

# INFORME DE RESULTADOS DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA 2016-2017 SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS

## **DESCRIPCIÓN BREVE**

Este informe tiene como objetivo presentar los principales resultados obtenidos en España a lo largo del periodo 2016-2017 en relación a las pérdidas de colonias de abejas así como la prevalencia de todas las enfermedades apícolas más importantes que afectan a la sanidad apícola

*Subdirección General de Sanidad e Higiene  
Animal y Trazabilidad*

COORDINADORES PARTICIPANTES		ORGANISMO DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA/MAPA
Cid González	Carlos	Subdirección Xeral de Ganadería - Consellería do Medio Rural e do Mar - Xunta de Galicia
De Abajo	Miguel Ángel	Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León
Esteban Royo	Ángel	Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente de la Diputación General de Aragón
Fernández Somalo	Pilar	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Mº Agricultura y Pesca y Alimentación
Fernández Feijoo	Beatriz	Subdirección Xeral de Ganadería - Consellería do Medio Rural e do Mar - Xunta de Galicia
Fernández Zapata	Carlos	Dirección General de Agricultura y Ganadería. Subdirección General de Recursos Agrarios de la comunidad de Madrid
Llorens García	Salvador	Consejería de Agro-ganadería y Recursos Autóctonos del Principado de Asturias
Oteiza Orradre	Pedro	Dpto. de Desarrollo Rural, Industria, Empleo y Medio Ambiente de la Diputación Foral Navarra
Pérez Cobo	Iratxe	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Mº Agricultura y Pesca y Alimentación
Rodríguez Correa	Jose Antonio	Consejería de Agricultura, Desarrollo Rural, Medio Ambiente y Energía de la Junta de Extremadura
Romero González	Luis José	SG de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Mº Agricultura y Pesca y Alimentación
Soldevilla Yanguas	Jose Fernando	Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente de la Comunidad Autónoma de la Rioja
Soler i Barrasús	Mercè	Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural Generalitat de Catalunya

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

## SUMARIO

*Las abejas, Apis mellifera, son insectos polinizadores esenciales para el mantenimiento de los ecosistemas y las producciones agrícolas. Sin embargo los peligros sobre ellas no han dejado de incrementar en los últimos años registrándose mortalidades muy elevadas de colonias de abejas en numerosos países europeos y del norte de América. No se ha identificado una única causa en estas pérdidas y las conclusiones arrojadas en diferentes estudios son diversas, existiendo muchos factores de riesgo que afectan a las abejas tanto bióticos (tales como parásitos, virus, bacterias u hongos) como abióticos (clima, manejo, uso pesticidas y tratamientos acaricidas, etc.).*

*Hasta el año 2012 no existía en España ni en la Unión Europea un sistema armonizado que permitiera evaluar la mortalidad y la prevalencia de los principales trastornos apícolas. Con la puesta en marcha del Programa de vigilancia piloto europeo sobre las pérdidas de colonias de abejas (EPILOBEE 2012-14) y su continuación en España (2012-17) se ha podido establecer por vez primera la situación de mortalidad en la Unión Europea y, simultáneamente, investigar las principales enfermedades de las abejas basados en una definición de caso de enfermedad y protocolos de inspección estandarizados, ampliándose en España a la investigación de casos de intoxicación y a la vigilancia sistemática de la presencia de residuos de fitosanitarios y otras sustancias.*

*La **mortalidad invernal** en España para el periodo 2016-17 fue del 9,8% cifra similar a las registradas durante las campañas 2012-13 (10,2%), 2014-15 (11,2%) y 2015-16 (10,8%), sin llegar a apreciarse ninguna variación importante por territorios. No hay establecidos valores históricos en relación a los niveles aceptables de mortalidad invernal en Europa ni en España. Distintas publicaciones científicas consideran que un valor del 10% es el límite aceptable de tasa de mortalidad invernal para la apicultura europea, siendo éste el considerado en la evaluación de este informe.*

*La **mortalidad primaveral** registrada en España durante esta campaña ha sido la más baja de las registradas hasta el momento (2,3%).*

*La **varroosis** es una patología de las abejas melíferas provocada por el ácaro Varroa destructor, Anderson & Trueman (Acari: Varroidae), que constituye en la actualidad el principal problema de los apicultores europeos. En España el Real Decreto 608/2006 establece medidas específicas en para el caso de la varroosis, obligando a la aplicación de al menos un tratamiento al año (otoño), estando esta medida cofinanciada por la línea B de ayudas establecidas en el Plan Nacional Apícola (2017-2019). Los resultados obtenidos durante las cinco campañas indican una elevada presencia en otoño del ácaro Varroa destructor en apiarios (79,8%) y colonias (46,3%), así como un aumento progresivo de los niveles de infestación otoñal moderados a graves (>5% en abejas) hasta la campaña 2015-16 con un descenso en la campaña 2016-17. En otoño de 2016, periodo en el que un 80,0% de los apicultores ya habían realizado un tratamiento previo a la primera visita prevista en el programa, la prevalencia fue superior al promedio interanual situándose en un 86,0% en los apiarios y en un 53,5% en las colonias de abejas estudiadas de forma sistemática. En relación a los **niveles de infestación**, un 20,0% de los apiarios presentaron parasitaciones moderadas a muy graves.*

*La evolución de la **prevalencia clínica de varroosis** a lo largo de las cinco campañas ha mostrado variaciones anuales entre el 23,7% y el 11,7%, situándose la prevalencia anual en el periodo 2016-17 en el 12,5%, siendo el otoño el periodo donde se han encontrado las prevalencias clínicas más elevadas (13,1%).*

En el **otoño** la presencia de **Nosema spp** en los apiarios fue elevada durante las cinco campañas, detectándose en un 80,9% de los apiarios. La prevalencia en las colonias fue siempre inferior, afectando a un promedio de 38,5 % en esta época. En relación a los **niveles de infestación**, un 29,1% presentaron parasitaciones moderadas a muy graves cifra muy superior al promedio anual 19,2%.

De los estudios de tipificación molecular se deriva que el 91,2% de las colonias positivas lo eran exclusivamente a *Nosema ceranae* y un 5,6% a *Nosema Apis*, lo que confirma un desplazamiento de *Nosema apis* por *Nosema ceranae*. El porcentaje restante se debieron a infecciones mixtas.

La **detección anual de nosemosis clínica** fue del 6,3%, varió entre campañas entre el 4,4% y 6,3% anual, siendo las campañas 2014-15 y 2016-17 las que mayor prevalencia mostraron.

La **loque americana** afectó anualmente a un 4,4 % de los apiarios investigados durante los cinco años, viéndose incrementada su prevalencia de forma significativa durante la campaña 2014-15, hasta un 8,1%. En el periodo 2016-17 la prevalencia anual se situó en un 3,1%. No se detectó ningún caso de **loque europea** en todas las visitas realizadas.

En relación a los virus más prevalentes en España hay que destacar el **Virus de las alas deformadas (DWV)**, presente en un 99% de los apiarios y el 83 % de las colonias de abejas investigadas sistemáticamente en otoño de 2012. Sin embargo, su prevalencia clínica anual ha sido muy baja durante todas las campañas, siempre por debajo del 1,5%. Durante la campaña 2016-17 se detectó un caso clínico en otoño. El **virus de la parálisis aguda (ABPV)** se detectó en un 12,7% de los apiarios y en un 7,2% de las colonias investigadas de forma sistemática en otoño de 2012. Al igual que para el caso del virus DWV su prevalencia clínica siempre ha sido escasa (<1,6%), no habiéndose detectado ningún caso durante la campaña 2016-17.

En todas las campañas la prevalencia clínica anual del **Virus de la parálisis crónica (CBPV)** se ha situado siempre por debajo del 2,5% de los apiarios investigados, detectándose dos casos clínicos durante la campaña 2016-17.

Durante todo este periodo de estudio no se ha detectado ningún **parásito exótico** en España (**Aethina tumida**, **Tropilaelaps spp**). Sin embargo, se debe tener en cuenta que desde septiembre de 2014, *Aethina tumida* está presente en el sur de Italia (Calabria), donde se confirmaron 11 focos en 2017.

No se ha detectado clínicamente durante este programa ninguna sospecha de intoxicación. Fuera del programa de vigilancia, durante la campaña 2016-2017 se confirmaron 2 sospechas de intoxicación de un total de 13 casos investigados.

1.	INTRODUCCIÓN	7
2.	DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2016-17	7
2.1.	OBJETIVOS DEL PROGRAMA	7
2.2.	ENFERMEDADES OBJETO DE VIGILANCIA DEL PROGRAMA	7
2.3.	PROTOCOLO DE ESTUDIO Y VIGILANCIA. RECOGIDA Y GESTIÓN DE DATOS. CÁLCULO DE MORTALIDAD Y PREVALENCIAS DE LAS ENFERMEDADES INVESTIGADAS.	8
3.	RESULTADOS DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE LAS PRÉDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2016-17	9
3.1.	APIARIOS Y COLONIAS INSPECCIONADAS	9
3.2.	ÍNDICES DE MORTALIDAD	11
3.3.	ENFERMEDADES DE LAS ABEJAS	14
3.3.1.	INFESTACIÓN POR <i>Varroa destructor</i> Y VARROOSIS	14
3.3.1.1.	Infestación por <i>Varroa destructor</i>	14
3.3.1.2.	Varroosis	18
3.3.1.3.	Aplicación de tratamientos para el control de la varroosis	20
3.3.2.	INFESTACIÓN POR <i>Nosema spp</i> y NOSEMOSIS	22
3.3.2.1.	Tasa de infestación de <i>Nosema spp</i>	22
3.3.2.2.	Nosemosis	28
3.3.3.	VIRUS DE LAS ALAS DEFORMADAS (DWV),	30
3.3.4.	VIRUS DE LA PARÁLISIS AGUDA (ABPV)	31
3.3.5.	VIRUS DE LA PARÁLISIS CRÓNICA	32
3.3.6.	LOQUE AMERICANA	34
3.3.7.	LOQUE EUROPEA	35
3.3.8.	PARÁSITOS EXÓTICOS: <i>Aethina tumida</i> y <i>Tropilaelaps spp</i>	35
3.4.	INVESTIGACIÓN DE SOSPECHAS DE INTOXICACIÓN	36
4.	CONCLUSIONES	38
ANEXO I:	Pesticidas analizados en las muestras de panal de polen y abejas.	40
ANEXO II:	Listado de pesticidas: Toxicidad aguda (Dosis Letal 50) por contacto para las abejas. Autorización europea y uso habitual de cada pesticida. Concentraciones en panal asociadas a toxicidad suponiendo un contacto diario de 1 gr de panal de polen por abeja.	43
ANEXO III:	Técnicas de laboratorio utilizadas para el análisis de muestras recogidas.	47
ANEXO IV:	Referencias bibliográficas	48

# 1 INTRODUCCIÓN

---

Este informe tiene como objetivo presentar los principales resultados obtenidos en España a lo largo del periodo 2016-2017 así como la evolución de cada variable estudiada a lo largo del tiempo.

Durante los **cinco años de investigación** evaluados (otoño 2012- verano 2017) se han visitado 1.981 apiarios e investigado un total 21.744 colonias seleccionadas al azar y 98 colonias fuera del muestreo al azar. El número de muestras recogidas ha sido 25.778, sobre las que se han realizado 27.133 análisis laboratoriales de los cuales 576 fueron análisis de residuos de pesticidas que incluían la determinación de un total de 306 residuos en cada muestra.

## 2. DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA PILOTO SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2016-17

---

### 2.1- OBJETIVOS DEL PROGRAMA.

Los principales objetivos que se han establecido para el Programa son la estimación de las pérdidas de colonias de abejas durante el invierno y la primavera, así como las mortalidades anuales, la implementación de estudios de prevalencia de las enfermedades apícolas prioritarias, así como la investigación de las sospechas clínicas de intoxicación.

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

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

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

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

El Programa de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas 2016-2017 se basa en una vigilancia activa apoyada en las visitas llevadas a cabo en tres periodos específicos (**otoño, primavera y verano**) por inspectores específicamente formados sobre un número de colmenares representativos seleccionados al azar entre las comunidades autónomas participantes.

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



### 3. RESULTADOS DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE LAS PÉRDIDAS DE COLONIAS DE ABEJAS 2016-17

---

#### 3.1. APIARIOS Y COLONIAS INVESTIGADAS

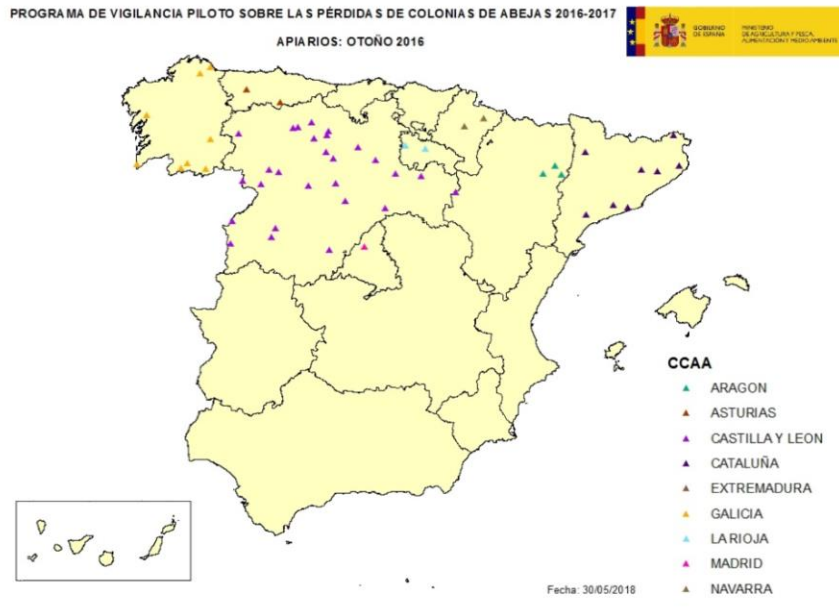
Durante la campaña 2016-2017 han participado 9 comunidades autónomas, excluyéndose del muestreo inicialmente previsto Castilla La Mancha, Murcia, Andalucía, Valencia, País Vasco y las Islas Canarias. Otras comunidades autónomas, dado su reducido tamaño censal, no han participado, como ha sido el caso de Baleares y Cantabria, permitiéndose su participación en caso de solicitud, como ha ocurrido para el caso de la Comunidad de Madrid. Extremadura no realizó la primera visita de otoño. Esta situación se ha tenido en cuenta en relación a los cálculos de la mortalidad invernal y anual así como en las prevalencias de enfermedades.

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

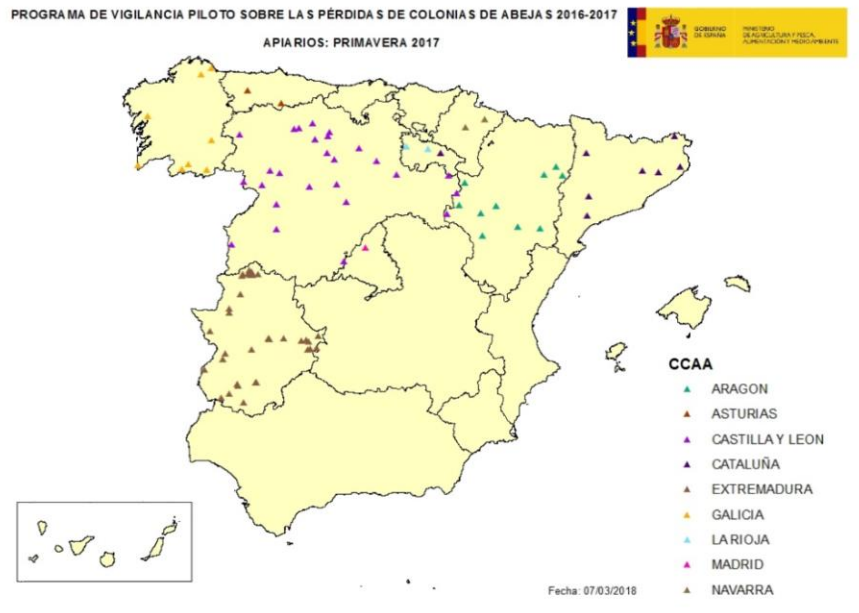
APIARIOS Y COLONIAS INSPECCIONADAS	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL 2015-16	TOTAL 2016-17	TOTAL
CCAA PARTICIPANTES	14	13	10	11	9	
Nº de apiarios investigados	203	190	111	113	96	713
Nº de visitas realizadas	586	565	317	271	242	1.739
Nº de colonias inspeccionadas al azar	6.561	6.219	3.360	3.029	2.575	19.169
Nº de extracolonia investigadas (en base a las observaciones con síntomas)	48	30	9	4	7	98

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

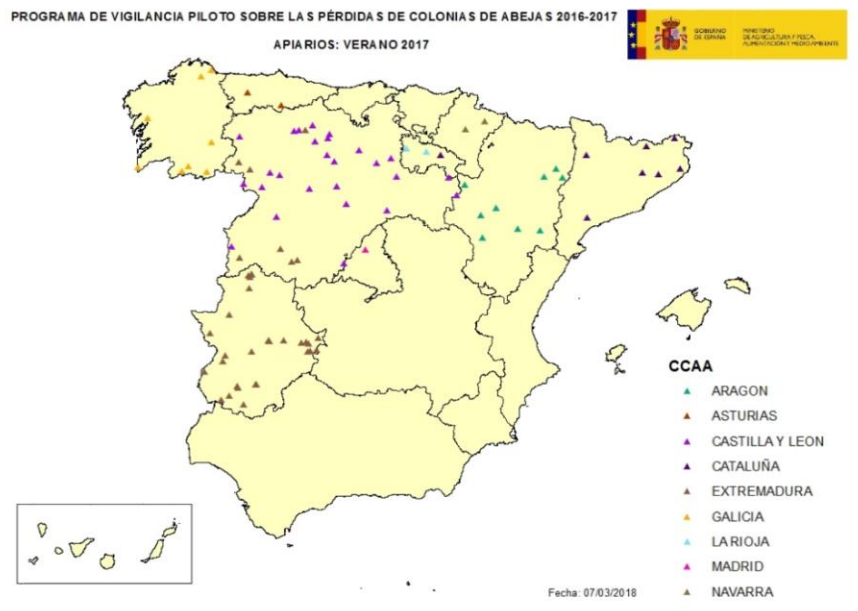
En las siguientes figuras se recogen los apiarios que participaron en el programa durante las tres visitas efectuadas:



**Figura 1:** Apiarios investigados durante la visita de otoño de 2016



**Figura 2:** Apiarios investigados durante la visita de primavera de 2017



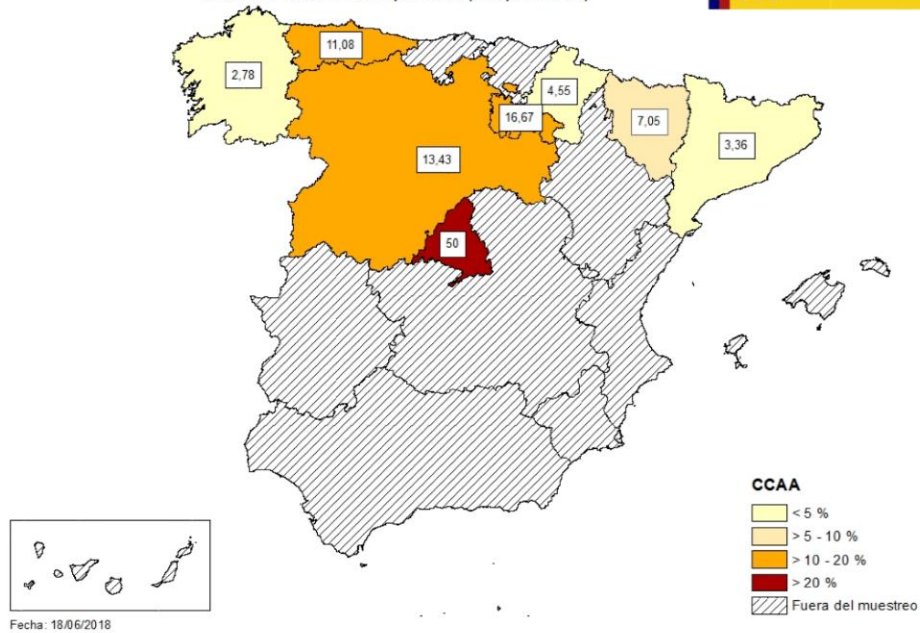
**Figura 3:** Apiarios investigados durante la visita de verano de 2017

### 3.2. ÍNDICES DE MORTALIDAD.

#### **Mortalidad invernal durante la campaña 2016-17**

La mortalidad invernal fue del 9,8%, con valores que variaron desde el 50,0 %, máximo registrado en Madrid, al 2,8% registrado en Galicia. Esta mortalidad fue similar a las registradas durante las campañas 2012-13 (10,2%), 2014-15 (11,2%) y 2015-16 (10,8%), y significativamente superior a la registrada durante el periodo 2013-14 (5,5%). 4 de 8 CCAA evaluadas sufrieron mortalidades por encima del 10%, representando el 58,2% del censo de colmenas investigadas. Sólo Cataluña, Galicia y Navarra presentaron mortalidades inferiores al 5%, representando al 35,0% de las colonias investigadas. En el caso de Aragón, han podido ser evaluados únicamente los apiarios de la provincia de Huesca.

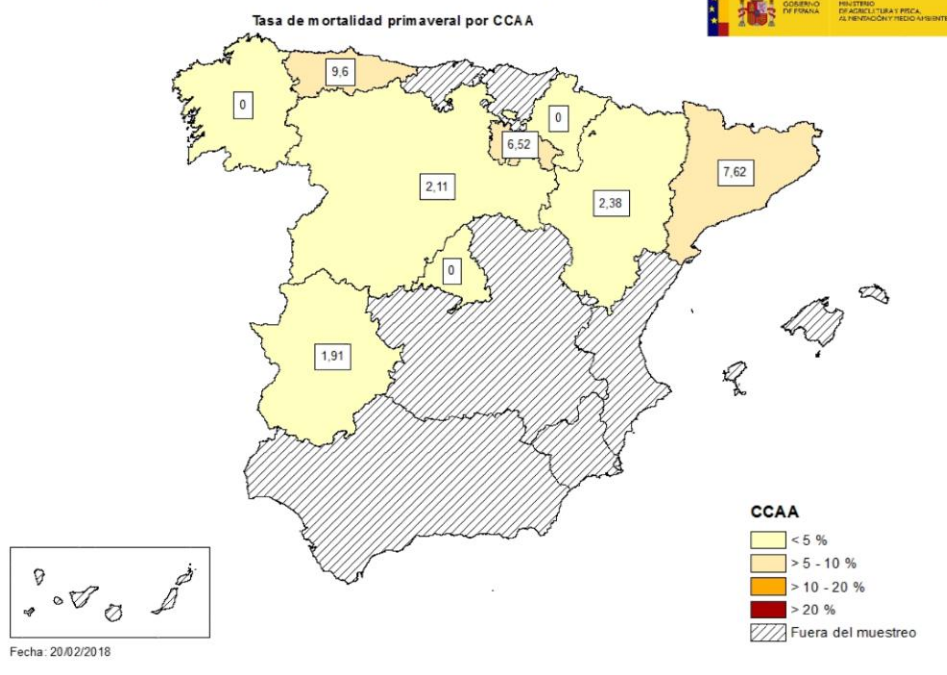
## Tasa de mortalidad invernal por CCAA (excepto Huesca)



**Figura 4:** Mortalidad invernal por CCAA (2016-17)

### Mortalidad primaveral durante la campaña 2016-17

En España la mortalidad primaveral fue del 2,3 %, con valores que variaron desde el 9,60 %, máximo registrado en Asturias, al 0% registrado en Galicia, Madrid y Navarra. Esta mortalidad es la más baja registrada hasta el momento. Ninguna de las 9 CCAA evaluadas sufrieron mortalidades por encima del 10%. Aragón, Castilla y León, Extremadura, Galicia, Madrid y Navarra presentaron una mortalidad inferior al 5%, representando al 87,2% de las colonias investigadas.



**Figura 5:** Mortalidad primaveral por CCAA (2016-17)

### Mortalidad anual durante la campaña 2016-2017

La mortalidad anual para la campaña 2016-2017 fue del 12,3% siendo inferior a las registradas en las campañas anteriores, excepto la campaña 2013-14 (9,4%), aunque hay que tener en cuenta que no participaron las mismas CCAA. Las mayores tasas de mortalidad, superiores al 20%, se dieron en 2 de 8 CCAA analizadas, representando el 5,8% de las colonias analizadas. En el caso de Aragón, han podido ser evaluados únicamente los apiarios de la provincia de Huesca.

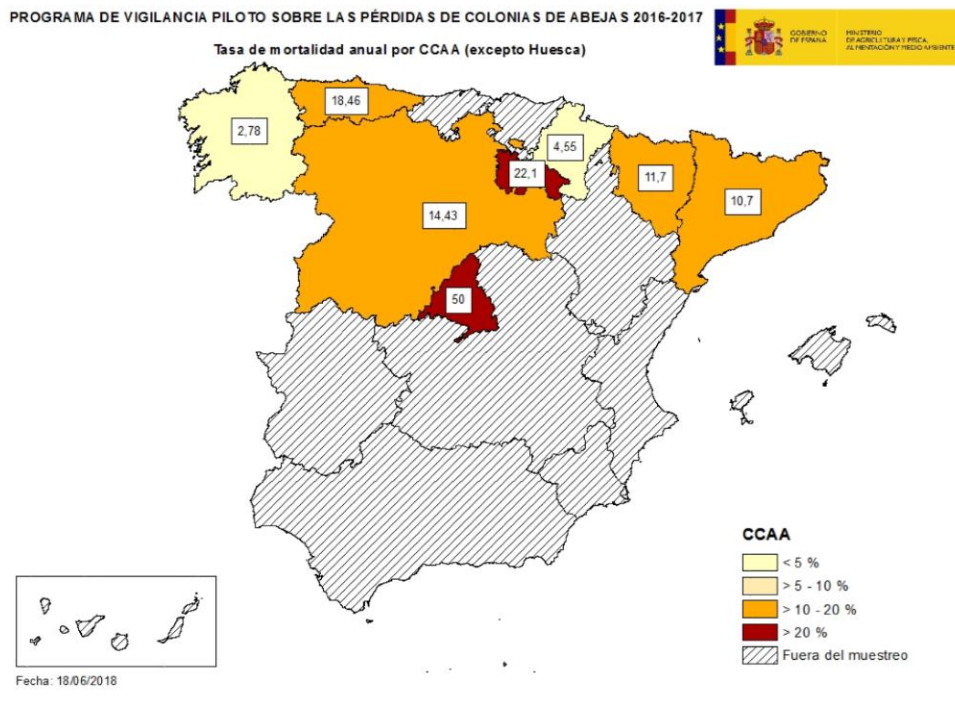


Figura 6: Mortalidad anual por CCAA (2016-17)

### 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 2016-2017 se han analizado 960 muestras 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
Nº de muestras sistemáticas (recuento de varroa)	2325	2147	1188	1204	960	<b>7.824</b>
Nº de análisis recuento de varroa	2320	2143	1185	1203	960	<b>7.811</b>

Tabla V1: Nº de análisis realizados durante el periodo 2012-2017

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



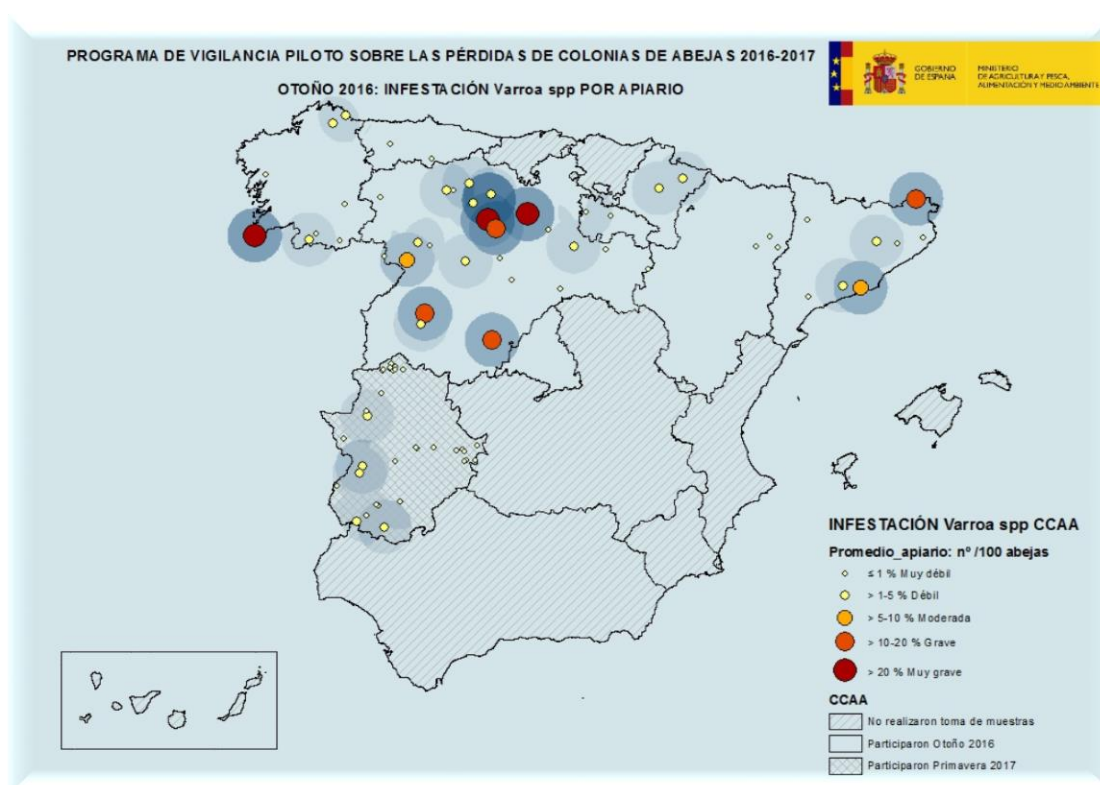
Para la valoración de las tasas de infestación se han considerado cinco niveles de gravedad en función de la infestación, tanto para apiarios como para colonias. No obstante, hay que tener en cuenta que no hay estándares europeos ni internacionales que hayan normalizado este parámetro para la época estudiada,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

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

### Distribución de las tasas de infestación promedio en apiarios por CCAA (otoño de 2016).

En otoño de 2016, *Varroa destructor* se detectó en un 86% de los apiarios y el 53,5% de las colonias investigadas.

Solamente un 50,0% 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 Aragón, Asturias y La Rioja.



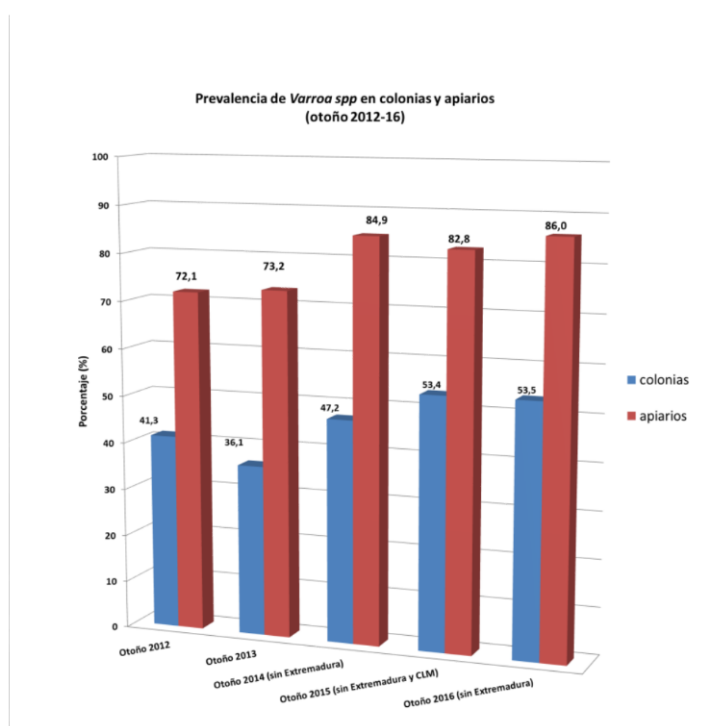
**Figura V1:** Distribución geográfica de las tasas de parasitación promedio por apiario (otoño de 2016)

Un 20,0% de los apiarios evaluados en otoño presentaron niveles de parasitación moderados a muy graves, porcentaje inferior al registrado para la campaña anterior (28,1%).

En primavera en Extremadura más de un 75% presentaron niveles leves o nulos de infestación.

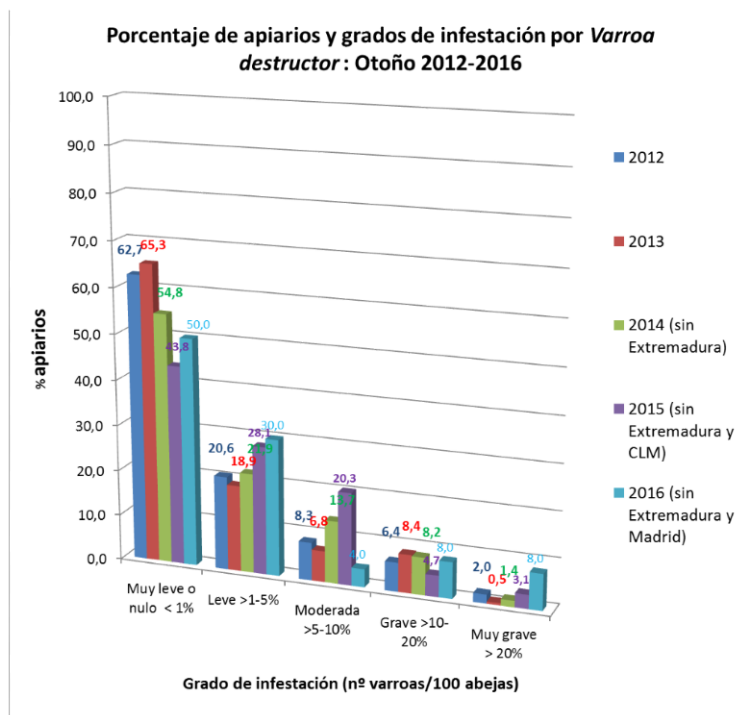
### Evolución de la tasa de parasitación por *Varroa destructor* entre campañas por apiarios y colonias.

La evolución en relación a la prevalencia de *Varroa destructor* y distribución de las tasas de infestación a lo largo de las cinco campañas, que se recoge en las figuras V2, V3 y V4, muestra un aumento de la prevalencia en apiarios y colonias de *Varroa destructor* en otoño a lo largo de las cinco campañas, así como del porcentaje de apiarios y colonias parasitados de forma moderada a muy grave (ver figuras V4 y V6), especialmente significativo durante el otoño de 2015. También resulta significativo el descenso del porcentaje de apiarios que en otoño presentaron parasitaciones muy leves o nulas en estas tres últimas campañas.

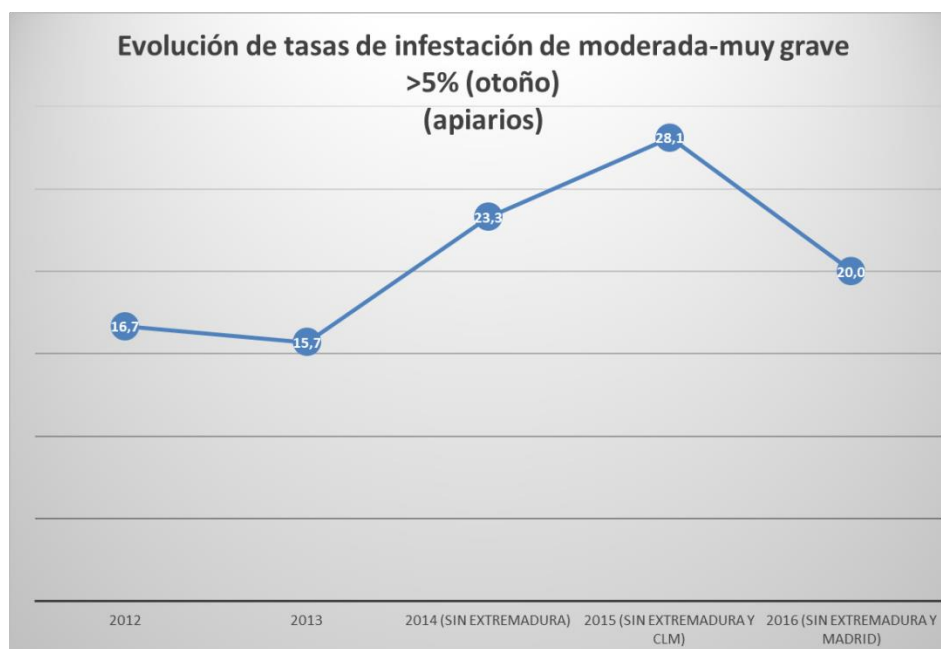


**Figura V2:** Evolución de la prevalencia de *Varroa destructor* en colonias y apiarios (otoño 2012-16).

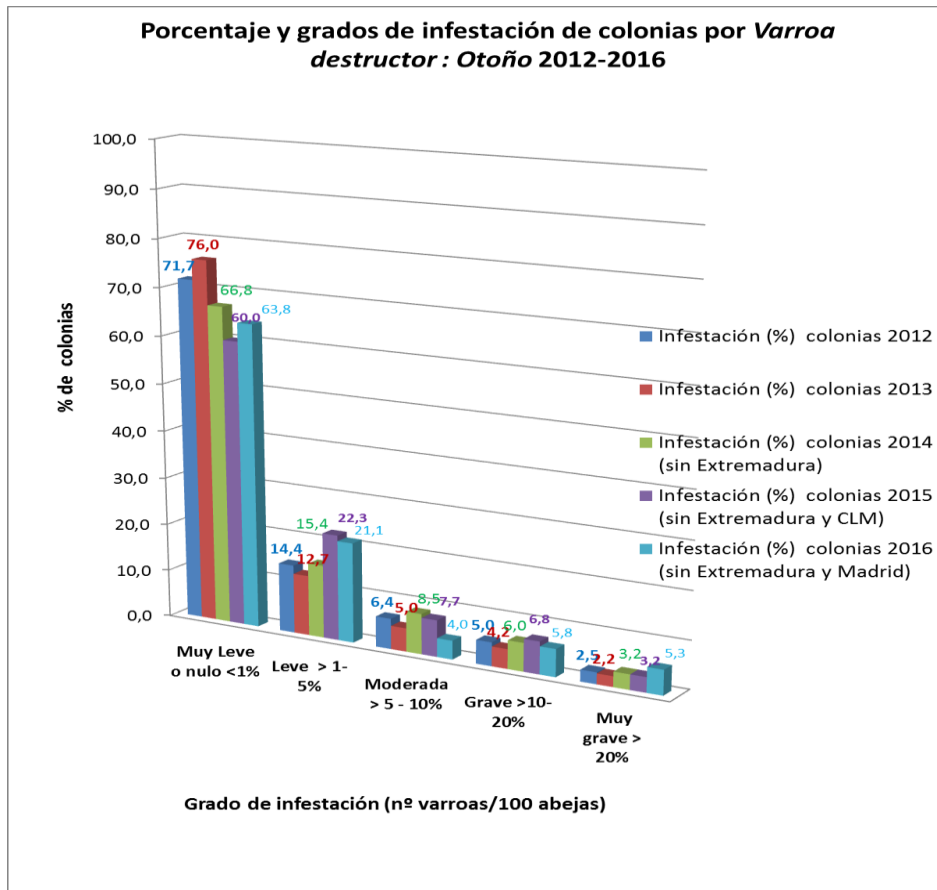




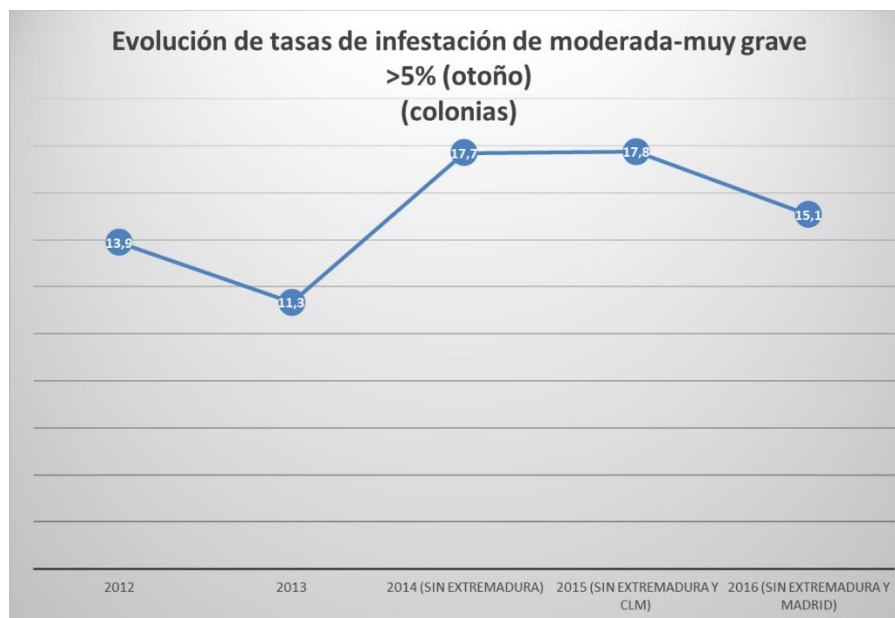
**Figura V3:** Evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño 2012-2016)



**Figura V4:** Evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en apiarios (otoño 2012-2016).



**Figura V5:** Evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por colonia (otoño 2012-2016).



**Figura V6:** Evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en colonias (otoño 2012-16).

### 3.3.1.2. VARROOSIS.

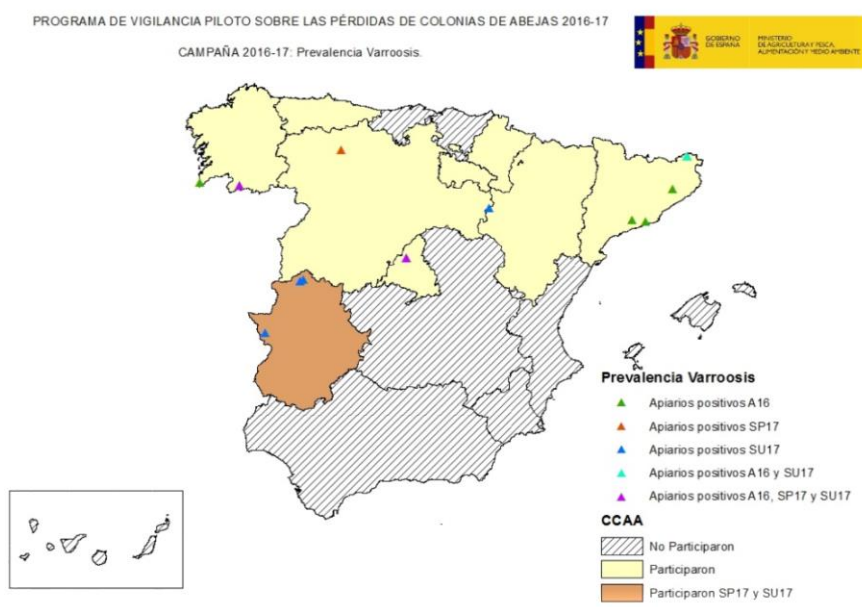
En relación a la manifestación clínica de varroosis, ésta se detectó en las tres visitas (otoño, primavera y verano). En la tabla siguiente se recogen el número de colonias con varroosis que se

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

VARROOSIS en muestras con síntomas (colonias seleccionadas al azar con síntomas)	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL 2015-16	TOTAL 2016-17	TOTAL
Nº de colonias sospechosas de varroosis (detección en campo)	251	235	48	104	61	699
Nº de análisis realizados en muestras con síntomas (varroosis)	50	31	36	33	5	155

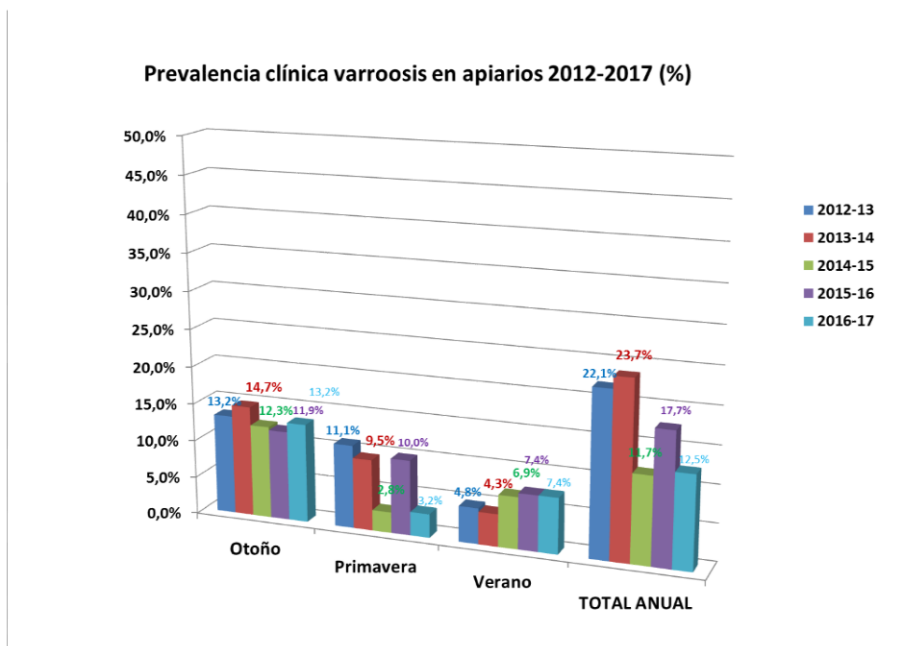
**Tabla V2:** Evolución del nº de colonias positivas en campo a varroosis y de análisis laboratoriales realizados durante las campañas 2012-17.

En el siguiente mapa (figura V7) 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 V7).



**Figura V7:** Prevalencia clínica de la varroosis en apiarios durante la campaña 2016-2017.

En la figura V8, se muestra la evolución de la prevalencia clínica a lo largo de las cinco campañas evaluadas, con variaciones anuales entre el 23,7% y el 11,7%, donde la menor detección clínica se produjo en la campaña 2014-15. La mayor prevalencia clínica suele detectarse en otoño, siendo un 13,1% los apiarios afectados, registrándose prevalencias inferiores en primavera y en verano.



**Figura V8:** evolución de la prevalencia clínica (2012-2017).

Por otro lado, durante las campañas 2012-15 no se ha detectado una mortalidad invernal/primaveral significativamente superior en aquellos apiarios en los que se ha detectado varroosis clínica ( $p > 0,05$ ). Estos resultados parecen sugerir que para valorar correctamente esta patología es necesario realizar una cuantificación de las tasas de infestación promedio por apiario, las cuales se ha demostrado, para las campañas 2012-15, que presentan una correlación significativa con la mortalidad invernal.

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

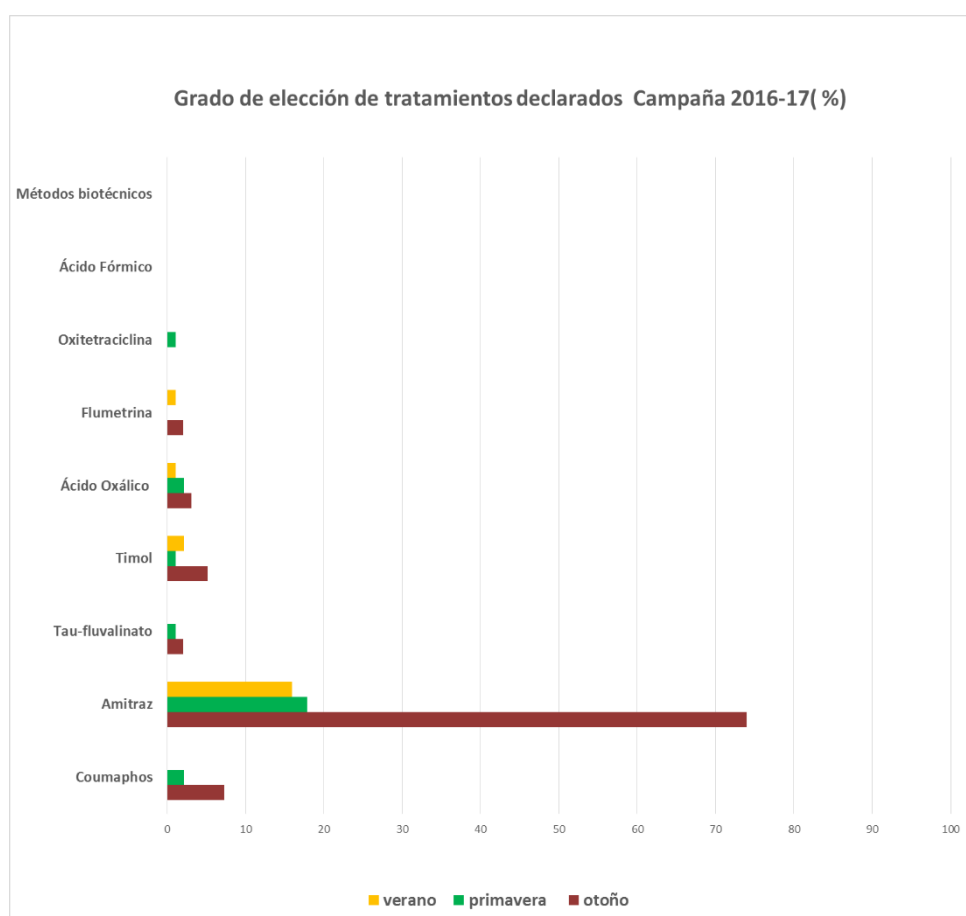
Las CCAA son las responsables de la ejecución y control de la aplicación del Real Decreto 608/2006 de 19 de mayo, por el que se establece y regula un Programa nacional de lucha y control de las enfermedades de las abejas de la miel, en el que se recogen actuaciones específicas para la lucha contra la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

A lo largo de las cinco campañas analizadas en otoño, un 90,9% de los apiarios aplicaron algún tratamiento para el control de *Varroa destructor*. En el otoño de 2016, a pesar de que un 87,5% lo hicieron antes de la visita otoñal, de éstos un 4,8% presentó una tasa de infestación moderada

a muy grave, indicando esto que la aplicación de los tratamientos no ha sido lo suficientemente efectiva para su control.

Cabe resaltar que en tan sólo un 38,5% de los apiarios investigados se aplicaron correctamente los tratamientos durante la campaña 2016, parámetro valorado en función de la dosis empleada y el tiempo de permanencia del tratamiento en las colonias, observándose una tendencia similar a las campañas anteriores. Esta situación puede contribuir a la disminución de la eficacia en el control y favorecer la aparición de resistencias.

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



**Figura V9:** % de elección de tratamientos declarados durante la Campaña 2015-16 (por principios activos)

### 3.3.2. INFESTACIÓN POR *Nosema spp* y NOSEMOSIS

#### 3.3.2.1. INFESTACIÓN POR *Nosema spp*

Se ha llevado a cabo el estudio de las tasas de infestación por CCAA, tanto por colonia analizada como por apiario. Para cada apiario se ha calculado la tasa de infestación promedio por *Nosema spp* sobre el conjunto total de colonias seleccionadas al azar. Las tasas de infestación se han valorado como número de esporos por abeja. Se han analizado en total 517 muestras procedentes de 1/3 al menos de las colonias seleccionadas al azar (tabla N1).

RECuento DE ESPOROS DE <i>Nosema spp</i>	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL 2015-16	TOTAL 2016-17	TOTAL
Nº de muestras sistemáticas <i>Nosema spp</i>	2289	707	346	772	519	<b>4.663</b>
Nº de análisis recuento de esporas <i>Nosema spp</i>	2286	704	344	772	517	<b>4.623</b>
Nº de PCR (tipificación <i>Nosema spp</i> )	668	205	148	292	385	<b>1.698</b>

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

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

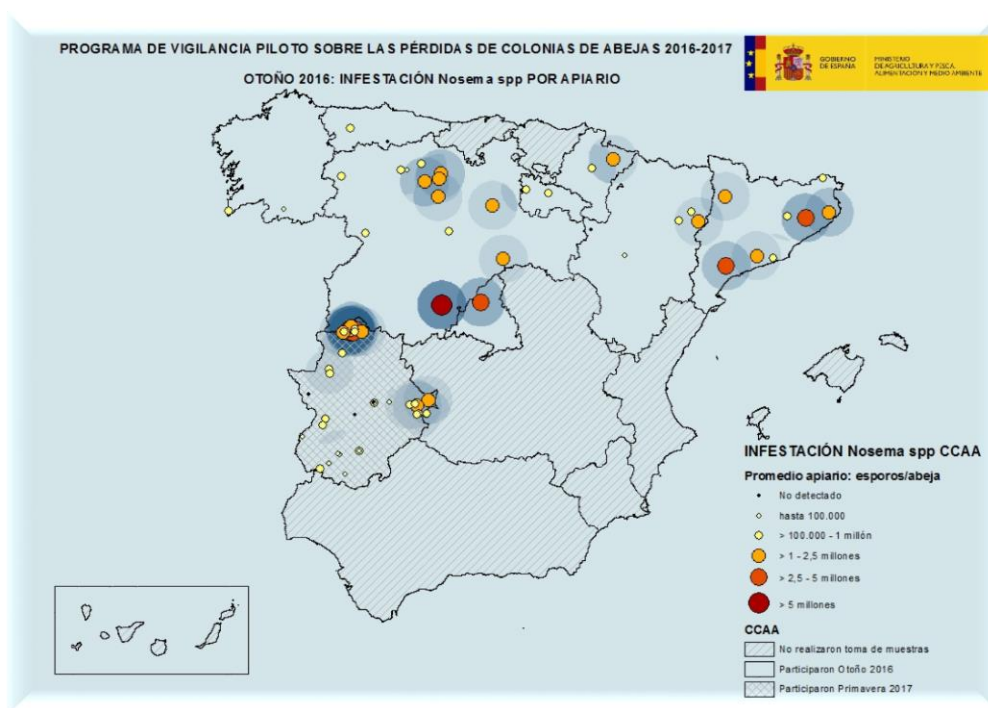
- No detectado: la tasa de infestación tiene valor cero.
- Muy débil: la tasa de infestación es inferior a 100.000 esporos de *Nosema spp*. por abeja.
- Débil: la tasa de infestación varía entre 100.000 y 1.000.000 esporos de *Nosema spp*. por abeja.
- Moderada: la tasa de infestación varía entre 1.000.000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

En otoño de 2016 *Nosema spp.* se detectó en un 91,7 % de los apiarios (ver figura N2).

Un **16,7 % de los apiarios** presentó un **nivel nulo o muy leve de infestación** ( $\leq 100.000$ ) (ver figura N1 y N3). Como puede apreciarse en la figura N1 las menores tasas de infestación se hallaron en Asturias y Galicia, con más del 50% de los apiarios con promedios de infestación nulos o muy leves ( $\leq 100.000$ ).

En otoño, un **41,7%** del total de los apiarios presentó un promedio de **tasa de infestación moderada a muy grave**, elevándose considerablemente este porcentaje en relación a la campaña anterior, considerándose que a partir de este nivel *Nosema spp.* puede originar daños en las colonias de abejas (ver figura N1, N3 y Tabla 4).

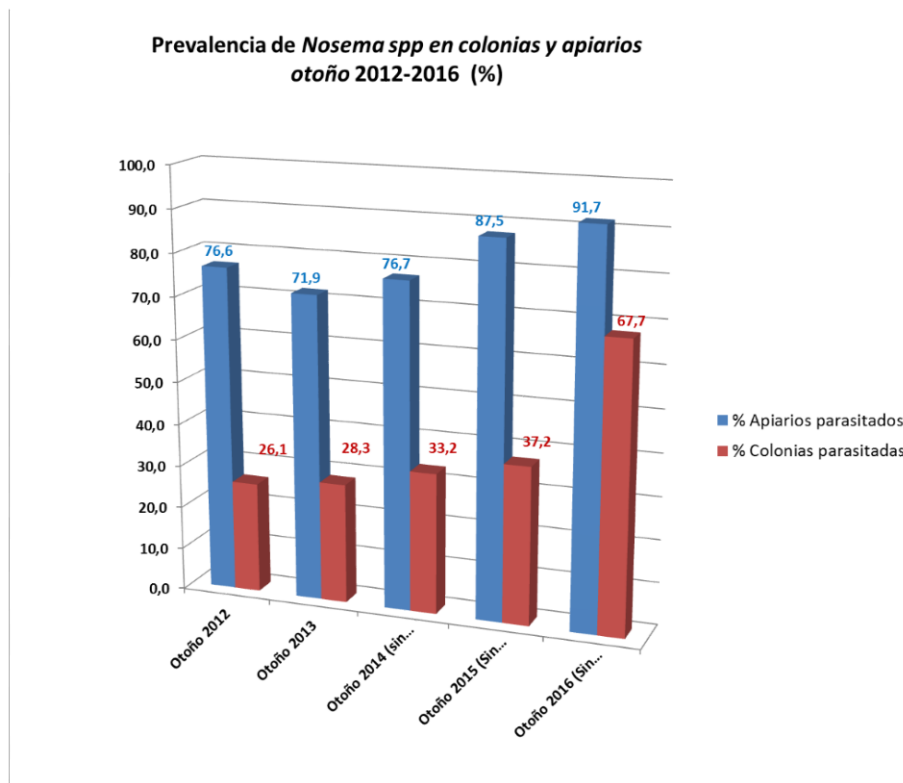
En Extremadura, que hizo este muestreo en primavera, se detectaron un 25,0% de parasitaciones en apiarios moderadas a muy graves, pudiéndose observar su distribución espacial en España en el siguiente mapa (figura N1).



**Figura N1:** distribución geográfica de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño de 2016).

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

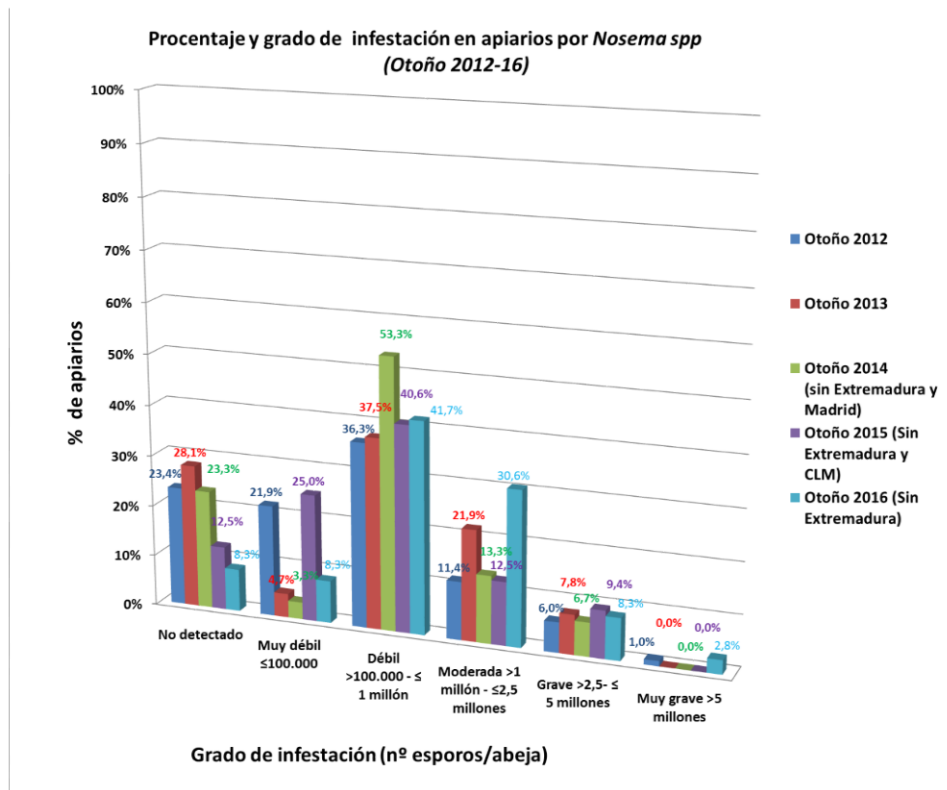
En otoño, la evolución en relación a la prevalencia de *Nosema spp.*, muestra un aumento continuado en apiarios y colonias de abejas desde la campaña 2012-13 hasta la actualidad, del 76,6% al 91,7% en apiarios y del 26,1% al 67,7% en todas las colonias seleccionadas al azar (ver figura N2), siendo este incremento muy significativo para este último otoño, donde la prevalencia en colonias fue un 30% superior en relación al otoño 2015



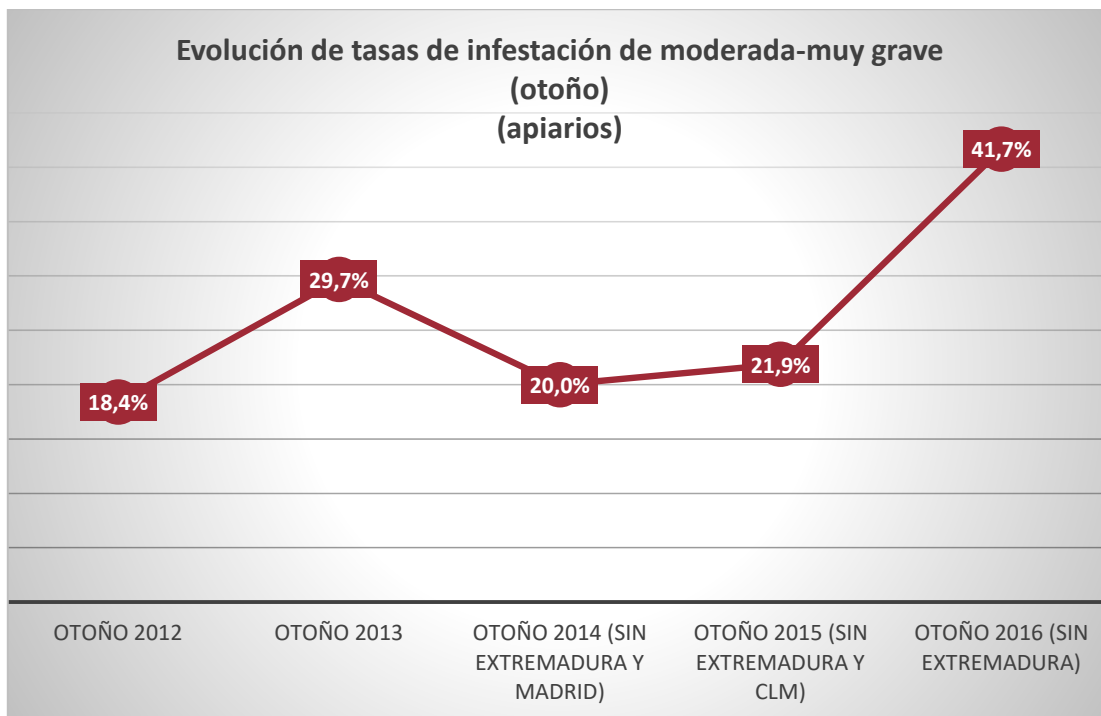
**Figura N2:** evolución de la prevalencia de *Nosema spp* en colonias y apiarios (otoño 2012-16).

**En otoño, las tasas de infestación moderadas a muy graves se han incrementado a lo largo de las cinco campañas tanto en apiarios (18,4 al 41,7%) como en las colonias (12,8 al 29,1%) (ver figuras N3, N4, N5 y N6) siendo este incremento muy significativo para esta último otoño al que han contribuido de forma significativa el aumento de las tasas moderadas en Castilla y León y Cataluña**





**Figura N3:** Evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por apiario (otoño 2012-2016).



**Figura N4:** Evolución de las tasas de infestación moderadas a graves por apiario (otoño 2012-2016)

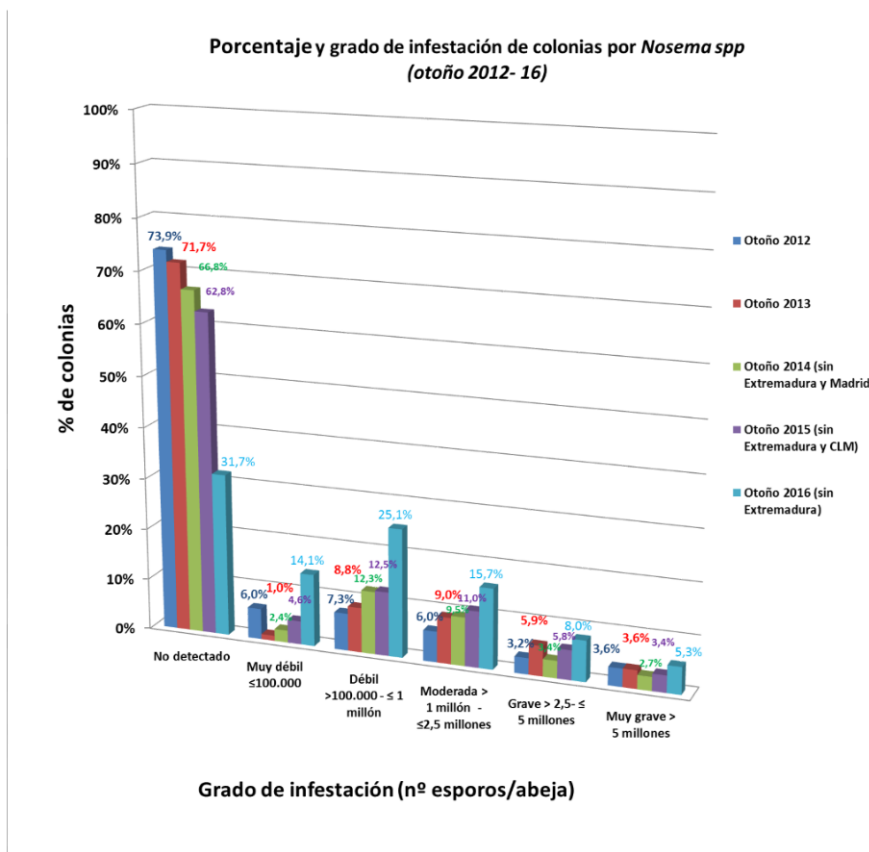


Figura N5: Evolución de la distribución de las tasas de infestación promedio por colonia (otoño 2012- 2016).

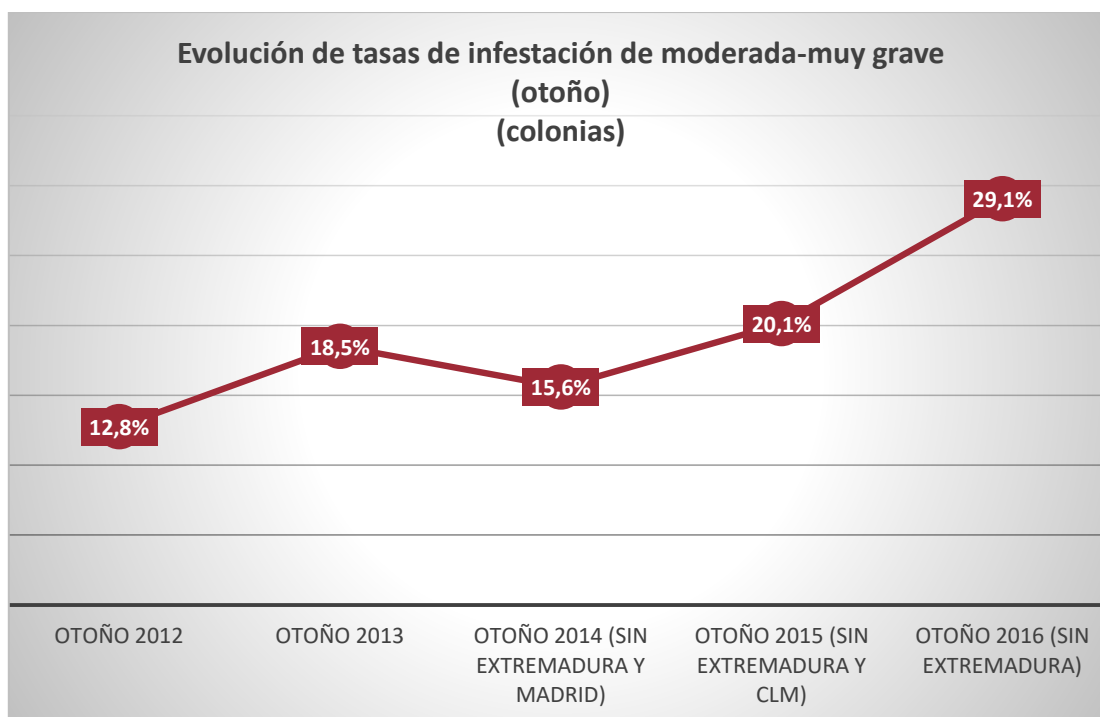


Figura N6: Evolución de las tasas de infestación moderadas a graves en colonias (otoño 2012- 2016).

Destacar que en **primavera de 2017**, Extremadura ha experimentado un descenso importante en las tasas de parasitación por *Nosema spp* tanto en apiarios como en colonias respecto de las primaveras de 2015 y 2016 (Figura N7).

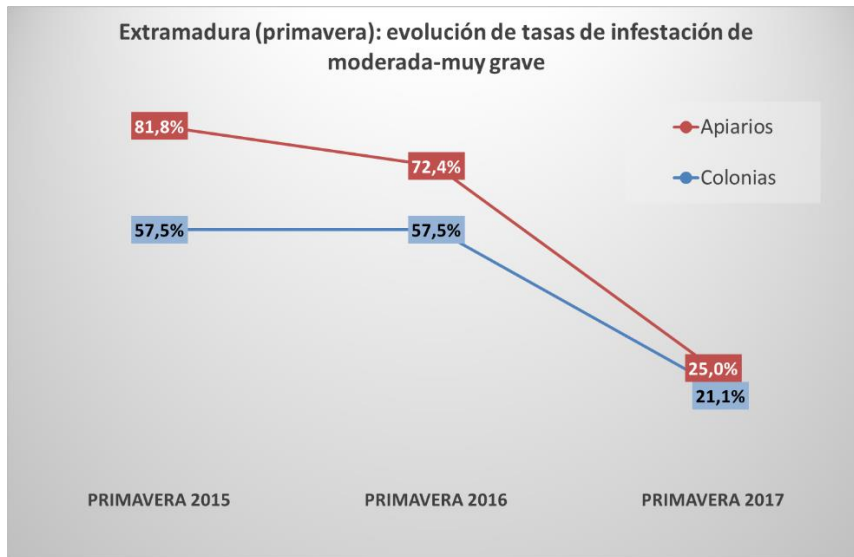


Figura N7: Evolución en Extremadura de las tasas de infestación moderadas a graves en colonias (primavera 2015- 2017).

### Tipificación molecular

Tal como se muestra a continuación en la figura N8, para los cinco períodos estudiados (otoño 2012-2016), las colonias positivas a *Nosema spp* lo fueron a *N. ceranae* en un 91,2% de los casos, llegando a alcanzar el 95,3 % en otoño de 2014. Tan sólo un 5,6% de las infestaciones se debieron a *Nosema apis* y un 3,2% fueron infestaciones mixtas. Las CCAA en las que sólo se detectó *Nosema ceranae* a lo largo de la campaña fueron Aragón, Asturias, Castilla y León, Extremadura, Galicia y Madrid.

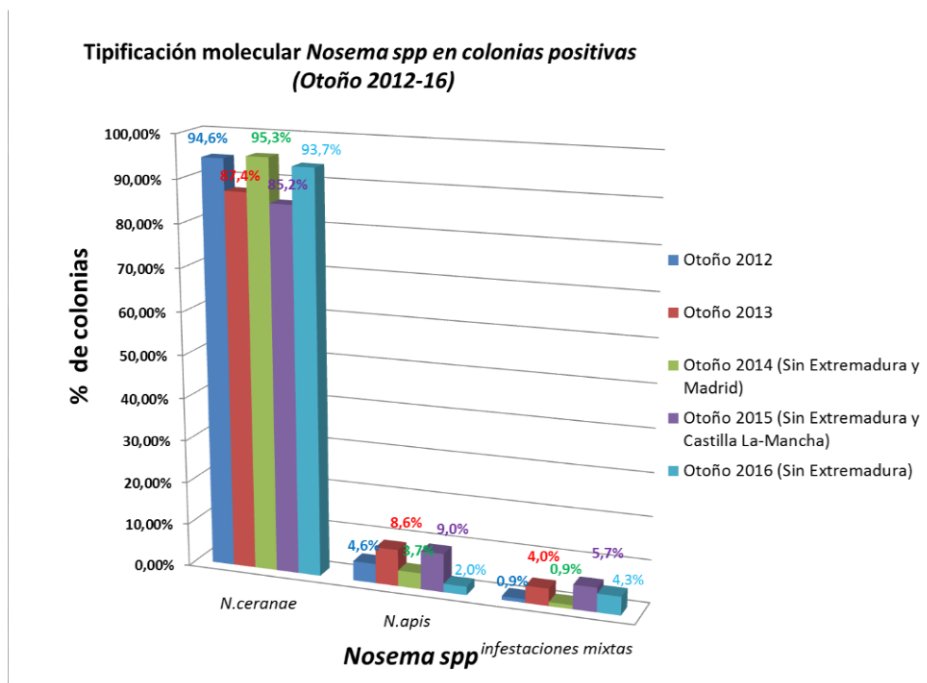


Figura N8: Prevalencias de *N. ceranae* y *N. apis* en colonias positivas (otoño 2012- 2016).

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).

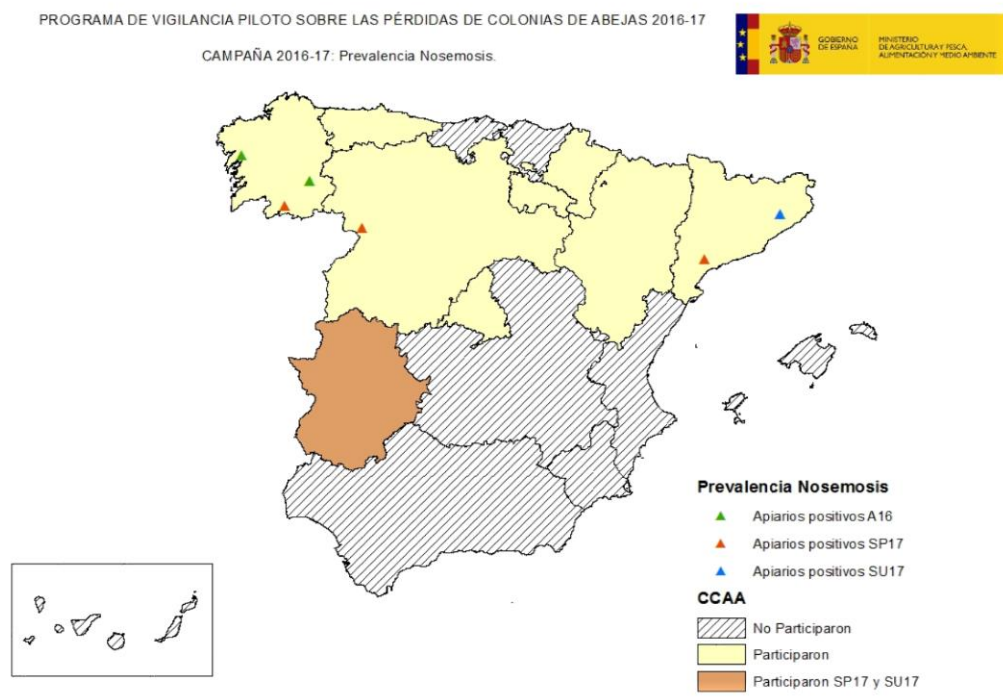
A pesar de que el origen geográfico de *N. ceranae* está aún por determinar, la mayoría de los miembros de la comunidad científica aceptan como válida la hipótesis de un origen “oriental” de este microsporidio y su consideración como patógeno exótico en muchos países de occidente, otros grupos de investigación 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 siete sospechas de cuyo análisis se deriva una prevalencia muy baja en las tres visitas (otoño, primavera y verano) (ver tabla N4) alcanzándose un 6,3% anual (ver figura N6), cifra similar a la observada en la campaña 2014-15. La mayoría de los casos clínicos confirmados en esta campaña fueron debidos a *Nosema ceranae*.

NOSEMOSIS	TOTAL 2012-13	TOTAL 2013-14	TOTAL 2014-15	TOTAL 2015-16	TOTAL 2016-17	TOTAL
Nº de muestras con síntomas (nosemosis)	51	54	33	13	33	184
Nº de recuento de esporas (nosemosis)	49	54	33	13	33	182
Nº de PCR (tipificación <i>Nosema spp</i> )	52	31	22	8	27	140

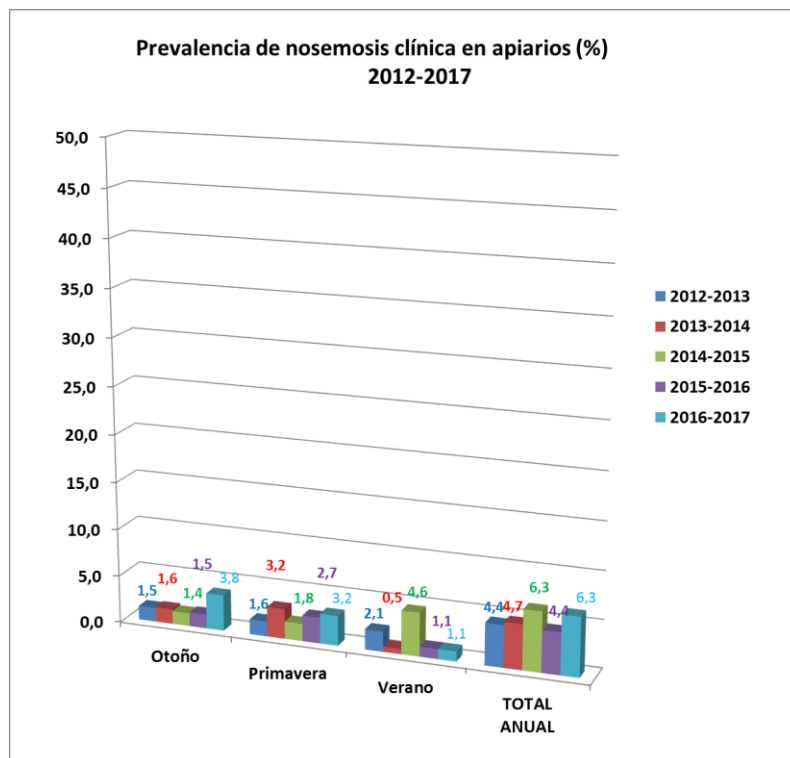
**Tabla N2:** Número de muestras con síntomas y análisis realizados durante las Campañas (2012-17)



**Figura N9:** Prevalencia clínica de nosemosis clínica en apiarios durante la campaña 2016-2017

En la figura N10, se muestra la evolución de la prevalencia clínica a lo largo de las cinco 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%.

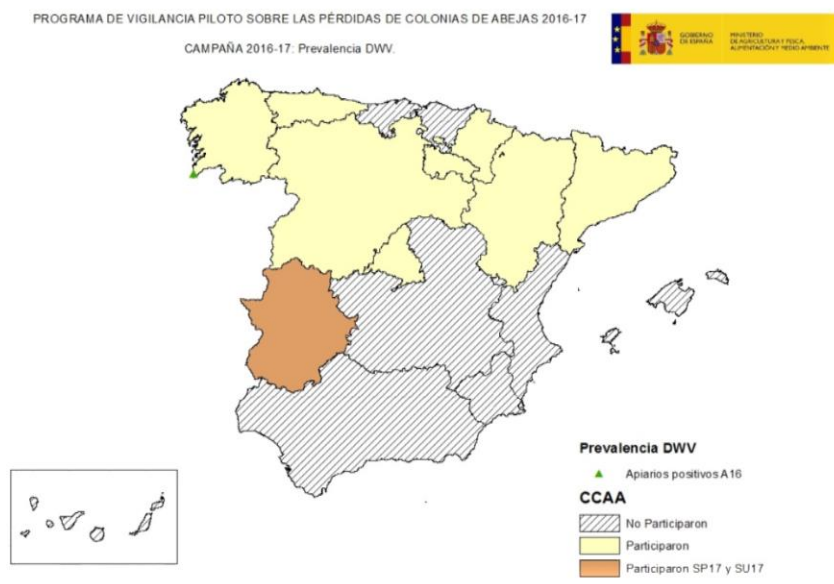
Se observa que la prevalencia clínica, al igual que para el caso de la varroosis, no está en correspondencia con la prevalencia sistemática.



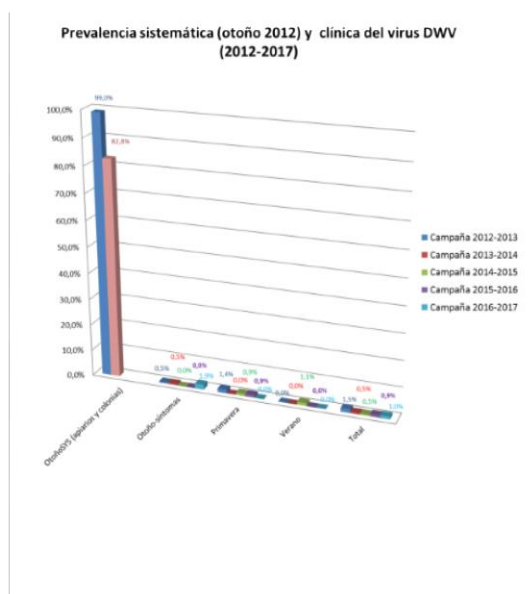
**Figura N10: Evolución de las tasas de prevalencia de nosemosis clínica (2012-2017).**

### 3.3.3. VIRUS DE LAS ALAS DEFORMADAS

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



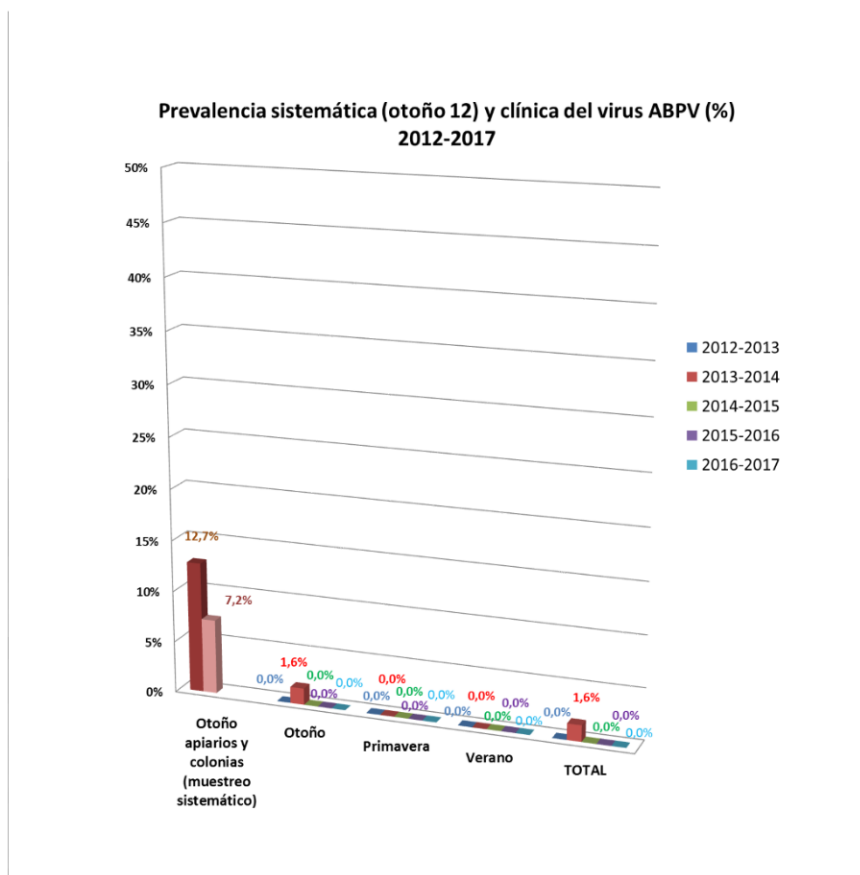
**Figura DWV1:** distribución geográfica de la prevalencia clínica del virus DWV durante la campaña 2016-2017



**Figura DWV2:** prevalencia sistemática (otoño 2012) y clínica del virus DWV en apiarios a lo largo de las campañas (2012-2017).

### 3.3.4. VIRUS DE LA PARÁLISIS AGUDA

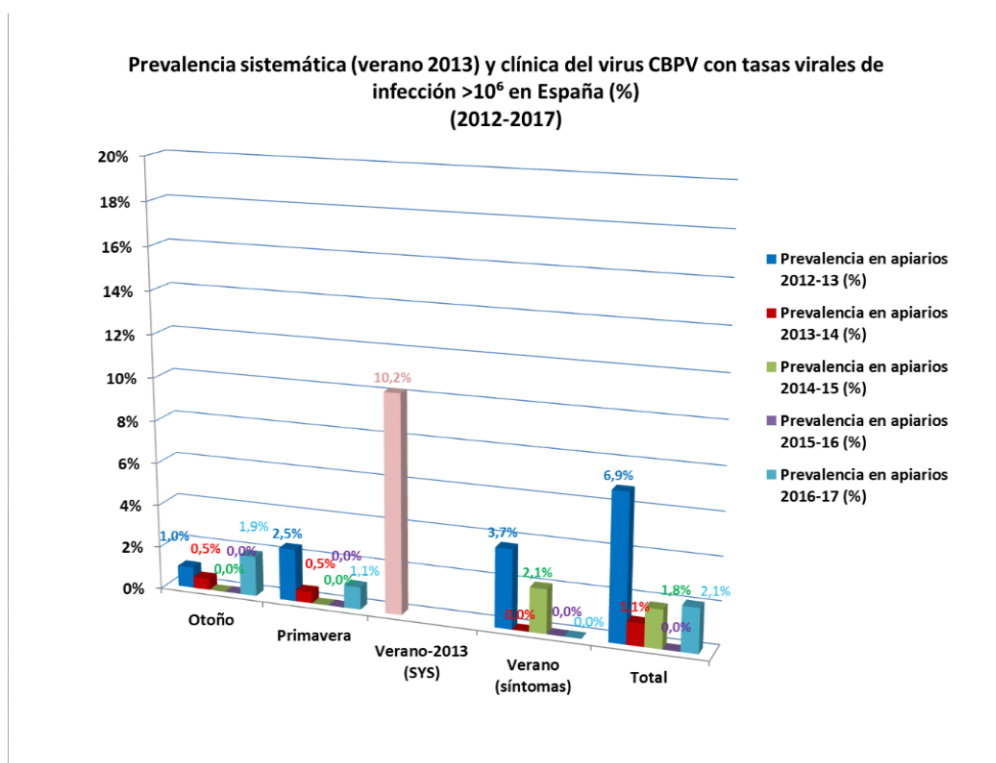
Al igual que sucedió en el periodo anterior, la prevalencia clínica del ABPV ha sido nula durante la Campaña 2016-2017 como puede observarse en la figura ABPV1.



**Figura ABPV1:** Prevalencia sistemática (otoño 2012) y evolución clínica del virus ABPV en apiarios a lo largo de las campañas (2012-2017).

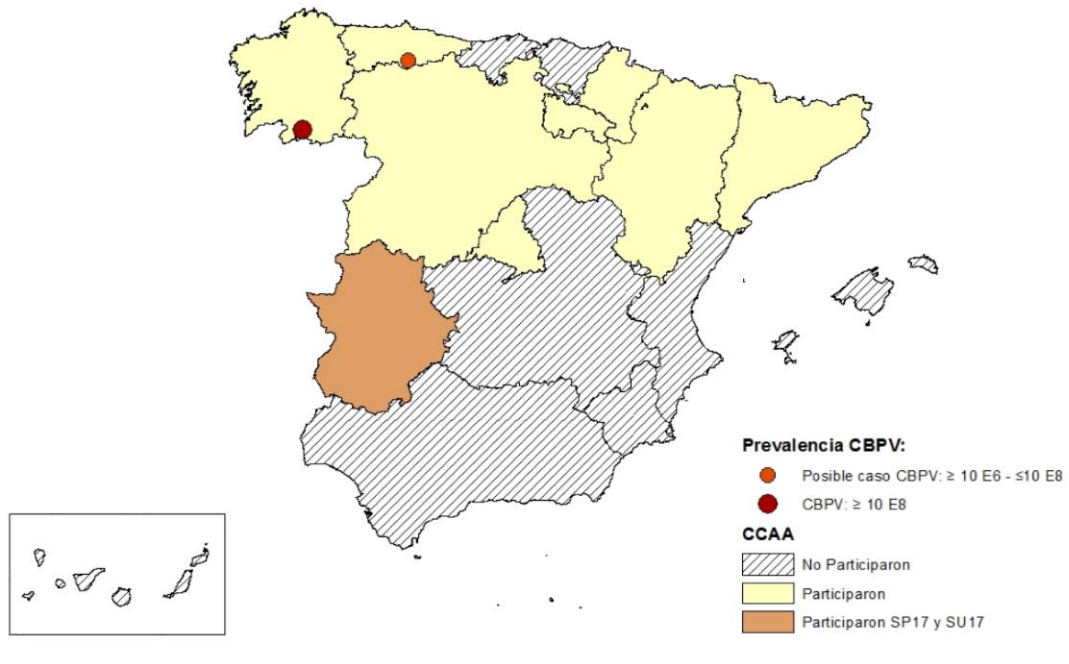
### 3.3.5. VIRUS DE LA PARÁLISIS CRÓNICA

A lo largo de la campaña 2016-2017 se han detectado dos casos clínicos de parálisis crónica, tal como se muestra en la figura CBPV2. Teniendo en cuenta que se considera como **caso clínico positivo al virus CBPV** la detección de un **número de partículas virales por abeja superiores a  $10^6$** , la evolución clínica de la enfermedad puede observarse en el siguiente gráfico.



**Figura CBPV1:** evolución de la prevalencia clínica de CBPV durante 2012-17 y prevalencia sistemática en verano de 2013 ( $> 10^6$  partículas virales/abeja)

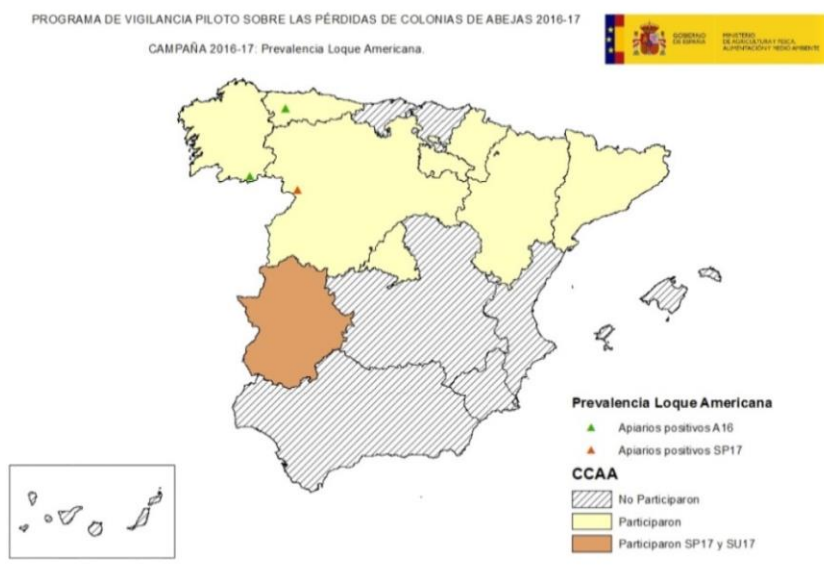




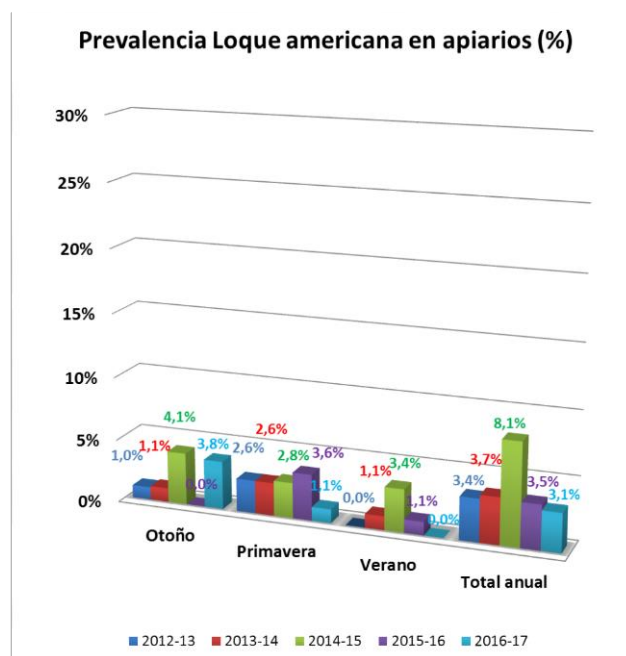
**Figura CBPV2:** distribución geográfica de la prevalencia clínica de CBPV durante la campaña 2016-2017

### 3.3.6. LOQUE AMERICANA

Durante la campaña 2016-2017 sólo se han detectado casos de Loque americana en otoño y primavera. 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 últimas campañas.



**Figura LA1:** Distribución espacial de la prevalencia clínica de la Loque americana durante la campaña 2016-2017



**Figura LA2:** Evolución de la prevalencia clínica de la Loque americana durante 2012-2017.

### 3.3.7. LOQUE EUROPEA

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

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

No se ha detectado ningún caso de parásitos exóticos (*Aethina tumida* y *Tropilaelaps* spp.) durante las 5 campañas. No obstante para el caso de *Aethina tumida* hay que señalar que desde el 19 de septiembre de 2014 en Italia se han detectado 61 focos durante 2014 (60 en Calabria y 1 en Sicilia), 29 focos en 2015 (Calabria), 41 focos en 2016 (Calabria) y más recientemente 11 focos en 2017, por lo que es necesario seguir alerta ante el riesgo de entrada de esta enfermedad <https://sites.anses.fr/en/minisite/abeilles/surveillance-aethina-tumida-italy-2016> .

### 3.4. INVESTIGACIÓN DE SOSPECHAS CLÍNICAS DE INTOXICACIÓN AGUDA

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

**Fuera del programa de vigilancia**, durante la campaña 2016-2017 se investigaron 13 sospechas de intoxicación en Aragón (7), Extremadura (3) Murcia (1), Cataluña (1), Castilla y León (1), confirmándose la sospecha a partir de los resultados toxicológicos en 2 ocasiones (Murcia y Cataluña).

Los pesticidas que presentaron en algún momento un valor T50 calculado para el **panal de polen** inferior a 7 días fueron el Spinosad, el Methiocarb, la Acrinatrina y Coumaphos. Los pesticidas que presentaron en algún momento un valor T50 en **abejas** entre inferior a 7 días fueron: el Spinosad y el Dimetoato. En la explotación donde se detectó Spinosad también se confirmó clínicamente el Virus de la Parálisis crónica. En la explotación en la que se detectó Dimetoato en abejas y Coumafos en polen se encontró una parasitación moderada por *N. ceranae*.

En 1 de las 13 explotaciones se confirmó un caso clínico de *Nosema apis* y *N. ceranae*.

En 1 de las 13 explotaciones se confirmó un caso clínico de Virus de la Parálisis Crónica.

En 1 de las 13 explotaciones se confirmaron un caso clínico de Virus de la Parálisis Crónica y *Nosema ceranae*.

Año	Pesticida T50c < 2 días	Nº apiarios	Pesticida T50c 2-7 días	Nº apiarios
2014 (2)	Diazinón	1	Chlorpyrifos**	1
	Imidacloprid	2		
	Coumaphos**	1		
2015 (6)	Acrinathrina**	2	Imidacloprid	1
	Spinosad*	4	Coumaphos**	1
			Tau-fluvalinato**	1
			Dimetoatho	1
2016 (4)	Spinosad**	2	Acrinathrina**	2
	Acrinathrina**	1	Coumaphos**	1
	Ometoato	1	Cypermethrina*	1
	Methiocarb	1	Clorpyrifos methyl	1
2017 (3)	Spinosad**	1	Metiocarb	1
			Acrinathrina**	1
			Dimetoato	1
			Coumaphos**	1

**Tabla P5:** pesticidas involucrados en las intoxicaciones confirmadas fuera del Programa de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas.

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

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

## 4. CONCLUSIONES

---

El **Programa de vigilancia sobre las pérdidas de colonias de abejas** ha sido el primer programa europeo (EPILOBEE) y nacional que se ha llevado a cabo de forma armonizada en materia de sanidad apícola, lo que ha implicado un gran esfuerzo de coordinación, colaboración y participación de apicultores, inspectores veterinarios y administraciones públicas. A pesar de que el programa europeo finalizó en septiembre de 2014, España decidió darle continuidad de forma voluntaria y con financiación propia durante al menos tres años más, dada la relevancia que tiene el sector apícola en nuestro país, para poder realizar un seguimiento por un periodo más amplio que EPILOBEE con el objetivo de dilucidar y vigilar la evolución y tendencias de la mortalidad y de la prevalencia de las principales enfermedades que afectan a la salud de las abejas. Además, el programa español ha ampliado los objetivos al estudio sistemático en todas las colonias de la carga parasitaria por *Nosema spp* todos los otoños, del virus CBPV durante el verano de 2013 así como la vigilancia de residuos de pesticidas tanto de forma sistemática, durante el otoño de 2012, verano de 2013 y verano de 2016, como sintomática a lo largo de todas las campañas, por considerarlos factores importantes que pueden incidir sobre la salud de las abejas.

Las **tasas de mortalidad** en España registradas durante las campañas 2012-2014 fueron inferiores a las registradas en los países del norte europeo, siendo similares a las registradas en otros países mediterráneos. Salvo para la campaña 2013-14 las **mortalidades invernales** registradas en todas las campañas evaluadas se encontraban entorno a los límites del 10%, considerada normal por EPILOBEE, y mantienen una tendencia estable. No obstante, en las últimas dos campañas no participaron todo el conjunto de comunidades autónomas, por lo que no ha sido posible establecer con exactitud la evolución anual en el conjunto nacional.

Para la comprensión de las causas de mortalidad en las colonias de abejas es necesario hacer un **enfoque holístico**, no pudiéndose establecer una causa única, ya que son numerosos los factores de riesgo que influyen en la mortalidad, como ya se ha podido comprobar estadísticamente para el periodo 2012-15, como las elevadas tasas de infestación de *Varroa destructor* y *Nosema spp*; la detección clínica de la loque americana; la exposición a pesticidas muy tóxicos; la edad, formación, grado de profesionalización del apicultor; manejo reproductivo, etc.

Se confirma la **ausencia de parásitos exóticos en España** (*Aethina tumida* y *Tropilaelaps spp*), siendo necesario estar alerta ante la posible entrada de *Aethina tumida* que sigue presente en el sur de Italia desde septiembre de 2014, así en 2017 se confirmaron 11, todos situados en la región de Calabria.

Se ha puesto de manifiesto que es necesario mejorar el control integral sobre ***Varroa destructor***, a la vista de los incrementos otoñales de los índices de infestación moderados a muy graves. Es necesario por tanto mejorar la aplicación de los tratamientos para optimizar su eficacia y evitar el desarrollo de resistencias mejorando su uso, aplicaciones de dosis y tiempo de duración estipulada, elección apropiada de principios activos, favoreciendo el uso de medicamentos veterinarios que dejen pocos residuos en la cera, introducción de pautas de manejo que ayuden a reducir los niveles de infestación, etc.

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

Durante la campaña 2016-17 no se ha detectado ningún caso de intoxicación por pesticidas en los apiarios incluidos dentro del programa.

Este sistema de vigilancia nos permite hacer un **seguimiento y una evaluación continuada de la situación sanitaria de nuestra cabaña apícola** a la vez que armonizado, fundamental para dilucidar y comparar de forma objetiva todos los resultados de las investigaciones realizadas permitiendo a su vez dar traslado de los resultados a los apicultores participantes. Por otro lado, sirve de **herramienta formativa** para los SSVVOO, laboratorios participantes e inspectores apícolas, y de **comunicación** entre los distintos actores participantes, aspectos claves para comprender y mejorar la situación sanitaria de nuestra cabaña apícola.

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Enfermedad diana	Patógeno	Método de laboratorio	Método de diagnóstico	Fecha Acreditación	Muestra analizada
Varroosis	<i>V. destructor</i>	■ Detección de la presencia del parásito	Recomendaciones de la OIE	19/04/2013	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cría con síntomas (panal 10 x 10)</li> <li>• Abejas adultas interior de la colmena ⇒ <b>vivas internas</b></li> </ul>
		■ Lavado de abejas	Recomendaciones de la OIE		
Loque americana	<i>P. larvae</i>	■ Diagnóstico bacteriológico	Recomendaciones de la OIE (método validado por el EU-RL)	08/04/2016	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cría con síntomas (panal 10 x 10) con al menos 15 larvas enfermas</li> <li>• Larvas, escamas enfermas en tubos Eppendorf</li> </ul>
		■ Identificación molecular por PCR	Recomendaciones de la OIE (método validado por el EU-RL)	NA	
Loque europea	<i>M. plutonius</i>	■ Diagnóstico bacteriológico	Recomendaciones de la OIE (método validado por el EU-RL)	NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cría con síntomas (panal 10 x 10) con al menos 15 larvas enfermas</li> <li>• Larvas, escamas enfermas en tubos Eppendorf</li> </ul>
		■ Identificación molecular por PCR	Recomendaciones de la OIE (método validado por el EU-RL)	NA	
Nosemosis	<i>N. apis</i>	■ Detección y cuantificación de esporos de <i>Nosema</i> spp por microscopía óptica	Recomendaciones de la OIE	19/04/2013	<p>Muestra sistemática:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Abejas vivas del interior de la colmena (&gt; 60) cuadros externos ð <b>vivas internas</b></li> </ul> <p>Muestra sintomática:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Al menos 30 abejas adultas con síntomas (recogidas de la piquera ) ⇒ <b>vivas externas</b></li> <li>• En ausencia de abejas vivas, al menos 30 abejas muertas ⇒ <b>muertas externas</b></li> </ul>
	<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"> <li>• Al menos 30 abejas adultas con síntomas (recogidas de la piquera ) ⇒ <b>vivas externas</b></li> <li>• En ausencia de abejas vivas, al menos 30 abejas muertas ⇒ <b>muertas externas</b></li> </ul>
Virus de las Alas Deformadas	DWV	■ diagnóstico molecular: detección (RT-PCR)	Siguiendo las recomendaciones del EU-RL	28/11/2014	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abejas vivas del interior de la colmena (&gt; 60) ⇒ <b>vivas internas</b></li> </ul>
Virus de la Parálisis Aguda	ABPV	■ Diagnóstico molecular: detección (RT-PCR)	Siguiendo las recomendaciones del EU-RL	28/11/2014	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abejas vivas del interior de la colmena (&gt; 60) ⇒ <b>vivas internas</b></li> </ul>
Aethinosis (SHB)	<i>A. tumida</i>	■ Detección durante el lavado de las abejas	Recomendaciones de la OIE	NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abejas vivas del interior de la colmena (&gt; 300) ⇒ <b>vivas internas</b></li> </ul>
		■ Detección durante el examen de muestras sintomáticas		NA	

		<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Identificación del escarabajo adulto, larva por examen morfológico</li> </ul>		NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formas adultas del escarabajo, larvas o huevos</li> <li>• Panales de cría /miel/polen dañados</li> </ul>
<b>Tropilaelapsosis</b>	<i>Tropilaelaps spp</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Detección durante el lavado de las abejas</li> </ul>	Recomendaciones de la OIE	NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abejas vivas del interior de la colmena (&gt; 300) ⇨ vivas internas</li> <li>• Ácaros sospechosos</li> <li>• Cría con síntomas (panal 10 x 10) en apiarios con riesgo introducción artrópodos exóticos</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Detección durante el examen de muestras sintomáticas</li> </ul>		NA	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Identificación por examen morfológico directo de los ácaros (recomendaciones de la OIE)</li> </ul>		NA	
<b>Ascospferosis</b>	<i>Ascospaera apis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Detección por microscopía óptica</li> </ul>		NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cría con síntomas (panal 10 x 10)</li> </ul>
<b>Acarapisosis</b>	<i>Acarapis woodi</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Detección por microscopía óptica</li> </ul>	Recomendaciones de la OIE	NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Al menos 30 abejas adultas vivas con síntomas</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Detección por digestión enzimática</li> </ul>			
		<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Identificación del parásito por microscopía óptica</li> </ul>			



## ANEXO IV: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antúnez Anido, K.; M. Garrido-Bailón, E.; Botías, C.; Zunino, P.; Martínez-Salvador, A. (2012) **Low prevalence of honeybee viruses in Spain during 2006 and 2007**. Research in Veterinary Science: pp1441–1445.
- Belzunces L., P.; Tchamitchaia, S.; Brunet, J-L. (2012). **Neural effects of insecticides in the honey bee**. Apidologie Volume 43, Issue 3, pp 348-370.
- Bernal, J.; Garrido-Bailon, E; Del Nozal, M.; Gonza, A. V.; Lez-Porto; Martín-Hernandez, R; Diego, J. C.; Jimenez, J. J; Bernal, J. L and Higes, M. (2010). **Overview of Pesticide Residues in Stored Pollen and Their Potential Effect on Bee Colony (*Apis mellifera*) Losses in Spain**. Apiculture And Social Insects. Vol. 103, no. 6: pp (1964-1971).
- Bernardi, S. and Venturino, E. **Viral epidemiology of the adult *Apis Mellifera* infested by the Varroa destructor mite** (2016). Heliyon 2, e00101.
- Charrière, J.-D. and Neumann, P. (2010). **Surveys to estimate winter losses in Switzerland**. Journal of Apicultural Research and Bee World 49, 132-123
- Chauzat, M-P.; Ribière, M.;Blanchard, P.; Schurr, F;Faucon, J-P; Allier F., L.; Bournez, De Boyer A.; Britten, V.; Jourdan, P.; Leoncini, I.; Vallon, J.; Navajas, M. ; Le Conte, Y. (2009). **Colony losses in France**. 4th COLOSS Conference – Zagreb, Croatia, 3-4 March 2009
- Christian, H, Krupke; Greg J., Hunt; Brian D, Eitzer; Andino Gladys, Krispn Given. (2012) **Multiple Routes of Pesticide Exposure for Honey Bees Living Near Agricultural Fields**. PLoS ONE | [www.plosone.org](http://www.plosone.org). | Volume 7 | Issue 1 | e29268
- Dainat, B.; Evans, D. Chen, Y.P.; Gauthier, L.; Neumann, P.; De la Rua, P.; Jaffe, R.; Dall’Olio, R.; Munoz, I.; Serrano, J. (2009). **Dead or Alive: Deformed Wing Virus and Varroa destructor Reduce the Life Span of Winter Honeybees**. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. Apidologie 40, 263–284
- DIRECTIVA 2010/21/UE DE LA COMISIÓN de 12 de marzo de 2010 por la que se modifica el anexo I de la Directiva 91/414/CEE por lo que respecta a las disposiciones específicas relativas a la clotianidina, el tiametoxam, el fipronil y el imidacloprid
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR) (2012). **Scientific opinion on de science behind the development of a risk assessment of Plant Protection Products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus spp.* and solitary bees)**. EFSA Journal 2012; 10(5):2668. Pp: 238-39.
- EFSA External Scientific Report. Jacques, A.; Larurent, M.; Ribiere-Chabert, M.; Saussac, M.; Bougeard S.; Hendrikx, P. and Chauzat, M.P. (2016). **Statistical analysis on the EPILOBEE dataset: explanatory variables related to honeybee colony mortality in EU during 2 year survey. (ANSES)**.
- Ellis, J. D.; Evans, J. D.; Pettis J. S. (2010). **Colony losses, managed colony population decline and Colony Collapse Disorder in the United States**. Journal of Apicultural Research 49(1): 134-136. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.30

- European Commission (2008). **Virology and the Honeybee**. <http://bookshop.europa.eu/es/virology-and-the-honey-bee-pbKINA21937/>.
- Genersch, E.; Von der Ohe, W.; Kaatz, H.; Schroeder, A.; Otten, C.; Büchler R.; Berg, S.; Ritter, W.; Mühlen, W.; Gisder, S.; Meixner, M.; Liebig, G., Rosenkranz, P. (2010). **The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies**. *Apidologie* 41: 332-352
- Gómez Pajuelo A., Torres C., Orantes Bermejo F.J. (2008). **Colony losses: a double blind trial on the influence of supplementary proteína nutrion and preventative treatment with fumagillin against *Nosema ceranae***. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 47(1): p. 84-86
- Guzmán-Novoa, E.; Eccles, L.; Calvete, Y. and MCGOWAN, J. (2010). ***Varroa destructor* is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada**. *Apidologie* 41,443-450
- Hendriks, P., Debin, M., and Chauzat, M.P. (2010). **Bee mortality and bee surveillance in Europe**. EFSA Report 1-278.-doi:10.2903/j.efsa.2008.154r
- Higes M., Martín-Hernandez R., Martínez Salvador A., Garrido Bailón E., Gonzalez-Porto A. Virginia, Meana A; Bernal J., del Nozal M.J. (2009). **A preliminary study of the epidemiological factors related to honey bee colony loss in Spain**. *Environmental Microbiolgy Reports* 2(2), 243-250.
- Johnson, M.; Ellis M.D; Mullin, A.; Frazier, M. (2010). **Pesticides and honey bee toxicity – USA**. *Apidologie* 41, 312–331
- Kukielka, D.; Perez A.; Higes, M; Bulboa, M.C.; Sánchez-Vizcaíno, J.M. (2008). **Analytical sensitivity and specificity of a RT-PCR for the diagnosis and characterization of the spatial distribution of three *Apis mellifera* viral diseases in Spain**. *Apidologie* 39, pp 607-617.
- Laurent, M.; Hendriks, P.; Ribiere-Chabert, M. and Chauzat, M.P., on behalf of the EPILOBEE consortium (2014). **A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2013**. [http://ec.europa.eu/food/animals/live\\_animals/bees/study\\_on\\_mortality/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/animals/live_animals/bees/study_on_mortality/index_en.htm)
- Laurent, M.; Hendriks, P.; Ribiere-Chabert, M. and Chauzat, M.P., on behalf of the EPILOBEE on behalf of the EPILOBEE consortium (2015). **A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2014**. [http://ec.europa.eu/food/animals/live\\_animals/bees/docs/bee-report\\_2012\\_2014\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/animals/live_animals/bees/docs/bee-report_2012_2014_en.pdf).
- Le Conte, Y.; Ellis, M. and Ritter, W. (2010) ***Varroa* mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses?\*** *Apidologie* 41, pp: 353–363
- Martín-Hernández, R; Higes, M.; Aizen, A.; Garibaldi Lucas, A.; Cunnngham Saul, A.; M.Klein, A. (2009) **How much does agriculture depend on pollinator? Lessons from long term trends in crop production**. *Annals of Botany* 103, pp: 1579-1588.
- Martín-Hernández, R.; Meana, A.; Prieto, L.; Martínez Salvador, A; Garrido-Bailón, E. and Higes, M. (2007) **Outcome of Colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae***. *Applied and Environmental Microbiology*, pp: 6331–6338.

- Mullin Christopher, A.; Frazier, M., Frazier, J.L.; Ashcraft, S.; Simonds, R.; vanEngelsdorp, D. and Pettis, J. S. **(2010) High Level of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health.** PlosOne (vol 5, issue 3, e9754)
- Mordecai, G. J.; Brettell, L. E.; Martin, S. J.; Dixon, D.; Jones, Ian M and Schroeder and Declan C. **(2016) Superinfection exclusion and the long-term survival of honey bees in Varroa-infested colonies.** The ISME Journal 10, pp: 1182–1191.
- Mordecai, G J.; Wilfert, L.; Martin, S. J.; Jones, I. M. and Schroeder, D.C. **(2016) Diversity in a honey bee pathogen: first report of a third master variant of the Deformed Wing Virus quasispecies.** The ISME Journal 10, pp: 1264–1273.
- Morse, R. A.; Calderone, N. W. Cornell University Ithaca **(2000). The Value of Honey Bees As Pollinators of U.S. Crops in 2000.** Bee culture magazine.
- Orantes-Bermejo, F. J.; Gómez Pajuelo, A.; Megías Megías, M. and Torres Fernández-Píñar C. **(2010). Pesticide residues in beeswax and beebread samples collected from honey bee colonies (Apis mellifera L.) in Spain. Possible implications for bee losses.** Journal of Apicultural Research 48(1): 243-250
- REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) No 485/2013 DE LA COMISIÓN de 24 de mayo de 2013 por el que se modifica el Reglamento de Ejecución (UE) no 540/2011 en lo relativo a las condiciones de aprobación de las sustancias activas clotianidina, tiametoxam e imidacloprid, y se prohíben el uso y la venta de semillas tratadas con productos fitosanitarios que las contengan
- REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) No 781/2013 DE LA COMISIÓN de 14 de agosto de 2013 por el que se modifica el Reglamento de Ejecución (UE) no 540/2011 en lo relativo a las condiciones de aprobación de la sustancia activa fipronil, y se prohíben el uso y la venta de semillas tratadas con productos fitosanitarios que la contengan.
- Rennich, K.; Pettis, J.; Vanengelsdorp, D.; Bozarth, R.; Eversole, H.; Roccasecca, K.; Smith, M.; Stitzinger, Jennie, A.; Snyder, R.; Rice, N.; Evans, J; Levi, V.; Lopez, D. and Robyn, R. **(2011-2012) National Honey Bee Pests and Diseases Survey Report (USA).**
- Sanchez-Bayo, F. y Goka, K. (2014). **Pesticide Residues and Bees- A risk Assesment.** Plos One. Vol 9, Issue 4: e94482. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0094482>.
- Schneider, C. W.; Tautz, J.; Grünewald, B. and Fuchs, S. (2012). **RFID tracking of sublethal effects of two neonicotinoid insecticides on the foraging behavior of Apis mellifera.** PLoS ONE 7, e30023
- Tentcheva, D.;† Gauthier, L.;\*† Zappulla, N.; Dainat, B.; Cousserans, F.; Colin, M.E.; and Bergoin, M. (2004) **Prevalence and Seasonal Variations of Six Bee Viruses in Apis mellifera L. and Varroa destructor Mite Populations in France.** Applied and Environmental Microbiology, pp: 7185–7191.
- Tomlin, CDS (2009) **The e-Pesticide Manual.** In: Tomlin CDS, editor. 12 ed.
- Serra J., Orantes-Bermejo, J.F. **Acaricides and their residues in Spanish commercial beewax. (2010).** Society of Chemical Industry. [www.interscience.wiley.com](http://www.interscience.wiley.com). DOI 10.1002/ps. 1999.
- Stoner, K.A. and Eitzer, B.D. (2013). **Using a hazard quotient to evaluate pesticide residues detected in pollen trapped from honey bees (Apis mellifera) in Connecticut.** PLoS One 8, e77550.

- Surrey, U.K.: British Crop Protection Council. Topolska, G.; Gajda, A. and Hartwig, A. **(2008) Polish honey bee colony losses during the winter of 2007/2008**, J. Apic. Sci. 52, 95–104.
- Van Engelsdorp, D.; Hayes, Jr J.; M Underwood, R, S.; Pettis, J. **(2010) A survey of honey bee colony losses in the United States**, fall 2008 to spring 2009. Journal of Apicultural Research 49(1): 7-14.
- Washington State Department of Agriculture. Pesticide management division. Registration Services Program. **Pollinator Protection Requirements for Section 18 Emergency Exemptions and Section 24 (C). Special local need registrations in Washington State**. AGR PUB 631-225 (R/03/30/2010).
- Whitehorn, P.R.; O’Connor, S.; Wackers, F.L. and Goulson, D. **(2012). Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production**. Scienceexpress 1215025
- Willians, I. **(2002) Insect Pollination and Crop Production: A European Perspective**. IN: Kevan P & Imperatriz Fonseca VL (eds) - **Pollinating Bees - The Conservation Link Between Agriculture and Nature** - Ministry of Environment / Brasília:59-65.
- Willians, I.H.; Corbet, A.S. and Osborne, J.L. (1991) **Beekeeping, wild bees and pollination in the European Community**. Bee World 72 (4):170-80.
- Wu Judy, Y.; Anelli, C. M. and Sheppard W. S. **Sub-Lethal Effects of Pesticide Residues in Brood Comb on Worker Honey Bee (Apis mellifera) Development and Longevity**.(2011) PLoS ONE | [www.plosone.org](http://www.plosone.org). Volume 6 | Issue 2 | e14720.