilaelaps spp* a través de la inspección de las visitas y las actividades de sensibilización destinadas a los apicultores durante las mismas.**
- Estimación de la **prevalencia clínica de intoxicaciones por fitosanitarios u otras sustancias tóxicas para las abejas** a nivel de apiario.

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

El Programa nacional de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas 2020-2021 se basa en una vigilancia activa apoyada en las visitas llevadas a cabo, en dos periodos específicos (**otoño y primavera**), por inspectores específicamente formados sobre un número de colmenares representativos seleccionados al azar dentro de cada apiario participante. El número de apiarios a visitar a nivel nacional son repartidos entre las comunidades autónomas participantes. La participación de los apiarios en el programa es voluntaria.

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, Pesca y Alimentación (<http://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/sanidad-animal/enfermedades/otras-enfermedades-abejas/otras-enf-abejas.aspx>).

3 RESULTADOS DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2020-21

3.1 APIARIOS Y COLONIAS INVESTIGADAS

Durante la campaña 2020-2021 han participado 14 comunidades autónomas, excluyéndose del muestreo inicialmente previsto Islas Baleares, Islas Canarias y País Vasco.

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

APIARIOS Y COLONIAS INSPECCIONADAS	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL 2015-16	TOTAL 2016-17	TOTAL 2017-18	TOTAL 2018-19	TOTAL 2019-20	TOTAL 2020-21	TOTAL
CCAA PARTICIPANTES	14	13	10	11	9	12	12	14	14	
Nº de apiarios investigados	203	190	111	113	96	144	137	149	171	1.314
Nº de visitas realizadas	586	565	317	271	242	238	248	253	333	2.811
Nº de colonias inspeccionadas al azar	6.561	6.219	3.360	3.029	2.575	2.682	2.851	2.831	3.785	31.318
Nº de extra colonias investigadas (en base a las observaciones con síntomas)	48	30	9	4	7	5	9	3	21	136

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

En las siguientes figuras se recogen los apiarios que participaron en el programa durante las dos visitas efectuadas en la campaña 2020_21:



Figura 1: apiarios investigados durante la visita de otoño de 2020



Figura 2: apiarios investigados durante la visita de primavera de 2021

3.2 ÍNDICES DE MORTALIDAD.

Mortalidad invernal durante la campaña 2020-21

La mortalidad invernal fue del 13,5%, con valores que variaron desde el 36,4%, máximo registrado en Navarra, al 7,5% registrado en Aragón. Esta mortalidad fue la segunda mayor registrada de toda la serie histórica desde que el programa se puso en marcha, solo superada por la de la campaña 2019-20 (19,2%). 11 de 14 CCAA evaluadas sufrieron mortalidades por encima del 10%, límite considerado aceptable, representando el 77,5% del censo de colmenas investigadas, mientras que ninguna Comunidad Autónoma presentó una mortalidad inferior al 5%.

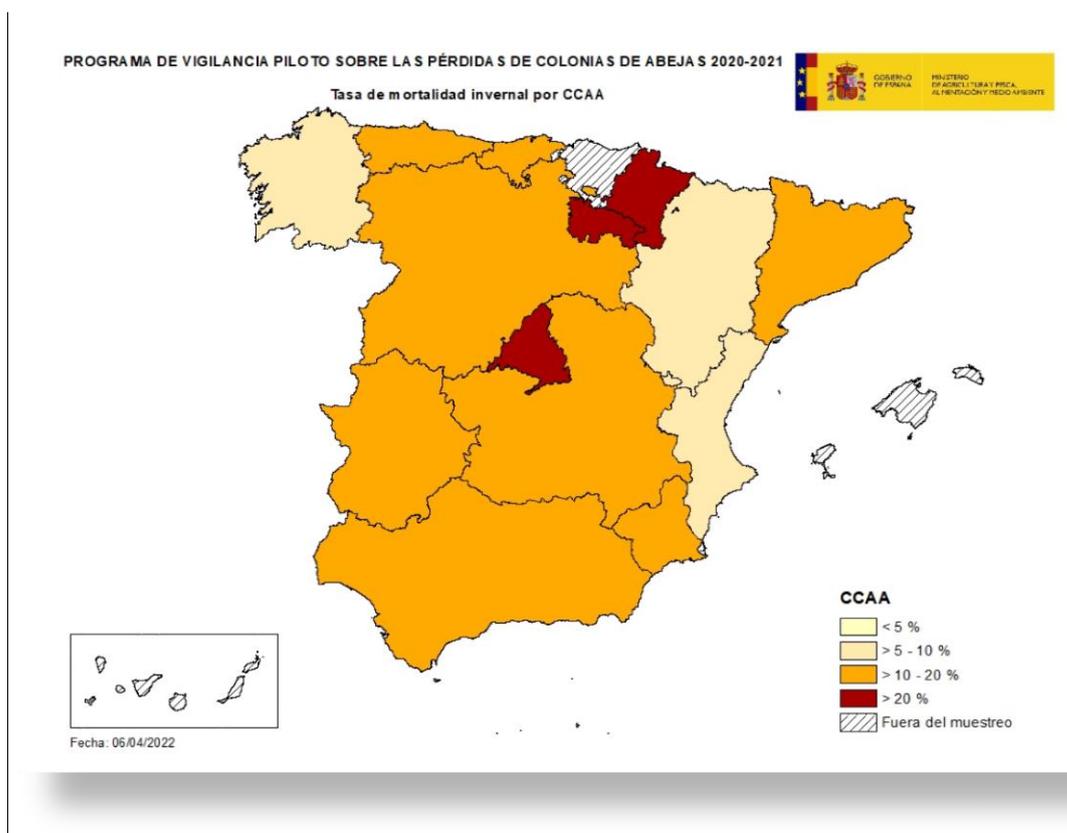


Figura 3: mortalidad invernal por CCAA (2020-21)

Evolución de la mortalidad invernal entre los años 2012 y 2021

En la figura 4 se muestra la evolución de la mortalidad invernal a lo largo de los años 2012 y 2021, pudiéndose observar como en la campaña 2020-21 se ha registrado la segunda tasa más alta de todo el período estudiado, sólo superada por la de la campaña 2019-20, que fue de un 19,2%. Si bien hay que tener en cuenta que no han participado siempre las mismas CCAA en cada una de las campañas y que incluso en algunas campañas una misma CA no ha podido realizar las dos visitas (otoño y primavera), por lo que en estos casos se han excluido dichas CCAA en el cálculo de la tasa.



Figura 4: evolución de la tasa de mortalidad invernal (2012-21)

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 2020-2021 se han analizado 1.823 muestras en otoño y 1.548 en primavera para el recuento de las tasas de parasitación por *Varroa destructor*.

RECUESTO TASAS INFESTACIÓN VARROA (muestras sistemáticas)	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL 2015-16	TOTAL 2016-17	TOTAL 2017-18	TOTAL 2018-19	TOTAL 2019-20	TOTAL 2020-21	TOTAL
Nº de muestras sistemáticas (recuento de varroa)	2325	2147	1188	1204	960	2.504	2.787	2.737	3.710	19.562
Nº de análisis recuento de varroa	2320	2143	1185	1203	960	2.391	2.634	2.520	3.371	18.727

Tabla V1: nº de análisis realizados durante el periodo 2012-2021

En esta campaña se han realizado dos muestreos sistemáticos para el recuento de las tasas de parasitación por *Varroa destructor*, el primero durante la visita de otoño y el segundo durante la visita de primavera.

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

destructor sobre el conjunto de colonias analizadas que son seleccionadas al aleatoriamente en cada apiario visitado.

Para la valoración de las tasas de infestación se han considerado cinco niveles de gravedad en función de la infestación detectada, 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 6 y 10 varroas por 100 abejas.
- Grave: la tasa de infestación varía entre 11 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 2020).

En otoño de 2020, *Varroa destructor* se detectó en un 90,2% de los apiarios y el 54,4% de las colonias investigadas.

Un 51,6% de los apiarios presentó **niveles muy leves o nulos de infestación ($\leq 1\%$)**. Las comunidades autónomas que presentaron en otoño más del 75% de los apiarios con promedios de infestación muy débiles o nulos ($\leq 1\%$) fueron Cantabria, Navarra y Asturias.

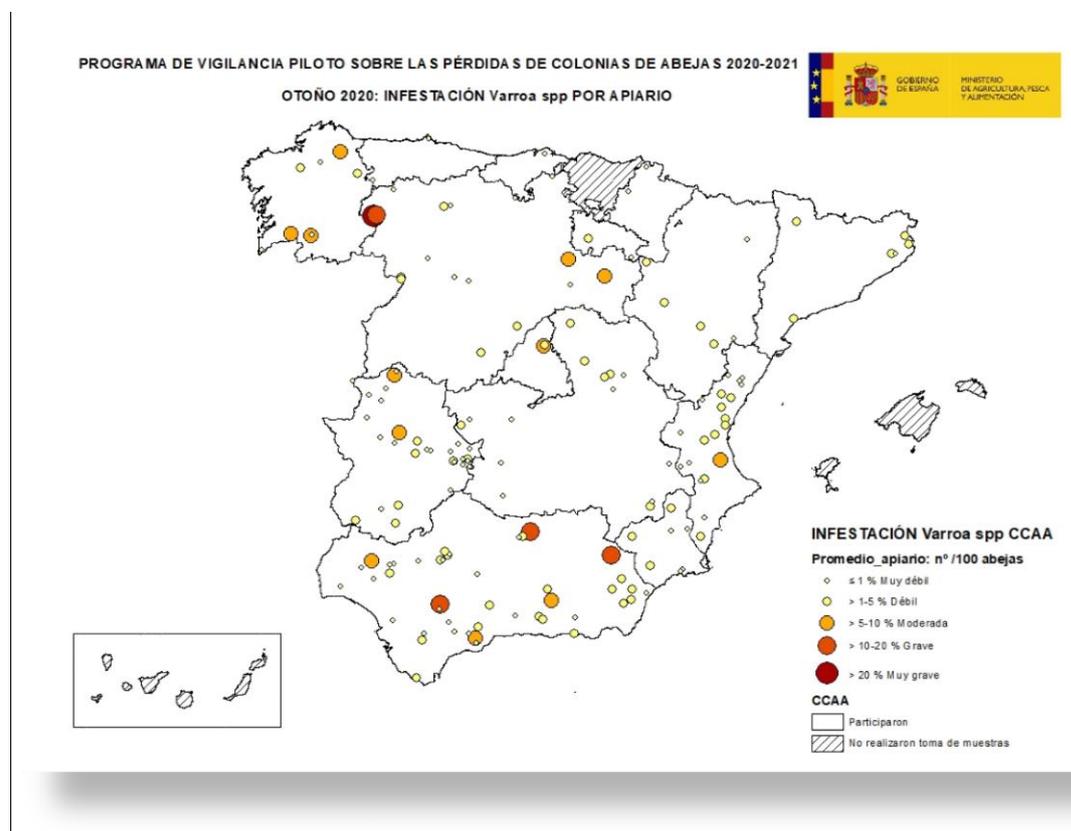


Figura V1: distribución geográfica de las tasas de parasitación promedio por apiario (otoño de 2020)

Un 10,6% de los apiarios evaluados en otoño presentaron niveles de parasitación moderados a muy graves, porcentaje significativamente inferior al registrado para la campaña anterior (27,7%).

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 nueve campañas, que se recoge en las figuras V2 a V6, muestra un aumento de la prevalencia en apiarios de *Varroa destructor* en otoño a lo largo de las cinco primeras campañas, con un descenso en las campañas 2017-18 y 2018-19 y un repunte en las campañas 2019-20 y 2020-21, así como un marcado descenso del porcentaje de apiarios parasitados de forma moderada a muy grave en esta última campaña (ver figuras V4 y V6), que alcanzó su máximo durante el otoño de 2015. También resulta significativo el aumento del porcentaje de apiarios que en otoño presentaron parasitaciones muy leves o nulas respecto a la campaña 2019-20.

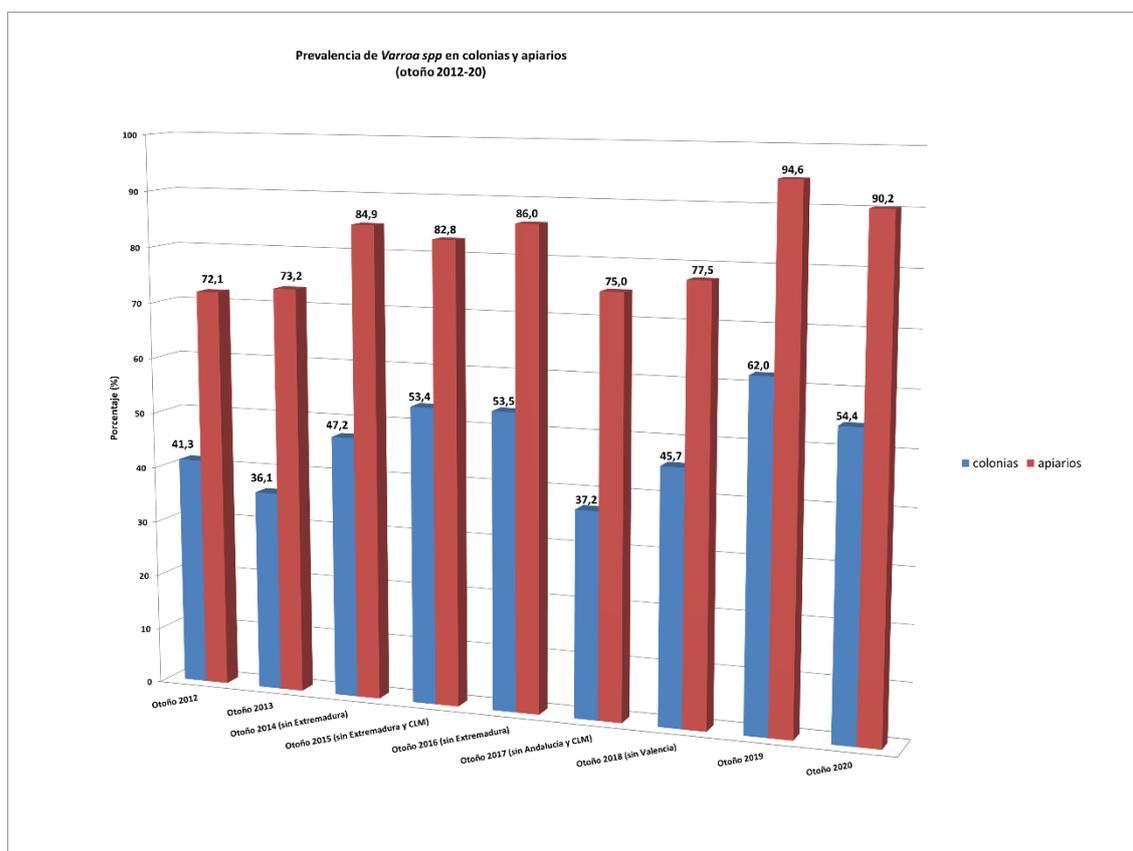


Figura V2: Evolución de la prevalencia de *Varroa destructor* en colonias y apiarios (otoño 2012-20).

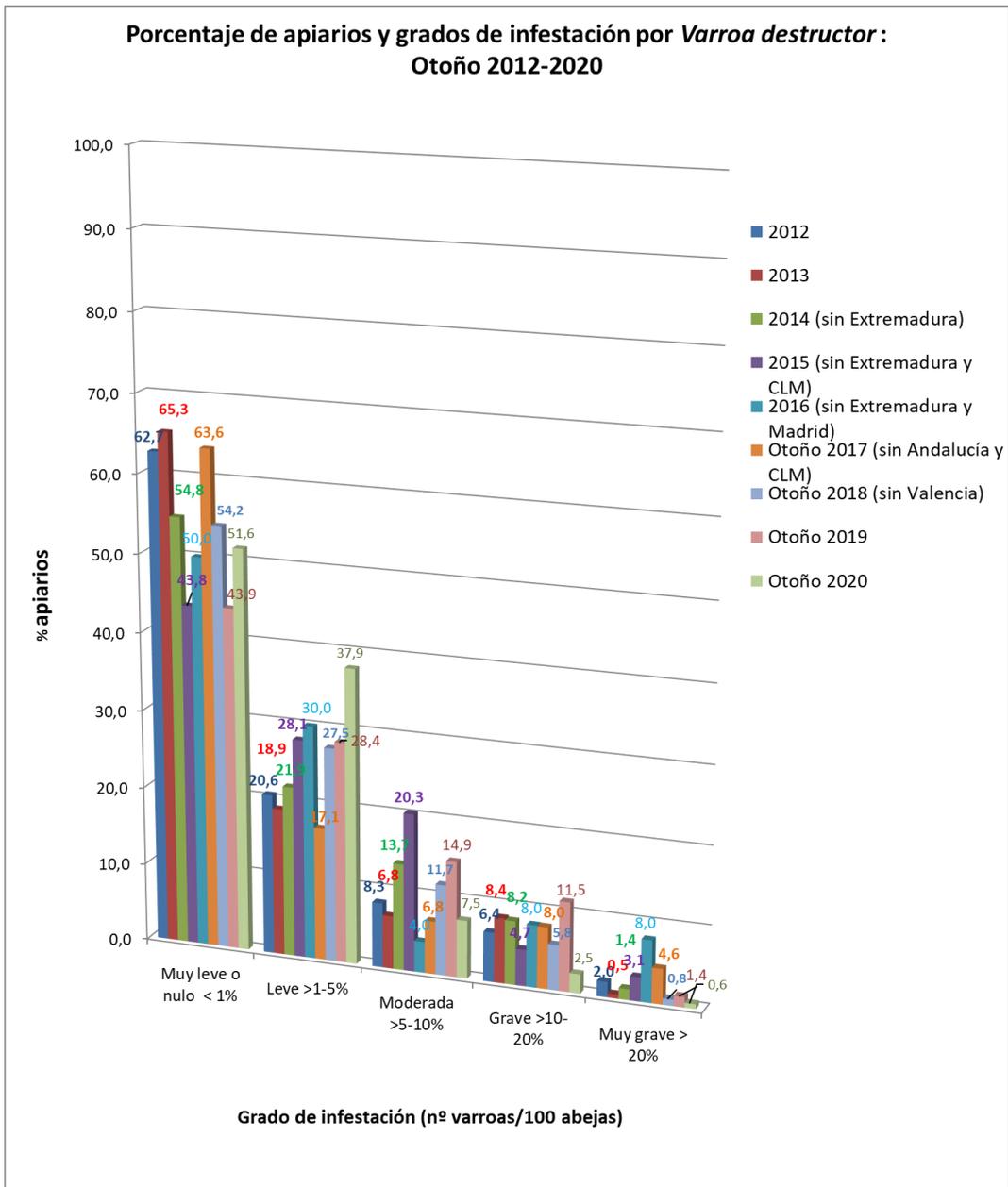


Figura V3: evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño 2012-2020)

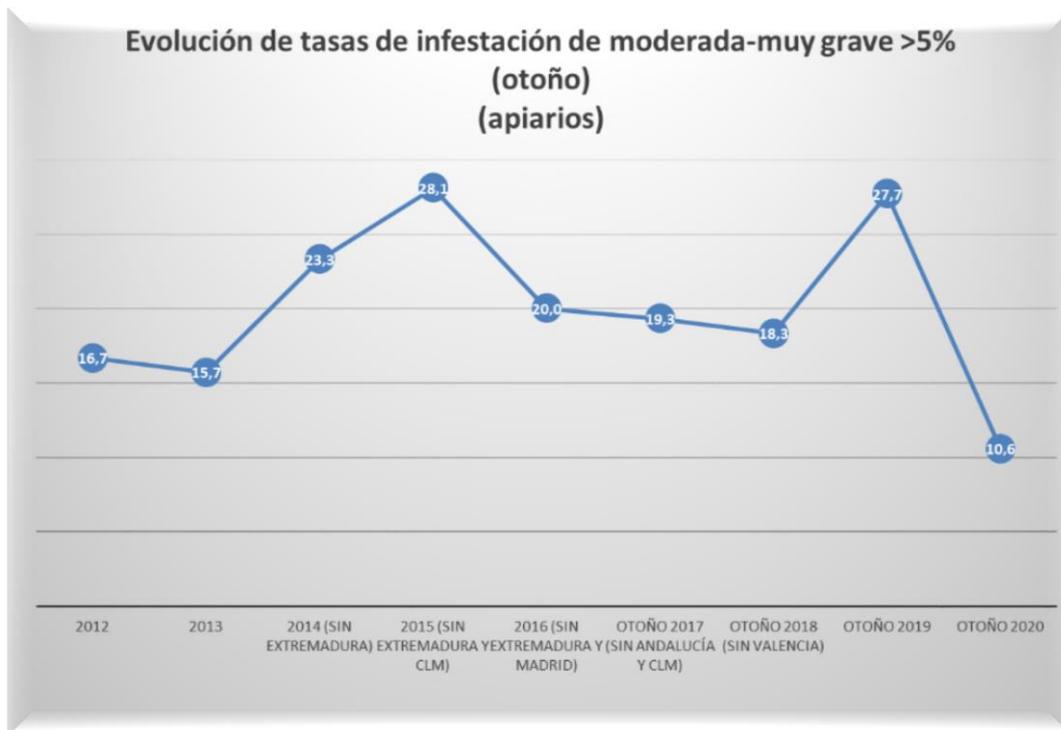


Figura V4: evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en apiarios (otoño 2012-2020).

**Porcentaje y grados de infestación de colonias por *Varroa destructor* :
Otoño 2012-2020**

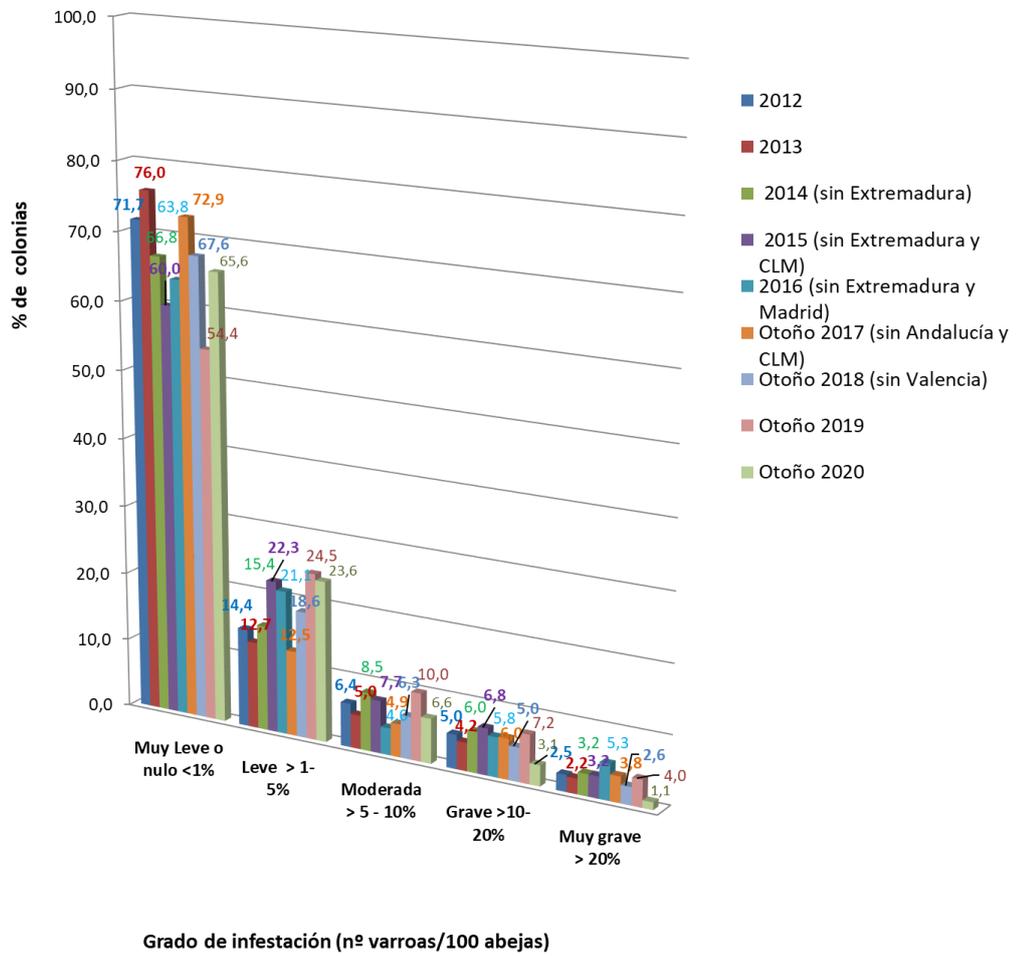


Figura V5: Evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por colonia (otoño 2012-2020).

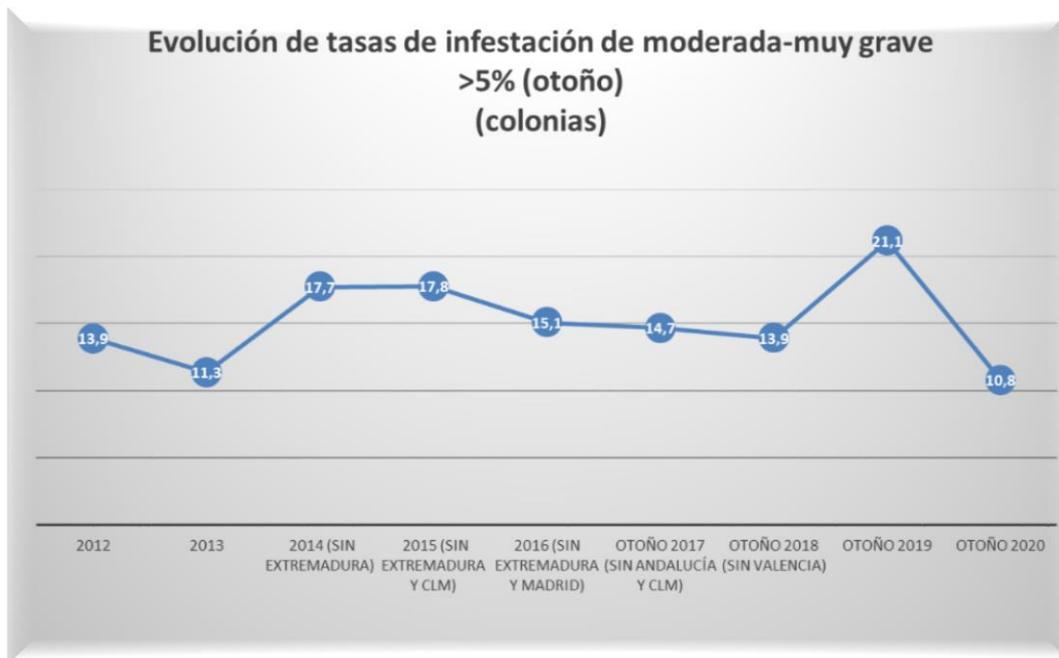


Figura V6: evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en colonias (otoño 2012-20).

Distribución de las tasas de infestación promedio en apiarios por CCAA (primavera 2021).

En la campaña 2020-21 se realizó por cuarta vez un segundo muestreo sistemático de *Varroa destructor*, que se llevó a cabo durante la visita de primavera.

La prevalencia detectada ha sido ligeramente inferior a la registrada en otoño, registrándose un 83,2% de los apiarios y 46,7% de las colonias parasitadas.

Sin embargo, se observa una clara disminución de la carga de parasitación tanto por apiarios como por colmenas.

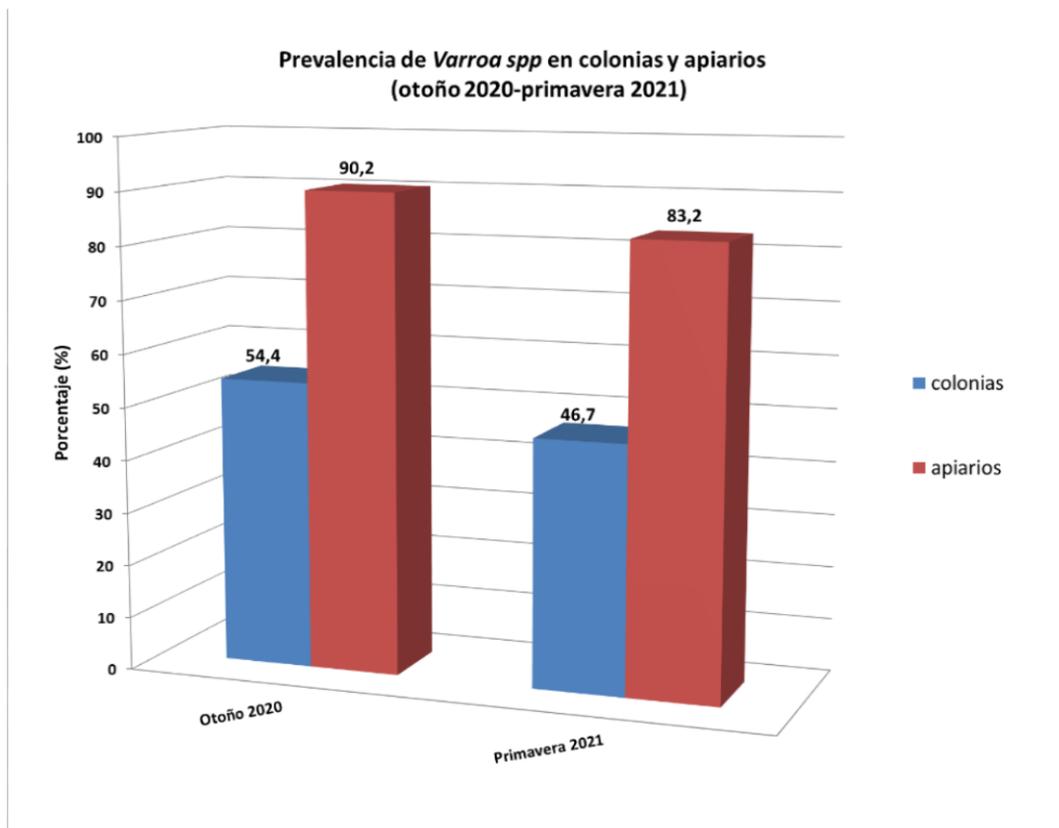


Figura V7: prevalencias de *Varroa destructor* en colonias y apiarios (otoño 2020-primavera 2021).

El porcentaje de apiarios con **niveles muy leves o nulos de infestación ($\leq 1\%$)** alcanzó el 67,1% frente al 51,6% en otoño, siendo superior al 75% en 9 de las CCAA estudiadas, Asturias, Cantabria, Castilla-La Mancha, Castilla y León, Extremadura, Galicia, La Rioja, Murcia y Navarra.

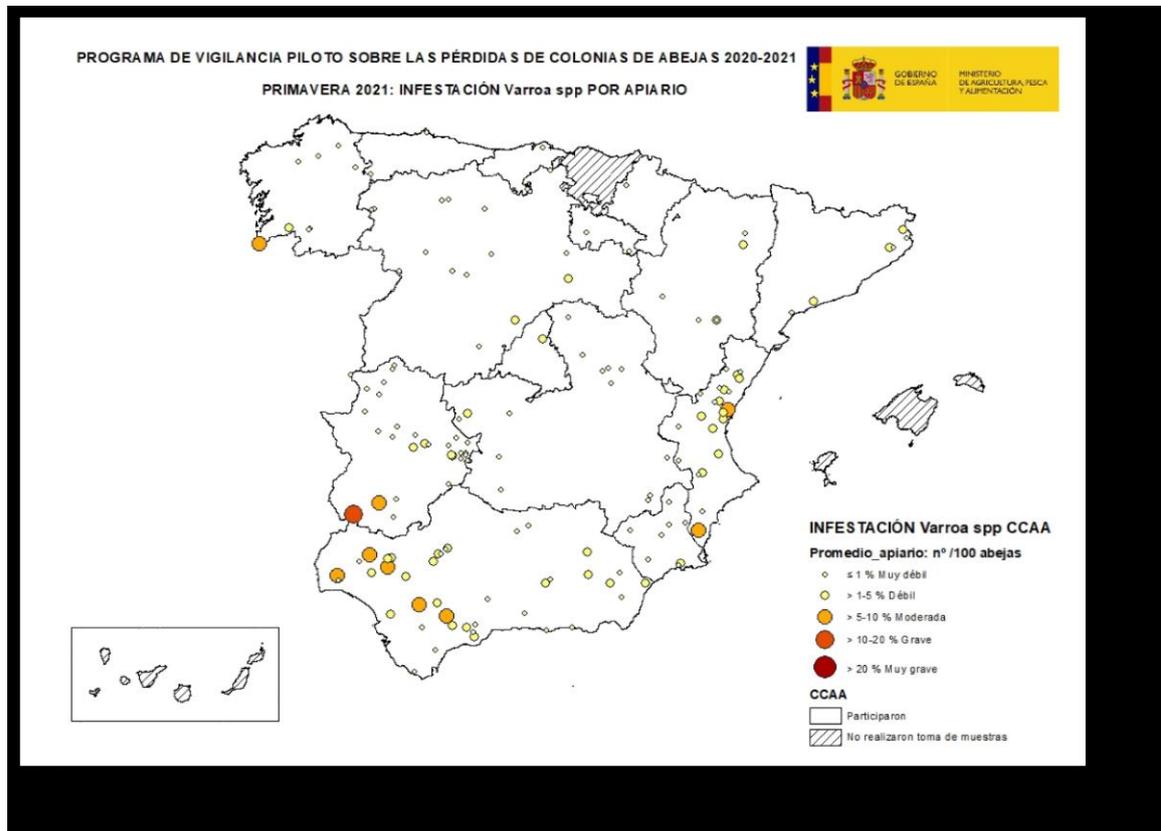


Figura V8: distribución geográfica de las tasas de parasitación promedio por apiario (primavera de 2021)

Un **6,3%** de los apiarios evaluados en primavera presentaron niveles de parasitación moderados a muy graves, porcentaje significativamente inferior al registrado en otoño (10,6%).

En las figuras V9 y V10 se comparan los niveles de infestación detectados en apiarios y colonias en los dos muestreos sistemáticos realizados en otoño y primavera durante la campaña 2020-21, observándose un claro descenso en los niveles registrados en primavera respecto a los de otoño.

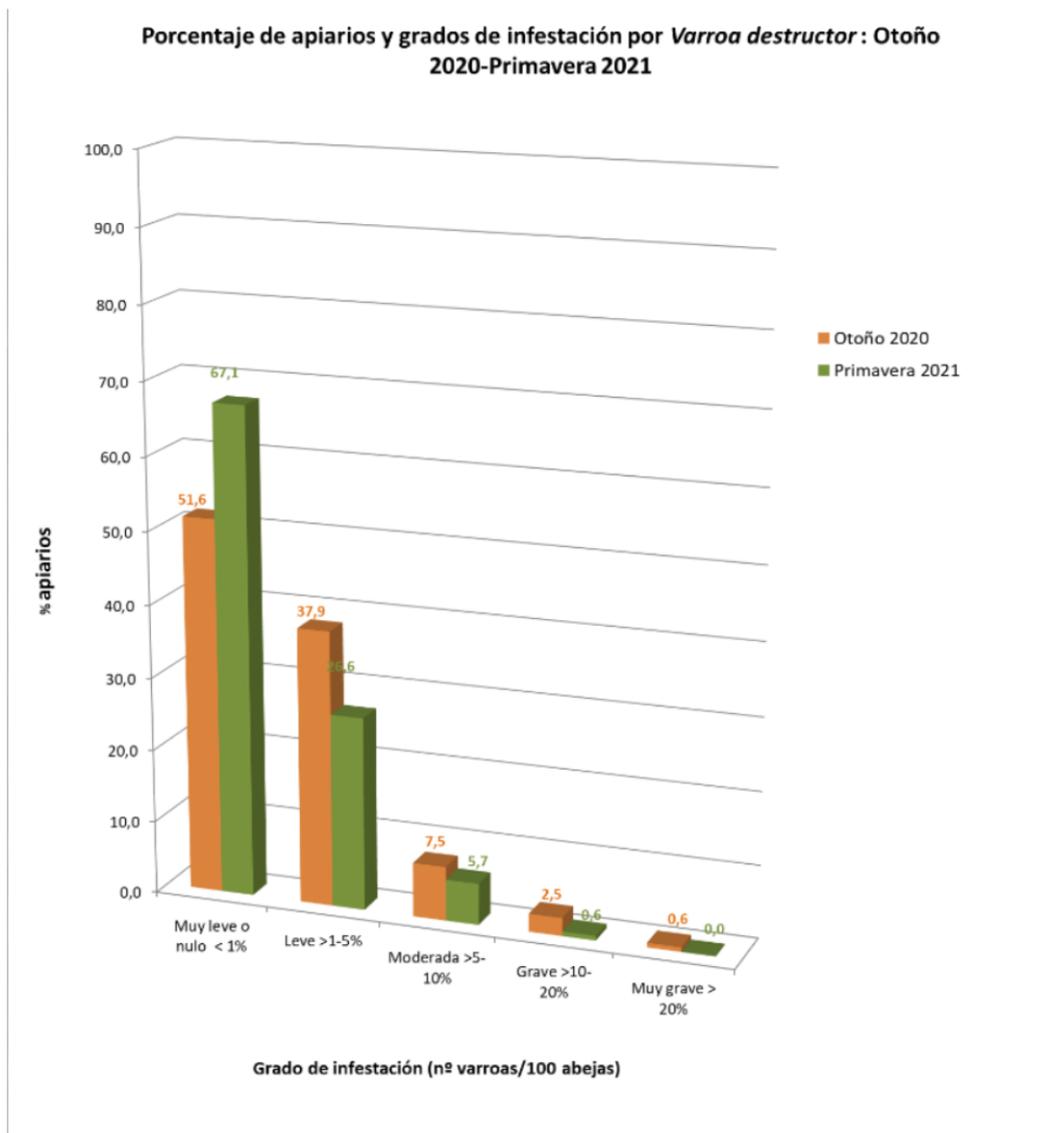


Figura V9: distribución de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño 2020-primavera 2021)

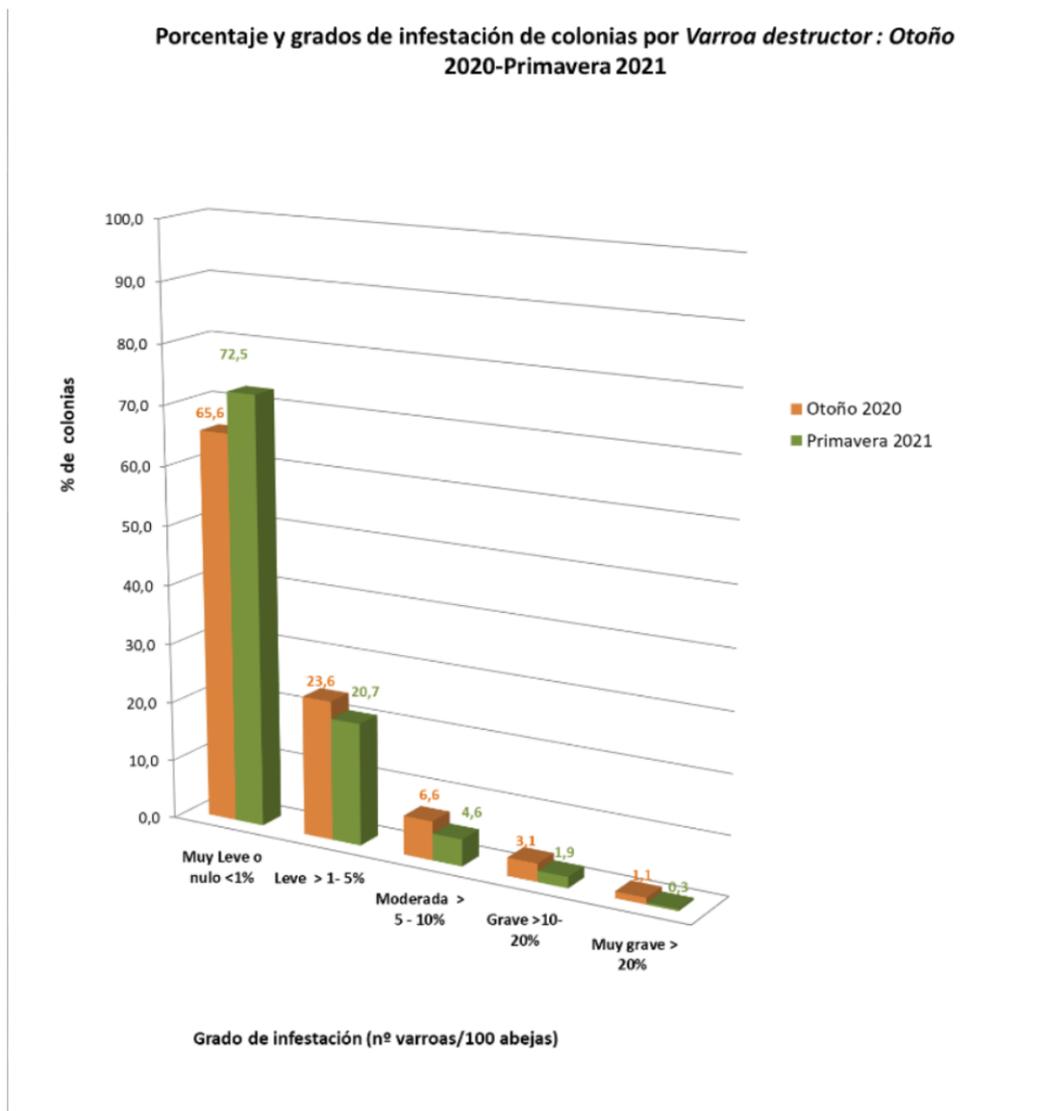


Figura V10: distribución de las tasas de infestación promedio por colonia (otoño 2020-primavera 2021).

Evolución de la tasa de parasitación por *Varroa destructor* en primavera 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 cuatro campañas en las que se viene realizando un muestreo sistemático en la visita de primavera, que se recoge en las figuras V11 a V15, muestra un aumento de la prevalencia tanto en apiarios como en colonias en las tres primeras campañas estudiadas, con un leve descenso en la última campaña (2020-21). Respecto al porcentaje de apiarios y colonias parasitados de forma moderada a muy grave, alcanzaron su máximo en la primavera de 2020 (15,3% de apiarios y 14,1% de colonias), registrándose un descenso significativo en ambos valores en la campaña 2020-21.

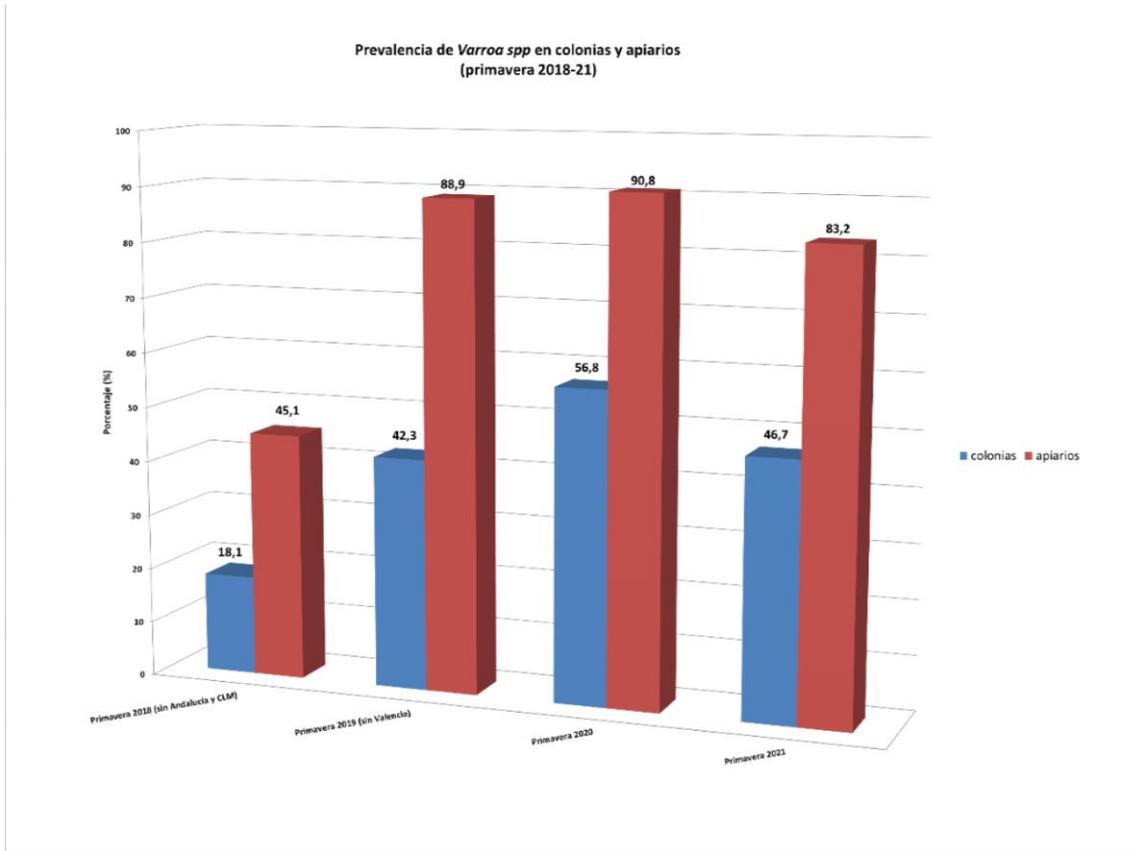


Figura V11: Evolución de la prevalencia de *Varroa destructor* en colonias y apiarios (primavera 2018-21).

**Porcentaje de apiarios y grados de infestación por *Varroa destructor* :
Primavera 2018-2021**

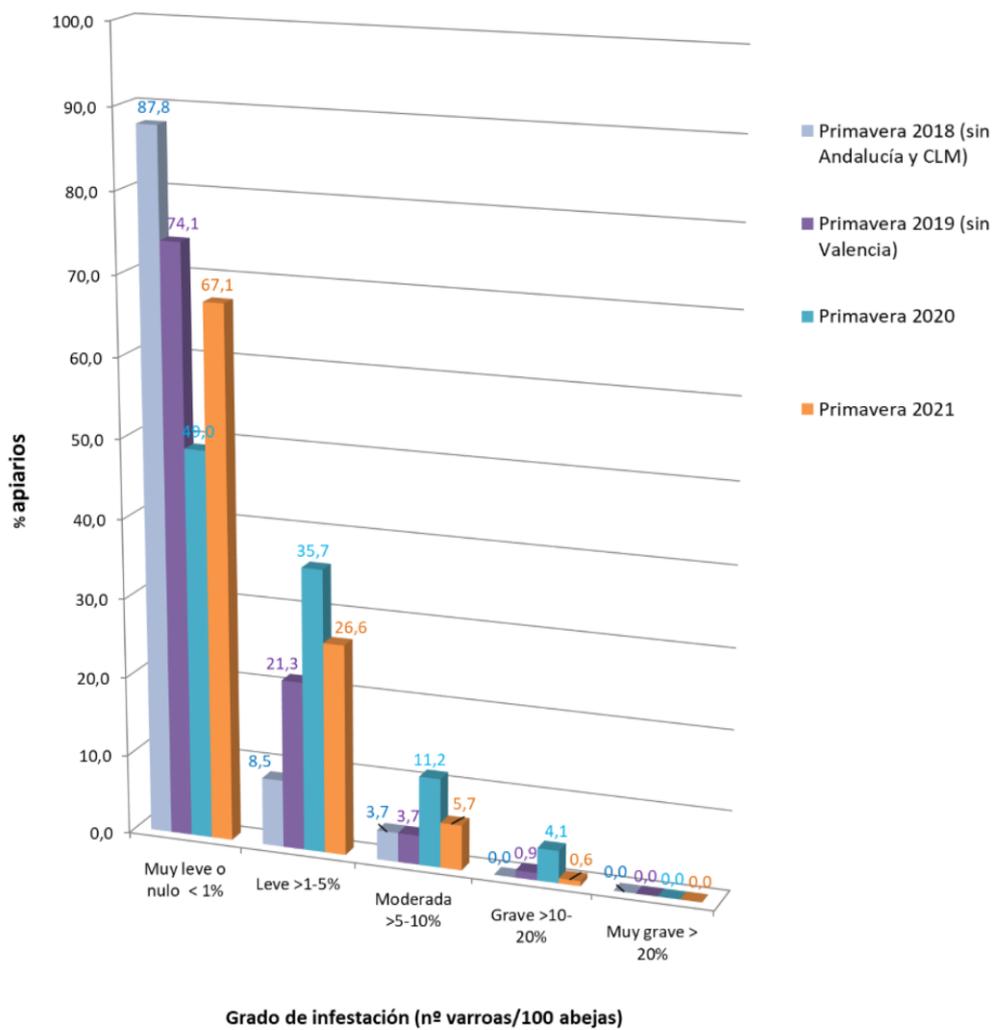


Figura V12: evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por apiario (primavera 2018-2021)

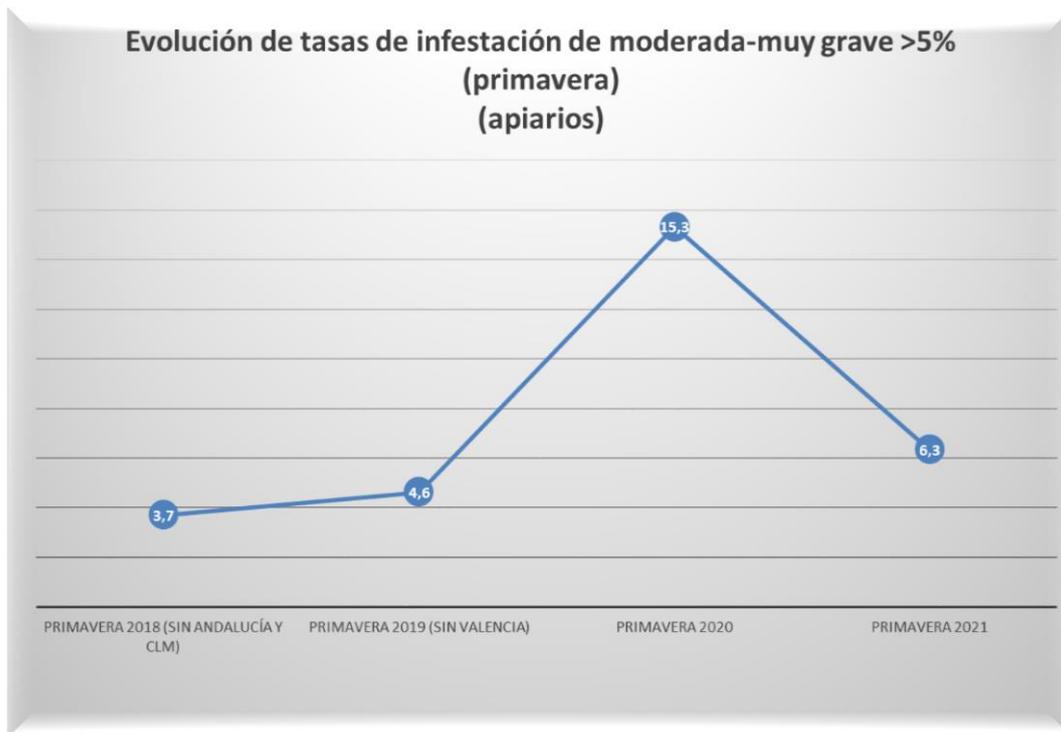


Figura V13: evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en apiarios (primavera 2018-2021).

**Porcentaje y grados de infestación de colonias por *Varroa destructor*:
Primavera 2018-2021**

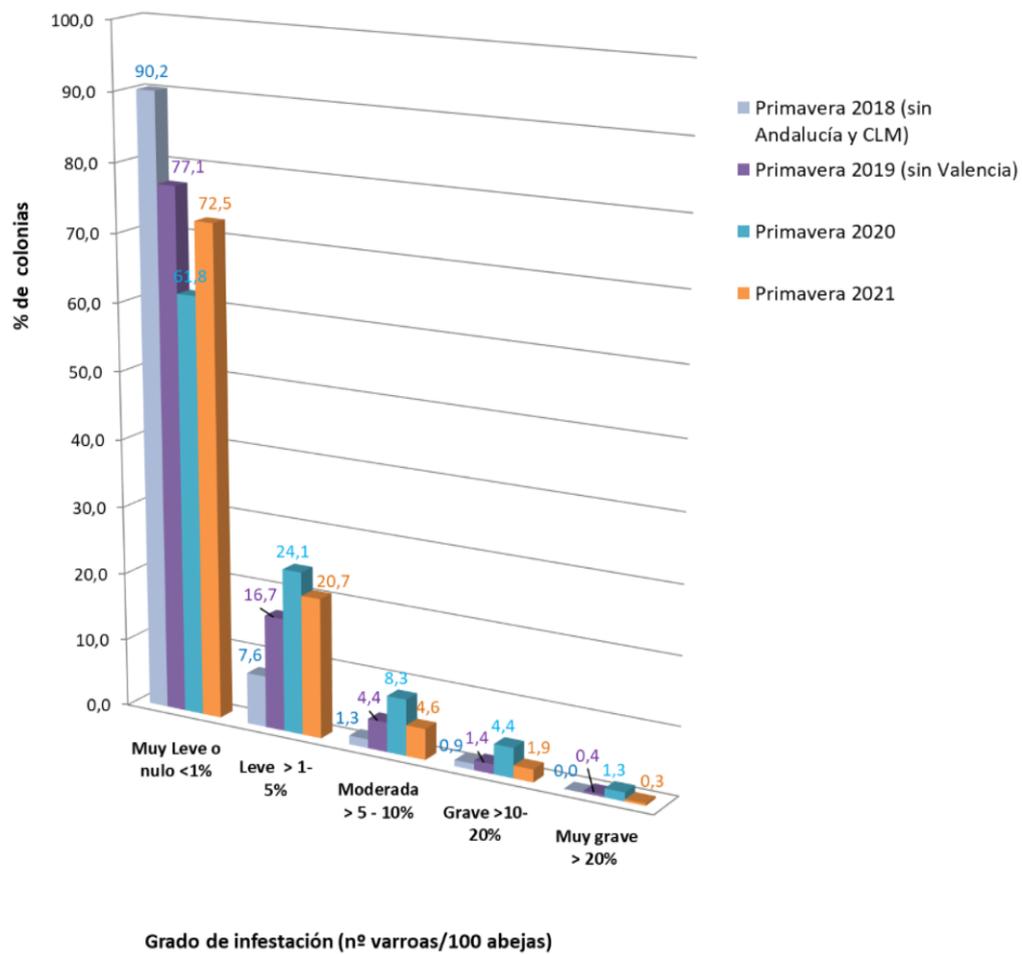


Figura V14: Evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por colonia (primavera 2018-2021).

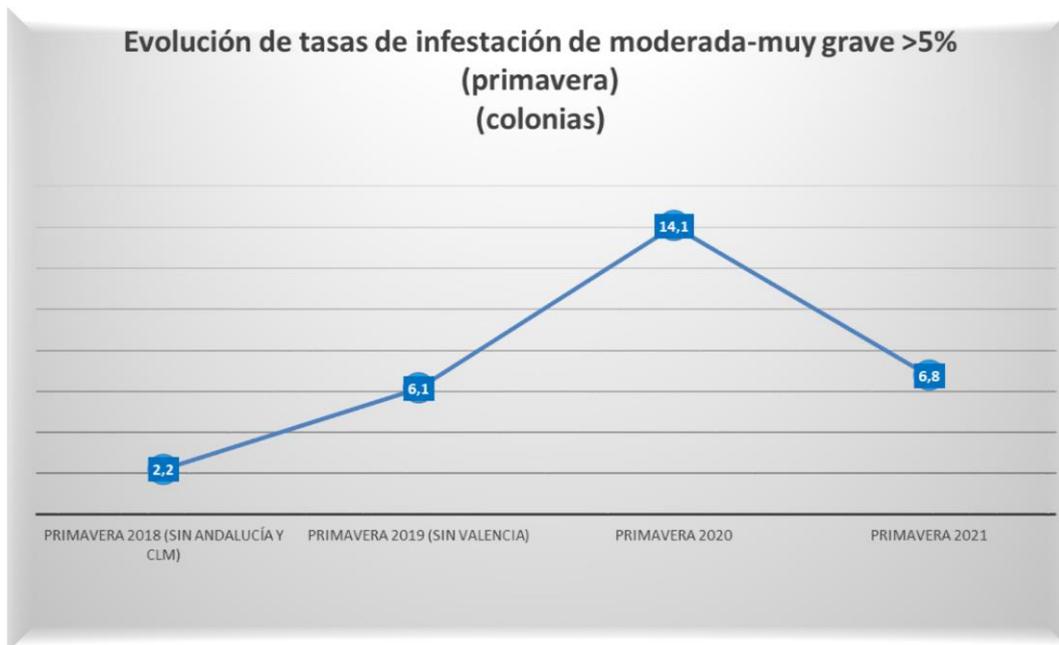


Figura V15: evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en colonias (primavera 2018-21).

3.3.1.2 VARROOSIS.

En relación a la manifestación clínica de varroosis, ésta se detectó en las dos visitas (otoño y primavera). 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 2016-17	TOTAL 2017-18	TOTAL 2018-19	TOTAL 2019-20	TOTAL 2020-21	TOTAL
Nº de colonias sospechosas de varroosis (detección en campo)	251	235	48	104	61	96	94	218	162	1.269
Nº de análisis realizados en muestras con síntomas (varroosis)	50	31	36	33	5	9	1	0	0	165

Tabla V2: evolución del nº de colonias positivas en campo a varroosis y de análisis laboratoriales realizados durante las campañas 2012-21.

En el siguiente mapa (figura V16) 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 V16).

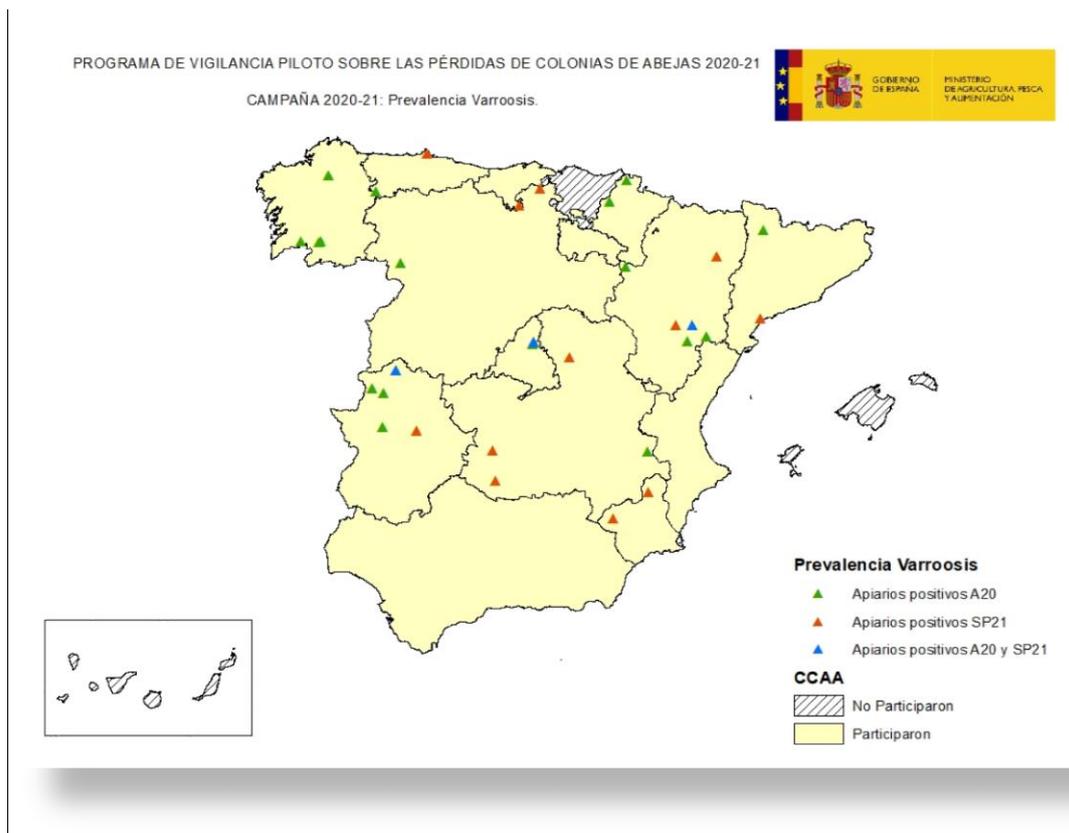


Figura V16: prevalencia clínica de la varroosis en apiarios durante la campaña 2020-2021.

En la figura V17, se muestra la evolución de la prevalencia clínica a lo largo de las nueve campañas evaluadas, con variaciones anuales entre el 11,6% y el 26,8%, máximo registrado en la campaña 2019-20. La mayor prevalencia clínica suele detectarse en otoño, siendo un 11,1% los apiarios afectados, registrándose una prevalencia inferior en primavera (9,3%).

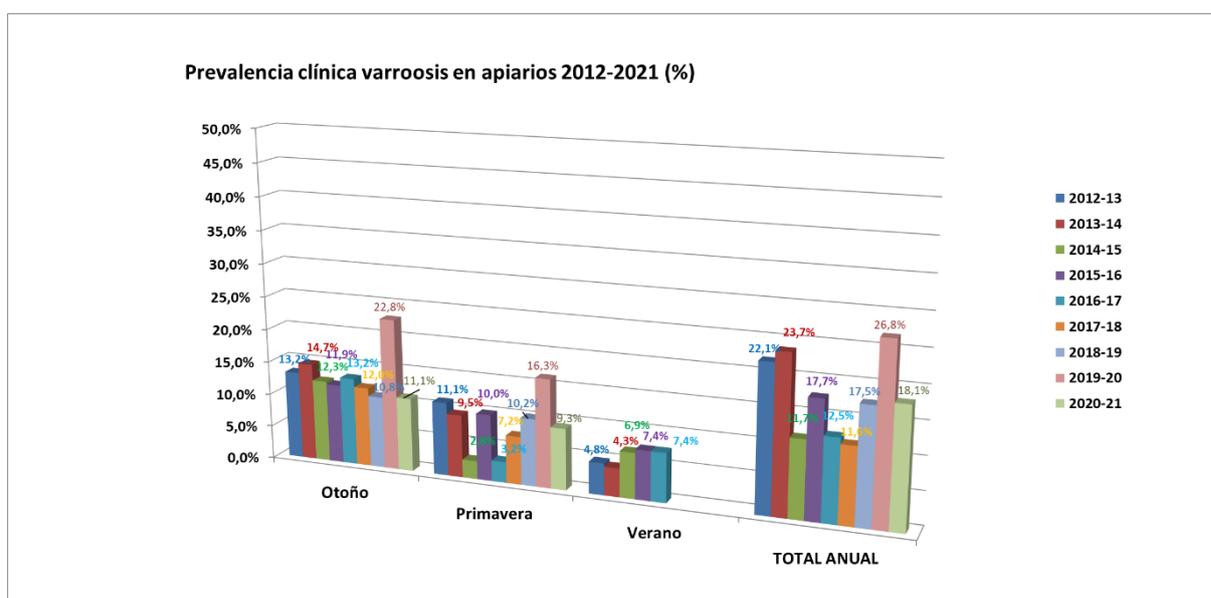


Figura V17: evolución de la prevalencia clínica (2012-2021).

Por otro lado, durante las campañas 2012-15 no se detectó una mortalidad invernal/primaveral significativamente superior en aquellos apiarios en los que se detectó varroosis clínica ($p > 0,05$). Estos resultados y los observados durante el resto de campañas parecen confirmar 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 necesaria 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 nueve campañas analizadas en otoño, en todas ellas un elevado porcentaje de los apiarios aplicaron algún tratamiento para el control de *Varroa destructor*, siendo en la campaña 2020-2021 el 88,3% del total de apiarios investigados. Del total de apiarios que recibieron algún tratamiento en otoño, se pudo realizar una valoración de su resultado considerando la dosis aplicada y la duración del tratamiento en el 89,4%, mientras que en el 10,6% restante no fue posible por no tener información suficiente, o por haber tenido el tratamiento una duración muy superior a la indicada en la ficha técnica del medicamento aplicado.

En el otoño de 2020, a pesar de que un 82,5% del total de apiarios habían aplicado algún tratamiento antes de la visita otoñal, un 7,8% de ellos presentó una tasa de infestación moderada a muy grave, porcentaje significativamente inferior al registrado en el otoño anterior (22,6%), si bien indica que la aplicación de los tratamientos podría no haber sido lo suficientemente efectiva para el control en esos casos.

Aunque superior a los porcentajes alcanzados en las campañas anteriores, cabe resaltar que sólo en un 80% de los apiarios en los que se aplicó algún tratamiento en otoño de 2020 cuyo resultado pudo ser valorado, éste se aplicó correctamente, parámetro valorado en función de la dosis empleada y el tiempo de permanencia del tratamiento en las colonias. Esta situación puede contribuir a la disminución de la eficacia en el control y favorecer la aparición de resistencias que luego se pueden diseminar a otros apiarios o zonas a través de las relaciones epidemiológicas entre apiarios o la trashumancia.

En el siguiente gráfico (figura V18) se representa la proporción de tratamientos correctamente aplicados respecto al total de tratamientos aplicados en otoño en la serie de campañas del programa de vigilancia, desde la campaña 2012-13. Puede observarse un progresivo aumento en

el número de tratamientos correctamente aplicados, destacando que en la última campaña (2020-21) se ha alcanzado el valor porcentual más alto desde el inicio del programa.



Figura V18: Proporción de tratamientos contra la varroosis correctamente aplicados respecto al total de tratamientos realizados

Por otro lado, en cuanto a la elección de tratamientos declarados para esta campaña se sigue observando una utilización mayoritaria de Amitraz y un aumento significativo en la aplicación de ácido oxálico, observándose también un aumento progresivo en el uso de tratamientos autorizados para la apicultura ecológica y métodos biotécnicos de manejo.

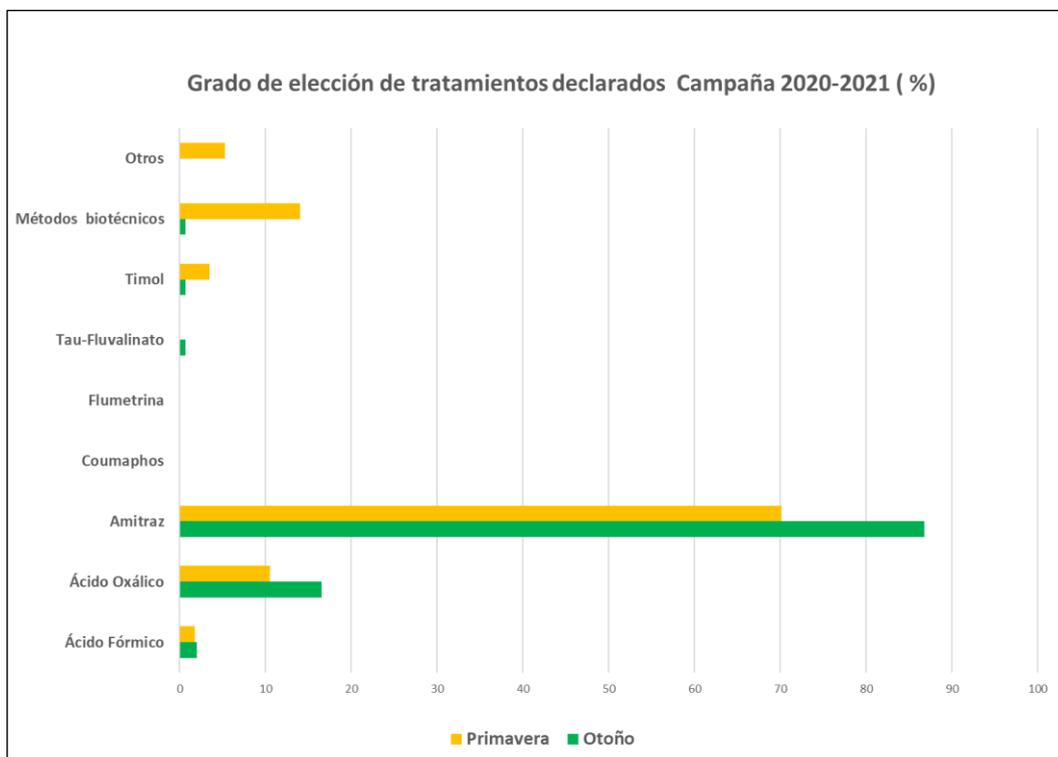


Figura V19: % de elección de tratamientos declarados durante la Campaña 2020-21 (por principios activos)

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 1.832 muestras procedentes de las colonias seleccionadas al azar (tabla N1). El muestreo se llevó a cabo en otoño en todas las CCAA.

RECUEENTO DE ESPOROS DE <i>Nosema spp</i>	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL 2015-16	TOTAL 2016-17	TOTAL 2017-18	TOTAL 2018-19	TOTAL 2019-20	TOTAL 2020-21	TOTAL
Nº de muestras sistemáticas <i>Nosema spp</i>	2289	707	346	772	519	1.480	1.356	1.561	1.832	9.412
Nº de análisis recuento de esporas <i>Nosema spp</i>	2286	704	344	772	517	1.476	1.356	1.560	1.830	9.369
Nº de PCR (tipificación <i>Nosema spp</i>)	668	205	148	292	385	931	877	1.227	1.504	5.306

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 1.100.000 y 2.500.000 esporos de *Nosema spp*. por abeja.
- Grave: la tasa de infestación varía entre 2.600.000 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 2020 *Nosema spp*. se detectó en un 94,3 % de los apiarios (ver figura N2).

Un **14,5 % 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, con el 50% o más de los apiarios con promedios de infestación nulos o muy leves (≤ 100.000).

En otoño, un **31,5%** del total de los apiarios presentó un promedio de **tasa de infestación moderada a muy grave**, lo que supone un aumento respecto a la campaña 2019-20 (23,4%). Se considera que a partir de este nivel *Nosema spp* puede originar daños en las colonias de abejas (ver figura N1, N3 y Tabla 4).

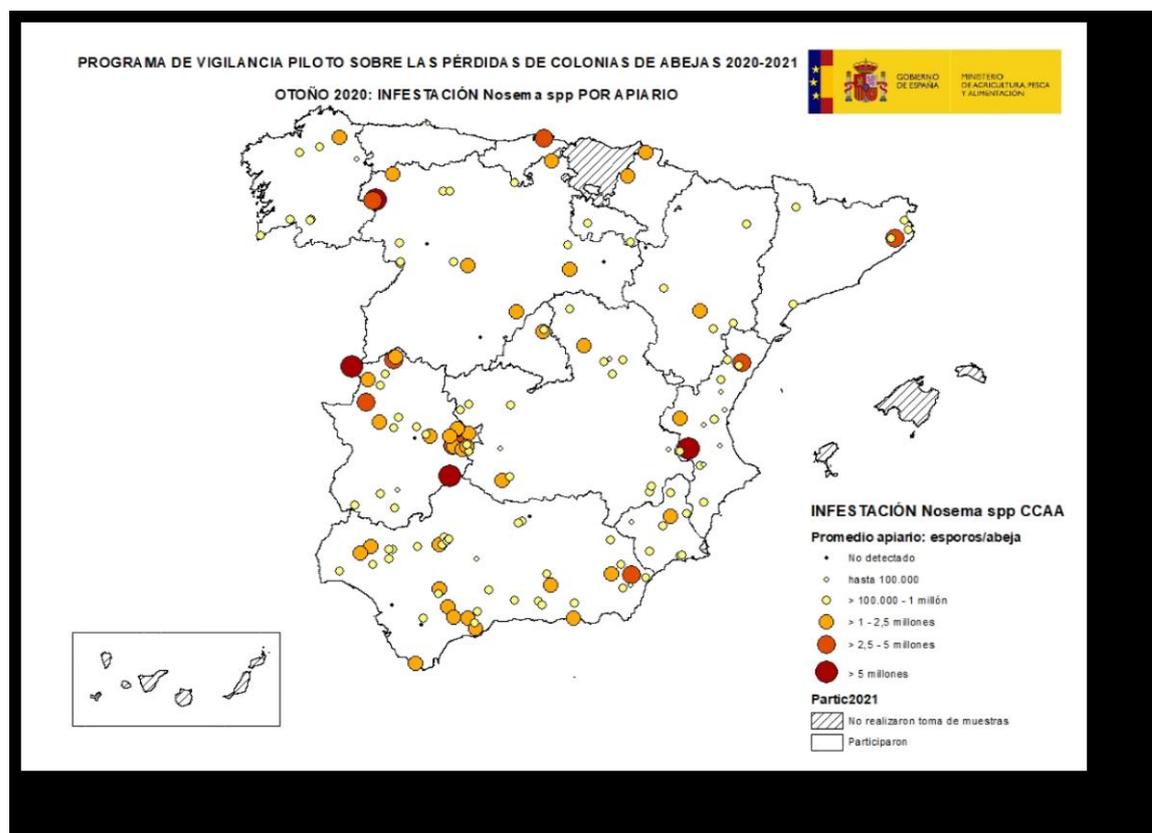


Figura N1: distribución geográfica de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño de 2020).

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 hasta la campaña 2016-17, con un descenso en la campaña 2017-18 y nuevamente un aumento en las campañas 2018-19, 2019-20 y 2020-21, llegando al 94,3% en apiarios y el 85,2% en colonias, valores máximos registrados en toda la serie. La horquilla de prevalencias registradas va desde el 71,9% al 94,3% en apiarios y del 26,1% al 85,2% en todas las colonias seleccionadas al azar (ver figura N2).

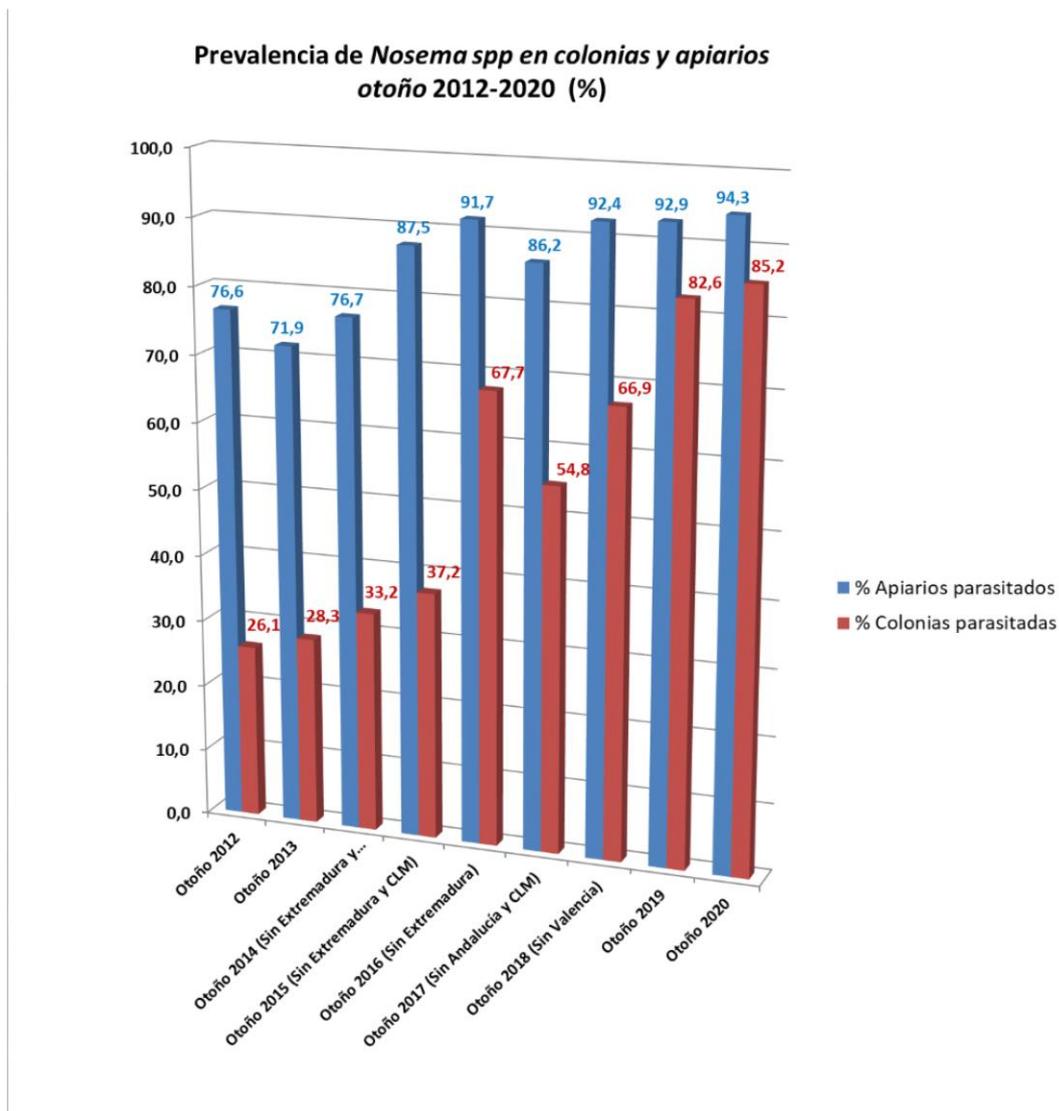


Figura N2: evolución de la prevalencia de *Nosema spp* en colonias y apiarios (otoño 2012-20).

En otoño, las tasas de infestación moderadas a muy graves se han incrementado a lo largo de las cinco primeras campañas tanto en apiarios (18,4 al 41,7%) como en las colonias (12,8 al 29,1%) con un descenso en la campaña 2017-18, un repunte en la campaña 2018-19, un ligero descenso en la campaña 2019-20 y un nuevo repunte en la campaña 2020-21 en el caso de las colonias (29,1%) y mucho más acusado en el caso de los apiarios (31,5%) (Figuras N3, N4, N5 y N6).

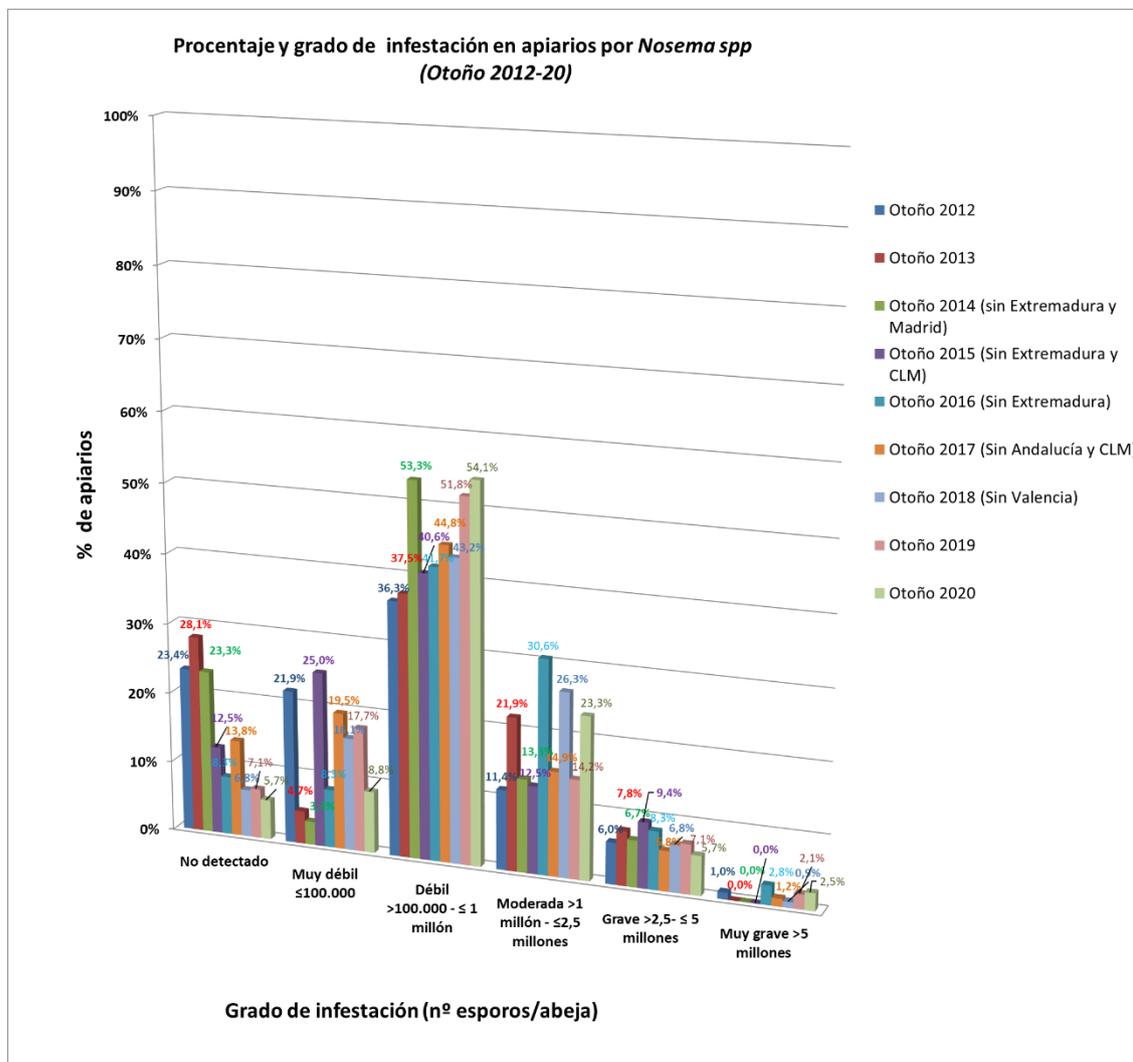


Figura N3: evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño 2012-2020).

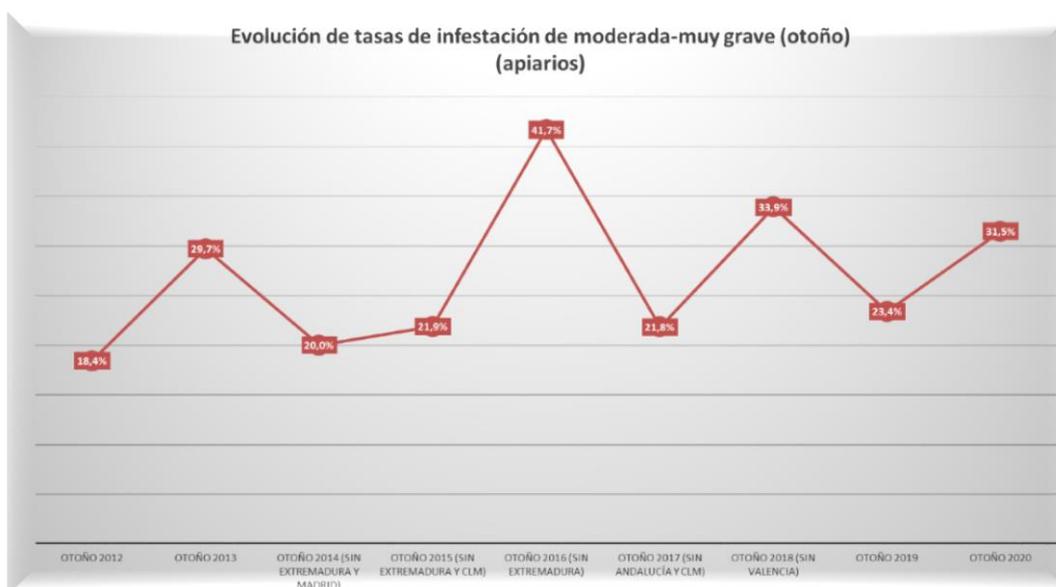


Figura N4: evolución de las tasas de infestación moderadas a graves por apiario (otoño 2012-2020)

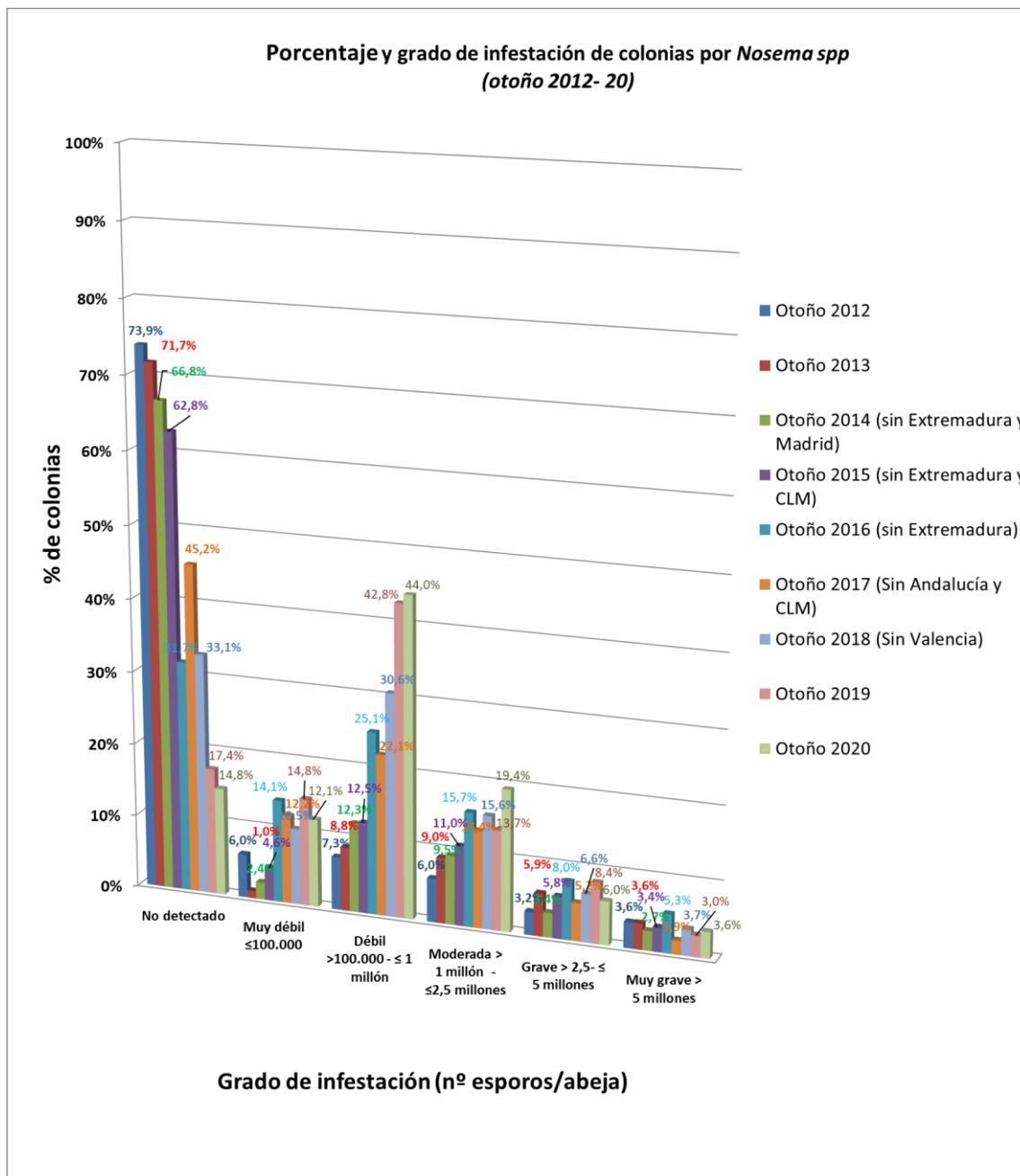


Figura N5: evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por colonia (otoño 2012- 2020).

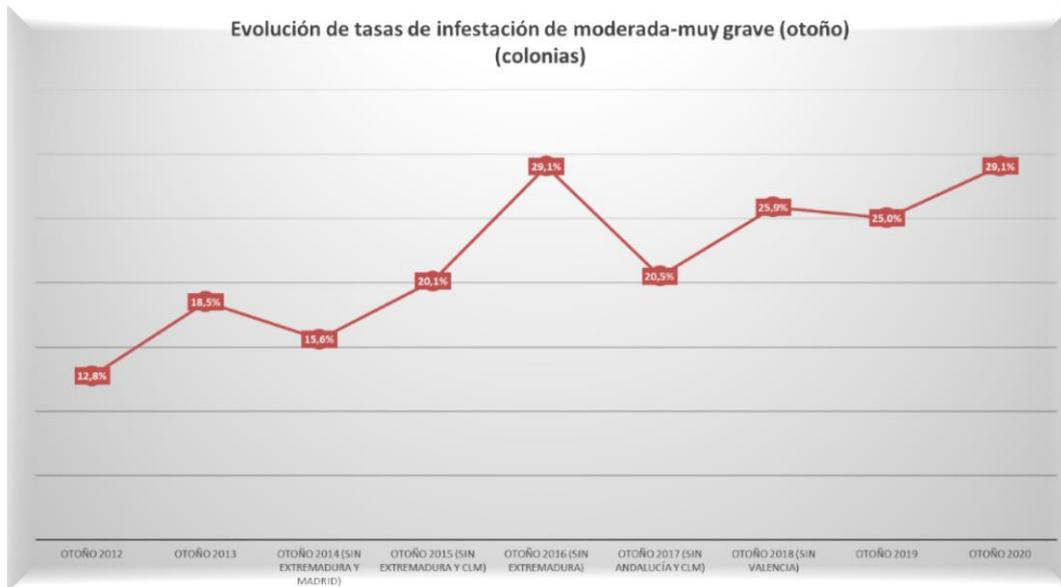


Figura N6: evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en colonias (otoño 2012- 2020).

Tipificación molecular

Tal como se muestra a continuación en la figura N7, para los nueve períodos estudiados (otoño 2012-2020), las colonias positivas a *Nosema spp* lo fueron a *N. ceranae* en un 93,6% de los casos, llegando a alcanzar el 94,7 % en otoño de 2020. Tan sólo un 3,4% 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, Cantabria, Cataluña, Extremadura, Galicia, Madrid, Murcia y Navarra.

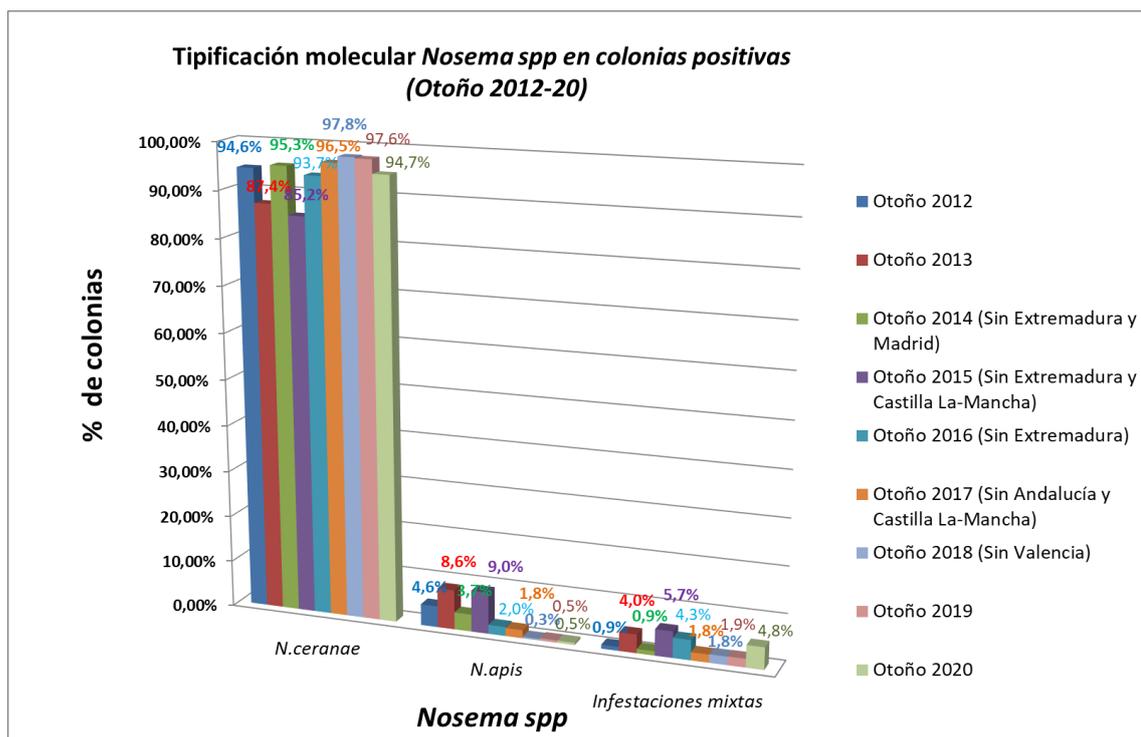


Figura N7: Prevalencias de *N. ceranae* y *N. apis* en colonias positivas (otoño 2012- 2020).

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).

3.3.2.2 NOSEMOSIS

Clínicamente se han registrado 33 sospechas de cuyo análisis se deriva una **prevalencia clínica** muy baja en las dos visitas (otoño y primavera) (ver tabla N2) alcanzándose un 2,9% anual (ver figura N9), aunque supone un repunte respecto a la registrada en la campaña 2019-20 (0,7%). Los 5 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 2016-17	TOTAL 2017-18	TOTAL 2018-19	TOTAL 2019-20	TOTAL 2020-21	TOTAL
Nº de muestras con síntomas (nosemosis)	51	54	33	13	33	6	2	11	33	236
Nº de recuento de esporas (nosemosis)	49	54	33	13	33	6	2	11	33	234
Nº de PCR (tipificación <i>Nosema spp</i>)	52	31	22	8	27	5	7	3	19	174

Tabla N2: número de muestras con síntomas y análisis realizados durante las Campañas (2012-21)



Figura N8: prevalencia clínica de nosemosis clínica en apiarios durante la campaña 2020-2021

En la figura N9, se muestra la evolución de la prevalencia clínica a lo largo de las nueve campañas evaluadas, observándose un incremento en su detección hasta la campaña 2014-2015 y nuevamente en la campaña 2016-2017, donde se alcanzó la máxima prevalencia, 6,3%. En las campañas 2017-2018 y 2018-2019 se observó un marcado descenso, que continuó en la campaña 2019-2020, registrándose la cifra más baja de la serie temporal (0,7%). En la campaña 2020-21 se ha registrado un repunte hasta el 2,9% de prevalencia.

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

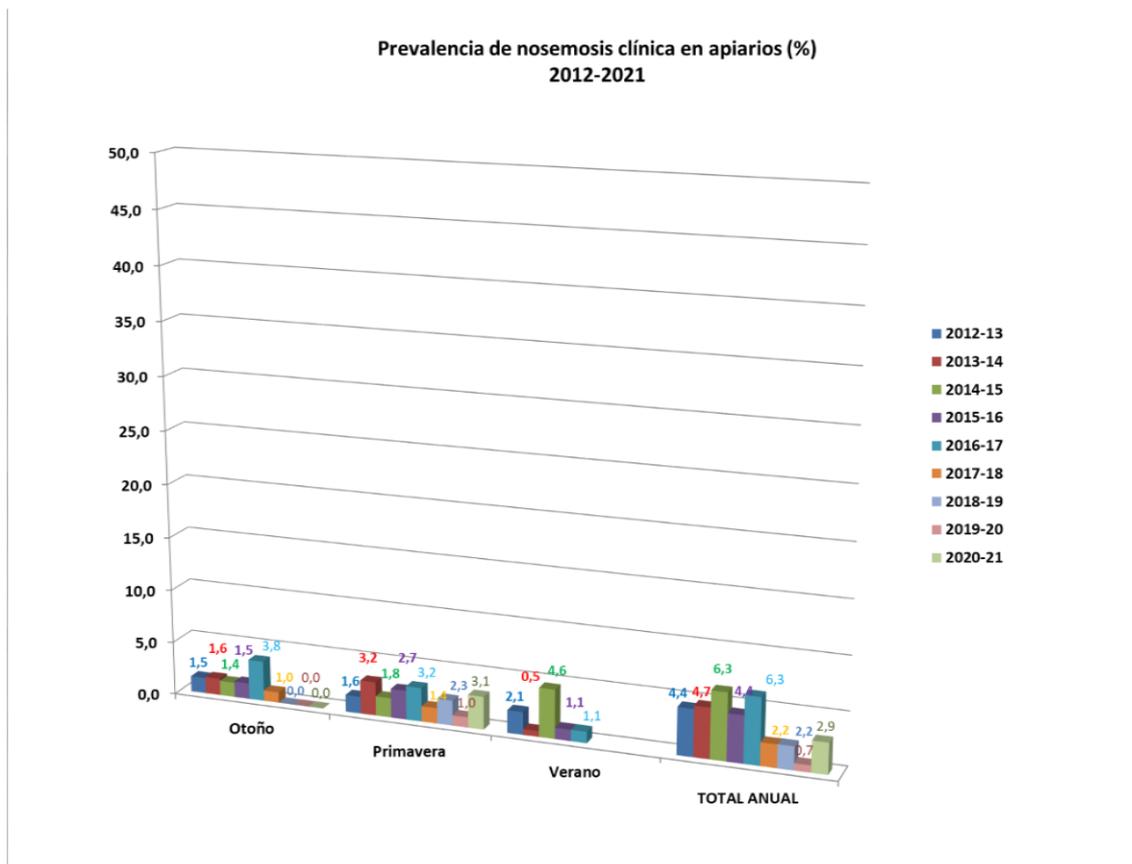


Figura N9: evolución de las tasas de prevalencia de nosemosis clínica (2012-2021).

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, la prevalencia clínica a lo largo de todo el programa de vigilancia ha sido muy reducida, siendo el 3,5% en la campaña 2020-21, tal y como puede apreciarse en las figuras DWV1 y DWV2.

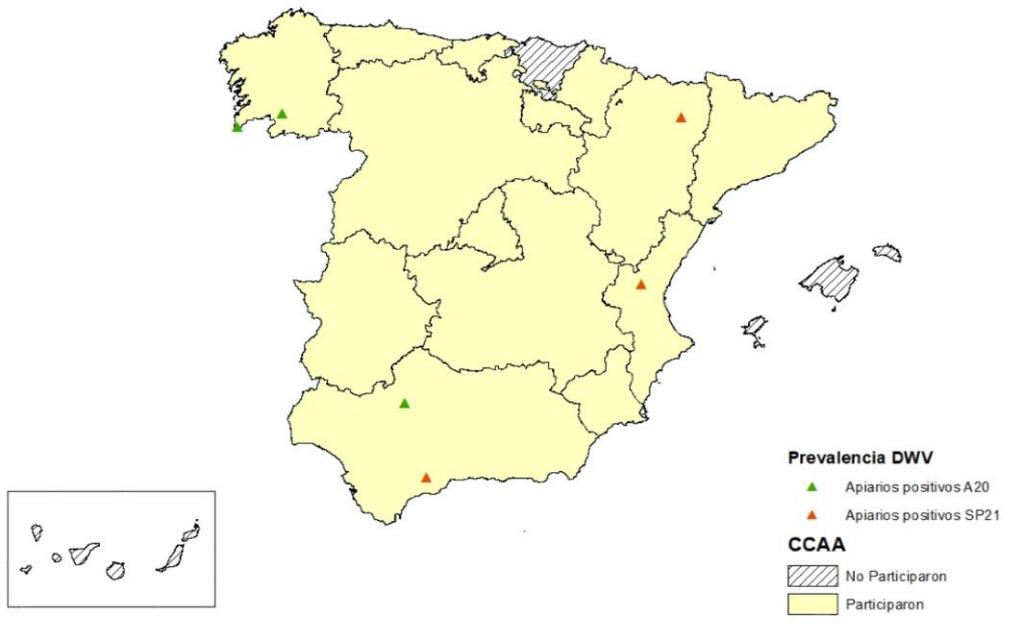


Figura DWV1: Distribución geográfica de la prevalencia clínica del virus DWV durante la campaña 2020-2021

Prevalencia sistemática (otoño 2012) y clínica del virus DWV (2012-2021)

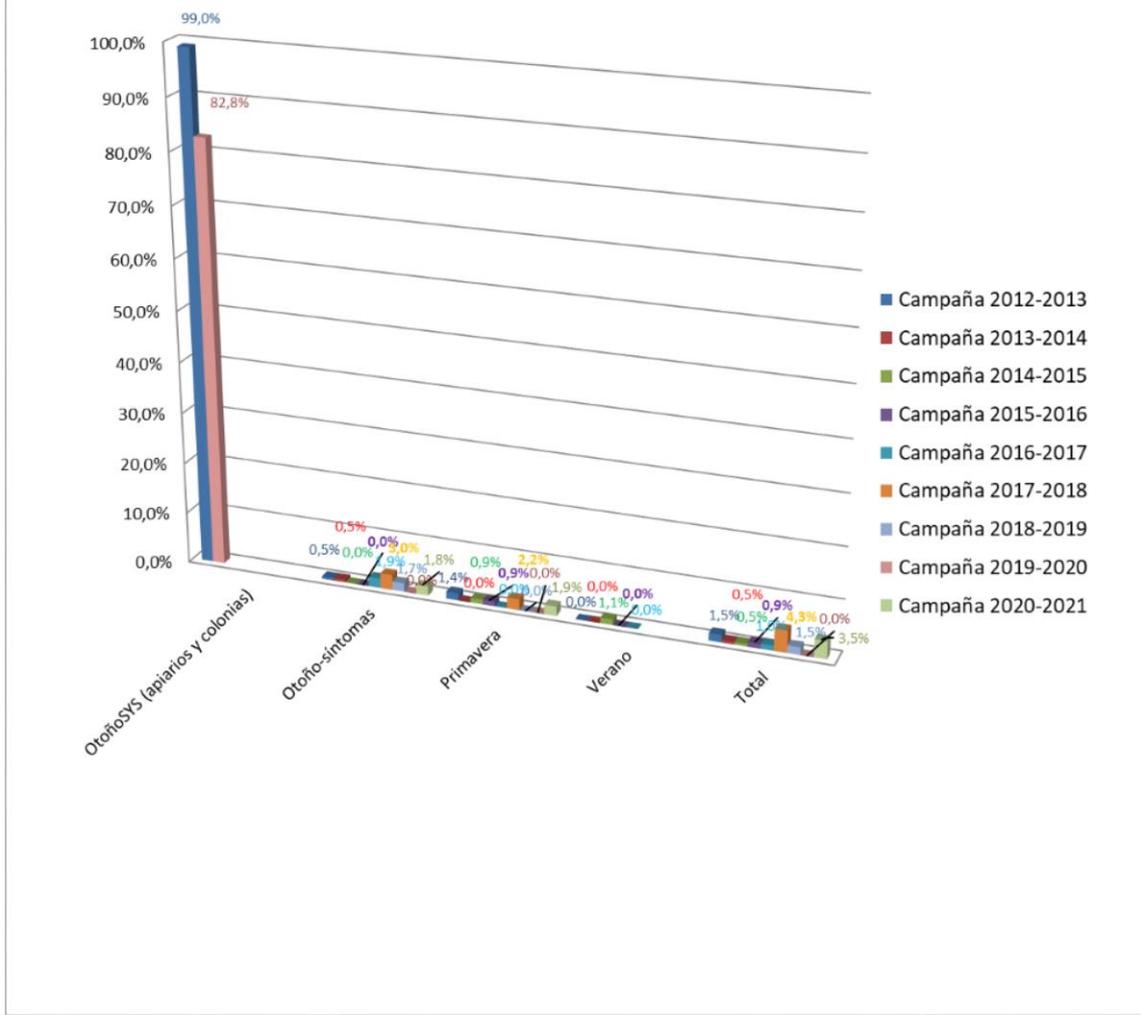


Figura DWV2: Prevalencia sistemática (otoño 2012) y clínica del virus DWV en apiarios a lo largo de las campañas (2012-2021).

3.3.4 VIRUS DE LA PARÁLISIS AGUDA

Durante todo el período de estudio solo habían sido detectados casos clínicos en la campaña 2013-14 (1,6%). Desde entonces la prevalencia clínica del ABPV ha sido nula hasta la campaña 2020-2021, en la que se registró un 3,5%, como puede observarse en las figuras ABPV1 y ABPV2.

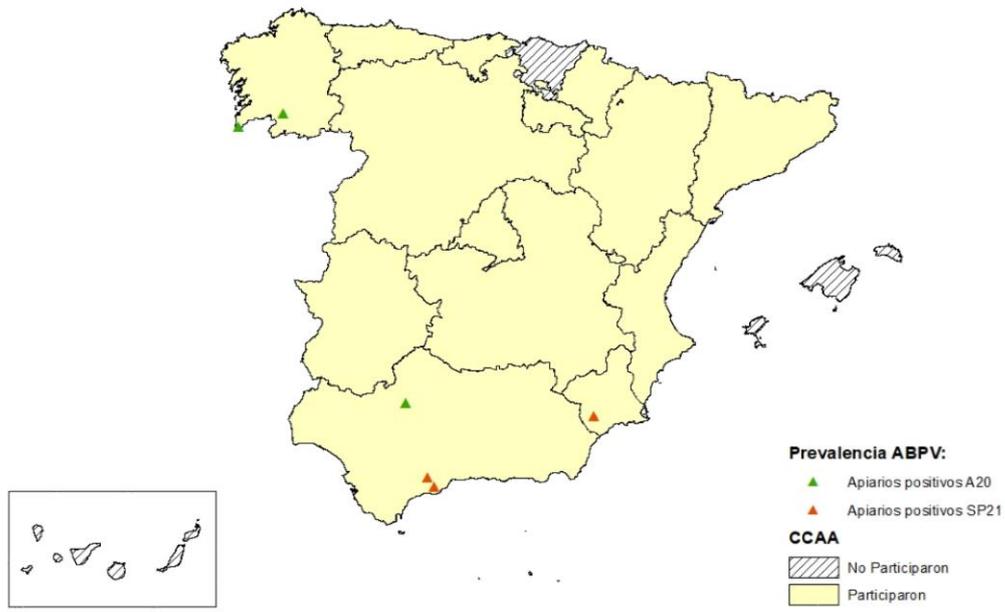


Figura ABPV1: distribución geográfica de la prevalencia clínica en apiarios del virus ABPV durante la campaña 2020-2021.

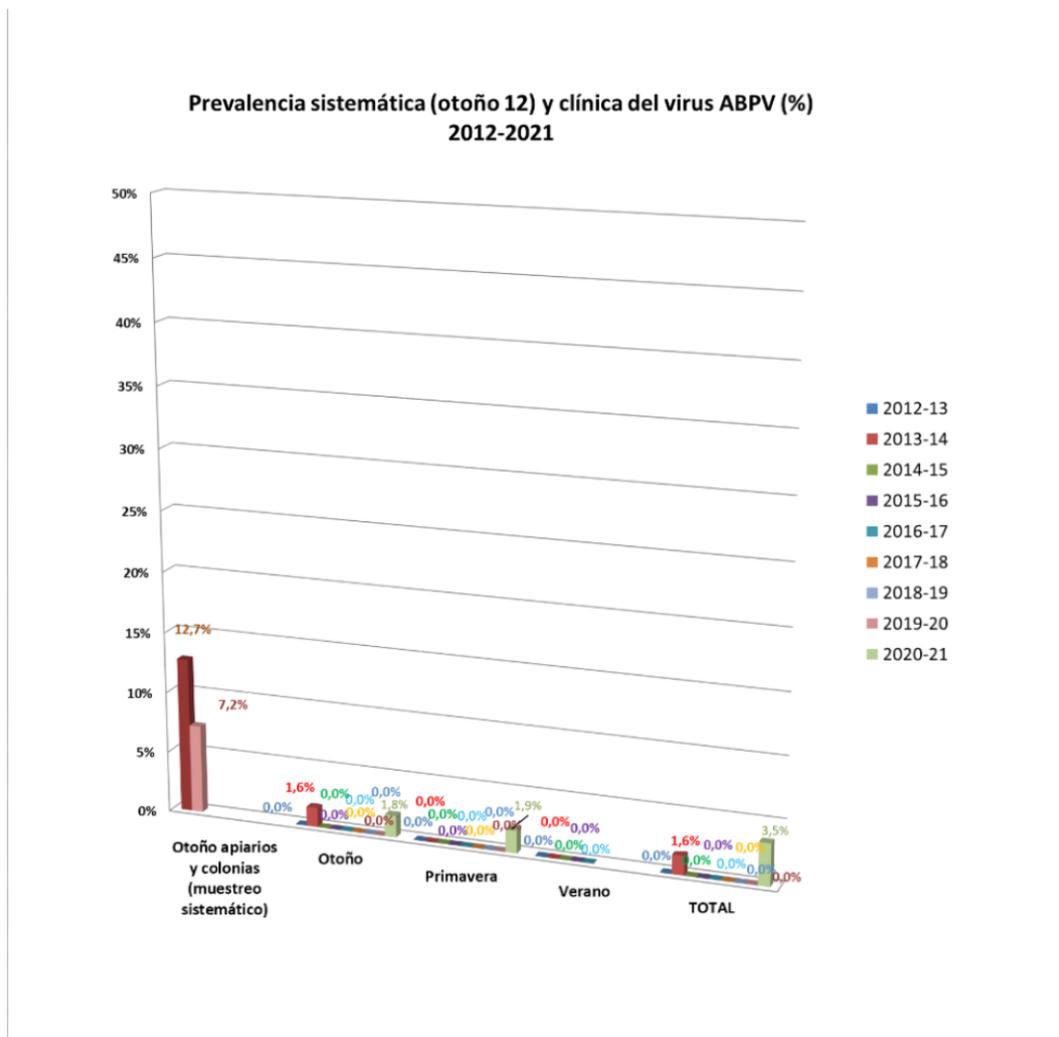


Figura ABPV2: Prevalencia sistemática (otoño 2012) y evolución clínica del virus ABPV en apiarios a lo largo de las campañas (2012-2021).

3.3.5 VIRUS DE LA PARÁLISIS CRÓNICA

A lo largo de la campaña 2020-2021 se han detectado cuatro casos clínicos de parálisis crónica, tal como se muestra en las figuras CBPV1 y CBPV2. Teniendo en cuenta que se considera como **caso clínico positivo al virus CBPV** la detección de **síntomas clínicos** y un **número de partículas virales por abeja superiores a 10^6** , la evolución clínica de la enfermedad puede observarse en el siguiente gráfico.

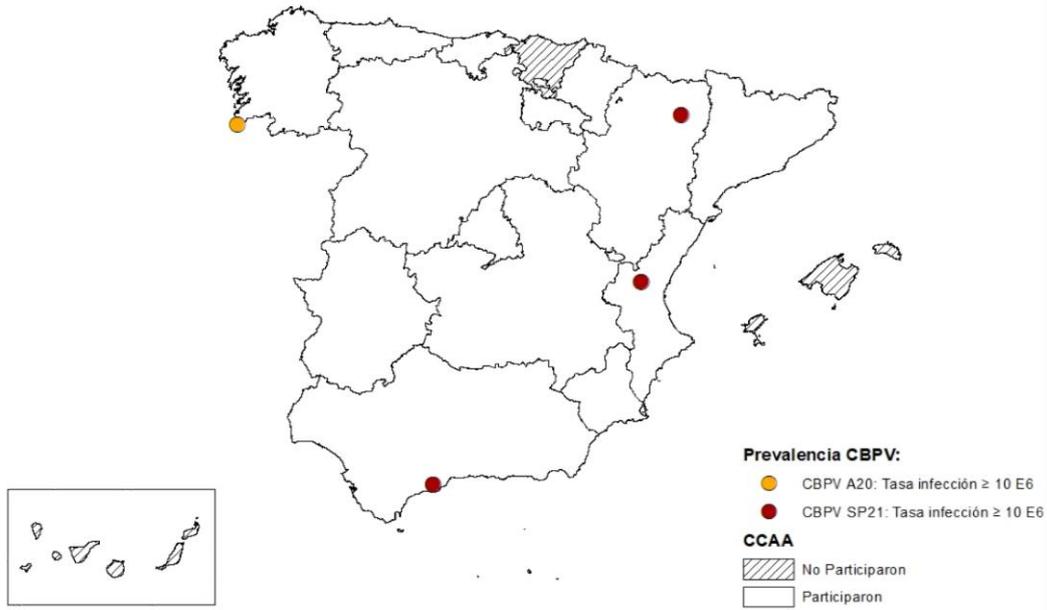


Figura CBPV1: distribución geográfica de la prevalencia clínica en apiarios del virus CBPV durante la campaña 2020-2021.

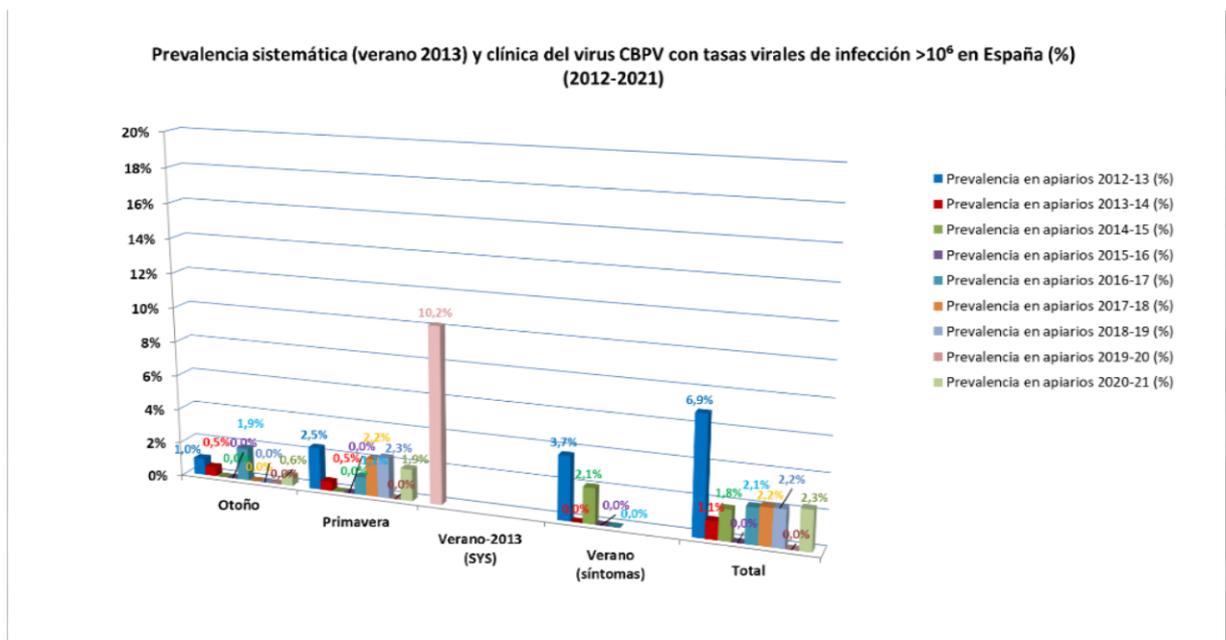


Figura CBPV2: Evolución de la prevalencia clínica de CBPV durante 2012-21 y prevalencia sistemática en verano de 2013 ($> 10^6$ partículas virales/abeja)

3.3.6 LOQUE AMERICANA

Durante la campaña 2020-2021 no se ha detectado ningún caso de loque americana. La prevalencia ha ido aumentando a lo largo de los primeros 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 las dos campañas siguientes y continuando posteriormente su disminución hasta llegar a ser nula en las campañas 2019-2020 y 2020-21.

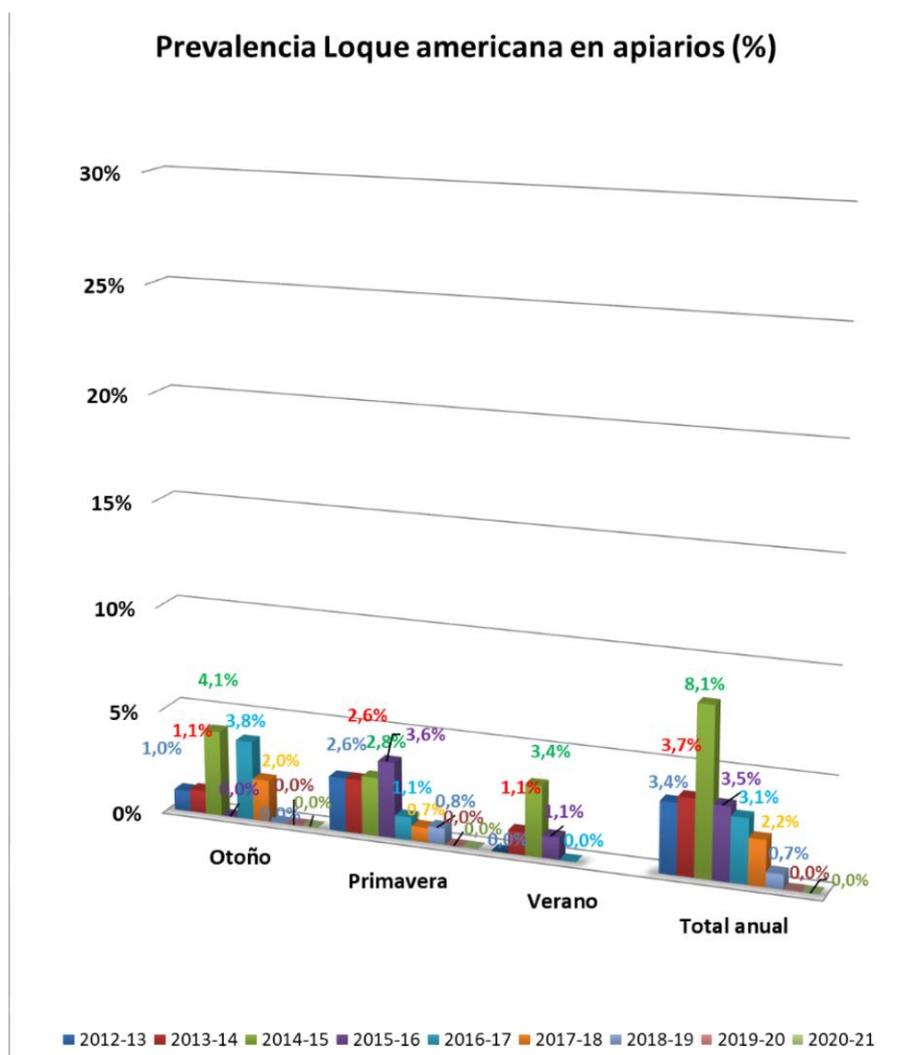


Figura LA1: evolución de la prevalencia clínica de la loque americana durante 2012-2021

3.3.7 LOQUE EUROPEA

A lo largo de las nueve campañas evaluadas no se ha detectado en ningún apiario la presencia de loque europea.

3.3.8 PARÁSITOS EXÓTICOS: Aethina tumida y Tropilaelaps spp

No se ha detectado ningún caso de parásitos exóticos (*Aethina tumida* y *Tropilaelaps spp.*) durante las nueve campañas. No obstante, para el caso de *Aethina tumida* hay que señalar que desde el 19 de septiembre de 2014 en Italia se detectado 61 focos en 2014, 29 focos en 2015, 41 focos en 2016, 11 focos en 2017, 5 focos en 2018, 5 focos en 2019, 11 focos en 2020 y más recientemente 5 focos en 2021, todos ellos localizados en Calabria, excepto un foco en 2014 localizado en Sicilia, por lo que es necesario seguir alerta ante el riesgo de entrada de esta enfermedad, comunicando inmediatamente a los SVO de las CCAA cualquier indicio que se detecte en las colmenas.

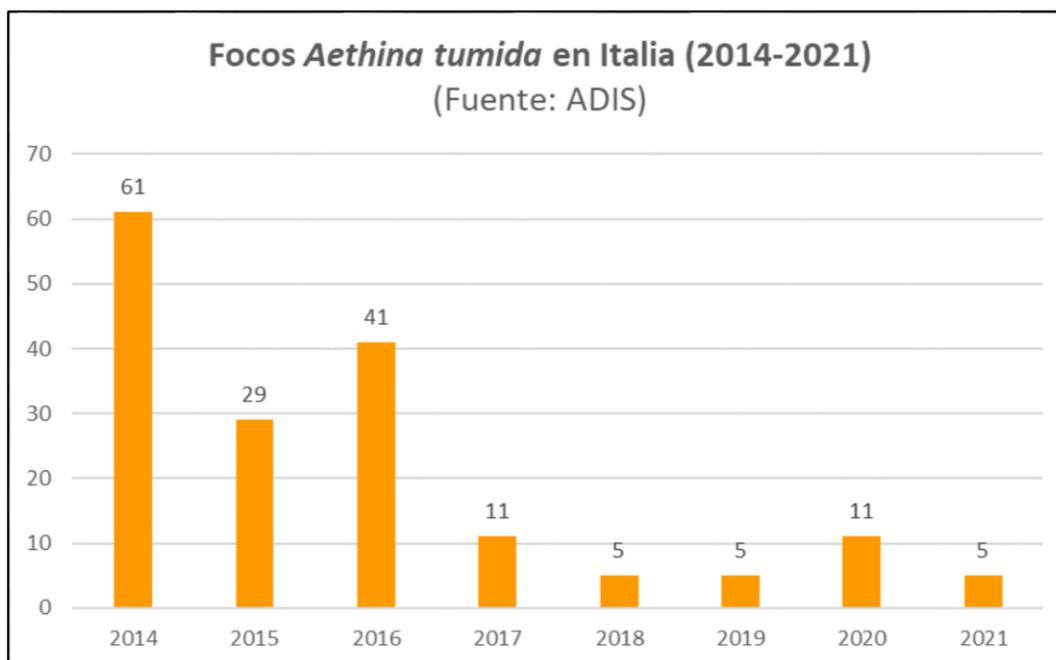


Figura AT1: evolución de los focos de *Aethina tumida* desde 2014 en Italia

3.4 INVESTIGACIÓN DE CASOS DETECTADOS POR VIGILANCIA PASIVA

A lo largo del período que va de septiembre de 2020 a agosto de 2021 se investigaron 20 casos de sospecha de enfermedad o de intoxicación aguda, que fueron detectados mediante vigilancia pasiva fuera del ámbito de las visitas del programa.

Dos de los casos se produjeron en apiarios de explotaciones participantes en la campaña 2020-2021 en Andalucía y en la Comunidad Valenciana, respectivamente, siendo el motivo de la sospecha *parasitación con Nosema e intoxicación por fitosanitarios*. La investigación realizada en el apiario de Andalucía confirmó la presencia en niveles débiles de *Nosema ceranae* y también de ABPV y DWV, así como la presencia de acrinatrina en niveles de toxicidad moderada. Por otra parte, en el apiario de la Comunidad Valenciana se confirmó la presencia de *Nosema ceranae*, alcanzando nivel moderado a grave en algunas de las muestras analizadas, CBPV, ABPV y DWV, mientras que no se detectó la presencia de ningún fitosanitario.

Otros dos casos afectaron a explotaciones participantes en la campaña 2020-2021 en Andalucía, si bien se trataba de otra ubicación diferente a la que participaba en el Programa. En el primero

de ellos el motivo del análisis era la existencia de una mortalidad aguda en la que se sospechaba de CBPV, ABPV y nosemosis, confirmándose la presencia de CBPV, ABPV, DWV, nosemosis grave debida a *Nosema ceranae* y varroosis por diagnóstico laboratorial. En la otra explotación investigada el motivo era la sospecha de loque americana, confirmándose en el laboratorio su presencia y también la presencia de ABPV, CBPV y DWV.

Respecto a los 16 casos restantes, detectados en apiarios no participantes en el programa de vigilancia, el motivo del análisis fue la detección de mortalidad aguda en 9 de ellos, despoblamiento en 3 casos, sospecha de loque americana en 2 casos y, por último, en 2 casos no se especificaba el motivo de la sospecha. En 4 de estos 16 casos se sospechó de una intoxicación por fitosanitarios (dos en Andalucía, uno en Navarra y uno en La Rioja), confirmándose la sospecha a partir de los resultados toxicológicos en 2 casos (Andalucía y La Rioja) con una toxicidad leve en ambos casos (motivo por el que no se incluyen en la siguiente tabla).

Los pesticidas detectados no presentaron en ningún momento un valor T50 calculado para el **panal de polen** inferior a 7 días (riesgo de intoxicación moderada a grave).

Año	Nº apiarios	Pesticidas T50c < 2 días	Pesticidas T50c 2-7 días
2014	2	Diazinón Imidacloprid Coumaphos**	Chlorpyrifos**
2015	6	Acrinatrina** Spinosad*	Imidacloprid Coumaphos** Tau-fluvalinato** Dimetoato
2016	4	Spinosad** Acrinatrina** Ometoato Metiocarb	Acrinatrina** Coumaphos** Cipermetrina* Clorpyrifos methyl
2017	3	Spinosad**	Metiocarb Acrinatrina** Dimetoato Coumaphos**
2018	3	Imidacloprid** Coumaphos**	Acrinatrina** Bifentrin**

		Spinosad**	Imidacloprid**
2019	7	Acrinatrina** Coumaphos** Imidacloprid** Spinosad**	Acrinatrina** Cipermetrina* Dimetoato** Spinosad**
2020	2	Metiocarb	Metiocarb Acrinatrina**

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

Tras los análisis realizados en los 16 casos de sospechas clínicas registradas fuera del programa, se confirmaron los siguientes resultados:

-
- Un caso en Cataluña de loque americana.
- Un caso en Murcia de ABPV, nosemosis moderada (*N. ceranae*) y DWV.
- Un caso en Murcia de ABPV, varroosis débil y DWV.
- Un caso en Comunidad Valenciana de DWV.
- Un caso en Andalucía de intoxicación leve por clorfenvirós.
- Un caso en Canarias de CBPV, ABPV, nosemosis débil (*N. ceranae*) y DWV.
- Un caso en Canarias de CBPV y DWV.
- Un caso en Madrid de CBPV.
- Un caso en Aragón de CBPV, ABPV y DWV.
- Un caso en Andalucía de ascosferosis.
- Un caso en Navarra de CBPV.
- Un caso en La Rioja de CBPV, ABPV e intoxicación leve por cumafós.
- Un caso en Andalucía de CBPV, ABPV, nosemosis débil (*N. ceranae*), varroosis débil, DWV y ascosferosis.
- Un caso en Andalucía de CBPV, ABPV, nosemosis moderada (*N. ceranae*), varroosis muy grave y DWV.

4 CONCLUSIONES

El **Programa de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas** que comenzó en España en 2012 en el marco del proyecto europeo EPILOBEE fue la primera iniciativa llevada a cabo de forma armonizada en materia de sanidad apícola en la UE, lo que implicó 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, dada la relevancia que tiene el sector apícola en nuestro país, para poder realizar un seguimiento más amplio que el marcado por el proyecto EPILOBEE con el objetivo de monitorizar la evolución y tendencias de la mortalidad invernal y de las principales enfermedades que afectan a la salud de las abejas. Además, el programa español amplió los objetivos incluyendo el 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 y verano de 2016, como dirigida exclusivamente a casos en los que se detecta sintomatología compatible a lo largo de todas las campañas, por considerarlos factores importantes que pueden incidir sobre la salud de las abejas y la viabilidad de los apiarios.

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 2013-14 las **mortalidades invernales** registradas en todas las campañas evaluadas se encontraban entorno al límite del 10%, considerado normal por EPILOBEE, y han mantenido una tendencia estable hasta la campaña 2017-18 en la que aumentó significativamente alcanzando una tasa del 13,5%, después en la campaña 2018-19 volvió a descender por debajo de ese límite del 10% considerado normal, en la campaña 2019-20 de nuevo volvió a aumentar significativamente alcanzando el valor máximo de la serie histórica desde que comenzó el programa (19,2%), mientras que en esta última campaña 2020-21 se ha vuelto a valores similares a los registrados en 2017-18 (13,5%). No obstante, a lo largo de las nueve campañas no siempre participaron todas las comunidades autónomas y la participación de los apiarios fue en todo caso voluntaria, por lo que aunque consideramos los resultados anuales representativos a nivel nacional, la evolución histórica hay que analizarla teniendo en cuenta estos factores.

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 se comprobó estadísticamente para el periodo 2012-15. Entre estos factores cabe destacar las elevadas tasas de infestación de *Varroa destructor* y *Nosema spp*; la detección clínica de la Loque americana; la exposición a pesticidas muy tóxicos y/o niveles elevados; la edad, nivel de formación y grado de profesionalización del apicultor; el manejo reproductivo, etc.

Durante la campaña 2020-21, el 43,8% de los apiarios que participaron en las visitas A20 y SP21 sufrieron mortalidades superiores al 10% en 14 CCAA. **Se han podido confirmar las causas en un 42,3% de estos casos.** Así, entre las causas a las que puede atribuirse esta mortalidad superior a la normal figuran las siguientes para las que se incluyen el % de apiarios afectados por cada una de ellas:

- | | |
|--|-------|
| • Tasas moderadas-muy graves de <i>Varroa spp</i> en A20: | 7% |
| • Tasas moderadas-muy graves <i>Nosema spp</i> en A20: | 22,5% |
| • Tasas moderadas-muy graves <i>Varroa spp</i> y <i>Nosema spp</i> en A20: | 2,8% |
| • Varroosis en A20: | 7% |
| • Tasas moderadas-muy graves de <i>Varroa spp</i> en SP21: | 2,8% |
| • Varroosis en SP21: | 12,7% |

- Nosemosis, ABPV, CBPV, DWV y sospecha de intoxicación con fitosanitarios en SP21: 1,4%
- Sospecha de intoxicación con fitosanitarios en SP21: 1,4%
- **Resultados no concluyentes:** **57,7%**

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 2021 se confirmaron 5 focos, todos situados en la región de Calabria. Por otro lado hay que tener en cuenta el riesgo que suponen las importaciones de abejas desde países terceros donde estos parásitos están también presentes. Es muy importante para ello que los apicultores estén sensibilizados en cuanto a los riesgos y que sean capaces de detectar los mismos en las colmenas y que comuniquen inmediatamente a los SVO de las CCAA cualquier indicio de su presencia.

Aunque se ha registrado un descenso en los valores otoñales de los índices de infestación moderados a muy graves, es necesario continuar aplicandoun control integral sobre **Varroa destructor**. Es necesario por tanto mejorar la aplicación de los tratamientos para optimizar su eficacia y evitar el desarrollo de resistencias, aplicaciones de dosis y tiempo de duración estipulada en las fichas técnicas de los productos, elección apropiada de principios activos, favoreciendo el uso de medicamentos veterinarios que dejen pocos residuos en la cera, así como la aplicación de pautas de manejo que ayuden a aumentar la eficacia de los tratamientos y así reducir los niveles de infestación. Para ayudar a los apicultores en el control se publicó en 2017 la *Guía técnica para la lucha y control de la varroosis y uso responsable de medicamentos veterinarios contra la varroa* (https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/guiavarroafinalveterinarios_tcm30-421799.pdf), que recoge recomendaciones encaminadas a fomentar un manejo integrado de las colmenas, y en particular a aumentar la eficacia de los tratamientos y reducir el desarrollo de resistencias a las sustancias activas en uso, para contribuir al control del impacto que Varroa tiene en la salud y producción de las colmenas.

Será preciso seguir investigando la evolución de la infestación por **Nosema spp** dado que tasas moderadas a graves de infestación se han detectado en apiarios con mortalidades elevadas. En la actualidad no hay productos autorizados para su control.

El programa nacional de vigilancia nos permite hacer un monitorización armonizada y **continuada de la situación sanitaria de nuestra cabaña apícola** a nivel nacional, lo cual es fundamental para obtener información representativa y comparable de los datos de la vigilancia llevada a cabo a nivel nacional, permitiendo sacar conclusiones representativas de las que los apicultores participantes son informados para que puedan utilizar esta información para mejorar la gestión sanitaria de sus colmenas. Por otro lado, sirve de **herramienta formativa** para los SVO, laboratorios participantes e inspectores apícolas, y como herramienta de **comunicación** entre los distintos actores participantes, aspectos claves para comprender y mejorar la situación sanitaria de nuestra cabaña apícola. Aunque el grado de participación a lo largo de estos años ha sido variable, en general ha ido en aumento, en este sentido la intención del MAPA es alcanzar una representatividad de la del 100% de las CCAA, para lo que es fundamental que las CCAA que aplican sus propios programas comuniquen los datos de vigilancia obtenidos a través de la aplicación APINET. Como ya sucedió en la campaña 2019-2020, en la campaña 2020-21 el grado de participación de CCAA en la comunicación de información a través de APINET ha sido el más

alto desde que acabara el proyecto EPILOBEE en 2014, con 14 CCAA participantes que han incluido sus datos de vigilancia en la aplicación central.

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
Cypermethrin (cypermethrin 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)
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
Fenazaquin	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
Fenpropimorph	LC-MS/MS	5	5
Fenpyrazamine	LC-MS/MS	5	5
Fenproximate	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

Pesticida	Método empleado	LOQ Abejas (µg/kg)	LOQ Panales (µg/kg)
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
Haloxfop	LC-MS/MS	5	5
Hexaconazole	LC-MS/MS	5	5
Hexythiazox	LC-MS/MS	5	5
Imazailil	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
Malaoxon	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
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

Pesticida	Método empleado	LOQ Abejas (µg/kg)	LOQ Panales (µg/kg)
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
Quinoxyfen	LC-MS/MS	5	5
Quinoclamine	LC-MS/MS	5	5
Quizalofop-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
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

Pesticida	Método empleado	LOQ Abejas (µg/kg)	LOQ Panales (µg/kg)
Tebufenpyrad	LC-MS/MS	5	5
Teflubenzuron	LC-MS/MS	5	5
Terbutylazine	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

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	SÍ (I)	39.500,0	3.950,0
Acrinathrin	0,17**	SÍ (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	SÍ (F)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Benalaxyl	>100	SÍ (F)	500.000,0	superior a 50.000,0
Bifenthrin	0,015**	SÍ (I-A)	75,0	7,5
Biphenyl	nd	NO (PCB)	na	na
Boscalid	>200	SÍ (F)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Bromopropylate	183	NO (A)	915.000,0	91.500,0
Bupirimate	>500	SÍ (F)	2.500.000,0	superior a 250.000,0
Buprofezin	20	SÍ (IGR)	100.000,0	10.000,0
Captan	215	SÍ (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	SÍ (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**	SÍ (I)	360,0	36,0
Chlorpyrifos Methyl	0,28**	SÍ (I)	1.400,0	140,0
Chlothianidin	0,039**	NO (I)	195,0	19,5

clofentezine	48	SÍ (A)	240.000,0	24.000,0
Coumaphos	20	NO (I-A)	100.000,0	10.000,0
Cymoxanil	>25	SÍ (F)	125.000,0	superior a 12.500,0
Cypermethrin	0,034**	SÍ (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	SÍ (F)	100.000,0	10.000,0
Difenoconazole	100	SÍ (F)	500.000,0	50.000,0
Dimethoate	0,12**	SÍ (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	SÍ (F)	500.000,0	superior a 50.000,0
Esfenvalerate	0,06**	SÍ (I)	300,0	30,0
Ethion	11	NO (A)	55.000,0	5.500,0
Ethofenprox	0,015**	SÍ (I)	75,0	7,5
Fenazaquin	7,4	SÍ (A)	37.000,0	3.700,0
Fenbuconazole	290	SÍ (F)	1.450.000,0	145.000,0
Fenhexamid	207	SÍ (F)	1.035.000,0	103.500,0
Fenitrothion	0,52**	NO (I)	2.600,0	260,0
Fenoxycarb	>100	SÍ (A)	500.000,0	superior a 50.000,0
Fenpropathrin	nd	NO (I-A)	na	na
Fenpropimorph	>100	SÍ (F)	500.000,0	superior a 50.000,0
Fenpyroximate	11	SÍ (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	SÍ (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	SÍ (F)	360.000,0	36.000,0
Fluvalinate-tau	8,7	SÍ (I-A)	43.500,0	4.350,0
Folpet	49	SÍ (F)	245.000,0	24.500,0

Hexythiazox	>200	SÍ (A)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Imidacloprid	0,061**	NO (I)	305,0	30,5
Indoxacarb	0,59**	SÍ (I)	2.950,0	295,0
Iprodione	400	SÍ (F)	2.000.000,0	200.000,0
Iprovalicarb	>200	SÍ (F)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Isofenphos Methyl	nd	NO (I)	na	na
Kresoximmethyl	22	SÍ (F)	110.000,0	11.000,0
lambda cihalotrin	0,048**	SÍ (I)	240,0	24,0
Lindane	nd	NO	na	na
Linuron	nd	SÍ	na	na
Lufenuron	>200	SÍ (IGR)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Malathion	0,47**	SÍ (I-A)	2.350,0	235,0
Metalaxyl	141	SÍ (F)	705.000,0	70.500,0
MetalaxylM	25	SÍ (F)	125.000,0	12.500,0
Methamidophos	0,97**	NO (I-A)	4.850,0	485,0
Methiocarb	0,29**	SÍ (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	SÍ (F)	200.000,0	superior a 20.000,0
ometoato	No evaluado (tox oral 0,05)	NO (I)	na	na
Orthophenylphenol	nd	SÍ (F)	na	na
Oxydemetonmethyl	7,4	NO	37.000,0	3.700,0
paclobutrazol	nd	SÍ	na	na
Pebulate	nd	NO	na	na
Penconazole	12	SÍ (F)	60.000,0	6.000,0
Pendimethalin	nd	SÍ	na	na
Permethrin	0,063**	NO (I)	315,0	31,5
Phenthoate	0,31**	NO (I)	1.550,0	155,0
Phosmet	0,62**	SÍ (I)	3.100,0	310,0
Phthalimide	nd	NO (F)	na	na
Pirimicarb	36	SÍ (I)	180.000,0	18.000,0
Pirimiphos-methyl	0,27**	SÍ (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	SÍ	na	na
Prothiophos	nd	NO	na	na
Pyraclostrobin	>100	ND (F)	500.000,0	superior a 50.000,0
Pyridaben	0,053**	SÍ (I)	265,0	26,5
Pyriproxyfen	>100	SÍ (I)	500.000,0	superior a 50.000,0
Quinalphos	0,44**	NO (I)	2.200,0	220,0
Quinoxifen	79	SÍ (F)	395.000,0	39.500,0
Spinosad	0,003**	SÍ (I)	15,0	1,5
Spirodiclofen	256	SÍ (A)	1.280.000,0	128.000,0
Spiroxamine	4,2	SÍ (F)	21.000,0	2.100,0
Sulfotep	nd	NO	na	na
Tebuconazole	>200	SÍ (F)	1.000.000,0	superior a 100.000,0
Tebufenpyrad	6,8	SÍ (A)	34.000,0	3.400,0
Terbuthylazine	nd	SÍ	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	SÍ (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	SÍ (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 ð 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/ 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

		<ul style="list-style-type: none"> ■ 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 Microbiology Reports* 2(2), 243-250.
- Johnson, M.; Ellis M.D; Mullin, A.; Frazier, M. (2010). **Pesticides and honey bee toxicity – USA**. *Apidologie* 41, 312–331
- Kukielka, D.; Perez A.; Higes, M; Bulboa, M.C.; Sánchez-Vizcaíno, J.M. (2008). **Analytical sensitivity and specificity of a RT-PCR for the diagnosis and characterization of the spatial distribution of three *Apis mellifera* viral diseases in Spain**. *Apidologie* 39, pp 607-617.
- Laurent, M.; Hendriks, P.; Ribiere-Chabert, M. and Chauzat, M.P., on behalf of the EPILOBEE consortium (2014). **A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2013**. http://ec.europa.eu/food/animals/live_animals/bees/study_on_mortality/index_en.htm
- 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.; Cunningham Saul, A.; M.Klein, A. (2009) **How much does agriculture depend on pollinator? Lessons from long term trends in crop production**. *Annals of Botany* 103, pp: 1579-1588.
- Martín-Hernández, R.; Meana, A.; Prieto, L.; Martínez Salvador, A; Garrido-Bailón, E. and Higes, M. (2007) **Outcome of Colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae***. *Applied and Environmental Microbiology*, pp: 6331–6338.

- Mullin Christopher, A.; Frazier, M., Frazier, J.L.; Ashcraft, S.; Simonds, R.; vanEngelsdorp, D. and Pettis, J. S. **(2010) High Level of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health.** PlosOne (vol 5, issue 3, e9754)
- Mordecai, G. J.; Brettell, L. E.; Martin, S. J.; Dixon, D.; Jones, Ian M and Schroeder and Declan C. **(2016) Superinfection exclusion and the long-term survival of honey bees in Varroa-infested colonies.** The ISME Journal 10, pp: 1182–1191.
- Mordecai, G J.; Wilfert, L.; Martin, S. J.; Jones, I. M. and Schroeder, D.C. **(2016) Diversity in a honey bee pathogen: first report of a third master variant of the Deformed Wing Virus quasispecies.** The ISME Journal 10, pp: 1264–1273.
- Morse, R. A.; Calderone, N. W. Cornell University Ithaca **(2000). The Value of Honey Bees As Pollinators of U.S. Crops in 2000.** Bee culture magazine.
- Orantes-Bermejo, F. J.; Gómez Pajuelo, A.; Megías Megías, M. and Torres Fernández-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.