



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

Tesis para acceder al título de Doctora en
Ciencia, Tecnología e Innovación Agropecuaria

**ESTUDIO DE LA MORTANDAD REGIONAL DE COLMENAS E
IMPLICANCIAS DE PLAGUICIDAS AGRÍCOLAS Y APÍCOLAS EN EL
DESARROLLO POBLACIONAL DE LAS COLMENAS.**

Med. Vet. Paula Andrea Melegatti

DIRECTOR: Dr. Juan Miguel MARIOLI

CODIRECTOR: PhD. Alejandro José LARRIESTRA

Río Cuarto, Febrero 2019



COMISIÓN ASESORA Y JURADO

Nombre y apellido:.....Lugar de trabajo:.....

Firma:.....

Nombre y apellido:.....Lugar de trabajo:.....

Firma:.....

Nombre y apellido:.....Lugar de trabajo:.....

Firma:.....

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y fecha: Universidad Nacional de Río Cuarto,.....

Calificación:



Doctorado Binacional en Ciencia, Tecnología e Innovación Agropecuaria

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO



“Honrarás a la naturaleza de la que formas parte”.

Eduardo Galeano

DEDICATORIA

A tod@s l@s que creen y siguen bregando porque una forma diferente
de relacionarnos con la Pacha es posible y necesaria



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Pública y Gratuita que me permitió acceder al título de grado y hoy al de posgrado y a mis padres, Chochi y Chacho, por acompañarme en las decisiones fundamentales de mi vida.

A Camila y Caetano, mis hij@s, que transitaron su niñez bajo el yugo de la tesis de mamá y sin cuyos abrazos de contención dudo si hubiera concluido esta etapa.

A Corto, mi compañero de vida, por estar siempre presente, con infinita paciencia sin encontrarle el sentido a todo esto.

A mi hermana Patricia, amiga y compañera.

A Iván y Raúl, porque compartimos la pasión por la apicultura, por aceptar ser parte del proyecto, ponerle garra y compartir las “jornadas apícolas”.

A Juan Miguel, director de tesis, por aceptar la propuesta de hacer el doctorado en el marco de su proyecto y por sus aportes a mi formación.

A Alejandro, codirector de tesis, por insistir en que este camino de formación era necesario para mi crecimiento académico y profesional. Gracias por compartir tus saberes, por invertir tu tiempo y por tu paciencia.

A Susana, evaluadora, por guiarme con su calidez, por las horas de estadísticas y otras yerbas que compartimos, gracias totales.

A Marcela, también evaluadora, por leer minuciosamente la tesis y aportarme sus conocimientos y sugerencias, gracias.

A Jorge, evaluador externo, referente apícola, por aceptar la propuesta.

A Naty, compañeraza, que fue creciendo paso a paso en esto de “la apicultura” y se puso al hombro este trabajo, haciendo que todo resulte más aliviado.

A Lina, compañera de tesis, por su rol fundamental en llevar adelante parte del trabajo que se incluye en este escrito y por alegrar con su espíritu colombiano cada viaje a campo.

A Claudina, que con sus modos tan afectuosos, pacientemente, supo apuntalarme y mostrarme la salida a cada entrevero que se interpuso.

Al “Campa” por recibirme y ayudarme con el mapeo, por su humor y generosidad.



Doctorado Binacional en Ciencia, Tecnología e Innovación Agropecuaria

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO



Finalmente a tod@s l@s que aportaron su granito de arena en algún momento de las actividades que se desarrollaron en torno a éste proyecto: Roberto, Diego, Ayrton, Adrián, Gallego, Fabricio, Ivana, Ramiro, Moureen, Vicky, Sergio, Brenda, Marcelo, Fabiana, Nancy, Emiliano, Valentino y l@s estudiantes y docentes del IPEM 186 “Capitán Luis Darío Castagnari”



ÍNDICE GENERAL

	Páginas
Índice de tablas	7
Índice de figuras	8
Resumen en castellano.....	9
Resumen en portugués.....	11
Glosario.....	13

Capítulo I: Introducción General

1.1. Origen de Apis mellífera.....	14
1.2. Clasificación taxonómica.....	15
1.3. Biología de las abejas melíferas.....	15
1.3.1. La colmena y sus partes.....	17
1.3.2. La comunicación de las abejas.....	20
1.4. Abordaje holístico de la apicultura	23
1.4.1. Polinización.....	24
1.4.2. La abeja como bioindicadora de contaminación ambiental.....	25
1.4.3. Determinantes de la salud y supervivencia de las abejas.....	25
1.5. Síndrome de despoblamiento de las colmenas.....	31

Capítulo II: Caracterización de la Mortandad reportada por los Productores Apícolas del Departamento Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

2.1. La apicultura en contexto.....	33
2.2. Aportes de la Apicultura a las Economías Regionales.....	35
2.3. Hipótesis.....	37
2.4. Objetivo general.....	37
2.5. Objetivos específicos.....	38
2.6. Materiales y métodos.....	38
2.6.1. El Departamento Río Cuarto.....	38
2.6.2. Población bajo estudio.....	39
2.6.3. Censo apícola.....	39
2.6.4. Análisis descriptivo de los datos censales.....	40
2.6.5. Etapas del análisis estadístico de datos.....	41
2.7. Resultados.....	42
2.7.1. Razones del abandono de la actividad.....	42
2.7.2. Características estructurales de los apicultores en actividad entrevistados.....	42
2.7.1. Razones del abandono de la actividad.....	42
2.7.2. Características estructurales de los apicultores en actividad entrevistados.....	42
2.7.3. Perfil de los productores en actividad.....	43
2.7.4. Productos de la apicultura y formas de comercialización.....	44
2.7.5. Mortandad reportada.....	46



2.7.6. Prácticas de manejo.....	51
2.7.7. Selección de las variables dentro de cada dimensión.....	52
2.7.8. Distribución de la Mortandad en cada conglomerado.....	61
2.8. Discusión.....	62
2.8.1. Aspectos socio-productivos.....	62
2.8.2. Mortandad.....	63
2.8.3. Manejo.....	65
2.8.4. Análisis de los conglomerados.....	66
2.9. Conclusiones.....	68

Capítulo III: Implicancias de plaguicidas agrícolas y apícolas sobre el desarrollo poblacional de las colmenas.

3.1. Introducción.....	69
3.1.1. Plaguicida/Agroquímico/Pesticida/Fitosanitario.....	71
3.1.2. Medicamentos de uso apícola.....	73
3.1.3. Plaguicidas de uso agrícola.....	76
3.2. Hipótesis.....	80
3.3. Objetivo.....	80
3.4. Materiales y métodos.....	80
3.4.1. Diseño del Experimento.....	80
3.4.2. Muestras Sistemáticas.....	83
3.4.3. Determinación de la población de abejas adultas y cría.....	83
3.4.4. Determinación del porcentaje de Mortandad.....	83
3.4.5. Muestreo para Sanidad.....	83
3.4.6. Muestreo de miel y cera.....	85
3.4.7. Análisis Estadístico.....	86
3.4.8. Índice Poblacional.....	86
3.4.9. Varroa y Nosema.....	87
3.4.10. Puesta a punto del ensayo.....	88
3.5. Resultados.....	89
3.5.1. Índice Poblacional.....	89
3.5.2. Mortandad.....	94
3.5.3. Sanidad.....	97
3.5.4. Residuos.....	103
3.6. Discusión.....	113
3.6.1. Índice Poblacional.....	113
3.6.2. Sanidad.....	114
3.6.3. Mortandad.....	117
3.6.4. Residuos.....	117
3.7. Conclusiones.....	123
3.8. Anexos.....	125
3.9. Referencias bibliográficas.....	128



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cantidad de productores y colmenas por provincia. Año 2008. Fuente: MinAgri	33
Tabla 2. Principales provincia apícolas 2017. Fuente: Síntesis Apícola. Ministerio de Agroindustria. 34	
Tabla 3. Relevancia de la actividad apícola en el Departamento Río Cuarto.....	44
Tabla 4. Productos de la apicultura en el Dpto. Río Cuarto (en porcentajes de apicultores).	45
Tabla 5. Formas y destinos de comercialización de la miel.	46
Tabla 6. Causas de Mortandad reportada. Censo Apícola 2008,.....	49
Tabla 7. Descripción de las variables pertenecientes a la Dimensión Social.	53
Tabla 8. Grupos temáticos incluidos en la Dimensión Productiva.	54
Tabla 9. Grupos temáticos incluidos en la Dimensión Sanidad.	55
Tabla 10. Grupos temáticos incluidos en la Dimensión Manejo.	57
Tabla 11. Descripción de la distribución de las variables del Censo Apícola seleccionadas en cada conglomerado (Nº - número de apicultores; F (%) – frecuencia en porcentaje)	60
Tabla 12. Georreferenciación de los apiarios de la zona Agrícola y de Monte Nativo.	81
Tabla 13. Plaguicidas de origen apícola y agrícola evaluados en la matriz miel.....	85
Tabla 14. Distribución de la cantidad de colmenas por zona, apiario	89
Tabla 15. Medidas resumen del Índice Poblacional de acuerdo a Zonas y Tratamientos.	89
Tabla 16. Porcentajes de Mortandad discriminado por Zona, Tratamiento y Estación.....	94
Tabla 17. Porcentajes de supervivencia de las colmenas al finalizar el ensayo	96
Tabla 18. Proporción de muestras en los diferentes niveles de clasificación del nº de esporos/abeja, discriminado por zona y tratamiento.	97
Tabla 19. Distribución de los porcentajes de infestación de <i>Varroa destructor</i> según los niveles de infestación.....	100
Tabla 20. Plaguicidas evaluados, valores de LD según técnica aplicada y	105
Tabla 21. Conformación de los pools de miel según origen (AM/CC), zona (AG/MN) y tratamiento (ORG/SINT).	106
Tabla 22. Detalle de los pools y método analítico utilizado en la determinación de residuos.....	107
Tabla 23. Residuos de plaguicidas apícolas (ppb).....	108
Tabla 24. Residuos de plaguicidas agrícolas (ppb)	109
Tabla 27. Resumen general de los plaguicidas encontrados en pools de muestras de miel según la procedencia de la misma y la técnica analítica implementada.	111



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Pintura rupestre ubicada en Las Cuevas de la Araña, Bicorp, Valencia. España.....	14
Figura 2. Partes de la colmena.....	19
Figura 3. Abejas compartiendo néctar mediante la trofalaxia.	21
Figura 4. Representación esquemática de los factores que involucran a la apicultura.	23
Figura 5. Mapa de la provincia de Córdoba (A) y del Departamento Río Cuarto (B).....	39
Figura 6. Mapa de la distribución espacial de los apiarios, señalando los porcentajes de Mortandad reportada y la cantidad de apiarios por localidad.	48
Figura 7. Porcentaje de apicultores que utilizan diferentes medicamentos en la colmena.	50
Figura 8. Porcentaje de apicultores que aplican diversos métodos para el control de LA.	52
Figura 9. Dendograma obtenido del Análisis de Conglomerado, basado en cinco variables (Tabla 7 a 10).....	58
Figura 10. Diagrama de cajas de la Distribución de la Mortandad (mediana) reportada en cada conglomerado.	61
Figura 11. Imagen satelital de la Zona Agrícola (Alcira Gigena) y ubicación de los apiarios bajo estudio.	82
Figura 12. Imagen satelital de la zona de Monte Nativo (Villa de Merlo) y la ubicación de los apiarios bajo estudio.....	82
Figura 13. Evolución del Índice Poblacional de las cinco colmenas que presentaron índices negativos durante alguna de las estaciones de muestreo.....	90
Figura 14. Gráfico de Perfil de las Medias de los Índices Poblacionales.....	91
Figura 15. Índice Poblacional por Zona:Tratamiento.....	92
Figura 16. Índice Poblacional por Estación de muestreo.	93
Figura 17. Distribución de la pérdida de colmenas (nº) por Zona, Tratamiento y Estación de muestreo.	95
Figura 18. Diagrama de cajas del nº de esporos/abeja (Nosemosis) para la interacción Zona:Tratamiento en las cinco Estaciones de muestreo.	99
Figura 19. Comportamiento de la mediana del porcentaje de prevalencia de Varroa por Zona, Tratamiento y Estación. Momentos de aplicación de los tratamientos acaricidas.....	101
Figura 20. Diagrama de cajas del % de prevalencia (Varroosis) para la interacción Zona:Tratamiento en las cinco Estaciones de muestreo.....	102
Figura 21. Anexo 1. Encuesta Censo Apícola, Departamento Río Cuarto, Córdoba, Argentina.	127
Figura 22. Anexo II. Planilla de Campo.....	128



Resumen

La producción apícola es una actividad que ha experimentado un notable desarrollo en las últimas décadas, siendo Argentina uno de los países con mayor crecimiento y adaptabilidad a las condiciones del mercado externo. Habitualmente se asocia a la abeja melífera con la obtención de miel y otros productos de la colmena. Sin embargo, su principal función la ejercen como insectos polinizadores, transportando el polen de las partes masculinas a las femeninas de las plantas, asegurando la productividad y sostenibilidad de los ecosistemas silvestres y agrícolas. Debido a la relación de *Apis mellifera* con su entorno, tanto abejas como los productos de la colmena son considerados bioindicadores de contaminación ambiental.

La presente tesis doctoral consta de un capítulo introductorio, a partir del cual se desarrollan otros dos capítulos. En el segundo capítulo, se tuvo por objetivo describir y caracterizar al sector primario de la Cadena Apícola mediante encuestas realizadas a apicultores inscriptos en el RENAPA domiciliados en el Departamento Río Cuarto, provincia de Córdoba. En el tercer capítulo, se describen los hallazgos de un ensayo a campo, con el objetivo de indagar el posible rol de contaminantes de origen agrícola y apícola, sobre los cambios experimentados por la población de abejas durante un ciclo de crecimiento poblacional.

En el capítulo II, las variables de la encuesta se organizaron en cuatro dimensiones (social, productiva, sanitaria y de manejo), lo que permitió constituir tres conglomerados caracterizados por la dedicación a la actividad, diversificación de la producción, causas de pérdidas de colmenas, monitoreo de *Varroa*, control de Loque americana y uso de sustituto energético. Fueron tres los factores que distinguen el perfil de los productores y sus empresas: aspectos sociales (actividad principal/secundaria), aspectos productivos (diversificación) y aspectos sanitario (método de monitoreo de D'Jong). Si bien estas cualidades permitieron la conformación de los tres conglomerados, en relación a la Mortandad reportada, las diferencias entre los mismos no fueron estadísticamente significativas (Kruskal Wallis $p > 0,9999$).

En el ensayo a campo descrito en el capítulo III, se trabajó en dos zonas ecológicas diferentes: de monte nativo y agrícola, evaluando en cada una colmenas bajo tratamiento orgánico y sintético. Desde diciembre de 2013 a mayo de 2015 en cinco oportunidades, se registraron datos de población, muestreo de trozos de panal, para determinar residuos de pesticidas en miel, y de abejas adultas para Varroosis y Nosemosis. Al finalizar el ensayo el porcentaje total de Mortandad fue del 33,30% (25/75). Para Varroosis y Nosemosis el 41,10% y el 30,28% de las muestras fueron negativas respectivamente. En relación a los residuos en la matriz miel, se analizaron 43 pools de miel conformados por 100 muestras, por Cromatografía líquida y gaseosa. Se analizaron residuos de timol, coumaphos, amitraz, endosulfan, cipermetrina, atrazina y diclorvos. El 64,15% de los pools de miel fueron positivos al menos a un plaguicida. Para los pools de Alza Melaria la estación donde coexistieron la mayor variedad de residuos fue en otoño 15 (amitraz, coumaphos, timol, diclorvos y atrazina). Esta misma situación se presentó en pools de cámaras de cría para el Verano 13. En el presente experimento no se evidencian diferencias estadísticas significativas entre las Zonas y Tratamientos con relación al Índice poblacional durante las Estaciones de muestreo por lo cual no se puede aseverar la presencia del efecto de estos factores sobre la población de abejas. En la matriz miel, los residuos de plaguicidas en ambas zonas no superaron los Límites Máximos Residuos (LMR mg/kg) para diferentes alimentos por la UE, a excepción del Amitraz para la Zona Agrícola.

En base a los resultados aquí expuestos, podemos concluir que el sector apícola ha sufrido profundos cambios en el departamento Río Cuarto, en desmedro de la productividad y permanencia de los actores del sector primario de la cadena apícola. Se evidencia que las causas ambientales, de bajos



rendimientos y rentabilidad fueron las variables que afectaron en mayor medida la continuidad de buena parte de los apicultores en la actividad. La tipificación del sector apícola del departamento Río Cuarto, podría ser de utilidad como herramienta que contribuya a establecer con mayor precisión las políticas y estrategias que puedan permitir el fomento y desarrollo de la apicultura en el territorio.

Por otra parte, se visualiza la necesidad de acordar protocolos efectivos para la evaluación integral de los efectos subletales de pesticidas sobre las poblaciones de abejas, que incluyan mediciones de mayor calidad en cuanto a la dinámica poblacional de las abejas. Finalmente, dada la complejidad que implica abordar un estudio que integre todos los aspectos involucrados en la pérdida de colmenas por influencia antrópica, dentro y fuera de la colmena, es necesaria la participación multidisciplinaria e interinstitucional en la búsqueda de respuestas sistémicas a este fenómeno mundial de Mortandad de colmenas.



Resumen en português

A produção apícola é uma atividade que tem experimentado um notável desenvolvimento nas últimas décadas, sendo Argentina um dos países com maior crescimento e adaptabilidade às condições do mercado externo. Habitualmente associa-se à abelha melífera com a obtenção de mel e outros produtos da colmeia. Sem embargo, sua principal função a exercem como insetos polinizadores, transportando o pólen das partes masculinas às partes femininas das plantas, garantindo a produtividade e sustentabilidade dos ecossistemas silvestres e agrícolas. Devido à relação de *Apis mellífera* com seu entorno, tanto abelhas quanto os produtos da colmeia são considerados bioindicadores de contaminação ambiental.

A presente tese de doutorado consta dum capítulo introdutor, a partir do qual desenvolvem-se outros dois capítulos. O segundo capítulo teve por objetivo descrever e caracterizar o setor primário da cadeia apícola mediante sondagens de opinião realizadas a apicultores inscritos no RENAPA (Registro Nacional de Produtores Apícolas) domiciliados no Departamento Rio Cuarto, província de Córdoba. No terceiro capítulo, descrevem-se as descobertas dum ensaio a campo, com o objetivo de indagar o possível rol de poluentes de origem agrícola e apícola, sobre as mudanças experimentadas pela população de abelhas durante um ciclo de crescimento populacional.

No capítulo II, as variáveis das sondagens de opinião organizam-se em quatro dimensões (social, produtiva, sanitária e de manejo), o que permitiu construir três conglomerados caracterizados pela dedicação à atividade, diversificação da produção, causas de perdas de colmeias, -monitorização da *Varroa*, controle de *Loque americana* e uso de substituto energético. Foram três os fatores que diferenciaram o perfil dos produtores e suas empresas: aspectos sociais (atividade principal-secundária), aspectos produtivos (diversificação) e aspectos sanitários (método de monitorização de *D'Jong*). Se bem estas qualidades permitiram a conformação dos três conglomerados em relação à Mortandade reportada, as diferenças entre os mesmos não foram estatisticamente significativas (Kruskal Wallis $p > 0,9999$).

No ensaio a campo descrito no capítulo III, trabalhou-se em duas zonas ecológicas diferentes: de bosque nativo e agrícola, avaliando em cada uma, colméias baixo tratamento orgânico e sintético. Desde dezembro de 2013 a maio de 2015 em cinco oportunidades, registraram-se datas de população, amostragem de pedaços de panal, para determinar resíduos de pesticidas em mel, e de abelhas adultas para *Varroosis* e *Nosemosis*. Ao finalizar o ensaio a porcentagem total de Mortandade foi do 33,30% (25-75). Para *Varroosis* e *Nosemosis* o 41,10% e o 30,28% das amostragens foram negativas respectivamente. Em relação aos resíduos no matriz mel, analisaram-se 43 pools de mel conformados por 100 amostragens, por cromatografia líquida e gasosa. Analisaram-se resíduos de timol, coumaphos, amitraz, endosulfan, cipermetrina, atrazina e diclorvos. O 64,15% dos pools de mel foram positivos ao menos a um praguicida. Para os pools de AM a estação onde coexistiram a maior variedade de resíduos foi em outono 15 (amitraz, coumaphos, timol, diclorvos e atrazina). Esta mesma situação presentou-se em pools de câmaras de cria para o verão 13. No presente experimento não evidenciam-se diferenças estadísticas significativas entre as Zonas e Tratamentos com relação ao Índice populacional durante as Estaciones de amostragem pelo qual não pode-se asseverar a presença do efeito de estes fatores sobre a população de abelhas. No matriz mel, os resíduos de praguicidas em ambas zonas não superaram os Limites Máximos Resíduos (LMR mg-kg) para diferentes alimentos pela EU, a exceção do Amitraz para a Zona agrícola.



Em base aos resultados aqui expostos, podemos concluir que o setor apícola tem sofrido profundas mudanças no Departamento Rio Cuarto, em desmedro da produtividade e permanência dos atores do setor primário da cadeia apícola. Evidenciam-se que as causas ambientais, de baixos rendimentos e rentabilidade foram as variáveis que afetaram em maior medida a continuidade de boa parte dos apicultores na atividade. A tipificação do setor apícola do Departamento Rio Cuarto, poderia ser de utilidade como ferramenta que contribua a estabelecer com maior precisão as políticas e estratégias que possam permitir o fomento e desenvolvimento da apicultura no território.

Por outra parte, visualiza-se a necessidade de concordar protocolos efetivos para a avaliação integral dos efeitos subletais de pesticidas sobre as populações de abelhas, que incluam medições de maior qualidade em quanto à dinâmica populacional das abelhas. Finalmente, dada a complexidade que implica abordar um estudo que integre todos os aspectos incluídos na perda de colméias por influência antrópica, dentro e fora da colméia, é necessária a participação multidisciplinar e institucional na procura de respostas sistêmicas a este fenômeno mundial da Mortandade das colméias.



GLOSARIO

(AG) Agrícola

(AG/ORG) Agrícola Orgánico

(AG/SINT) Agrícola Sintético

(AM) Alza Melaria

(CAA) Código Alimentario Argentino

(CC) Cámara de Cría

(CCD) Colony Collapse Disorder

(FAO) Organización para la Agricultura y la Alimentación de la Naciones Unidas

(OMS) La Organización Mundial de la Salud

(EPA) Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos

(GC) Cromatografía de gases

(HPLC) Cromatografía de líquidos de alta eficiencia

(HPLC-MS) Espectrometría de masas

(LA) Loque americana

(LE) Loque europea

(LD) Límite de detección

(LMR) Límite máximo de residuo

(MN) Monte Nativo

(MN/ORG) Monte Nativo Orgánico

(MN/SINT) Monte Nativo Sintético

(MS/MS) Sistemas tándem

(ND) No detectable

(ORG) Orgánico

(SINT) Sintético

(ppb) Partes por billón

(SA) Sin analizar

(SDC) Síndrome de Despoblamiento de Colmenas

(UE) Unión Europea

Capítulo I: Introducción General

1.1. Origen de *Apis mellífera*

La abeja de miel *Apis mellífera* precede a los humanos en la tierra por 10 a 20 millones de años; es una de las más antiguas formas de vida animal. Su nombre científico, *Apis mellifera*, literalmente significa: “la abeja que lleva la miel” (Maurizio, 1962). Su origen proviene, probablemente, de la región de Afganistán en el sureste de Asia.

Existen tres cuevas en España denominadas “Cuevas de la Araña”, cuyas pinturas rupestres, posiblemente pertenecientes al período pospaleolítico (Grimberg, 1983), representan la escena del hombre de Bicorp, subiendo por lianas para obtener miel de abejas silvestres (Fig.1).



Figura 1. Pintura rupestre ubicada en Las Cuevas de la Araña, Bicorp, Valencia. España

Se sabe que el primer hombre en criar abejas (apicultor) lo hizo entre 3.000 a 5.000 años a.C. (Erickson, 1966). En América y Oceanía fue introducida por los colonizadores siendo en la actualidad la especie de abeja con mayor distribución en el mundo.



1.2. Clasificación taxonómica.

El sueco Carl Nilsson Linnaeus (1707-1778) conocido como Carl Linné, clasificó por primera vez a la abeja melífera, también llamada, abeja europea o doméstica, en 1758. *Apis* (lt, apis: abeja) *mellifera* (gr, meli:itos) + miel (gr, pherein:llevar) se ubica dentro del Dominio Eukarya, Reino Animalia, y pertenece al Phylum Arthropoda, Clase Insecta por poseer tres pares de patas articuladas y el cuerpo segmentado en cabeza, torax y abdomen. Por sus alas membranosas y con nervaduras se las ubica en el Orden Himenópteros y por alimentarse toda su vida de miel y polen en la Familia Apidae, Género *Apis*, Especie *mellifera* (Hickman, et al. 1986)

1.3. Biología de las abejas melíferas

La abeja doméstica es un individuo social directamente ligado al medio ambiente en el que vive. Durante su pecoreo se relaciona habitualmente con diversos factores bióticos y abióticos medioambientales: aire, vegetación, agua y suelo. En cada vuelo de forrajeo realizan recorridos varias veces al día para recolectar nectar, polen, propóleos y agua a varios kilómetros de distancia alrededor del apiario (entre 28 a 154 km²) para transportarlos a la colmena (von Frisch, 1927). Son insectos que forman colonias, e integran un grupo altamente evolucionado por su organización social y cooperación basada fundamentalmente en la comunicación táctil y química. Esto es necesario para la perpetuación de la especie e involucra a todos los estados de su ciclo vital implicando la realización de actividades colectivas, comunicación recíproca y división del trabajo (Hickman, 1986).

Una colonia de abejas posee entre 40 a 80 mil individuos dependiendo de la época del año (von Frisch, 1927), y está integrada por tres castas:

- la reina, hembra sexualmente madura cuya principal función es la de poner huevos y mantener la armonía dentro de la colonia mediante las feromonas (Free, 1987);
- las obreras, que son hembras sexualmente inactivas, con la capacidad de recolectar nectar, polen, propóleos, agua, además de intervenir en el cuidado de la cría, la



construcción de panales, la limpieza, mantenimiento de la temperatura y defensa de la colonia (Hickman, 1986);

- los zánganos, individuos del sexo masculino, dedicados a la fecundación de las reinas vírgenes durante los vuelos nupciales (Winston, 1987).

Durante la primavera y el verano, una colonia de abejas típicamente consta de una única reina reproductora, 20.000 a 60.000 abejas obreras adultas, 10.000 a 30.000 individuos en la etapa de cría (huevos, larvas y pupas) y cientos de zánganos. Durante el invierno, la colonia se reduce en tamaño y consiste en una sola reina y entre 8.000 a 15.000 abejas obreras (Martin, 2001). El desarrollo de la colonia de abejas esta determinado principalmente por diversos factores, tales como la edad y prolificidad de la reina, la sanidad de la colonia, el flujo de nectar, la recolección de polen y el espacio disponible. A medida que el ingreso de nectar aumenta, se estimula la postura de la reina y con ello el desarrollo de la colonia (Delaplane y Mayer, 2000). Una reina joven y vigorosa alcanzará una postura diaria de 1.500 a 2.000 huevos.

Con el avance de la temporada primavero-estival el número de individuos se acrecienta y se produce un fenómeno denominado “enjambrazón” que es la división natural de la colonia (von Frisch, 1927), previa producción de nuevas reinas, donde aproximadamente el 60% de la población de obreras y algunos zanganos deja la colonia junto a la antigua reina para fundar una nueva colonia (Winston, 1987). Este fenómeno está asociado a una predisposición genética, falta de espacio o bloqueo del nido de cría, sobrepoblación y sobrecalentamiento.

El ciclo de vida de *A. mellifera* es haplodiplode. Las hembras (reinas y obreras) se desarrollan a partir de huevos fecundados (diploides) y los zánganos a partir de huevos haploides (sin fecundar), lo que se conoce como partenogénesis facultativa. Sufren metamorfosis completa: huevo-larva-pupa o ninfa y adulto. Para la reina el ciclo requiere de 16 días, para las obreras 21 y los zánganos 24 días. Las celdas hexagonales del panal que contiene a los huevos y larvas permanecen abiertas, hasta que, al quinto día de larvas, éstas liberan feromonas que indican a las abejas adultas que atienden a la cría, que las celdas que las contienen deben ser operculadas, es decir, selladas con una mezcla de cera y propoleo (Rosenkranz y col., 2010).



La división del trabajo involucra diversos aspectos de la vida social de la colonia. Las obreras al nacer se encargan de limpiar y calentar el nido de cría para posteriormente convertirse en “nodrizas” cuya función es la de segregar jalea real con sus glándulas hipofaríngeas y submaxilares utilizando como precursor al polen. La jalea real, rica en aminoácidos es utilizada para alimentar a la reina durante toda su vida y a las crías de obreras y zánganos durante sus primeros días de larvas. De nodrizas pasan a ser “constructoras” ya que desarrollan las glándulas cereras en el abdomen dedicándose a la construcción y refacción de los panales que servirán de alojamiento para las crías, miel verde (nectar + enzimas), las reservas de miel (carbohidratos), polen (proteínas) y el agua. Posteriormente, desarrollan su aparato vulnerador y se convierten en las “guardianas” defendiendo a la colonia de posibles invasores. Finalmente, comienzan sus tareas de recolección propiamente dicha, y pasan a ser “pecoreadoras o forrajeras” (Delaplane y Mayer, 2000).

La reina puede vivir varias temporadas. Las obreras nacidas en primavera – verano vive unos 45 días mientras que las que lo hacen en otoño, viven varios meses (4 o 5) ya que las actividades dentro de la colonia son menores. Los zánganos comienzan a nacer en primavera y mueren al momento de copular con la reina. Los machos que no participan del vuelo nupcial, al llegar el otoño tienen imposibilitado el ingreso a la colmena y mueren en el exterior. Durante la invernada las abejas obreras tienden a agruparse alrededor de la reina, en el “bolo invernal”, para mantener la temperatura adecuada en el interior de la colonia (von Frisch, 1927; Winston, 1987).

1.3.1. La colmena y sus partes

En la apicultura moderna, la vivienda que aloja a una colonia de abejas, integrada por su reina, cientos de zánganos, miles de obreras, cría en sus diferentes estadios y panales con reservas de miel y polen, se denomina colmena estandar. Esta denominación es debida a que todas sus partes son móviles y se pueden intercambiar. Su creador, el reverendo Langstroth, la diseñó a partir del descubrimiento del “Espacio Abeja” en 1951. Este espacio, comprendido entre los 7 a 9 mm es el óptimo para que las abejas circulen dentro de la colmena. Si entre los componentes de las colmenas el espacio es menor, las abejas procederán a sellarlo con propóleos y si supera los 9 mm construirán panales de cera, llamados “falsos panales”.



En general, las colmenas se fabrican de maderas semi-duras (eucaliptus saligne) y no se recomienda el uso de maderas duras como algarrobo o caldén ya que, a pesar de tener más años de vida útil, provienen de bosques nativos y en el caso del caldén es una especie endémica de nuestra región pampeana, por lo cual hay que promover la conservación y restauración de éstos ecosistemas.

Una colmena esta formada desde la base por:

- ✓ Piso: Con una tabla de vuelo por donde despegan y aterrizan las abejas, que se comunica con la piquera (puerta de entrada a la colmena).
- ✓ Alza o cámara de cría: cajón que en su interior aloja 9 o 10 cuadros o marcos, donde las abejas labraran los panales con cera, para que en ellos deposite la reina los huevos y las obreras acopien polen y miel.
- ✓ Cuadros tipo Hoffman: son los soportes de los panales fabricados con cera por las abejas obreras. Cada panal tiene unas 6.000 celdas hexagonales de ambos lados del cuadro.
- ✓ Rejilla excluidora: algunos apicultores utilizan esta rejilla sobre la camara de cría para evitar que la reina suba a poner huevos en alzas melarias. Tiene un bastidor de madera y un enrejado de alambre que deja un espacio de 4,2 mm donde solo pasan las obreras.
- ✓ Alzas melarias: cajones destinados al acopio de miel, se colocan por encima de la cámara de cría y contienen 9 o 10 cuadros. Las lazas melarias pueden tener el tamaño de la cámara de cría (estándar) o ser de $\frac{3}{4}$ o la mitad ($\frac{1}{2}$) del tamaño del alza estándar.
- ✓ Entretapa: se trata de un bastidor de madera con una plancha de chapadur que se coloca por encima de la última alza. Permite la circulación de aire entre ésta y el techo.
- ✓ Techo: existen de dos tipos. Los llamados “telescopicos” poseen un bastidor de madera dura con cubierta de chapadur y de chapa galvanizada. Los “americanos” son de madera dura con encastre diente de perro para evitar que la lluvia ingrese a la colmena.

- ✓ Guardapiquera: varilla de madera o metálica que cierra parcialmente la piquera para evitar el pillaje y en épocas de frío proteger a la colonia.

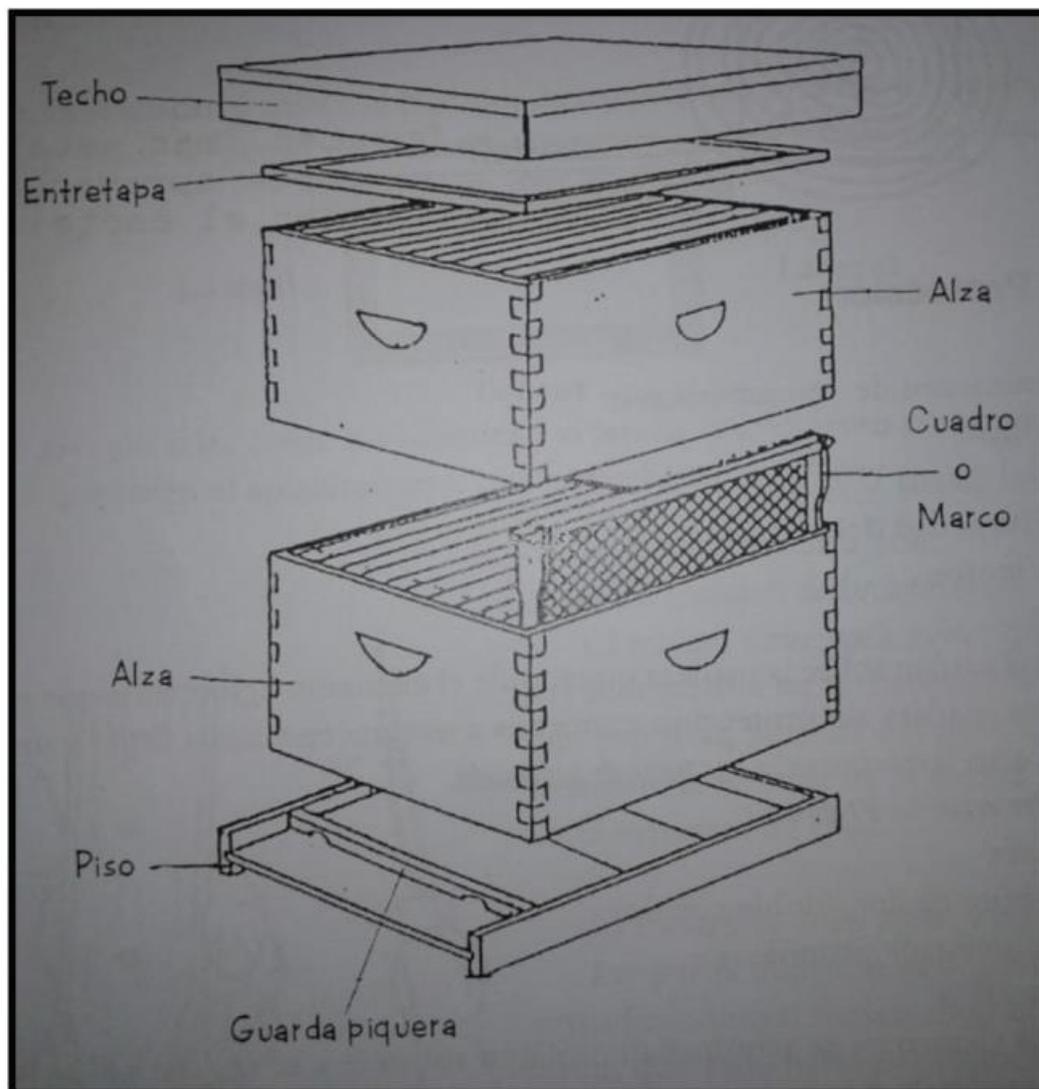


Figura 2. Partes de la colmena



1.3.2. La comunicación de las abejas

La danza

Las abejas melíferas han desarrollado un eficaz sistema de comunicación, donde las obreras exploradoras (pecoreadoras) realizan sobre los panales ciertos movimientos con sus cuerpos. Esta “danza” denominada del ocho o del contoneo, indica a las demás obreras la dirección y distancia de una fuente de alimento (néctar o polen).

La danza consiste en un conjunto de habilidades especializadas relacionadas a una conducta compleja y son susceptibles a los efectos subletales de sustancias nocivas, que afectan la supervivencia de la colonia. Codifican información sobre el lugar y rentabilidad de un recurso melífero descubierto, transmitiéndola al resto de la colonia (von Frisch y Lindauer, 1955; Riley et al., 2005; Thom et al., 2007; Grüter y Farina, 2009a).

Trofalaxia

Es el mecanismo por el cual las abejas, hormigas y otros insectos sociales se alimentan mutuamente o se transfieren feromonas. La trofalaxia describe la transferencia social de comida de un individuo adulto a otro generando un estómago común que permite a todas las abejas obtener conocimiento del estado nutricional de la colonia (Crailsheim, 1991, 1998).

Cuando la pecoreadora que recoge el alimento retorna a la colmena, descarga el néctar recolectado transfiriéndolo de boca a boca mediante la “trofalaxia” (Korst y Velthuis, 1982) (Fig. 3). En cada descarga trofaláctica, la dadora abre sus mandíbulas, exhibiendo la gota regurgitada desde el buche, mientras que una o más receptoras extienden la proboscis ingiriendo la solución convidada y así, las receptoras procesan y almacenan el néctar recibido (von Frisch, 1927; Seeley, 1995), estableciéndose un claro ejemplo de división de tareas.



Figura 3. Abejas compartiendo néctar mediante la trofalaxia.

Feromonas

Las feromonas son sustancias químicas liberadas por las abejas dentro de la colmena o en el medio ambiente causando modificaciones en la fisiología y conducta de otras abejas. Son esencialmente medios de comunicación de señales arrastrados a través del aire lo que permite recorrer distancias y eludir obstáculos (Trhlin et al., 2011). Las feromonas pueden ser, o bien los productos químicos individuales, o una mezcla compleja de diversos productos químicos en distintas proporciones. Se agrupan en dos tipos:

- Las liberadoras afectan transitoriamente la conducta del receptor desatando una respuesta casi inmediata y reversible. Ejemplo: feromona de alarma (acetato de isopentilo) asociada al sistema defensivo (aguijón).
- Las iniciadoras que tienen un efecto a largo plazo sobre el destinatario, por lo que es menos inmediato y visible, coordinando el desarrollo fisiológico y el comportamiento de un grupo de individuos. Ejemplo: feromona mandibular de la reina (QMP o Queen Mandibular Pheromone) que inhibe el desarrollo de los ovarios en las obreras, y la feromona larvaria, que induce a las abejas obreras a cuidar los huevos de la abeja reina (BP o Brood Pheromone).



Se ha demostrado que estas dos feromonas juegan un papel en la regulación del trabajo de las obreras. Se conoce cómo es la división de tareas dentro de las colonias y se sabe que no es rígida, adecuándose a los cambios en el medio social (obreras, nodrizas, pecoreadoras, reina) aunque se desconoce como se definen dichos cambios.

Mediante la feromona modificadora EO (de Ethyl Oléate u Oleato Etfílico) las pecoreadoras pueden influir hormonalmente en las abejas más jóvenes, hasta el punto de retardar el momento de madurez que involucra el comienzo de la recolección de néctar, producida por las abejas adultas del panal. Esta feromona se trasmite por trofalaxia y juega un papel primordial en la maduración de las conductas de las abejas jóvenes (Free, 1987). El proceso de libación de las abejas más jóvenes es una de las claves del mecanismo de auto-organización del panal y responde a las necesidades de la colonia. Este descubrimiento demuestra que la organización social propicia que las abejas respondan a los cambios correspondientes al conjunto de la colonia. (Le-Conte et al., 2001).

Aprendizaje asociativo y no asociativo

Las pecoreadoras pueden obtener y mantener información de una variedad de señales ambientales al percibir diferentes estímulos sensoriales estableciendo asociaciones entre ellos. Esto es posible gracias al “aprendizaje elemental o asociativo” que surge al instaurar una asociación entre dos o más estímulos circunstanciales. Esto le permiten establecer relaciones predictivas entre eventos que coexisten en el medio ambiente y de este modo reducir la incertidumbre (Mackintosh, 1994). Otro tipo de aprendizaje, el “aprendizaje no elemental o no asociativo” es aquel en donde se asume que depende solamente de las propiedades de un estímulo (Squirre y Kandel, 1999).

En el interior de la colmena, circulan abundante cantidad de olores. Es aquí donde se forma la percepción olfativa de cada integrante de la colonia. Esta trama permite a las obreras asimilar olores relacionados a recompensa (Farina et al., 2005; Grüter et al., 2006; Farina et al., 2007) que incluso pueden recordarse por periodos prolongados (Farina et al., 2005, Arenas y Farina, 2008; Grüter et al., 2009a). Las experiencias adquiridas dentro de la colonia incrementan la eficiencia en las tareas vinculadas con la alimentación de la misma.

1.4. Abordaje holístico de la apicultura

El entendimiento sobre cómo se desarrolla la apicultura, implica considerar la multiplicidad de interacciones que influyen en la producción de miel y supervivencia de las abejas, siendo las mismas interdependientes (Fig. 5).

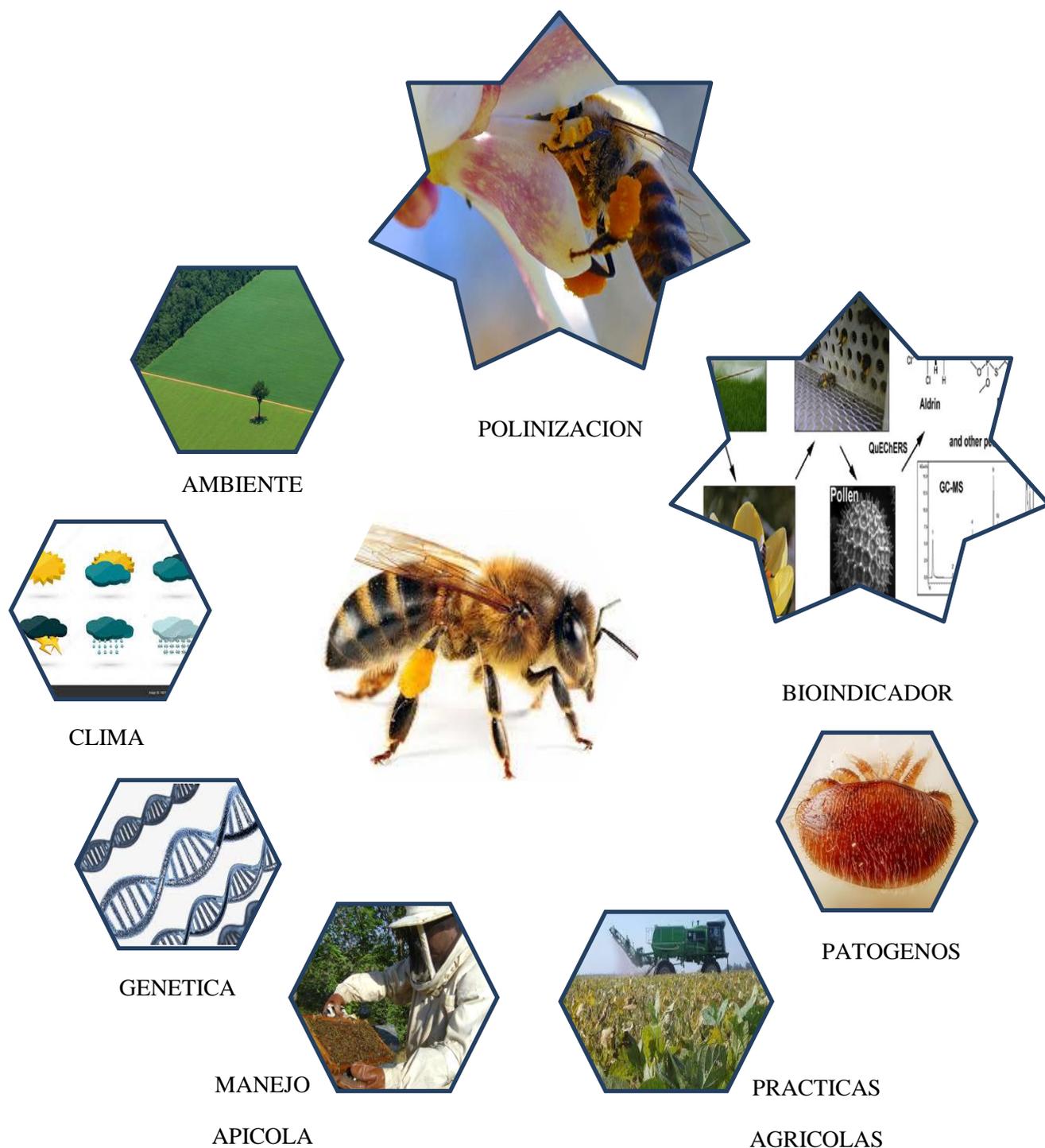


Figura 4. Representación esquemática de los factores que involucran a la apicultura.



El alcance de la complejidad de dichos factores, involucra abordar la temática desde la visión de paisaje, pensando tanto en los aspectos fisiobiológicos implicados (geografía, clima, tipo de abeja), como también incluir aquellos relacionados al conocimiento de las circunstancias productivas, socio-culturales y económicas tanto del apicultor como de los actores que desempeñan su labor en el territorio.

1.4.1. Polinización

Habitualmente se asocia a la abeja melífera con la obtención de miel y otros productos de la colmena. Sin embargo su principal función la ejercen como insectos polinizadores, transportando el polen de las partes masculinas de las plantas a las femeninas, asegurando así la formación de frutos o semillas. De esta manera, tanto las abejas melíferas como una amplia diversidad de organismos contribuyen a incrementar la productividad y sostenibilidad de los ecosistemas silvestres y agrícolas (Klein et al., 2007; Ricketts et al., 2008).

Actualmente, la mayoría de los cultivos requieren del uso de polinizadores manejados por el hombre, en especial las abejas melíferas (Aizen et al., 2008). Por otra parte, el cambio climático está causando modificaciones en la distribución de muchas especies vegetales y animales, provocando que los polinizadores respondan en gran medida reduciendo o ampliando sus rangos de acuerdo a las nuevas pautas climáticas (FAO, 2008).

Tanto en países integrantes del núcleo globalizado de la economía, como en algunos fuera de esta élite (Chile, Costa Rica o algunos países asiáticos) se reconoce a las abejas principalmente por su contribución en los servicios ambientales, como insectos polinizadores, que por su producción de miel (Bedascarrasbure, 2009).



1.4.2. La abeja como bioindicadora de contaminación ambiental

Debido a sus características morfológicas y etológicas (amplia e intensa zona de pecoreo), la abeja doméstica puede considerarse un excelente bioindicador. La particular relación que establece la abeja con el entorno, la convierte a ella junto a los productos de la colmena en bioindicadores de contaminación ambiental.

La determinación de residuos en miel y cera, entre otras matrices, de pesticidas utilizados en agricultura y en apicultura, podrían correlacionar la presencia de estos compuestos químicos con el estado de las colonias de abejas, siendo los medios más accesibles para realizar el monitoreo del ambiente.

1.4.3. Determinantes de la salud y supervivencia de las abejas

La supervivencia y salud de las abejas depende de varios factores: genética, ambiente, nutrición, manejo, salud.

Genética: los patrones comportamentales están condicionados por componentes tanto ambientales como genotípicos. Las conductas de las obreras están determinadas genéticamente (comportamiento defensivo, comportamiento higiénico) y además hay variación genética entre poblaciones en el desempeño de tareas como recolección de agua, néctar y polen (Nates-Parra, 2011). El comportamiento higiénico y la resistencia a diversas enfermedades varían de colonia a colonia y se basan en la herencia genética.

Ambiente: las condiciones ambientales (vientos, sequía, humedad ambiente, etc) y los factores ambientales (biológicos, químicos orgánicos o inorgánicos) influyen en el desempeño de las colonias de abejas. Durante el pecoreo, las abejas recogen néctar, polen, resinas vegetales y agua, estando expuestas a una amplia gama de productos inorgánicos y xenobióticos que son transportados y almacenados en la colmena.



Nutrición: el polen y néctar de las flores forman parte de la dieta de las abejas melíferas y cumplen una función esencial en el desarrollo de crías y adultos. El valor nutricional varía según su origen floral (Todd y Bretherick, 1942; Percival, 1961; Ibrahim, 1974). El polen constituye la principal fuente de aminoácidos, vitaminas, minerales y lípidos. Permite, entre otras funciones, el desarrollo de las glándulas hipofaríngeas, de las glándulas cereras, de los cuerpos adiposos y de los ovarios, ayuda a la secreción de jalea real y prolonga la vida útil de las abejas adultas (Standifer, 1967; Haydak, 1970; Knox et al., 1971; Machado y Camargo, 1972). El néctar es fuente de energía. Es por ello, que una adecuada nutrición de la colonia depende de la oferta, calidad y biodiversidad forrajera, como también del lapso de tiempo en que ingresa nectar y polen a la colmena.

Manejo apícola: Diversos factores de manejo susceptibles a ser implementados por el apicultor según su criterio y posibilidades, determinan en cierta medida la productividad de las colonias. Entre ellos encontramos a los tratamientos sanitarios, alimentación artificial, manejo del espacio, recambio de reinas, reemplazo de cera, trashumancia. Por otro lado, el manejo sanitario involucra la utilización de acaricidas necesarios para controlar la Varroosis, siendo las opciones actuales el uso de sustancias sintéticas como piretroides (flumetrina, fluvalinato); formamidina (amitraz) u organofosforados (coumaphos) o la utilización de moléculas orgánicas, como ácido oxálico, timol, eucaliptol, aceites esenciales, etc.

Prácticas agrícolas: el uso intensivo de pesticidas en la agricultura (Desneux et al., 2007; Karise, 2007), la degradación ambiental, con destrucción y fragmentación de los recursos naturales y hábitats semi-naturales, así como la intensificación del uso del suelo en los paisajes agrícolas parecen tener importantes efectos negativos sobre las abejas y otros polinizadores (Kremen et al., 2007; Tschamtker et al., 2005). Cualquier depósito de pesticidas dentro de la colmena podría tener efectos negativos a corto plazo que a menudo son poco visibles (Giesy et al., 2000), pero que podría perjudicar los comportamientos individuales y la organización social a largo plazo (Kirchner, 1999). La sensibilidad de las abejas melíferas a los plaguicidas depende de la toxicidad intrínseca del producto químico en relación con su estructura y objetivo, como también su persistencia en el organismo y si el metabolismo genera metabolitos tóxicos o desintoxica al organismo del compuesto (EFSA, 2012).



Otros factores ambientales modifican la sensibilidad de las abejas a los pesticidas, como la estación del año (Meled et al., 1998; Decourtye et al., 2003), edad (Guez et al., 2001), y la combinación entre productos químicos y patógenos como el microsporidio *Nosema sp.* (Alaux et al., 2010; Aufauvre et al., 2012). Además, diversos investigadores han apuntado a estos residuos de plaguicidas en cera como posibles causas de baja viabilidad de la cría, afectando por ello al vigor de toda la colonia. En concordancia con estos resultados, otras investigaciones con biomarcadores, han determinado que la presencia de pesticidas ocasiona menor peso por abeja, menor concentración de proteínas, mayores concentraciones de calcio, lo que evidencia tensión fisiológica y deterioro de las reacciones neurológicas (Chagnon, 2011). Actualmente, constituye una de las líneas de investigación a nivel mundial, como una de las posibles causas del Síndrome de Desplazamiento de las Colmenas (Medici, S. comunicación personal).

Salud: La colonia de abejas pueden ser afectadas por ácaros parásitos, *Varroa destructor* (Anderson y Trueman, 2000), *Acarapis woodi*, *Tropilaelaps spp.*, por hongos (*Nosema sp.*, *Ascospaera apis*), bacterias: *Paenibacillus larvae* (Matheson, 1993), *Melissococcus plutonius*, y otros enemigos (*Aethina tumida*, ratones) durante cualquier etapa de la vida. Tanto la presencia del agente etiológico (virus, bacterias, hongos, parásitos), como la cantidad y capacidad de propagación del mismo son importantes. Las enfermedades de las abejas se clasifican de acuerdo al agente etiológico y según la función de los individuos que son afectados en la colmena (FAO, 2017). Así, la Varroosis afecta tanto a la cría como a la abejas adulta, mientras que *Ascospaera apis*, *Paenibacillus larvae* y *Melissococcus plutonius* afectan a la cría únicamente, siendo las abejas adultas afectadas por *Acarapis woodi* y *Nosema sp.* A continuación se hará una breve descripción de las patologías señaladas:

La Varroosis es enfermedad parasitaria externa que afecta a las abejas mellíferas, producida por un acaro, *Varroa destructor*. Parasita tanto a las abejas adultas como a la crías con predilección por las crías de zánganos (Peng et al., 1987). Se alimentan de la hemolinfa de abejas adultas y cría, acortando su expectativa de vida. El daño ocasionado por *Varroa* incluye pérdida de peso corporal, nacimiento de cría con alas deformadas, faltante de las extremidades e incluso un número menor de segmentos abdominales y debilitamiento de las abejas (Marcangeli et al., 1992; Duay et al., 2003).



El ciclo se inicia con una hembra fecundada que ingresa a la celda de una cría justo antes de que ésta sea operculada. Comienza a poner huevos 30 horas después de operculada la celda. El primer huevo da origen a un macho y los siguientes a hembras. Los ácaros pasan por una metamorfosis desde larva a protoninfa, deutoninfa y luego adulta. El macho fecunda a todas las hembras antes de que la abeja nazca y muere, al igual que los ácaros femeninos inmaduros que mueren a medida que salen de la celda, debido a que no sobreviven fuera de la misma. Las hembras fecundadas salen y sufren dos fases en su ciclo de vida, la fase fóretica y la reproductiva. Durante la fase fóretica, *Varroa* se alimenta de abejas adultas ubicándose en los esternitos abdominales. Los ácaros perforan el tejido blando entre los segmentos y se alimentan de la hemolinfa, perjudicando al huésped (Calderone, 2007; Rosenkranz, 2010). Los ácaros que viven cuando la cría está presente en la colonia tienen una esperanza de vida media de 27 días, pero en ausencia de cría, pueden vivir durante muchos meses.

En climas templados, las poblaciones de ácaros pueden aumentar 12 veces en colonias con reinas que cortan la postura durante la invernada y 800 veces en colonias que tienen cría durante todo el año. Cuando la postura de la reina se reanuda a principios de primavera, se reinicia el ciclo. La población de ácaros aumenta con el desarrollo de la población de abejas durante la primavera y el verano, donde tiene su pico máximo, para luego decaer en otoño cuando la cría de abeja comienza a disminuir. En climas templados o cuando los inviernos no son tan rigurosos, las poblaciones de ácaros son más difíciles de controlar (Ellis et al., 2010).

Se han identificado poblaciones de ácaros resistentes, por lo cual la rotación de principios activos es indispensable para evitar la propagación de estas poblaciones y así extender el uso de los diversos acaricidas. Para ello se propone la selección de abejas tolerantes al ácaro, el monitoreo de las poblaciones de ácaros, los métodos de control no químicos, la rotación de los plaguicidas y la incorporación de moléculas orgánicas al Manejo Integrado de Plagas (Maggi et al., 2009).

Desde 2014, Argentina cuenta con una alternativa orgánica desarrollada a partir de ácido oxálico en un soporte de celulosa, que otorga mejores perspectivas para el control de *Varroa*.

Nosemosis: El microsporidio *Nosema apis* (Zander) (Fries, 1993) fue el único responsable de producir Nosemosis hasta que en Europa fue identificado *Nosema ceranae* (Higes, 2006). La Nosemosis causada por *Nosema ceranae* parece ser más virulenta que la causada por *Nosema apis*, produciendo mayores niveles de Mortandad en abejas obreras



(Higes, 2008). Ambas especies son parásitos intracelulares obligados de la abeja melífera adulta que invaden las células epiteliales del ventrículo. Las esporas producidas por los microsporidios ingresan al huésped junto con el alimento o al limpiar las heces de abejas infestadas. Invaden la región posterior del ventrículo y dentro de la célula se multiplican por reproducción sexual y asexual en un corto período de tiempo. El pico de esporulación se produce a finales de invierno - principio de primavera. Las esporas se expulsan con las heces y en ellas pueden permanecer viables durante más de 1 año. Parece probable que la contaminación fecal de la cera, especialmente en los panales empleados para la cría, o de otras superficies interiores de la colmena, proporcione inóculo suficiente para que se puedan transmitir con éxito a la siguiente generación de abejas (OIE, 2004). Esta parasitosis se caracteriza por acortar drásticamente la vida de las abejas, generando graves pérdidas en la producción de material vivo (Malone y Gatehouse, 1998).

Loque americana (LA): considerada la enfermedad más grave y peligrosa que afecta a las larvas y pupas de las abejas melíferas (*Apis mellifera L.*) (Genersch, 2010). Está difundida a nivel mundial en todos los países productores de miel y su agente causal es la bacteria esporulada gram positiva *Paenibacillus larvae* (Genersch, 2006). Las esporas, que constituyen la forma infectiva y de supervivencia, mantienen su capacidad patógena por largos períodos, además de ser muy resistentes al calor, los agentes químicos y la radiación UV.

La espora ingresa a la prepupa con el alimento, se produce una septicemia y la cría muere luego de ser operculada la celda. Las celdas afectadas tienen los opérculos roídos, hundidos, oscuros, con aspecto grasiento. Al introducir un palillo a través del opérculo, se extrae una masa viscosa de color variable entre amarillento y castaño oscuro, casi negro que se estira más de 2,5 cm. Esto se conoce como “prueba de palillo o del chicle” y se emplea en el diagnóstico de campo de la enfermedad.

Transcurrido un tiempo, los restos larvales se secan dando lugar a la formación de una escama, con billones de esporas, que se adhiere firmemente a la base de la celdas. Los marcos afectados presentan olor semejante a cola de carpintero (Bailey et al., 1991; Shimanuki, 1990). Las esporas son inocuas para la abeja adulta porque no pueden germinar en su tracto digestivo (pH 3-3,5). Las abejas que remueven las crías muertas dentro de la



colmena diseminan las esporas contaminando miel, polen, cera, etc. Entre colmenas e incluso entre apiarios, la diseminación se produce principalmente por pillaje, enjambres, intercambio de material y deriva de abejas.

Existen actualmente métodos de identificación de LA por medio de PCR empleando ADN de larvas afectadas como molde, y a campo se puede hacer el diagnóstico utilizando un Kit comercial (VITA®). La quema de colmenas ha posibilitado que en muchos territorios la LA se mantenga con niveles bajos. Sin embargo, donde la incidencia es alta, se utiliza el antibiótico oxitetraciclina (OTC) para prevención y control de la enfermedad, lo que ha generado casos de resistencia de cepas de LA provenientes de EE.UU, Canadá y Argentina a la OTC.

Paralelamente el empleo indiscriminado de antibióticos trajo como consecuencia la aparición de residuos en miel, reducción de la expectativa de vida de las abejas, alteraciones de la microbiota de la colmena y selección natural de cepas de LA resistentes. Por estas razones, es importante considerar que el control de esta enfermedad bacteriana, implica el uso de estrategias que contemplen la incorporación de líneas de abejas con mayor comportamiento higiénico, el control biológico utilizando mecanismos antagónicos, y el empleo de compuestos naturales derivados de aceites esenciales, propóleos y ácidos grasos (Alippi, 2011).

Loque europea (LE): es considerada una enfermedad de menor importancia en la producción primaria (Bailey y Ball, 1991). Al ser de carácter estacional (ataca en primavera o principios de verano y ocasionalmente en otoño), su seriedad varía según los casos, siendo particularmente grave en colonias trashumantes que se emplean para la polinización de cultivos. Su agente causal es una bacteria anaerobia no esporulada, *Melissococcus pluton* (anteriormente *Streptococcus pluton*) (Bailey y Collins, 1982).

Su distribución es cosmopolita, con excepción de Nueva Zelanda (Matheson, 1993). En la Argentina, LE fue detectada en 1959 (Camugli, 1962). La sintomatología se caracteriza por presentar cuadros con cría salteada. Como afecta a las larvas sin opercular (entre 4 y 5 días de edad larval) estas presentan una coloración desde amarillenta a castaña oscura. A diferencia de Loque americana, no produce “chicle” y cuando se desecan se forman escamas fácilmente removibles.



Virosis: se han identificado por lo menos 18 virus diferentes capaces de infectar a las abejas. Estos virus tienen distribución cosmopolita. En Argentina, recientemente se ha detectado al virus de la parálisis aguda de la abeja (ABPV), de la parálisis crónica de la abeja (CBPV) y Sacbrood (SBV) (Reynaldi et al., 2010). A nivel mundial además de los virus citados, se encuentran otros: Virus de Kashmir (KBV), Virus israelí de la parálisis aguda (IBPV), Virus de las alas deformadas (DWV). El virus ABPV fue aislado de abejas adultas sanas de varias regiones del mundo: Francia, Italia, Canadá, China, Estados Unidos, Nueva Zelanda. Se ha determinado que el ABPV tiene una distribución geográfica similar a la de *A. mellifera*.

Experimentalmente, la administración del virus a las abejas junto con la alimentación, pulverización o inyección provoca temblor, parálisis de alas y cuerpos dentro de 2 a 4 días, seguido por la muerte en 1 a 2 días más tarde. La parálisis aguda causada por ABPV podría considerarse como una enfermedad viral emergente cuyo agente etiológico siempre había estado presente, pero se ha vuelto más virulento en asociación con la infestación por *V. destructor*.

El ácaro actuaría únicamente como un vector mecánico, ya que no hay replicación del virus en el mismo (Genersch y Aubert, 2010). El virus DWV es considerado como uno de los principales factores asociados con el colapso de las colmenas de abejas infestadas por *V. destructor* y, por lo tanto, las abejas con alas deformadas son sintomáticas de las etapas finales del despoblamiento de la colonia y se describe como el síndrome del ácaro parásito.

1.5. Síndrome de despoblamiento de las colmenas

Se presume que en los últimos años, se ha producido un cambio grave, caracterizado por una incomprensible disminución de las colonias de abejas melíferas en Estados Unidos y algunos países de Europa (Aizen y Harder, 2009; vanEnelsdorp, 2007). Estas mermas se definen como una rápida pérdida de abejas obreras adultas de las colonias y la falta de síntomas aparentes, dándole la ambigua denominación de “Colony Collapse Disorder” o CCD o “Síndrome de Despoblamiento de Colmenas” o SDC, en sus siglas en inglés y en castellano respectivamente. Se caracteriza por ausencia de abejas muertas en los alrededores de la colmena, y los panales de reserva de miel no



son pillados por varias semanas. Hasta el momento la hipótesis de mayor aceptación que surge del análisis de datos en diferentes partes del mundo, sugiere que no es una enfermedad monocausal, sino una combinación de parásitos y patógenos sumados a la exposición crónica a pesticidas que producen consecuencias letales en colonias previamente debilitadas por enfermedades, como es el caso de la activación y transmisión viral en presencia de *Varroa destructor* (Doublet, 2011).

Si bien existen controversias entre autores sobre si la tendencia mundial revela que la población de abejas se encuentra en crecimiento (Aizen et al., 2009) o si existen fuertes evidencias de una marcada caída de las poblaciones de polinizadores (Biesmeijer y col., 2006; Higes y col., 2007) o si estamos o no ante una "crisis global de polinizadores" (Allsopp et al, 2008;. Ghazoul, 2005a, 2005b; Steffan-Dewenter et al., 2005) no hay duda de que muchas abejas solitarias y sociales están disminuyendo (Ghazoul, 2005a, 2005b; Steffan-Dewenter et al, 2005).

Capítulo II: Caracterización de la Mortandad reportada por los Productores Apícolas del Departamento Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

2.1. La apicultura en contexto

La producción apícola forma parte del sistema de producción pecuario contribuyendo a la economía agraria a partir de la generación de divisas. Su importancia estratégica socio-económica, radica en que es una actividad alternativa para las economías regionales y sus productores rurales de pequeña y mediana escala. Esta actividad a través de la polinización favorece el incremento de diversas producciones agrícolas tales como la fruticultura, horticultura, algunas oleaginosas, alfalfas para la producción de semillas, entre otras (Cane 2002).

En Argentina la apicultura ha experimentado un notable desarrollo en las últimas décadas, posicionándose como uno de los países con mayor crecimiento y adaptabilidad a las condiciones del mercado externo. En 2008 la cantidad de apicultores registrados rondaban los 13.000, siendo la provincia de Córdoba la primera en número de apicultores y la segunda en cantidad de colmenas (Tabla 1).

Tabla 1. Cantidad de productores y colmenas por provincia. Año 2008. Fuente: MinAgri.

Provincia	Nº de colmenas	Nº de productores	Colmenas/ productores
Buenos Aires	450.880 25%	2.818 22%	160
Córdoba	337.061 19%	2.900 22%	116
Capital	230.000 13%	1.150 9%	200
Entre Ríos	201.784 11%	1.140 9%	177
La Pampa	199.749 11%	930 7%	214
Santa Fe	191.040 11%	1.194 9%	160
Corrientes	71.200 4%	1.424 11%	50
Chaco	25.200 1%	280 2%	90
Mendoza	24.507 1%	184 1%	133
Resto	60.454 3%	882 7%	69
Totales	1.791.875 100%	12.902 100%	138



De acuerdo a la FAO (Food and Agriculture Organization, Organización para los Alimentos y la Agricultura, de las Naciones Unidas) actualmente el país ocupa el tercer lugar como productor de miel después de China y Estados Unidos y uno de los primeros puestos como exportador, destinando el 95% de la producción al mercado externo (Blengino, 2014).

De amplia distribución en el territorio nacional, actualmenete (2017) involucra la participación aproximada de 30.000 apicultores (Registro Nacional de Productores Apícolas), ubicandose la provincia de Córdoba en el cuarto lugar en cantidad de apicultores, apiarios y colmenas (Tabla 2).

Tabla 2. Principales provincia apícolas 2017. Fuente: Síntesis Apícola. Ministerio de Agroindustria.

	Buenos Aires	Entre Ríos	Santa Fe	Córdoba	La Pampa	Chaco	Mendoza
Apicultores	2371	2022	890	632	251	498	402
Apiarios	8939	6183	2832	1190	1186	911	1341
Colmenas	742787	570107	229330	200703	155033	42608	87812

En aproximadamente una decada, las variaciones en el eslabón primario de la cadena apícola, significaron que, para el caso de la provincia de Buenos Aires el promedio de colmenas por productor craciera de 160 a 313 unidades. Tanto Entre Ríos como Chaco duplicaron el número de apicultores registrados y la cantidad de colmenas. En el caso de Córdoba, si bien aumentó el promedio de colmenas por productor (de 113 a 317) pasó de ser la provincia con mayor cantidad de apicultores registrados en 2008 al cuarto lugar en 2017 (de 2.900 a 600) disminuyendo significativamente el número de colmenas (330 mil a 200 mil). La provincia de La Pampa sufrió una disminución importante tanto de colmenas como de apicultores registrados. En Santa Fe son menos los apicultores aunque han aumentado el número de colmenas en el transcurso de éste período. Por último, Mendoza ha triplicado su numero de apicultores y cuadruplicado el de colmenas, siendo la provincia de mayor crecimiento. Estos datos deben ser tomados con cautela, ya que desde 2015 se implementó un reempadronamiento, vía on line, de los productores en el RENAPA y aún queda una porcion indefinida de apicultores que no han realizado éste trámite



principalmente debido a la dificultad para acceder al servicio de internet y poseer conocimientos sobre el uso de computadoras

2.2. Aportes de la Apicultura a las Economías Regionales.

El número de productores apícolas inscriptos en la provincia de Córdoba, asciende a 632 con 200.703 colmenas, distribuidas en cinco zonas de producción. Tradicionalmente la actividad se concentraba en el sur y sureste de la provincia, caracterizada por su clima húmedo, donde los establecimientos agrícolas y ganaderos con diversidad de pasturas favorecían una productividad, que rondaba entre los 60 y 80 kilos anuales por colmena.

Sin embargo, el sector ha experimentado una disminución de los rendimientos de miel, debido a una menor disponibilidad de flora melífera como resultado de las transformaciones ocurridas en el sector agropecuario, con una fuerte tendencia hacia la agriculturización, el desplazamiento de la ganadería a zonas marginales y los cambios en las condiciones climáticas (Garzón y Young, 2016).

Como consecuencia de esto las autoridades de la provincia de Córdoba declararon la emergencia apícola desde el año 2007 hasta el año 2010, ya que además de la disminución drástica de los rendimientos (5 a 7 kilos/colmena anuales) se reportó un incremento de los niveles de Mortandad de colmenas. Este nuevo contexto ocasionó el abandono o reducción de la cantidad de las colmenas, mientras que otra alternativa fue migrar hacia a la región fitogeográfica chaqueña del noroeste de Córdoba, caracterizado por la biodiversidad del monte nativo (Garzon y Young 2016).

Abundante documentación científica demuestra que la Mortandad de las abejas no solo tiene consecuencias sobre la producción de miel, sino que afecta principalmente la capacidad de polinización de cultivos en varios países (Potts et al., 2016), y el mantenimiento de la biodiversidad en los ecosistemas, ocasionando preocupación por los efectos negativos sociales, económicos y ecológicos (Potts et al., 2010b).

Entre los principales factores causales de Mortandad se mencionan las deficiencias nutricionales, menor vitalidad de las abejas por efecto de pesticidas, mayor recambio natural de



reinas, (Rodríguez, 2018), presencia de patógenos, parásitos, virus, que pueden actuar individualmente o en combinación (Rogers et al., 2007; Neumann et al., 2010).

Factores relacionados al manejo, como las limitaciones en el control de algunas enfermedades, relacionadas al monitoreo precoz de *Varroa destructor* (Giacobino et al., 2016) o al uso de acaricidas artesanales, cuyas concentraciones no han sido controladas (vanEngelsdorp y Maixner, 2010), contribuyendo a la contaminación de los productos de la colmena y al desarrollo de resistencia (Wallner, 1999; Wallner y Fries, 2003). Otro factor considerado como clave es el recambio de reinas, que influye en la renovación de la población de abejas y las pérdidas causadas por Nosemosis (Botías et al., 2012).

En Argentina, según un informe publicado por Bacci (2007), la Mortandad de colmenas no había alcanzado, hasta ese momento, los niveles descritos para el síndrome de despoblamiento de colmenas (SDC o CCD en inglés) en EE.UU (Seitz et al., 2016) o en el continente europeo, donde en los últimos años se registró un incremento de pérdidas de colmenas, que alcanzaron niveles de Mortandad invernal del 25 al 50 por ciento (Potts et al., 2010a).

Los antecedentes disponibles, por ejemplo de la zona central de la provincia de Santa Fe, entre otros aspectos, concluye que se ha registrado una importante Mortandad de colmenas, debido a inadecuadas medidas de manejo y condiciones ambientales adversas (Ulmer et al. 2012).

En la provincia de La Pampa, Real Ortellado (2001), señala que la Mortandad invernal, si bien es un indicador en el que intervienen varios elementos (clima, sanidad, genética, ubicación del apiario, entre otros), refleja en cierta medida el conocimiento y la habilidad del apicultor para combinar los distintos factores de producción. El mismo autor, sugiere que una Mortandad normal, estaría constituida por pérdidas de entre 5 y 8% de las colmenas durante el periodo otoño invierno-primaveral.

Por todo lo expuesto, se puede deducir que en la pérdida de colmenas intervienen múltiples factores donde la experiencia apícola juega un papel importante, como una variable multidimensional que involucra aspectos difíciles de cuantificar (tiempo invertido en el apiario,



experiencia detectando la presencia de enfermedades en las colonias, etc.). Por esta razón, la caracterización de las prácticas apícolas llevadas a cabo por los apicultores, como así también las particularidades de las empresas apícolas, podrían aportar información que permita relacionar diferentes variables sociales y productivas con los niveles de Mortandad.

En este sentido, la utilización de encuestas sobre la salud de las abejas melíferas a nivel mundial, tienen por objeto ayudar a comprender la actual disminución general que sufren en diferentes partes del mundo. El objetivo general de esas encuestas es reunir datos pertinentes para poder evaluar la asociación entre las pérdidas de colonias y los factores explicativos potenciales, incluido el manejo de la apicultura y la presencia de plagas y patógenos (Requier et al, 2016).

Los datos así colectados, son susceptibles a ser analizados por diversos métodos y técnicas que permiten caracterizar y clasificar los sistemas de producción agrícolas y pecuarios, entre los que sobresalen los multivariados, tales como el análisis de componentes principales, el análisis de factores (Duvernoy, I.; 2000) y el análisis de conglomerados (Köbrich, et al. 2003).

Este trabajo intenta aportar al entendimiento de la variabilidad en estilos de manejo de los sistemas de producción apícola, y a la distribución de la Mortandad reportada por los apicultores residentes del Departamento Río Cuarto, en relación a las características de los mismos.

2.3. Hipótesis

Se estima a priori que en base a los datos del Censo Apícola del Departamento Río Cuarto se pueden identificar diferencias entre productores, conformando conglomerados, donde se esperaría encontrar variación en los niveles de Mortandad reportados, entre los mismos.

2.4. Objetivo general

Describir y caracterizar al sector primario de la Cadena Apícola del Departamento Río Cuarto.



2.5. Objetivos específicos

- a) Describir la magnitud y distribución espacial de la Mortandad en apiarios.
- b) Tipificar subgrupos de productores según prácticas de manejo y características del productor.
- c) Evaluar las diferencias de Mortandad entre subgrupos de productores identificados.

2.6. Materiales y métodos

En el año 2008 se realizó un Censo Apícola del Departamento Río Cuarto, como una iniciativa conjunta entre la UNRC y la Municipalidad de Río Cuarto.

2.6.1. El Departamento Río Cuarto

El departamento Río Cuarto, se ubica al suroeste de la Provincia de Córdoba, República Argentina (Latitud 33°08'00"S Longitud 64°20'00"O). Cuenta con una superficie de 18.394 km² y está dividido en siete pedanías (Figura 5). La población alcanza los 246.393 habitantes (7,44% de la población provincial), según el Censo 2010

Límita al:

Norte: Departamentos Calamuchita y Tercero Arriba.

Sur: Departamento General Roca.

Este: Departamentos Juárez Celaman, Tercero Arriba y Pte. Roque Sáenz Peña

Oeste: Provincia de San Luis.

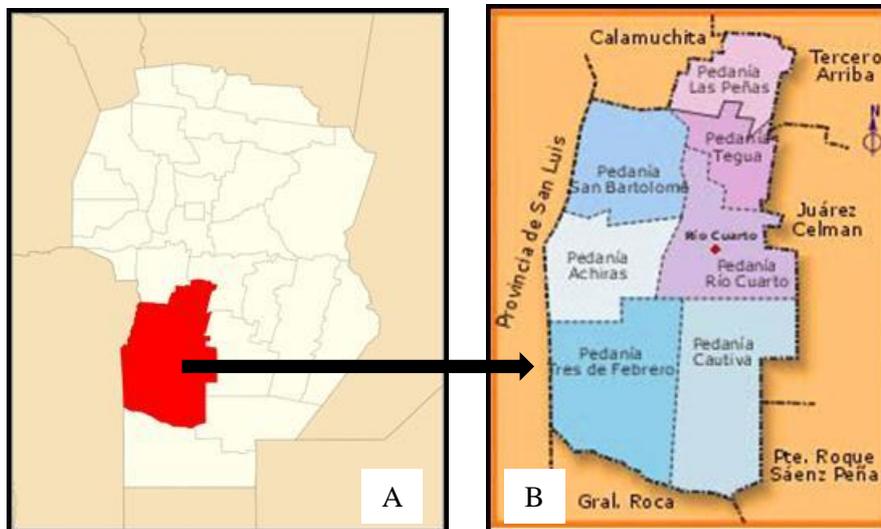


Figura 5. Mapa de la provincia de Córdoba (A) y del Departamento Río Cuarto (B).

2.6.2. Población bajo estudio

La población bajo estudio estuvo constituida por los apicultores inscriptos en el Registro Nacional de Productores Apícolas (RENAPA). De esta manera se considera sujeto de ser censado, a aquel apicultor que figure en este registro.

2.6.3. Censo apícola

Como se mencionó anteriormente, en 2008 se realizó un censo apícola en el Departamento Río Cuarto. En esa oportunidad la información colectada tuvo un primer análisis descriptivo, sin embargo quedó pendiente aplicar un análisis de mayor profundidad y que relacionara a la Mortandad reportada por los apicultores con el conjunto de variables colectadas en la encuesta.

Al inicio de la presente tesis, los datos del censo fueron la única información disponible y los resultados aquí exhibidos, al día de hoy, son los primeros que describen al sector productivo primario de la cadena apícola del departamento Río Cuarto.



La encuesta implementada (Anexo I) se basó en 27 preguntas y recabó información reportada por los apicultores considerando aspectos sociales, productivos, comerciales, sanitarios, nutricionales, y de manejo, entre otros. Elaborado el primer borrador de la encuesta, la misma se consensuó con técnicos referentes del sector para que realizaran una evaluación temática, de pertinencia de los tópicos y claridad de las preguntas. Una vez organizada la información, y habiendo definido el cuestionario para la colecta de datos, se seleccionó y capacitó a los encuestadores.

La iniciativa del censo fue difundida por los medios audiovisuales de la región con el propósito de asegurar la mayor participación de productores en el mismo. Posteriormente, se realizó un relevamiento telefónico, a partir del cual se estableció un padrón con los apicultores que continuaban en actividad, a los cuales se los entrevistó personalmente en sus domicilios o lugares de trabajo.

Recabada la información, se confeccionó la base de datos en el programa Excel de Microsoft para, a continuación, codificar las variables y analizarlas utilizando el programa InfoStat.

2.6.4. Análisis descriptivo de los datos censales.

Se aplicó un análisis exploratorio de datos, mediante medidas resumen y tablas de frecuencias. Las variables categóricas fueron resumidas en frecuencias relativas y absolutas y a las de tipo continuo se las analizó mediante la descripción de medidas de tendencia central y de dispersión con la finalidad de tipificar a los productores.



Organización de las variables en dimensiones previo a la tipificación

Las variables de la encuesta fueron organizadas en cuatro dimensiones:

- I.- Aspectos sociales del apicultor (6);
- II.- Nivel de tecnificación (aspectos productivos) (24),
- III.- Aspectos sanitarios (43);
- IV.- Aspectos de manejo (7).

Aquellas variables que presentaron registro incompleto superior al 10% (dato perdido) no fueron utilizadas en el análisis multivariado ($n=3$). Estas fueron: década de inicio de la actividad, cantidad de personas con las que atiende las colmenas y kilos de azúcar utilizados para alimentar anualmente. Las variables con frecuencia de clases mayor a 0,95 y menor a 0,05 no fueron tenidas en cuenta por presentar pequeña variabilidad en la respuesta ($n=20$) y se detallan con asterisco en la Tabla 5.

2.6.5. Etapas del análisis estadístico de datos

Selección de variables para el análisis de conglomerados

En cada dimensión, las variables se ordenaron por grupos temáticos clasificandolos mediante tablas de contingencia (Agresti 1990), que permite construir tablas de clasificación cruzada según diversos criterios de clasificación (Balzarini et al.2008). Posteriormente se evaluó la correlación mediante un Análisis de correlación multivariado de Correspondencias Múltiples (ACM). La selección de variables dentro de cada grupo temático se realizó considerando el mayor peso relativo en el eje 1 de cada gráfico del ACM.



Clasificación de los productores Apícolas

Con las variables seleccionadas en la primera etapa se realizó un Análisis de Conglomerado (Balzarini et al.2008). La medida de distancia utilizada fue Gower ($\sqrt{1-S}$). El Análisis de Conglomerado fue del tipo jerárquico con algoritmo de encadenamiento completo con el propósito de tipificar a los productores Apícolas.

2.7. Resultados

En el padrón del RENAPA del Departamento Río Cuarto figuraban inscriptos en 2008, 664 personas, de los que se constató que un porcentaje importante, 11,1% no existían o correspondían a errores de padrón (duplicaciones, fallecimientos, etc.). De esta manera la población se redujo a 590 apicultores (20,3% del total provincial) de los cuales se pudo contactar telefónicamente al 51,0% (301/590) de ellos. El primer contacto telefónico permitió constatar que el 63,1% de las personas continuaba en la actividad (190/301), mientras que un 36,8% (111/301) manifestó haber abandonado la misma.

2.7.1. Razones del abandono de la actividad

Cuando se indagaron las causas del abandono de la actividad, dentro de los motivos mencionados, manifestaron problemas coyunturales que llevaron al cambio de rubro a un 26,00% de este segmento encuestado y que coincide con la caída en la rentabilidad del sector (20,90%), la merma en los rendimientos de kilos de miel por colmena (18,90%) mientras que dentro de los “Otros motivos” que ocasionaron que un 34,10% abandonara la actividad, se destacan aspectos relacionados a problemas de seguridad, de salud, fallecimiento y a “falta de tiempo” del apicultor.



2.7.2. Características estructurales de los apicultores en actividad entrevistados

Se realizaron 190 encuestas a productores apícolas del Departamento Río Cuarto que se mantenían en la actividad. La participación de la mujer en la apicultura era del 12,63 %. Como forma de visualizar el alcance de los datos obtenidos, es importante considerar que los apicultores encuestados gestionaban en conjunto 58.955 colmenas, distribuidas en 1.045 apiarios con un promedio de 56,4 colmenas/apiario. El tamaño de las empresas apícolas no era homogéneo. En base a los datos colectados relativo al número de colmenas, se categorizó a los establecimientos en tres estratos: superior (ES); medio (EM) e inferior (EI). En el ES se encuentran el 12,29% de los apicultores con más de 600 colmenas. En el EM, con un 24,06% de los productores que poseían entre 220 y 600 colmenas, mientras que en el EI está el mayor porcentaje (63,63%) de apicultores, que gestionan hasta 220 colmenas. Por otro lado, el 70.0% de los apicultores distribuían sus colmenas entre 1 a 5 apiarios, un 20.0% lo hacía entre 6 y 15 apiarios, mientras que un número reducido de apicultores (n=12) gestionaban entre 16 a 65 apiarios (6.5%).

2.7.3. Perfil de los productores en actividad

Para elaborar un perfil de los mismos, se comenzó por analizar la cantidad de años que en promedio tienen de experiencia en el sector, que fue de 14 años (rango de 3 a 52 años). Para la mayoría de los encuestados (72,0%) la apicultura es una actividad complementaria, donde el 55,0% de los productores recurren a mano de obra involucrando a la familia o siendo asistidos por personal temporario. Intervienen en su mayoría (86,0%) 1 o 2 personas (Tabla 3).

Otra característica que se manifestó de manera categórica, es la muy baja participación de los apicultores en asociaciones o agrupaciones. En términos generales el 79,0% de ellos no forma parte de alguna asociación. Cuando se les consultó a los que sí participaban de cuál organización se trataba, las dos respuestas con mayor frecuencia fue Mieles del Sur (52,0%) y Grupos de Cambio Rural, del INTA (21,0%). Cabe aclarar que Mieles del Sur, fue una Sociedad de Economía Mixta impulsada por el municipio de Río Cuarto que asociaba a apicultores de la región y que contaba con una sala de Extracción y Fraccionamiento de miel aprobada por SENASA. Otro resultado que va en la misma línea que el anterior, es el grado

de participación/conocimiento que tienen del Consejo Asesor Apícola Provincial (CAA). El 96,0% de los apicultores (181/189) no participó del mismo y de ellos un 25,9% desconocía la existencia de este organismo (47/181). Para ponerlo en perspectiva, sólo ocho apicultores participaban del CAA. Otro aspecto relevante se refiere a si los apicultores recibían algún tipo de asesoramiento a lo cual un cuarto de los encuestados (47/190) respondió afirmativamente, indicando que el mismo fue sobre aspectos puntuales o integrando varias temáticas: sanitario (16,0%), productivo (13,0%), comercial (7,0%), otros (3,0%) y sus combinaciones.

Tabla 3. Relevancia de la actividad apícola en el Departamento Río Cuarto
(Censo Apícola 2008).

La apicultura es su principal actividad	N	(%)
Si	50	26,31
No	136	71,57
no contesta	4	2,10
Trabaja solo las colmenas		
Si	84	44,21
No	104	54,73
no contesta	2	1,05
Origen de la mano de obra		
Familiar	53	51,45
Personal temporario	28	27,18
Personal permanente	9	8,73
Familiar/Personal temporario	10	9,70
Familiar/Personal temporario/Personal permanente	2	1,94
Personal temporario/Personal permanente	1	0,97
Cantidad de personas que intervienen en la empresa		
1 persona	36	49,31
2 personas	27	36,98
3 personas	9	12,32
4 personas	1	1,36

2.7.4. Productos de la apicultura y formas de comercialización

El 35,6% de los encuestados que respondieron sobre este aspecto, manifestó no diversificar la producción (66/185) mientras que el 64,3% de los apicultores (119/185) además de miel, obtienen otros productos, como cera (56,84%), propóleos, núcleos, reinas, celdas reales, polen, jalea real, siendo la apitoxina el único producto de la colmena que no es aprovechado por ningún apicultor. También fueron consultados sobre el destino de los productos antes mencionados. Si son para autoconsumo o son comercializados.

En la Tabla 4 se puede observar que de los 119 apicultores del Departamento que producen otros productos de la apicultura además de la miel, el 86,5% produce cera, aunque sólo el 57,9% la comercializa. Siguiendo en orden de importancia se encuentra la producción de núcleos, que supera el 20,0% en todo el departamento, aunque el porcentaje se reduce a menos de la mitad cuando se trata de comercialización, lo que indica que un 13,5% produce núcleos para reposición o multiplicación de sus propios apiarios. Luego se encuentran el propóleos, las celdas reales y la cría de reinas, que aproximadamente el 10,0% de los apicultores los producen.

Tabla 4. Productos de la apicultura en el Dpto. Río Cuarto (en porcentajes de apicultores).

PRODUCTOS DE LA APICULTURA en el Dpto. RIO CUARTO
(en porcentaje de apicultores que no producen sólo miel)

TOTAL Dpto.	Cera	Propóleos	Polen	Jalea Real	Api toxina	Reinas	Celdas Reales	Núcleos	Paquetes
Produce	86,5%	11,3%	3,8%	2,3%	0,0%	9,2%	10%	21,8%	0,8%
Comercializa	57,9%	2,5%	0,8%	0,0%	0,0%	2,5%	3,8%	8,3%	0,8%

La forma de comercialización indica que más de la mitad (54,7%) de los apicultores que están en actividad en el Departamento venden su miel a granel al acopiador o directamente al exportador. Un pequeño porcentaje, aproximadamente el 8,0%, vende a los



acopiadores miel fraccionada, mientras que el 15,0% aproximadamente vende miel fraccionada directamente a comercios minoristas o consumidores (Tabla 5).

Tabla 5. Formas y destinos de comercialización de la miel.

MODOS DE COMERCIALIZACION DE LA MIEL
(en porcentaje de apicultores en la actividad)

TOTAL Dpto.	Acopiador	Exportador	Exporta Directo	Minorista	Mayorista	Otros
A Granel	54,7%	22,0%	0,9%	7,0%	4,7%	0,9%
Fraccionado	7,9%	0,8%	0,0%	15,0%	0,9%	8,9%

2.7.5. Mortandad reportada

Magnitud de la Mortandad

Unos de los aspectos de mayor relevancia en el presente análisis está relacionado a la Mortandad (Mt) de colonias de abejas durante la temporada 2007/2008. En la Figura 6, se representan los datos del 90,5% de los apicultores que respondieron sobre este aspecto (n=172).

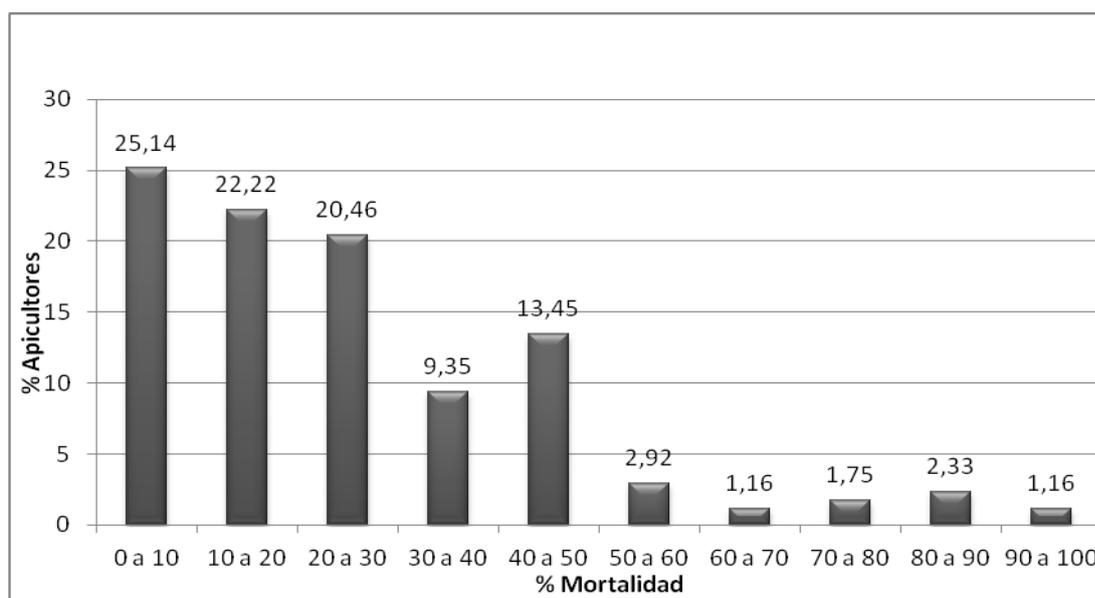


Figura 6. Magnitud de la Mortandad reportada por los productores encuestados.

La Mediana de la Mt reportada fue del 25,0% presentando un rango de 0,0 a 100,0% de Mt. El 25,0% de los apicultores tuvieron pérdidas inferiores al 10,0% de sus colmenas. Un 43,0% reportaron pérdidas entre el 11,0 y 30,0% de sus colmenas, un 22,8% tuvo perdidas entre el 31,0% y 50,0% de sus unidades productivas, mientras que una menor proporción (9,32%) reporto Mt entre 50,0 y 100,0% de sus colmenas (Fig.6).

Distribución espacial de la Mortandad reportada

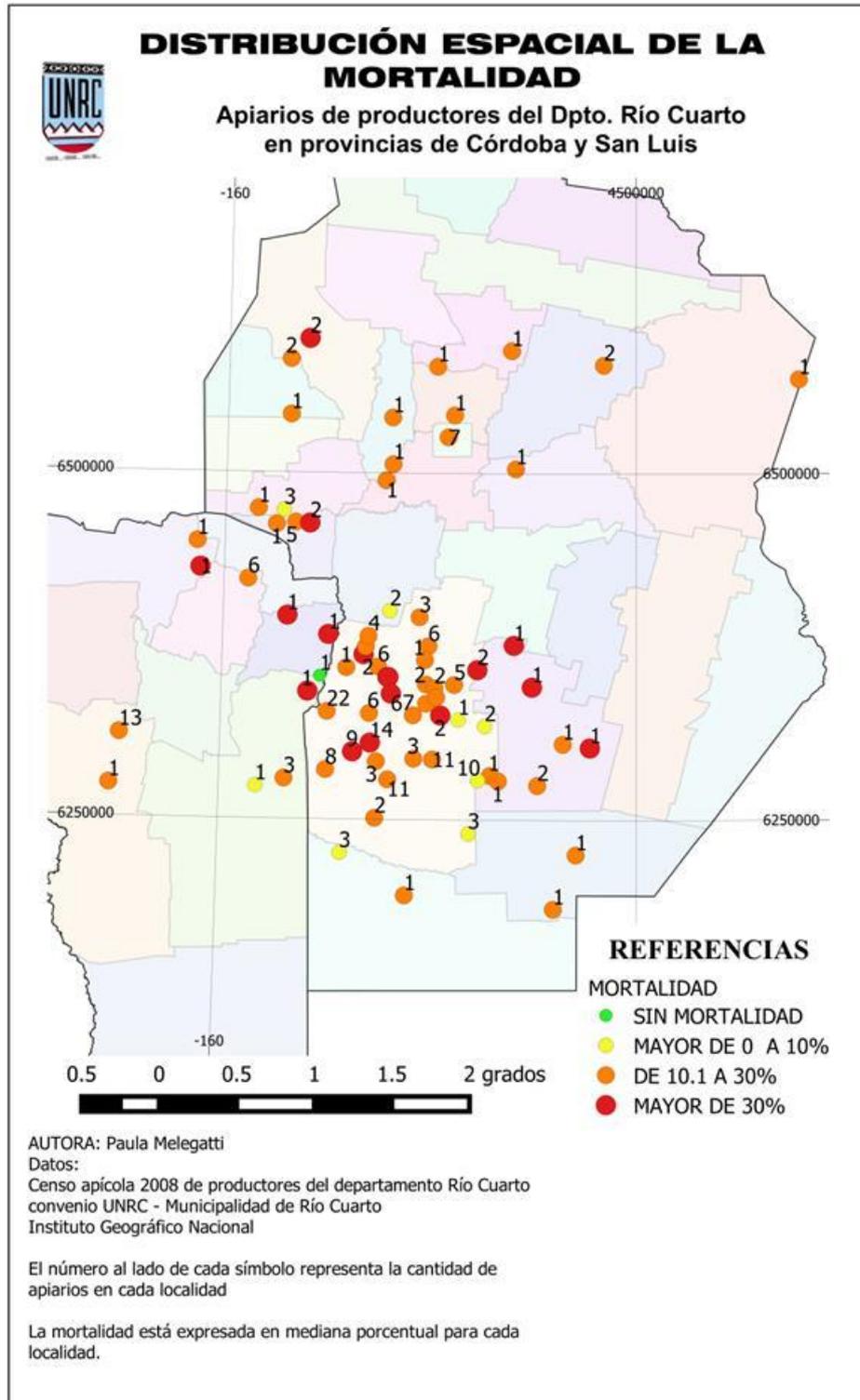


Figura 6. Mapa de la distribución espacial de los apiarios, señalando los porcentajes de Mortandad reportada y la cantidad de apiarios por localidad.



La distribución geográfica de los apiarios no parece indicar algún nivel de agregación en el espacio en relación a los porcentajes de Mortandad reportada (Figura 6).

Entre los factores esgrimidos como causas de Mortandad (Mt) se destacan las pérdidas por hambre y fumigaciones en primer lugar (61,0%). En segundo plano se atribuyen a poca atención y despoblamiento (39,0%), mientras que las pérdidas por varroa y colmenas que se vuelven zanganeras rondan el 25,0% dejando a otras patologías (Loque americana y Nosemosis) como causas de pérdidas marginales (6,0%). No se reportaron pérdidas debidas a la presencia del moscardón cazador de abejas. Las pérdidas reportadas como “otras” abarcan principalmente a factores climáticos (58/88) como frío, nieve e inundaciones. Es de destacar que las pérdidas se atribuyen en general a más de una causa (Tabla 6).

Tabla 6. Causas de Mortandad reportada. Censo Apícola 2008, Dpto. Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

CAUSAS DE MORTANDAD	N	%
Poca Atención	42	22
Hambre	54	28
Despoblamiento	32	17
Fumigaciones	62	33
Zanganeras	23	12
Varroa	24	13
Loque americana	6	3
Nosema	6	3
Moscardón	0	0
Otras	88	47
TOTAL	337	178

2.7.6. Prácticas de manejo

Sanidad

Varroosis

En el caso de esta parasitosis, el 75,0% de los apicultores manifestó haber utilizado alguno de los métodos de diagnóstico conocidos. Un 60,0% de ellos (86/143) utilizó el método de conteo de ácaros foréticos de D'Jong (conocido como Prueba del frasco); siendo el conteo en piso trampa y en celdas operculadas métodos utilizados por un 40,0% (57/143) de los apicultores. Al momento de aplicar un tratamiento acaricida, el 99,0% utilizó productos químicos sintéticos (cumafos, amitraz, flumetrina, fluvalinato) y/u orgánicos (ácido oxálico, timol, otro). Las moléculas utilizadas por la mayoría en la temporada previa al censo, fueron coumaphos (47,0%), amitraz (36,0%), flumetrina (22,0%) y solo un 11,0% de apicultores aplicó tratamiento orgánico a base de ácido oxálico. No se registraron apicultores que utilicen timol. La Fumagilina para control de Nosemosis fue aplicada solo por 8 apicultores (Fig. 7).

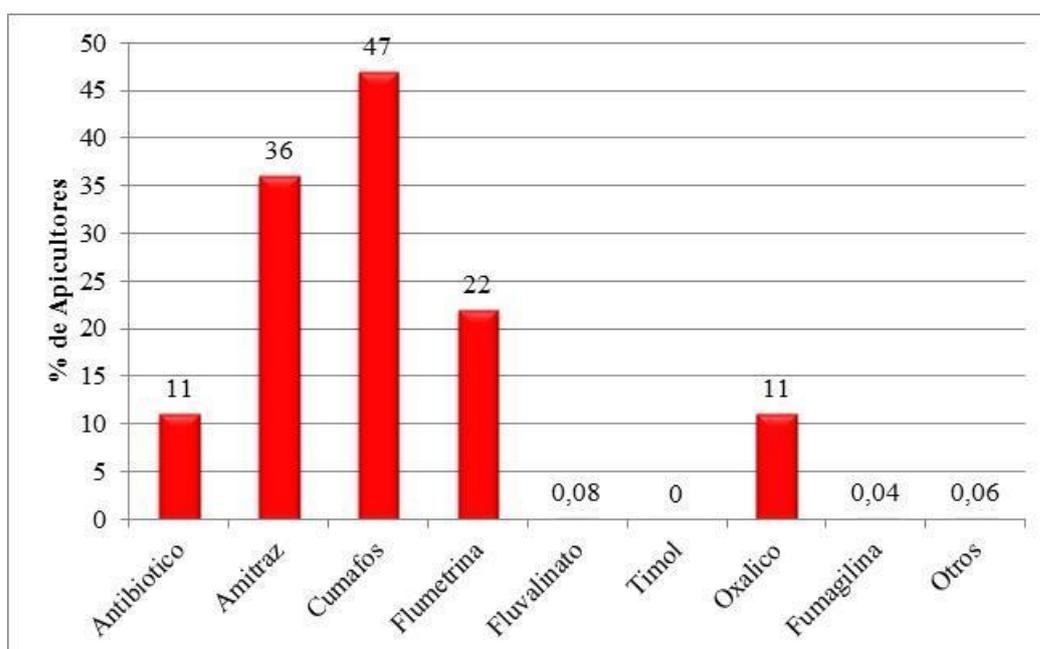


Figura 7. Porcentaje de apicultores que utilizan diferentes medicamentos en la colmena.



Cuando se los consultó sobre el origen de los acaricidas, un 49,0% manifiestan haber utilizado medicamentos aprobados por SENASA para su uso en apicultura, en tanto que un 40,0% utiliza las mismas moléculas o principios activos pero aplicados en soportes o técnicas no aprobadas para uso en apicultura. Por otra parte, un 11,0% utiliza medicamentos de ambos orígenes (aprobado y artesanal). Sobre el momento de aplicación de los tratamientos acaricidas, un 44,0% aplica tratamientos en primavera y otoño, un 16,0% en primavera y poscosecha y un 19,0% solamente en otoño.

Nosemosis

Con respecto a esta enfermedad, solo un 10,0% de los apicultores tomaban muestras para su posterior diagnóstico en el Laboratorio, de las cuales solo en un 42,1% (8/19) fueron confirmadas en el laboratorio.

Loque americana y Loque europea

Como se observa en la Figura 8, solo el 10,0% (18/189) de los apicultores que respondieron manifestó haber hecho uso de antibióticos para el control de estas enfermedades. La mayoría (35,0%) utilizando medidas de manejo como la incineración total de la colmena, mientras que un 16,0% implementó incineración parcial (quema de abejas, cuadros de miel y cría, entretapa, alimentador y conservación de alzas, piso y techo). El sopleteado del material, cepillado de abejas, seguidos de parafinado del material inerte y paqueteado de abejas fueron, en orden decreciente, medidas utilizadas por un menor porcentaje de apicultores (16,0%).

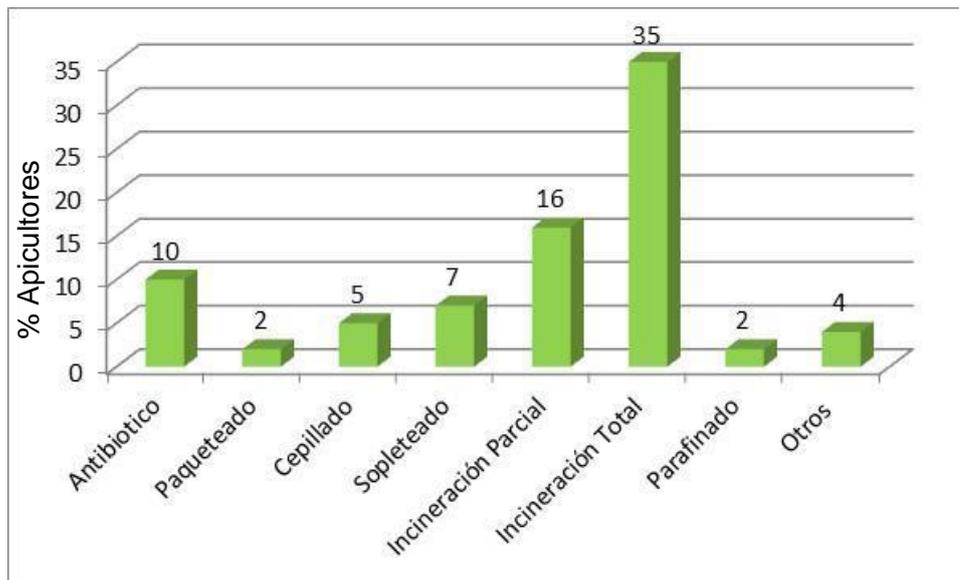


Figura 8. Porcentaje de apicultores que aplican diversos métodos para el control de LA.

Nutrición

Consultados sobre la utilización de suplementación nutricional, solo 11 (6,0%) apicultores no recurren a la alimentación con sustituto energético, dejando miel como única reserva dentro de la colmena. Otro segmento de los apicultores (17,0%) manifestó dejarle reservas de miel a las colmenas en combinación con otros sustitutos como azúcar, JMAF, fructuosa o glucosa. El resto de los productores, extraen la totalidad de la miel, utilizando los sustitutos energéticos mencionados como alternativa en el manejo nutricional.

2.7.7. Selección de las variables dentro de cada dimensión

Las variables de cada dimensión cuya frecuencia relativa estuviera entre 0,05 y 95,0%, se evaluaron mediante tablas de contingencia. Esto permitió seleccionar en cada grupo temático las variables que no tuvieran correlación significativa ($p > 0,05$) para incluirlas en un gráfico de Análisis de Correspondencias Múltiples.



Descripción de las dimensiones

Las frecuencias relativas de las variables disponibles para el análisis pertenecientes a la Dimensión Social se describen en la tabla 7. En la tabla 8 son detalladas las frecuencias relativas de los 4 grupos temáticos correspondientes a las variables de la Dimensión Productiva. En las tablas 9 y 10 se detallan los 7 grupos de la Dimensión Sanitaria y los 2 grupos de la Dimensión Manejo respectivamente.

Los valores con asterisco (*) corresponden a categorías cuyas frecuencias son mayores a 0,95 y menores 0,05 por lo cual no fueron tenidas en cuenta por presentar pequeña variabilidad en la respuesta (n=20).

Tabla 7. Descripción de las variables pertenecientes a la Dimensión Social.

	VARIABLES	SI (%)	NO (%)
I.- DIMENSION SOCIAL (6)	La apicultura es su actividad principal	27	73
	Atiende solo las colmenas	45	55
	Pertenece a una asociación o grupo	21	79
	Recibe asesoramiento	25	75
	Le interesaría recibir capacitación	85	15
	Participa del Consejo Asesor Apícola	5	95

Tabla 8. Grupos temáticos incluidos en la Dimensión Productiva.

		VARIABLES	SI (%)	NO (%)
		Grupo temático: DIVERSIFICACION DE LA PRODUCCIÓN		
		Cera	57	43
		Propóleos	7	93
		Polen	3*	97*
		Jalea real	2*	98*
		Apitoxina	0*	100*
		Reinas	6	94
		Celdas reales	8	92
		Núcleos	15	85
		Paquetes de abejas	1*	99*
		Grupo temático: DESTINO DE LA MIEL		
II.- DIMENSION PRODUCTIVA (4)		Acopiador	63	37
		Exportador	24	76
		Exporta directamente	1*	99*
		Minorista	20	80
		Mayorista	6	94
		Otros destinos	12	88
		Grupo temático: PROBLEMAS PERCIBIDOS		
		Financieros	25	75
		Productivos	61	39
		Comerciales	9	91
		Seguridad	3*	97*
		Otros problemas	23	77
		Grupo temático: CARACTERISTICA DE LA ZONA		
		Agrícola	40	60
		Ganadera	14	86
		Mixta	58	42
		Monte Nativo	19	81

Tabla 9. Grupos temáticos incluidos en la Dimensión Sanidad.

		VARIABLES	SI (%)	NO (%)
		Grupo temático: CAUSAS DE PERDIDA DE COLMENAS		
III.- DIMENSION SANIDAD (7)		Poca atencion	22	78
		Hambre	29	71
		Despoblamiento	17	83
		Fumigaciones	33	67
		Zanganeras	12	88
		Varroosis	13	87
		Loque americana	3*	97*
		Nosemosis	3*	97*
		Moscardon	0*	100*
		Otras	12	88
		Grupo temático: APLICA TRATAMIENTOS PARA		
	Varroosis	99*	1*	
	Loque americana	6	94	
	Loque europea	3*	97*	
	Nosemosis	5	95	
	Polilla de la cera	4*	96*	
	Acariosis	1*	99*	
	Otras afecciones	0*	100*	
		Grupo temático: EPOCA DE APLICACION		
	Primavera	67	33	
	Poscosecha	32	68	
	Otoño	70	30	
		Grupo temático: PRINCIPIO ACTIVO UTILIZADO		
	Antibiotico	11	89	
	Amitraz	36	64	
	Coumaphos	47	53	
	Flumetrina	22	78	

	Fluvalinato	8	92
	Timol	0*	100*
	Acido oxalico	11	89
	Fumagilina	4*	96*
	Otros	6	94
	Grupo temático: METODO DE MONITOREO PARA VARROOSIS		
	Prueba de Djong	46	54
	Conteo de acaros en celdas	7	93
	Conteo de acaros en piso trampa	9	91
	Otros	14	86
III.- DIMENSION SANIDAD (7)	Grupo temático: METODO DE CONTROL DE LOQUE AMERICANA		
	Antibióticos	10	90
	Paqueteado	2*	98*
	Cepillado	5	95
	Parafinado del material	2*	98*
	Sopleteado	7	93
	Incineración parcial	16	84
	Incineración total	35	65
	Otros	4*	96*
	Grupo temático: NOSEMOSIS		
	Envío muestras al laboratorio	10	90
	Resultado	60	40

Tabla 10. Grupos temáticos incluidos en la Dimensión Manejo.

		VARIABLES	SI (%)	NO (%)
		Grupo temático: ALIMENTACION		
IV.- DIMENSION MANEJO (2)		Azúcar	89	11
		Jarabe de maíz de alta fructuosa	5	95
		Fructuosa	13	87
		Glucosa	3*	97*
		Miel	16	84
		No alimento	1*	99*
		Grupo temático: LUGAR DE EXTRACCIÓN DE MIEL		
		Sala propia	60	40
		Sala de terceros	40	60

Tipificación de los apicultores

El análisis de Conglomerado se realizó utilizando como variables clasificatorias un número de factores principales: cada factor principal es una variable sintética de las originales. Las nuevas variables que sintetizan la información original de las Dimensiones Productiva, Sanitaria y de Manejo, son: 1) Diversificación de la producción; 2) Causas de pérdida de colmenas; 3) Método de Monitoreo para Varroosis; 4) Medidas de Control para Loque Americana y 5) Utilización de sustituto energético. Para la Dimension Social, la variable seleccionada fue la de mayor peso en el Eje 1 (Actividad Principal).

Se procedió al análisis de conglomerado, utilizando el método de encadenamiento completo y la distancia Gower ($\sqrt{1-S}$). A partir de dicho análisis se lograron identificar tres grupos de apicultores (Fig. 9) con un índice de correlación cofenético de 0,779.

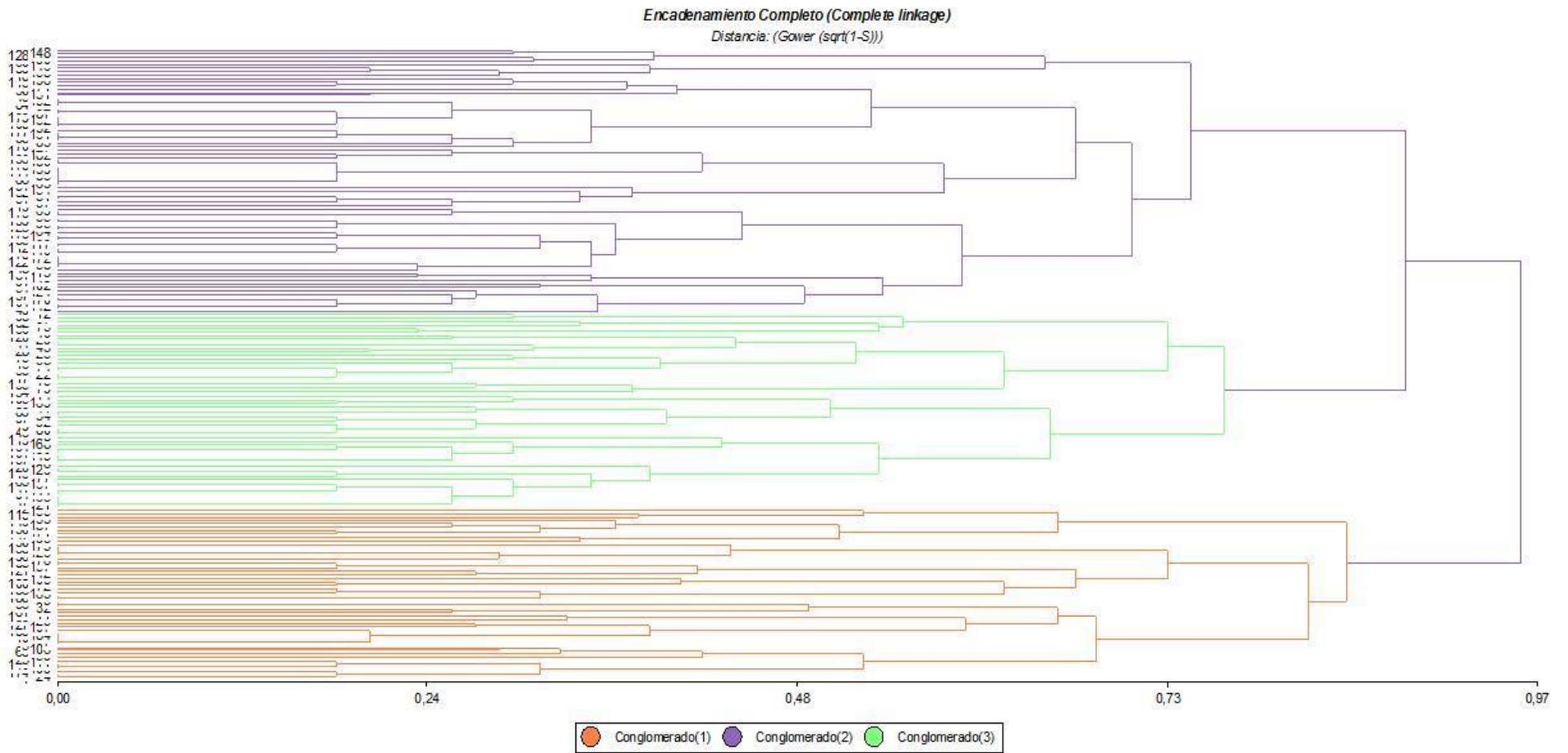


Figura 9. Dendrograma obtenido del Análisis de Conglomerado, basado en cinco variables (Tabla 7 a 10).



Para el conglomerado I (CI), la apicultura es la actividad principal, donde el 18,0% solo obtiene miel. Para el otro 82,0% de los apicultores de este segmento la diversificación se basa en la obtención de cera y/o material vivo. En contraste, para los conglomerados II y III la apicultura es una actividad secundaria, donde al menos la mitad (55,8% del CII y 64,0% del CIII) diversifica su producción obteniendo cera, material vivo, polen y/o propóleos.

En relación a la percepción sobre las causas de pérdidas de colmenas, en los tres conglomerados las causas de mayor relevancia se relacionan a factores ambientales (fumigaciones, despoblamiento o zanganeras), de manejo (poca atención y hambre), y en menor medida pérdidas atribuibles a problemas sanitarios.

En este sentido, hay una marcada diferencia entre los tres conglomerados en relación a la utilización de la prueba de D`Jong como método de diagnóstico para determinar la prevalencia de *Varroa destructor*. La mitad de los apicultores del CI hicieron uso de esta prueba, en cambio en el CII no hubo apicultores que reportaran haber puesto en práctica esta metodología de diagnóstico a campo alguna, mientras que la totalidad de los apicultores del conglomerado III determinó la prevalencia de esta parasitosis mediante el mencionado método.

En relación a Loque americana en general menos del 10% de los productores han aplicado antibióticos, siendo mayor su utilización en los conglomerados II y III. Sin embargo, los tres conglomerados comparten la aplicación de medidas de saneamiento del material inerte (sopleteado, parafinado, incineración parcial o total) como práctica principal. Para el 35% de los encuestados Loque americana no es una enfermedad que haya sido identificada en los apiarios, razón por la cual no se implementó ningún tipo de manejo.

Entre las medidas de manejo, en los tres conglomerados más de la mitad de los apicultores apelan a la suplementación artificial utilizando únicamente azúcar como sustituto energético.

Tabla 11. Descripción de la distribución de las variables del Censo Apícola seleccionadas en cada conglomerado (Nº - número de apicultores; F (%) – frecuencia en porcentaje) .

VARIABLES SELECCIONADAS		Conglomerado I (n = 50) (27%)		Conglomerado II (N = 77) (42%)		Conglomerado III (n = 57) (31%)	
		Nº	F (%)	Nº	F (%)	Nº	F (%)
ACTIVIDAD PRINCIPAL	No	0	0	77	100	57	100
	Si	50	100	0	0	0	0
DIVERSIFICA LA PRODUCCION	Solo miel	9	18	34	44,15	20	35,08
	Cera	21	42	28	36,36	26	45,61
	Propoleos y Polen	0	0	4	5,19	3	5,26
	Jalea real y apitoxina	0	0	0	0	0	0
	Material vivo	2	4	2	2,59	2	3,50
	Combinado	18	36	9	11,68	6	10,52
	No reporta causa	11	22	10	12,98	8	14,03
CAUSAS PERDIDAS DE COLMENAS	Manejo	9	18	20	25,97	11	19,29
	Ambientales	11	22	16	20,77	19	33,33
	Sanitarias	2	4	3	3,89	1	1,75
	Otras	2	4	3	3,89	3	5,26
MONITOREO VARROA	Combinacion	15	30	25	32,46	15	26,31
	D'Jong	28	56	0	0	57	100
CONTROL DE LOQUE AMERICANA	Otro método	22	44	77	100	0	0
	Antibiótico	1	2	5	6,49	5	8,77
	Paqueteado y/o cepillado.	3	6	1	1,29	2	3,50
SUSTITUTO ENERGETICO	Tratamiento del material inerte	25	50	34	44,15	30	52,63
	Combinación	4	8	4	5,19	3	5,26
	No hace tratamiento	17	34	33	42,85	17	29,82
SUSTITUTO ENERGETICO	Miel	0	0	5	6,49	5	8,77
	Azúcar	34	68	51	66,23	33	57,89
	Otros (JMAF, glucosa, fructosa)	0	0	3	3,89	4	7,01
	Combinación	16	32	18	23,37	15	26,31

El conglomerado III presentó los % de Mortandad más bajos (Mediana 16.5%) (Tabla 11) y concide con que la totalidad de los apicultores incluidos en él determinan la prevalencia del ácaro *Varroa destructor* mediante el implementación de la prueba diagnóstica de D`Jong. También se caracteriza por ser el conglomerado donde un % mayor de apicultores (64%) diversifica su producción posibilitando una mejora en la competitividad de la empresa.

2.7.8. Distribución de la Mortandad en cada conglomerado

La Mediana de Mortandad en el CI, CII y CIII fue de 25% (Q1=15,00% - Q2=30,00%), 30% (Q1=15,00% - Q2 50,00%) y 16,50% (10,00% – 40,00%) respectivamente. Más allá de la inferioridad numerica del CIII, dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Kruskal Wallis $p > 0,9999$). Como se puede apreciar en la Figura 10 la distribución de la Mortandad de los conglomerados se superponen entre si.

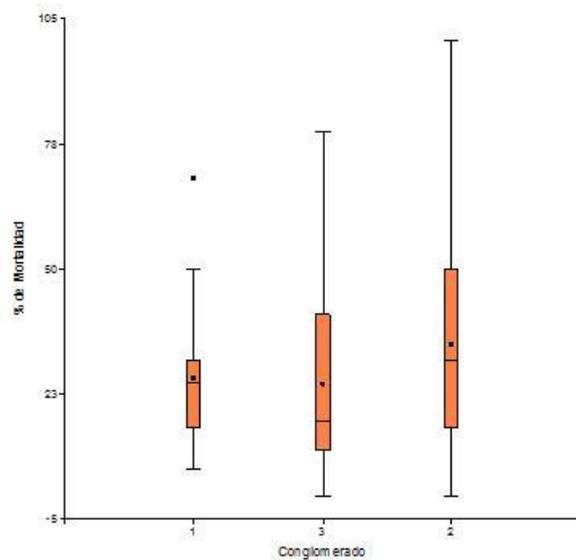


Figura 10. Diagrama de cajas de la Distribución de la Mortandad (mediana) reportada en cada conglomerado.



2.8. Discusión

2.8.1. Aspectos socio-productivos

Este estudio solo logro contactar al 51,00% de los productores registrados en el RENAPA, de los cuales una proporción importante había abandonado la actividad. Esto es una debilidad ya que no se pudo constatar que proporción de las personas no encuestadas continuaban ejerciendo la apicultura.

Fueron aspectos productivos y comerciales (bajos rendimientos y rentabilidad) los motivos sobresalientes percibidos por los productores que llevaron al abandono de la actividad. En parte esto podría tener relación con la intensificación de la actividad agrícola, que se ha visto acompañado de una mayor conversión agrícola de tierras antes destinadas a usos ganaderos o mixtos, de un incremento del monocultivo de la soja (Manuel-Navarrete et al., 2005) acompañado de pérdidas de hábitat necesarios para muchos polinizadores (Westrich.,1989) y a los efectos del uso de agroquímicos (Chauzat et al ., 2010b; Medrzycki et al ., 2010) con consecuencias perjudiciales en muchos polinizadores (Kevan.,1975).

Por otro lado, al ser la miel un *commodity*¹, la merma en el precio internacional condiciona la rentabilidad del sector. Esto coincide con lo expresado por el Programa Nacional Apícola del INTA, que en base a los datos del INDEC y SAGPyA manifiesta una tendencia creciente de la producción de miel en Argentina desde 1969, con una pendiente que se acentúa a partir de los'90. En el año 2002 se evidencia una caída, tanto de las toneladas como del precio, como consecuencia de la crisis de los nitrofuranos y en el 2008 como consecuencia de la sequía (Bedascarrasbure, 2009).

Durante la sequía transcurrida entre 2007 a 2011 se redujo a nivel nacional aproximadamente un 20% la cantidad de productores, 35% la cantidad de colmenas y entre el 20/40% las medias de producción en kilos de miel por colmena al año para las zonas afectadas (Estrada, 2014). Para el año 2008, del 51,0% de los apicultores que se lograron contactar durante el

¹ Un commodity es un producto o bien por el que existe una demanda en el mercado y se comercian sin diferenciación cualitativa en operaciones de compra y venta. Commodity es un término que generalmente se refiere a bienes físicos que constituyen componentes básicos de productos más complejos.



censo apícola, el departamento Río Cuarto, había perdido al 36,8% (111/301) de los apicultores registrados en el RENAPA.

Los productores que continuaban en la apicultura se caracterizaban porque la misma era complementaria a su principal fuente de ingresos y era desarrollada a pequeña escala lo que coincide con trabajos previos realizados en el departamento Río Cuarto en la década del 90 (Vinocur et al., 1994). En otras provincias (Buenos Aires) para los apicultores no profesionalizados, que constituyen el 90% del eslabón primario, la apicultura no es su actividad principal, en términos de dedicación, ni como fuente de ingresos.

En el departamento Río Cuarto el mayor porcentaje de apicultores se encuentra en el EI (63,63%) coincidiendo con la provincia de La Pampa (78,90%) (INTA), mientras que en Santa Fe (Ulmer., 2012) el mayor porcentaje de apicultores se hallaron en el EM (50,00%). A nivel mundial, un trabajo realizado en el estado de Morelos, Mexico, (Velez Izquierdo, 2016) tipifica a los productores apícolas en tres categorías, encontrándose el 64% de los apicultores en la de pequeña y mediana escala que abarca de 10 a 200 colmenas.

Desde el punto de vista de la diversificación y comercialización de los productos de la colmena, se denota que un 59,70% comercializa además de miel, cera, coincidiendo con lo que ocurre a nivel país, donde la mayoría de las empresas centran sus esfuerzos en la obtención de éstos dos productos (Salizzi, 2014).

2.8.2. Mortandad

Una particularidad del presente análisis, fue que las cifras de Mortandad derivaron a partir de la percepción por parte de los apicultores. En general los productores no llevan registros de las pérdidas de colmenas, y el estudio no contempló alguna forma de validación, por lo que no fue posible constatar cuan sesgada era la percepción de la Mt provista por el entrevistado.

Este estudio muestra que una (1) de cada cuatro (4) colmenas se perdieron. Las encuestas reflejan que no existe una percepción de que éstas pérdidas sean consecuencias de problemas sanitarios exclusivamente. Por el contrario, todos atribuyen este aspecto a una combinación de



causas, siendo las ambientales las de mayor relevancia. En cambio, para los apicultores de la provincia de Santa Fe (Giacobino, 2017) las principales causas de las pérdidas de colmenas, en invierno, se deben a la elevada presencia de Varroa, fallas en calidad de las reinas y problemas con la alimentación, registrando una Mortandad invernal del 11,5% (aunque este estudio no incluyó las pérdidas ocurridas en las otras estaciones del año).

Durante 2016/17 en 30 países (27 europeos más Argelia, Israel y México), mediante entrevistas a 14.813 apicultores, se colectaron datos que proporcionaron información de pérdidas de colmenas durante la invernada. De un total de 425.762 colmenas, la tasa de pérdidas totales fue del 20,9% (Brodschneider et al., 2018) con marcadas diferencias entre los países y un 12,0% superior a la temporada 2015/16 (Brodschneider et al., 2016).

A nivel mundial, varios autores coinciden en que tanto plagas como enfermedades, pesticidas, pérdida de diversidad genética y habitats junto con las prácticas apícolas, son causas que explican la pérdida de colmenas (Neumann., 2010; Berthoud et al., 2010; Carreck et al., 2010a,b; Martin et al., 2010; Paxton, 2010; Santrac et al., 2010; Carreck et al., 2010b; Dahle, 2010; Chauzat et al., 2010b; Medrzycki et al., 2010; Harz et al., 2010; Meixner et al., 2010; Potts et al., 2010).

Como se mencionó anteriormente, los registros de pérdidas de colmenas fueron reportados en forma generalizada independientemente de la cantidad de apiarios que poseía el encuestado y la ubicación de los mismos. Esto representa un sesgo de información aleatorio, dado que la calidad de la información dependió en parte, de la memoria de los encuestados (Hernández-Avila, 2000) por lo cual no es una cuantificación objetiva, lo que dificulta su comparación con datos nacionales e internacionales. Es imposible pronosticar la dirección del sesgo en el reporte de la Mt, en el sentido de sobre o subestimación. Además, el productor al reportar una sola cifra para el conjunto de apiarios que posee, anula la variabilidad de la Mt entre los mismos. Esta podría ser la razón por la cual el análisis de la distribución geográfica no permitió encontrar un patrón de Mortandad.

Debido a que, como ya se señaló, a las pérdidas de colmenas no se las puede atribuir a una sola causa, se necesita una estandarización a nivel mundial de los métodos utilizados por los científicos en sus ensayos y experimentos, con el fin de eliminar la variabilidad que supone la



diferente virulencia de los patógenos y susceptibilidad de las abejas en ambientes heterogéneos (Nguyen et al., 2010).

2.8.3. Manejo

En relación a los aspectos de manejo, podríamos inferir que el conglomerado III es aquel que tiene mayor capacidad de adoptar innovaciones, ya sea al momento de diversificar la producción como en el manejo sanitario.

Sanidad

En el conglomerado III la totalidad de los apicultores determinan la prevalencia del ácaro *Varroa destructor* mediante el implementación de la prueba diagnóstica a campo de D`Jong y coincide con que es el conglomerado con menor porcentaje de Mortandad reportado, aunque la tendencia es solo numérica, no es estadísticamente significativa (16,5%).

Esto es relevante porque la prueba de D`Jong, permitiría tomar decisiones a tiempo en cuanto a la aplicación de acaricidas, minimizando de ésta manera la pérdida de colmenas mediante el monitoreo precoz como herramienta clave para el control de la población de ácaros durante el ciclo de producción de miel (Imdorf et al., 2003).

Por otra parte la distribución espacial de las colonias con un mayor riesgo de alcanzar altos niveles de *Varroa* parece explicarse mejor por las prácticas de manejo que por una condición geográfica (Giacobino et al 2016).

Igualmente pérdidas significativas de colonias también son el resultado de falta de estrategias coordinadas y tratamientos integrales, así como la aplicación de métodos de control sin éxito o con retraso (Boecking y Genersch, 2008).



Nutrición

La proporción de apicultores que no alimentan es marginal, por lo tanto se puede inferir que existe una alta conciencia sobre la necesidad de suministrar aportes energéticos y proteicos a las colmenas. Es conocido por los apicultores el valor nutricional del aporte tanto del néctar como del polen. Los carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales determinan la cantidad de cría producida, la longevidad y la salud de los adultos y de la supervivencia y productividad de una colonia (Brodschneider et al., 2010).

Las pérdidas de colonias de abejas melíferas trajeron al foco de las investigaciones hacia el estudio de los aspectos nutricionales, debido a que se pensó que una nutrición deficiente podría ser un factor crucial o sutil en la ocurrencia de tales pérdidas (Oldroyd, 2007; Naug, 2009). Por otro lado, la inanición es una amenaza potencial (Brodschneider et al., 2010), al igual que la reducción de la diversidad de las dietas debido a los monocultivos, y los pesticidas traídos a la colonia con los alimentos. En este sentido, son varios los estudios que han estimado el potencial riesgo de los insecticidas ingeridos por las abejas a través del polen y néctar contaminados (Rortais et al., 2005; Johnson et al., 2010).

2.8.4. Análisis de los conglomerados

Cuando se habla de tipificación, se hace referencia a la acción de ajustar varias cosas semejantes a un tipo o norma común, representando el tipo de la especie o clase a la que pertenecen ya sean las personas o las cosas (<http://www.fao.org/climatechange/30339-0a58da6ac535c01a7f55c7f6ff0531f6b.pdf>). Es así que el primer paso en el desarrollo de una tipificación consiste en establecer los objetivos, propendiendo a que la misma sea funcional a los mismos (Kaminsky, 1988).

En otros lugares del mundo (México) donde se realizaron trabajos de tipificación en el sector apícola, se llegó a la conclusión de que los aspectos sociales, económicos y tecnológicos de los



productores, así como sus sistemas de producción y las condiciones agroecológicas son los que definen la producción de miel y otros productos apícolas (Velez Izquierdo, 2016).

En nuestro estudio, uno de los objetivos específicos consistió en tipificar subgrupos de productores según prácticas de manejo y características del productor, con la finalidad de evaluar las diferencias de Mortandad entre subgrupos de productores identificados. Sin embargo, la principal limitación del análisis de los datos, fue que la fuente de información era secundaria.

De esta manera los conglomerados se constituyen en éste caso, en un conjunto de apicultores con cierto grado de homogenización de acuerdo a las variables incluídas en la formulación de las encuestas. Por esta razón, solo son aplicables en el contexto donde se desarrolló el censo a los fines de cumplimentar los objetivos aquí presentados.

Del análisis de las variables de los conglomerados surge que hay tres factores que distinguen el perfil de los productores y sus empresas: aspectos sociales (actividad principal/secundaria), aspectos productivos (diversificación), aspectos de manejo sanitario (método de monitoreo de D'Jong). Sin embargo, las diferencias de las Mortandades reportadas entre conglomerados no fueron estadísticamente significativas (Kruskal Wallis $p > 0,9999$). Por lo cual, no se logró relacionar a ninguna de las variables incluídas en el estudio con los niveles de Mortandad.



2.9. Conclusiones

La magnitud de la Mortandad no difiere significativamente de la reportada por otros estudios realizados a nivel nacional o internacional. Sin embargo, en éstos solo se han considerado las pérdidas invernales, dejando fuera del análisis a los posibles casos de pérdidas que se pudieran presentar entre el comienzo de la primavera hasta el ingreso a la invernada (otoñada).

La determinación de la distribución espacial de la Mortandad no se pudo establecer debido a que los datos son secundarios y no se colectaron de manera acorde para poder lograr este objetivo. Por lo cual, se torna necesario rever a futuro la colecta de datos y asegurar la veracidad de los mismos mediante acciones previas que impliquen la capacitación y concientización sobre la toma de registros por parte de los apicultores a entrevistar.

Se lograron identificar tres conglomerados de apicultores, los cuales se diferencian por su dedicación en la actividad, la diversificación de la producción y la utilización de la prueba de D`Jong como metodo de monitoreo para Varroosis. Esto representa un potencial productivo por desarrollar y la adopción de medidas de manejo que contribuyan a mejorar el status sanitario de los apiarios.

En este estudio, no se lograron establecer diferencias en la Mortandad reportada entre los conglomerados de apicultores. En el futuro, la caracterización de los productores y el estudio de las posibles variables relacionadas con la pérdida de colmenas, debería basarse en la colecta de datos primarios y de comprobada veracidad, mediante la implementación de registros.



Capítulo III: Implicancias de plaguicidas agrícolas y apícolas sobre el desarrollo poblacional de las colmenas.

3.1. Introducción

El sector agropecuario argentino, desde hace algunos años ha experimentado importantes transformaciones productivas, incorporando sistemas conocidos como “paquetes tecnológicos”. Estos incluyen el uso de organismos genéticamente modificados, la siembra directa, alta dependencia de productos químicos, elevado consumo de energía fósil, uso intensivo de conocimiento y apoyo en tecnologías de la información (De Titto, 2013). Otras características que acompañaron estos cambios incluyen el incremento de la mecanización y del tamaño de los establecimientos agropecuarios y la simplificación de las rotaciones como así también baja proporción de pasturas en el paisaje (Herzog, 2006).

Estos “paquetes tecnológicos” se difundieron con la premisa de que venían a contrarrestar procesos erosivos del suelo. Sin embargo, actualmente se reconocen múltiples aspectos negativos, como los efectos sobre las propiedades fisicoquímicas del suelo y sobre las lombrices de tierra (Dominguez et al, 2009). Otras consecuencias de este modelo son el aumento de la contaminación por el uso abusivo de agroquímicos, el avance de la frontera agrícola con la consecuente deforestación y pérdida de biodiversidad, además de las evidencias científicas que relacionan a diferentes plaguicidas con intoxicaciones agudas y crónicas en seres humanos (Mañas, 2009; Bernardi, 2015; Informe Auditoria General de la Nación, 2016).

Simultáneamente, el sector apícola argentino ha alcanzado un nivel tecnológico que lo coloca entre los más competitivos del mundo, sin embargo, los cambios de contexto sobre todo ligados al deterioro ambiental producido por la intensificación de la producción agropecuaria, y las tendencias del mercado, generan nuevos desafíos para mantener este posicionamiento. La relación de la apicultura con estos cambios en los sistemas productivos agrícolas, están vinculados principalmente a la pérdida de especies vegetales de interés melífero y a la exposición continua a los plaguicidas.



En las abejas, la principal vía de exposición a los plaguicidas utilizados en agricultura, es oral, a través de la dieta (consumo de néctar y polen) y por contacto (rociado directo). La exposición debida a la fase de vapor de un plaguicida, con excepción de los fumigantes (pesticida que se evapora o se descompone en productos gaseosos en contacto con el aire o el agua), es relativamente pequeña en comparación con la dieta y el contacto. Además, la importancia de la exposición a través del consumo de agua potable versus la exposición por la alimentación o el contacto, está bajo investigación. Para los plaguicidas que se aplican a las semillas, la exposición a emisiones de polvo de las semillas tratadas durante la siembra también puede ser motivo de preocupación.

De hecho, existen estudios, como por ejemplo los realizados en Italia (Porrini, 2003), donde se demostró que el uso indebido de plaguicidas se pudo confirmar gracias a la presencia de abejas que fueron utilizadas como bioindicadoras de contaminación ambiental. Esta metodología permitió detectar rápida y continuamente la contaminación producida por plaguicidas, evidenciando en el momento y sin ambigüedades el uso incorrecto de los mismos. Sin embargo, algunos de los nuevos insecticidas no provocan una alta Mortandad en las abejas, pero, incluso en dosis bajas, pueden causar cambios severos de comportamiento afectando a toda la colonia. Estos plaguicidas no siempre son detectados con análisis químicos y, por lo tanto, basarse en herramientas como la Mortandad y presencia de residuos, no siempre revela su presencia en el ambiente.

Por otro lado, la apicultura argentina es altamente dependiente del uso de acaricidas para el control de la parasitosis provocada por el ácaro *Varroa destructor*, y en menor grado de antibióticos ante la presencia de enfermedades bacterianas como Loque americana y Loque europea. Para el caso de Varroosis, el uso indiscriminado de sustancias sintéticas, la falta de rotación de los principios activos, la utilización de productos artesanales, la escases de monitoreos y el hecho de no disponer de productos orgánicos eficaces en el mercado, devinieron en una compleja situación caracterizada por la disminución de la eficacia de los acaricidas sintéticos y presencia de residuos en miel y cera (Mitton, 2014). Desde 2016, en Argentina, existen alternativas orgánicas disponibles para ser incluidas en un plan de manejo integral de plagas, lo que da la posibilidad de implementar tratamientos con mejores niveles de eficacia, amigables con el ambiente y que no dejan residuos en los productos de la colmena.



Por otra parte, a nivel mundial, la disminución de polinizadores domésticos y salvajes ha traído aparejado una degradación regional o global del medio ambiente, comprometiendo y limitando la producción de cultivos dependientes de la acción polinizadora. Paralelamente otros autores sugieren que la pérdida de abejas melíferas es una consecuencia producto de las interacciones entre los cambios ambientales, como la fragmentación de los habitats, los pesticidas de uso agrícola, los patógenos y el manejo de la apicultura (Potts et al., 2010b, Goulson et al., 2015, Simone-Finstrom et al. 2016).

Esto ha generado una creciente preocupación debido a que, a pesar de un crecimiento del 50% en las poblaciones de abejas melíferas, esta oferta de polinizadores no alcanzaría para cubrir las demandas agrícolas que superan el 300% (Williams et al, 2010). De hecho, para Buchmann y Nabhan (1996), la abeja europea *Apis mellifera L.* es el insecto responsable de polinizar el 77 % de los alimentos que sostienen a la población humana en el mundo entero, mientras que otros autores (Klein et al. 2007; Albrecht et al., 2007) sostienen que los alimentos básicos como el trigo, maíz y arroz se reproducen sin la polinización mediada por insectos, aportando el 65% de la producción global de alimentos, lo que deja un 35% del resto de los alimentos consumidos por el hombre y animales dependientes de la acción polinizadora entomófila, particularmente ejercida por abejas, sírfidos y mariposas.

Aunque existen pruebas de que una alta dependencia de polinizadores podría imponer límites a la tasa de crecimiento de la producción (Ghazoul, 2005a), los datos analizados por otros autores (Aizen et al., 2008) no apoyan la hipótesis de que la disminución de los polinizadores ha afectado el rendimiento de los cultivos a escala global, aunque localmente se han producido disminuciones en la producción de frutas y semillas sin que esto provoque una depresión global de la producción de cultivos.

3.1.1. Plaguicida/Agroquímico/Pesticida/Fitosanitario

A continuación se definen los términos que suelen ser utilizados como sinónimos cuando nos referimos a pesticidas.



Pesticidas

La Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO), y la Organización Mundial de la Salud (OMS), definen el término plaguicida, como toda sustancia o mezcla de ellas utilizada para prevenir o controlar cualquier especie de planta o animal indeseable, incluyendo las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores de crecimiento de las plantas, o como defoliantes o desecantes, durante la producción, almacenaje, transporte, comercialización o procesamiento de los alimentos para el hombre o los animales. Los pesticidas son derivados de las armas químicas elaboradas durante la I y II Guerra Mundial. Son productos tóxicos fabricados para matar organismos vivos, y se reparten en tres categorías de mayor utilización: herbicidas, insecticidas y fungicidas. La intoxicación ocurre por inhalación, penetración a través de la piel, o ingestión directa o indirecta (por leche, carne, huevos, plantas con residuos tóxicos). Pesticida es sinónimo de plaguicida (Auditoría General de la Nación, 2016).

Agroquímico

Por otra parte, la Auditoría General de la Nación, denomina agroquímicos a cualquier sustancia o mezcla de sustancias naturales o sintéticas destinadas a prevenir, eliminar o reducir ciertas adversidades (plaga, enfermedad o maleza) que interfieren en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de productos agropecuarios, alimentos humanos y animales, madera y productos de madera. Este término incluye a las sustancias que regulan el crecimiento de los cultivos, defolian, desecan, reducen la densidad de la fruta o evitan su caída prematura, y a aquellas que se usan antes o después de la cosecha para proteger al producto o al subproducto cosechado del deterioro durante su almacenamiento o transporte. Son sus sinónimos: pesticida, fitosanitario, fitoterápico, fitofármaco, producto de sanidad (Auditoría General de la Nación, 2016).

Fitosanitario

Los productos fitosanitarios, según la Real Academia Española, se definen como “perteneiente o relativo a la prevención y curación de las enfermedades de las plantas”. En la Ley de productos químicos o biológicos de uso agropecuario N° 9164 de la provincia de



Córdoba están incluidos: acaricidas, alguicidas, bactericidas, funguicidas, fertilizantes, inoculantes, herbicidas, insecticidas, molusquicidas, nematocidas y rodenticidas.

Sea cual sea el término utilizado, todas estas sustancias pueden generar residuos y a los fines de la presente tesis son todos plaguicidas.

3.1.2. Medicamentos de uso apícola

Antibióticos

Su uso esta principalmente asociado al control de Loque americana. Las Tetraciclinas (oxitetraciclina), Sulfamidas (sulfatiasol), Aminoglicosidos (estreptomina), Macrólidos (tilosina) y Cloranfenicol, son los antibióticos utilizados en ésta patología. Su uso en forma profiláctica conduce a la aparición de cepas resistentes, además de dejar residuos en los productos de la colmena. La aplicación de antibióticos para el control de esta enfermedad es una alternativa de manejo. Es importante destacar que los antibióticos sólo controlan las formas vegetativas, eliminando los síntomas pero no las esporas que son las responsables de la diseminación de la enfermedad (Reynaldi, 2006). De los antibióticos mencionados, sólo la oxitetraciclina (como clorhidrato) ha sido ampliamente estudiada en colmenas y fue el único antibiótico aprobado para su empleo en colmenas hasta el año 2005 debido a su vida media corta que implica una baja concentración de residuos en miel (Kochansky et. al., 1999).

Acaricidas

A pesar de que existen varios acaricidas para el control de *V. destructor*, este ácaro sigue generando daños severos en la apicultura. La infestación por estos ácaros constituye un riesgo continuo que puede producir desde el debilitamiento hasta la pérdida de las colonias si el tratamiento de control es ineficaz. Otro riesgo asociado es la acumulación de estos productos en la colmena ya que estas sustancias al ser lipofílicas quedan retenidas en la cera (Bogdanov et al.; 1999), acumulándose en tratamientos repetidos.



Acaricidas orgánicos

Son sustancias que se encuentran naturalmente en la miel. Se utilizan para el control del ácaro parásito *Varroa destructor*. Dentro de este grupo se encuentran los ácidos orgánicos solubles en agua (oxálico, fórmico, láctico) y los aceites esenciales, lipofílicos y volátiles (timol, eucaliptol, etc). En la colmena las sustancias hidrofílicas quedan retenidas en la miel mientras que las lipofílicas lo harán en la cera (Bogdanov et al.; 1999, Mahmood, 2012), acumulándose en tratamientos repetidos.

En el caso del ácido oxálico, el mecanismo de acción acaricida frente a *Varroa destructor* se atribuye a la sensibilidad del ácaro al pH ácido, de forma que la acción acaricida se cree que es debida al contacto del ácaro con la solución que contiene el ácido.

El 5-metil-2 (1metil-etil) fenol, corrientemente llamado timol, es un componente natural de *Thymus sp.*, (familia de las labiadas tales como romero, albahaca, menta, salvia, tomillo, ajedrea, entre otras) que ha mostrado efectividad contra diversos parásitos y patógenos (Eguaras et al. comunicación personal). Los componentes de aceites esenciales como el timol, eucaliptol, alcanfor y mentol tienen un rango generalmente reconocido como seguro en concentraciones hasta 50 mg/kg en forma pura ya que concentraciones superiores pueden modificar el sabor de la miel (Imdorf, 1999) lo cual está prohibido por las regulaciones internacionales (Bogdanov, 1999).

El timol, como otros aceites esenciales, está dentro del estado legal de la FAO como Generally Recognized As Safe (GRAS) en concentraciones superiores a 50 mg/kg, es decir que estas sustancias en la miel no revisten interés toxicológico (Bogdanov et al, 1999). De acuerdo con la regulación estadounidense N° 2377/90, estas sustancias están en el grupo II de las drogas veterinarias no tóxicas, por lo cual no se les impone LMRs (Reglamento N° 2377/90). La UE lo incluye en el apartado correspondiente a los que no se les exige un límite máximo de residuos (LMR) en el producto destinado a consumo humano y procedente de la producción ganadera, al considerar que no es tóxico ni peligroso para la salud del consumidor. Los aceites esenciales son, sin embargo, sustancias olorosas intensas y pequeñas cantidades en la miel pueden modificar su sabor (Figuroa, 2003).



Acaricidas sintéticos

Usados ampliamente desde hace tiempo para el control de la Varroosis, en este grupo encontramos al fluvalinato y flumetrina (piretroide sintético que actúa sobre los canales de sodio), coumaphos (organofosforado inhibidor de la acetilcolinesterasa) y el amitraz (formamidina antagonistas de los receptores de la octopamina). El Amitraz además es utilizado en la agricultura para controlar ácaros en plantaciones de peras, naranjas y manzanas (Casafe, 2007).

La utilización incorrecta de estos acaricidas sintéticos ha generado resistencia en la población de ácaros y presencia de residuos en miel y cera. La resistencia a insecticidas se define como “un cambio heredable en la sensibilidad de una población a una plaga”. Esto se traduce en la ineficacia del producto a pesar de ser utilizado de acuerdo con las recomendaciones del marbete (Milani et.al.; 2002). A ésta situación se llega por el ‘uso abusivo’ o ‘mal uso’ del insecticida en el control de una plaga, seleccionando individuos resistentes que se reproducen, generando poblaciones resistentes.

A principio de la década del 90 se reportaron los primeros casos de resistencia a los piretroides en Europa (Watkins, 1997). También se reportaron fenómenos de resistencia cruzada entre fluvalinato y flumetrina (Milani, 1995, Thompson et al., 2002). A raíz de esto, en las áreas donde éstos procesos fueron identificados, se comenzó a utilizar coumaphos y amitraz (Elzen y Westervelt, 2002). Sin embargo, el uso intensivo y abusivo de estas moléculas para el control del ácaro Varroa, generaron eventos de resistencia en USA, México y Europa (Elzen et al., 1999; Mathieu y Faucon, 2000; Rodriguez-Dehaibes et al., 2005). En Argentina se ha registrado resistencia al coumaphos y amitraz y en Uruguay al coumaphos. Esto evidencia la necesidad de encontrar otras moléculas alternativas para el control de la parasitosis (Maggi et al., 2008, Maggi et al., 2009, Maggi et al., 2010b, Maggi et al., 2011a).

Los residuos de coumaphos se originan a partir de los tratamientos contra *Varroa destructor* y también de la cera reciclada que contiene residuos de esta molécula (Medici, 2011). En Argentina históricamente el coumaphos ha sido administrado en tiras de liberación lenta o en polvo, mezclado con harina de maíz. La cantidad de producto distribuido



finalmente en la colonia depende del modo de aplicación y la cantidad aplicada (Chauzat y Faucon, 2007). Cuando se utiliza en tiras la cantidad de acaricida dentro de las colmenas depende de la actividad de la abeja y de la duración del tratamiento. Generalmente los residuos de los acaricidas son menores cuando se usa en tiras que cuando se usa en polvo. Al ser un acaricida con característica lipofílicas, la estabilidad de sus residuos en cera es tal, que es posible trazar una "historia" de los tratamientos realizados en las colmenas debido a la dificultad en eliminarlos sin alterar las características físico-químicas de la cera (Piro et al, 2000).

Los niveles de acaricidas encontrados en los diferentes productos de la colmena después de los respectivos tratamientos decrecen en el siguiente orden: cuadros de cría > cuadros de miel >> alimento azucarado \geq miel (Bogdanov et. al, 1999). Estos resultados indican que por sus características lipofílicas, los niveles de contaminación encontrados en los panales de cría son directamente proporcionales a la cantidad del principio activo liberado durante el tratamiento.

Por otra parte, estudios realizados en el sur-este de la provincia de Buenos Aires, revelan índices de resistencia moderados para coumaphos en parte de los apiarios estudiados, lo que sugiere su uso en forma cautelosa (Mitton et al, 2014). En este mismo estudio, se determinó altas tasas de supervivencia de *Varroa destructor* frente al coumaphos. Esta información ha propiciado que los apicultores abandonaran el uso de este acaricida, sin embargo sus residuos todavía se detectan en mieles, presumiblemente debido a la contaminación de cera estampada.

3.1.3. Plaguicidas de uso agrícola

Como se mencionó anteriormente, los plaguicidas son aquellas sustancia o mezcla de ellas utilizadas en agricultura para prevenir o controlar cualquier especie de planta o animal indeseable, incluyendo las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores de crecimiento de las plantas, o como defoliantes o desecantes, durante la producción, almacenaje, transporte, comercialización o procesado de los alimentos para el hombre o los animales.



Según la plaga que controle se los agrupa en:

Herbicidas

Utilizados para eliminar plantas indeseadas. Algunos actúan interfiriendo con el crecimiento de las malezas y se basan frecuentemente en las hormonas de las plantas. En la actualidad existen ocho modos de acción de los herbicidas que incluyen la inhibición de la síntesis de lípidos, inhibición de la síntesis de aminoácidos, inhibición del crecimiento de las plántulas, reguladores del crecimiento, inhibición de la fotosíntesis, ruptura de la membrana celular, inhibición de los pigmentos, y para unos pocos herbicidas, el modo de acción se indica como “no clasificado” o “desconocido” (USDA, 2018).

Existe evidencia científica que demuestra el efecto que estos agrotóxicos también tienen sobre *Apis mellifera*. La exposición a dosis subletales a campo de atrazina, metolaclor y glifosato producen alteración del sistema carotenoide-retinoide de las abejas melíferas (Helmer et al, 2015). El glifosato en las concentraciones en que está presente en los agroecosistemas como resultado de las pulverizaciones habituales, puede reducir la sensibilidad a la recompensa del néctar y deteriorar el aprendizaje asociativo en abejas melíferas. Sin embargo, estos autores no encontraron efecto en el comportamiento de la alimentación (Herbert et al 2014). Por lo cual, sugieren que el éxito las abejas pecoreadoras podrían convertirse en una fuente constante de entrada de néctar con rastros de glifosato que luego alcanzarían a distribuirse entre las abejas del nido, mediante la trofalaxia, y ser almacenados en la colmena teniendo consecuencias negativas a largo plazo en el comportamiento de la colonia.

Dentro de los herbicidas actualmente en el mercado, solo se logró determinar en el presente estudio la presencia de atrazina.

- Atrazina: (2-cloro-a-etilamino-6-isopropilamino-striazina) es un herbicida preemergente/posemurgente de acción sistémica y residual de uso frecuente en Argentina, que actúa impidiendo la fotosíntesis. Es una sustancia manufacturada y



no se encuentra en la naturaleza (ATSDR, 2003). Controla plantas no deseadas en cultivos de maíz, sorgo granífero y caña de azúcar. Es absorbida por las raíces y en parte por las hojas de gramíneas y latifoliadas (árboles o arbustos considerados frondosos por sus hojas anchas y planas). Su acción persiste por 2 a 6 meses (Ustarroz y Rainero, 2011) y es estable en condiciones neutras o levemente acidas o alcalinas. Otros autores han reportado una vida media de atrazina de 120 días, 0,8 y 1,1, 12 años (Guillén- Garcés, 2007). Clasificado como “Virtualmente” no tóxico para abejas en las formulaciones desde 48% a 90% (Casafe, 2011).

Insecticidas

Compuesto químico utilizado para matar insectos, normalmente, mediante la inhibición de enzimas vitales. Los insecticidas se utilizan para controlar plagas de la agricultura e insectos que afectan la salud humana y animal.

Los modos de acción de los insecticidas han sido clasificados por el Comité de acción de resistencia a los insecticidas (IRAC por sus siglas en inglés, que es la traducción de Insecticide Resistance Action Committee) en 29 categorías, de las cuales cada una afecta un mecanismo diferente de la plaga (Casafe 2016).

- Cipermetrina: es un piretroide que se aplica sobre el follaje y actúa por contacto o ingestión. Su característica de alta estabilidad a la luz del sol y resistencia al lavado de la lluvia lo hacen recomendables para el control de reinfestaciones migratorias. Altamente tóxico para las abejas.
- Fipronil: pertenece a los insecticidas de la familia de los fenilpirazoles, actúa en forma sistémica con efecto sobre el sistema nervioso central interfiriendo en la transmisión GABA (ácido gama amino butírico) sobre los canales del ión calcio. Es tóxico para abejas.



- **Diclorvos:** insecticida y acaricida organofosforado inhibidor de la acetilcolinesterasa. La sobreacumulación de acetilcolina produce parálisis y muerte. En Argentina se prohibió su importación, comercialización y uso desde mayo de 2018 (Boletín Oficial, SENASA; Res. 149/2018).
- **Clorpirifos:** organoclorado que actúa por contacto, ingestión o inhalación. Se utiliza como curasemillas y posemergente en diferentes cultivos (maíz, papa, tabaco, etc.). Altamente tóxico para abejas. Clasificación Toxicológica II.
- **Endosulfan:** insecticida organoclorado que actúa por contacto e ingestión, pero que a alta temperatura, también lo hace por inhalación. Afecta el sistema nervioso causando efectos en los centros de estimulación motora y provocando además daño a nivel celular. En los insectos intoxicados incrementa espontáneamente la temperatura del cuerpo, el consumo de oxígeno y la liberación de vapor de agua. Moderadamente tóxico para abejas. Altamente tóxico para humanos (Clasificación Toxicológica Ib). En Argentina, SENASA prohibió la importación de endosulfan a partir de 2012 (Res. 511/2011 del Boletín Oficial), con dos años de plazo (2013) para vender el producto remanente.

Fungicidas

Los fungicidas son sustancias tóxicas que se emplean para impedir el crecimiento o eliminar los hongos y mohos perjudiciales para las plantas, los animales o el hombre. En agricultura se utilizan extensamente en el control de enfermedades producidas por hongos en semillas, plantas y frutos. Se aplican tanto en el campo como para la protección durante el almacenamiento, transporte y comercialización. Los fungicidas se pueden clasificar en dos grandes grupos: inorgánicos y orgánicos. Los primeros son, principalmente, el azufre, los poli sulfuros y algunas sales de cobre. Los fungicidas orgánicos se empezaron a desarrollar en 1934, siendo en general, más efectivos y menos nocivos que los inorgánicos. Entre estos compuestos se encuentran los tiocarbamatos, los azoles, los benzimidazoles, las



dicarboximidas, etc. Según la clasificación toxicológica en su mayoría son “virtualmente” no tóxicos para abejas.

En el presente estudio, no se determinó la presencia de fungicidas en la matriz miel.

3.2. Hipotesis

Las prácticas agrícolas relacionadas al uso de agroquímicos y el inadecuado control sanitario de los apiarios, son factores que influyen en la dinámica poblacional de las colonias de abejas.

3.3. Objetivo

Indagar el posible rol de contaminantes de origen agrícola y apícola, determinados en la matriz miel, sobre los cambios experimentados por la población de abejas durante un ciclo de crecimiento poblacional.

3.4. Materiales y métodos

3.4.1. Diseño del Experimento

El ensayo a campo comenzó en Diciembre de 2013 y concluyó en Mayo de 2015. Se trabajó en dos zonas ecológicas diferenciadas: una agrícola y otra de monte nativo, donde fueron convocados productores de ambas regiones. En cada zona, se trabajó en 3 apiarios, seleccionados por los apicultores entre la totalidad de apiarios que poseían al momento de iniciar el ensayo. En cada apiario se instalaron como mínimo 5 colmenas tipo Langstroth del ensayo, obtenidas a partir de paquetes de abejas y 5 colmenas tipo Langstroth del apicultor obtenidas a partir de núcleos con reinas fecundadas del mismo origen que las de los paquetes de abejas. Las colmenas del ensayo

recibieron tratamientos acaricidas orgánicos (timol) mientras que las pertenecientes a los apicultores fueron controladas con moléculas sintéticas (amitraz o flumetrina).

Los apiarios de la zona de MONTE NATIVO (Fig.11), ubicados en las inmediaciones de la localidad de Villa de Merlo, provincia de San Luís, pertenecen al apicultor Ivan Severini y se denominan: 1) DON COTO; 2) AGUARIBAY y 3) LA COLONIA.

Los apiarios de la zona AGRICOLA (Fig.12), ubicados en las inmediaciones de la localidad de Alcira Gigena, provincia de Córdoba, pertenecen al apicultor Raúl Putero y se fueron identificados como: 1) CAMINO CABRERA; 2) ARROYO TEGUA y 3) CAPILLA TEGUA.

En cada monitoreo sanitario, los apicultores recibieron un informe detallado con los resultados obtenidos.

Tabla 12. Georreferenciación de los apiarios de la zona Agrícola y de Monte Nativo.

ZONA AGRICOLA		ZONA MONTE NATIVO	
Nombre del Apiario	Georreferenciación	Nombre del Apiario	Georreferenciación
CAMINO CABRERA	32° 49' 40.35" S 64° 13' 08.55" O 474 msnm	DON COTO	32° 21' 46.27" S 65° 01' 18.84" O 829 msnm
ARROYO TEGUA	32° 41' 23.10" S 64° 22' 02.35" O 558 msnm	EL AGUARIBAY	32° 25' 10.64" S 65° 01' 03.22" O 811 msnm
CAPILLA TEGUA	32° 38' 53.53" S 64° 21' 02.82" O 578 msnm	LA COLONIA	32° 24' 25.07" S 65° 03' 17.98" O 747 msnm



Figura 11. Imagen satelital de la Zona Agrícola (Alicira Gigena) y ubicación de los apiarios bajo estudio.



Figura 12. Imagen satelital de la zona de Monte Nativo (Villa de Merlo) y la ubicación de los apiarios bajo estudio.



3.4.2. Muestreos Sistemáticos

A los fines de la presente tesis, se tomaron los cinco muestreos realizados en las siguientes Estaciones: Verano 2013, Otoño 2014, Invierno 2014, Primavera 2014 y Otoño 2015.

3.4.3. Determinación de la población de abejas adultas y cría

En un primer momento se intentó cuantificar la población de abejas utilizando un software que mediante fotografías digitales de los cuadros establece el área cubierta con abejas y con cría. Dada la complejidad del proceso de fotografiar cuadro por cuadro, con consecuencias negativas para las colmenas (pillaje), se decidió estimar la población de adultas contabilizando el número de marcos cubiertos con abejas al momento de levantar la entretapa, sin hacer uso de humo, tanto de la cámara de cría como de las alzas superiores. Para determinar la cantidad de marcos con cría, se procedió a la inspección de cada uno de los cuadros que componían la colmena, contabilizando todo aquel que tuviera tanto cría operculada como abierta, independientemente del área que la misma ocupara dentro del panal.

3.4.4. Determinación del porcentaje de Mortandad

En cada visita a los apiarios se identificó y registró las colmenas que se encontraban muertas o zanganeras. Se tomaron datos que pudieran explicar las causas de la pérdida de las mismas. El dato colectado representó las pérdidas comprendidas entre la estación de muestreo previa y la actual.

3.4.5. Muestreo para Sanidad

Durante las revisiones fueron tomadas muestras individuales en cada colmena, para la determinación de la prevalencia de *Varroa destructor* y el número de esporos de *Nosema spp.* (abundancia). Los muestreos se realizaron entre las 9 y 17 horas aproximadamente, alternando en cada viaje la secuencia de los apiarios.



En una planilla de campo (Anexo II) se registraron los siguientes datos: Fecha, Apiario, N° colmenas totales; N° colmena del ensayo, cantidad alzas, n° marcos abejas, n° marcos con cría, presencia de polen y miel o jarabe, presencia de reina pintada, observaciones (enjambro, cambio de reina, zanganera, pillada, cultivos circundantes al apiario, etc).

Nosemosis

Al momento de llegar al apiario se procedió a cerrar con cinta papel la piquera y toda posible entrada de abejas de la totalidad de colmenas involucradas en el ensayo. Se recolectaron desde la piquera aproximadamente 100 abejas pecoreadoras en un frasco de plástico conteniendo alcohol, con su correspondiente identificación. La determinación del número de esporos de *Nosema spp.* (abundancia) se realizó mediante la Técnica de Cantwell (Cantwell, 1970). La misma consiste en estimar la abundancia de *Nosema* macerando los abdómenes de 60 abejas de cada muestra en 60 ml de agua destilada (Fries y col., 1984). Posteriormente se filtra y se toma una gota de la solución homogeneizada que se coloca en un hemocitómetro (cámara de Neubauer) para cuantificar el número de esporos utilizando un microscopio óptico (Arcano XSZ 100BN). Una vez tomada la muestra para Nosemosis se procedió a la apertura de la colmena y su revisión completa en busca de síntomas de Loque Americana, Loque Europea, Cría yesificada u otras patologías al tiempo que se tomaron las muestra para Varroosis.

Varroosis

La prevalencia de *V. destructor* por colmena fue estimada en estado forético sobre las abejas adultas que se encontraron en el interior del nido de cría de la colmena siguiendo el protocolo establecido por D`Jong, que consiste en la recolección de 200 a 300 abejas nodrizas de tres panales alternos, preferentemente de cría abierta, verificando que allí no se encuentre la reina. Manteniendo el cuadro verticalmente, y utilizando un frasco de plástico de boca ancha con agua, alcohol y detergente se procedió a deslizarlo de arriba hacia abajo, de manera que “rozar” con el borde del frasco el cuerpo de las abejas que caen dentro del recipiente. Los tratamientos acaricidas fueron aplicados con posterioridad a la toma de muestra. La prevalencia de *V. destructor* por colmena fue calculada como:



$$\% V. destructor = (\text{Número de ácaros foréticos} / \text{número de abejas adultas}) \times 100$$

Las muestras se procesaron dentro de las 48 horas de extraídas para el caso de Varroosis y dentro de los 7 días para el caso de Nosemosis en el Laboratorio de Sanidad Apícola, dependiente de la Secretaría de Extensión y Desarrollo de la Universidad Nacional de Río Cuarto, ubicado en el Campo de Docencia y Experimentación (Ruta 36 km 601, Río Cuarto, Córdoba).

3.4.6. Muestreo de miel y cera

En las colmenas se tomaron dos trozos de panal de los marcos laterales de la cámara de cría de aproximadamente 5 x 5 cm. En caso de estar presentes alzas melarias, también se tomaron dos trozos de panal conteniendo miel, para su posterior análisis en el Laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales de la UNRC.

Estos análisis fueron realizados por la doctorando Lic. Lina Marcela León Gallón, como parte de su tesis para obtener el título de Doctora en Química. Los plaguicidas propuestos para su análisis se detallan en la Tabla 13.

Tabla 13. Plaguicidas de origen apícola y agrícola evaluados en la matriz miel.

ORIGEN DEL PLAGUICIDA	PRINCIPIO ACTIVO
APICOLA	AMITRAZ
	COUMAPHOS
	TIMOL
AGRICOLA	CIPERMETRINA
	FIPRONIL
	DICLORVOS
	ATRAZINA
	CLORPIRIFOS
ENDOSULFAN	



3.4.7. Análisis Estadístico

Para determinar las diferencias en la población de abejas en función de la zona (AG o MN), el tratamiento acaricida utilizado (ORG o SINT) y los momentos del muestreo (Estaciones) las variables se clasificaron de la siguiente manera:

- La *población de abejas adultas y cría*, % *Varroosis*, conteos de *Nosemosis* son consideradas variables **DEPENDIENTES** o **RESPUESTA**.
- Las *zonas*, *acaricidas*, *estaciones del año* y *residuos de plaguicidas en miel* son consideradas variables **INDEPENDIENTES** o **EXPLICATIVAS**.
- Los *apiarios* son variables **INDEPENDIENTES ANIDADAS** dentro de zona (AG/MN).

3.4.8. Índice Poblacional

Al comienzo del ensayo, se estableció un Índice Poblacional (IP) con la finalidad de determinar la relación entre la población de abejas adultas y la cría respecto al total de marcos presentes en cada colmena al momento del muestreo, mediante la siguiente ecuación:

$$INDICE\ POBLACIONAL = \frac{n^{\circ}\text{ marcos abejas adultas} - n^{\circ}\text{ marcos de cría}}{n^{\circ}\text{ total de marcos de la colmena}}$$

El IP presenta valores desde -1 a 1, siendo:

- > 0 cuando el n° de marcos con abejas adultas es superior al n° marcos con cría ($A > C$).
- $= 0$ cuando la cantidad de marcos de ambos estadíos poblacionales son iguales ($A = C$).
- < 0 cuando el n° de marcos con abejas adultas es inferior al n° marcos con cría ($A < C$).



El Índice Poblacional (IP) tiene un comportamiento aproximadamente normal, por lo que fue factible describir la variable mediante la utilización de las medias y desvío estandar.

Se aplicó un Análisis de Varianza Multifactorial de Medidas Repetidas (Ruiz de Villa, 2004) considerando los valores del Índice poblacional en cada colmena a lo largo de las Estaciones (Ver13 – Oto 14 – Inv 14 – Pri 14 – Oto 15). De esta manera el modelo observa y sintetiza los valores del IP a lo largo del tiempo sujeto al efecto fijo de los tratamientos con cuatro niveles: Agrícola Orgánico (AGO), Agrícola Sintético (AGS), Monte Nativo Orgánico (MNO), Monte Nativo Sintético (MNS).

Posteriormente, se aplicó un Análisis Multivariado de medidas repetidas (Johnson, Dallas E. 2000) para verificar los supuestos de homogeneidad (test de esfericidad) y normalidad, de modo de verificar que la elección del modelo utilizado fuera la adecuada. Como los supuestos se cumplieron se utilizó un Modelo de Medidas Repetidas Factorial Univariado, ya que al cumplirse los mismos, son equivalentes. Posteriormente se utilizó el test de comparación múltiple de Medias SNK (Student Newman Keuls).

3.4.9. Varroa y Nosema

De forma análoga al Índice poblacional, para el análisis de las variables respuestas sanitarias (Varroa y Nosema) se utilizó un modelo de Medidas Repetidas considerando el factor tratamiento (Zona x Acaricida) como variable explicativa a tratamiento. Como en estos casos las variables respuesta no tuvieron distribución normal, se emplearon Modelos Lineales Generalizados. En primer lugar se aplicó un análisis de Medidas Repetidas Multivariado (Mauchly's test of sphericity) que ofrece un valor p corregido mediante la prueba de Greenhouse-Geisser and Huynh-Feldt (Greenhouse y Geisser, S. 1959; Huynh y Feldt, 1976). Posteriormente dado que la interacción zona-tratamiento es significativa, se realizó un análisis por cada estación del año comparando los tratamientos (zona x acaricida).

Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el software R, siguiendo los procedimientos estadísticos descritos por el R Core Team (2016).



3.4.10. Puesta a punto del ensayo

Preparación del material inerte

Tres meses antes de la fecha de entrega de los paquetes de abejas, se procedió al armado y acondicionamiento de 50 cámaras de cría completas (piso, alza, marcos con cera estampada, alimentador, entretapa y techo) que fueron identificadas con un número y un dibujo (para minimizar la deriva de abejas).

Paquetes de abejas

El proveedor de material vivo fue la Cabaña Apícola Vista Flores, de la provincia de Mendoza. La fecha de entrega de los paquetes y reinas fecundadas se acordó para el 3 de diciembre de 2011. El traslado de los paquetes (ya constituidos como colmenas) se realizó el septiembre de 2012 a ambas zonas (AG y MN) y fueron distribuidas al azar en los apiarios seleccionados.

Instalación de reinas fecundadas

En diciembre de 2011, los apicultores participantes en las localidades de Merlo y Alcira Gigena, confeccionaron los nucleos (de 5 marcos de cría) tres días previos a la instalación de las reinas fecundadas adquiridas junto a los paquetes de abejas. Los mismos fueron ubicados en un lugar accesible para su mejor seguimiento, hasta el traslado a los apiarios definitivos en septiembre de 2012.

Manejo nutricional y del espacio

El manejo del espacio, como así también, el aspecto nutricional, quedó a criterio de los apicultores participantes, debido a la imposibilidad de concurrir a los apiarios en forma periódica. Como sustituto energético se proporcionaron 7 bolsas de 50 kilos de azúcar para alimentar en cada zona las 18 colmenas del ensayo sometidas a tratamientos orgánicos (lo que en promedio significa un aporte de aproximadamente 20 kilos de azúcar por colmena/año).

3.5. Resultados

3.5.1. Índice Poblacional

Como se mencionó anteriormente, el IP nos da una idea de la relación poblacional dentro de la colmena, entre las abejas adultas y la cría, expresada en cantidad de marcos cubiertos con abejas y cantidad de marcos con presencia de cría en cualquiera de sus estadios (huevo, larva, pupa).

Durante los cinco muestreos realizados, se tomaron en total 344 datos de población de abejas adultas y de cría, 173 provenientes de la zona Agrícola y 171 de la del Monte Nativo. El muestreo de Verano 2015 no se pudo llevar a cabo principalmente por las condiciones climáticas de abundantes lluvias.

En la tabla 14 se detallan la cantidad de colmenas por Zona (AG/MN), Tratamiento (ORG/SINT) y Apiario: *AT* (*Arroyo Tegua*); *CC* (*Camino Cabrera*); *CT* (*Capilla Tegua*) correspondientes a la zona Agrícola y *AY* (*Aguaribay*); *CO* (*Don Coto*); *LA* (*La Colonia*) pertenecientes a la zona de Monte Nativo.

Tabla 14. Distribución de la cantidad de colmenas por zona, apiario y tratamiento al inicio del ensayo.

AGRICOLA (37)			
Trat/Apiario	<i>AT</i>	<i>CC</i>	<i>CT</i>
ORGANICO (18)	6	5	7
SINTETICO (19)	5	7	7
MONTE NATIVO (38)			
Trat/Apiario	<i>AY</i>	<i>CO</i>	<i>LC</i>
ORGANICO (18)	7	5	6
SINTETICO (20)	8	6	6

Tabla 15. Medidas resumen del Índice Poblacional de acuerdo a Zonas y Tratamientos.

INDICE		N	MEDIANA	MEDIA	D.E.	Min.	Máx.
AG	ORG	83	0,35	0,38	0,29	-0,20	1,00
	SINT	90	0,48	0,47	0,23	0,00	1,00
MN	ORG	86	0,40	0,42	0,26	-0,10	1,00
	SINT	85	0,50	0,48	0,27	0,00	1,00

Las medias del Índice Poblacional oscilaron entre 0,38 y 0,48 (A > C) siendo mayores para los tratamiento Sintéticos de ambas Zonas. Los valores de desviación standard (D.E.) permiten inferir que las cuatro distribuciones estarían superpuestas (Tabla 15).

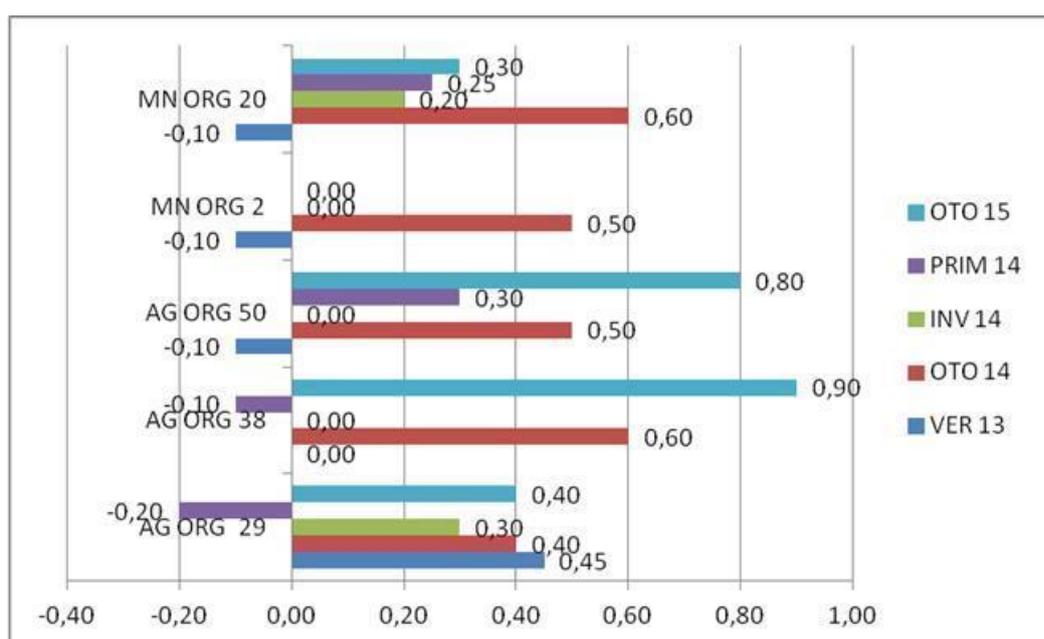


Figura 13. Evolución del Índice Poblacional de las cinco colmenas que presentaron índices negativos durante alguna de las estaciones de muestreo.

Como se puede apreciar en la Figura 13, con el acaricida orgánico y en ambas zonas, se presentó un Índice Poblacional negativo (A < C) durante la estación de muestreo Verano 13 (Ag/Org: Colmena 50; Mn/Org: Colmenas 2 y 20) y Primavera 14 (Ag/Org: Colmenas 29 y 38), dado que la cantidad de marcos con cría superaba a los marcos cubiertos con abejas. Se destaca que

el 100,0% pertenecían a tratamientos Orgánicos, estando el 60,0% (3/5) de ellas ubicadas en la Zona Agrícola.

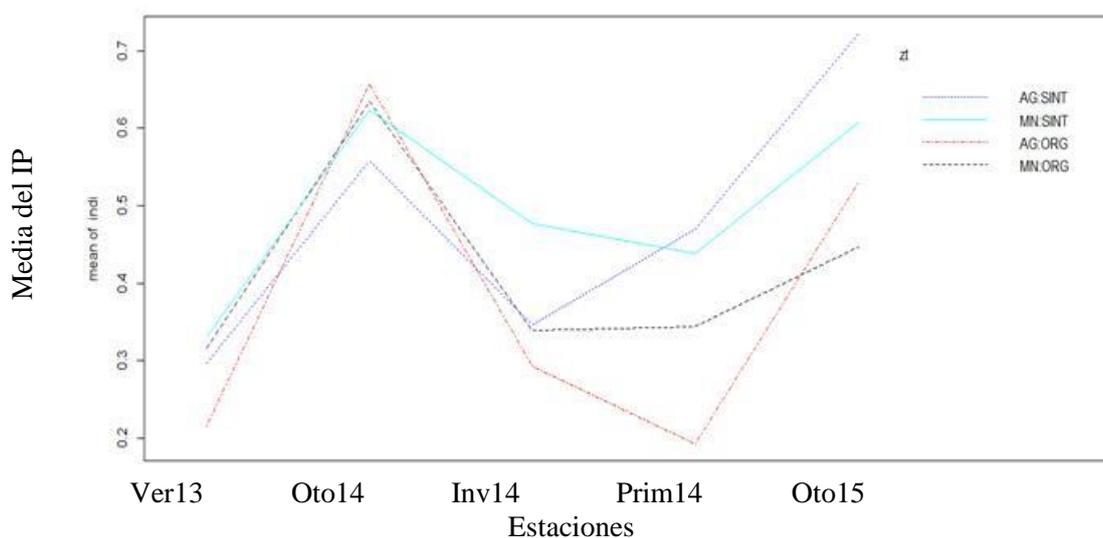


Figura 14. Gráfico de Perfil de las Medias de los Índices Poblacionales

En la figura 14 se evidencia los cambios de las Medias del Índice Poblacional, por Zona y Tratamiento, a través de las cinco Estaciones de muestreo. Las combinaciones Zona:Tratamiento presentan una tendencia similar entre ellas a lo largo del tiempo.

No hay evidencia estadísticamente significativa de que la combinación Zona:Tratamiento y Estación de muestreo estén relacionados ($p > 0,05$). Se mantiene el mismo comportamiento de la combinación Zona:Tratamientos a lo largo del tiempo (Fig.16).

Por ésta razón se analizaron los factores por separado mediante un test de comparaciones múltiples SNK (Student Newman Keuls) para Estación de muestreo (Fig.14). Se observan dos grupos: OTO 14-OTO 15, que no presentan diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p > 0,05$) y son diferentes (estadísticamente significativos) de las otras Estaciones ($p < 0,05$), las cuales a su vez no presentan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

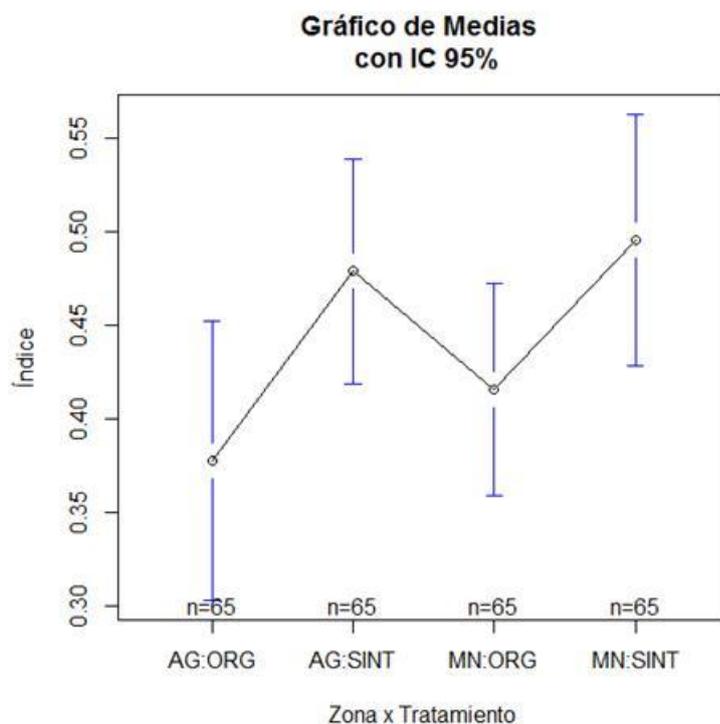


Figura 15. Índice Poblacional por Zona:Tratamiento.

El IP de las colmenas AG/ORG presenta diferencias significativas en relación a las colmenas del resto de las combinaciones de Zona:Tratamiento ($p < 0,05$). No hay diferencias estadísticamente significativas entre MN/SINT y AG/SINT. Además, MN/ORG no presenta diferencias estadísticas con los otros tratamientos. Los IP de las colmenas MN/ORG se encuentran entre los de AG/ORG y las colmenas bajo tratamiento acaricida SINT de ambas zonas (Fig.15).

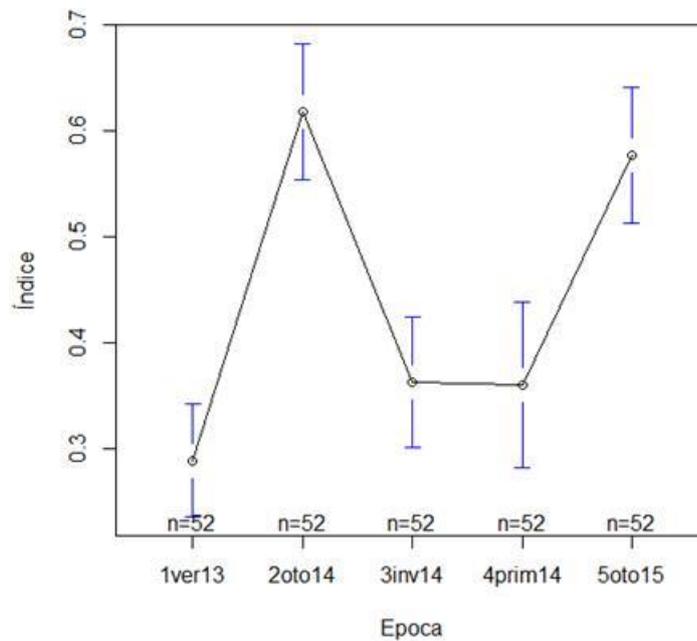


Figura 16. Índice Poblacional por Estación de muestreo.

Como se señaló anteriormente, al comienzo de la evaluación (Ver13) los IP fueron similares para las colmenas de la zona MN/SINT y MN/ORG y la AG/SINT, siendo levemente inferior en las colmenas AG/ORG. Los valores máximos del IP se registraron en Otoño 14 y Otoño 15 ($A > C$) lo que coincide con la reducción de la postura de la reina y el nacimiento de obreras de otoño, cuya expectativa de vida es de 4 o 5 meses, a deferencia de las obreras nacidas en primavera o verano que solo viven entre 35 a 45 días.

Durante la Primavera 14, las colmenas de los tratamientos SINT de ambas zonas (AG/MN) tuvieron mayor cantidad de abejas adultas que de cría ($> IP$), mientras que las colmenas ORG presentaron en ambas zonas los menores IP ($A=C$).

Durante la invernada (Invierno 14), las colmenas MN/SINT presentaron mayor cantidad de abejas adultas en relación a la cría. Diferente fue el comportamiento de las colmenas AG/ORG con prácticamente la misma cantidad de cría que de abejas adultas (Fig. 16).

La relación entre abejas adultas y cría en cada estación tiene impacto en diferentes aspectos de la dinámica de la colmena, tanto en la capacidad para invernar (formación del bolo invernal, consumo de reservas), como en la prevalencia del ácaro *V. destructor*, el arranque primaveral y la fortaleza de la colmena para enfrentar la mielada.

3.5.2. Mortandad

Tal como se mencionó, el ensayo se desarrollo desde el verano de 2013 al otoño 2015. Al finalizar el mismo el porcentaje total de Mortandad fue del 33,3% (25/75). El 16,0% de las mismas, se encontraban zanganeras. No se detectaron pérdidas de colmenas por hambre, frío o con la presencia de abejas muertas en la piquera. En varias oportunidades, al momento de la inspección, las colmenas ya llevaban muertas un tiempo prolongado y se encontraban con presencia de polilla de la cera. Las pérdidas de colmenas por zona, tratamiento y estación se detallan en la Tabla 16.

Tabla 16. Porcentajes de Mortandad discriminado por Zona, Tratamiento y Estación.

Zona/ Tratamiento	VER 13 %Mt.	OTO 14 %Mt.	INV 14 %Mt.	PRI 14 %Mt.	OTO 15 %Mt.
AG/ORG	0 (0/18)	0 (0/18)	5,5 (1/18)	5,8 (1/17)	25 (4/16)
AG/SINT	0 (0/19)	5,2 (1/19)	0 (0/18)	5,5 (1/18)	0 (0/17)
MN/ORG	11,1 (2/18)	12,5 (2/16)	0 (0/14)	7,1 (1/14)	15,3 (2/13)
MN/SINT	0 (0/20)	20 (4/20)	12,5 (2/16)	28,5 (4/14)	0 (0/10)

* Entre paréntesis se expresa el número de colmenas pérdidas en relación a la existencia total.

En la Tabla 16 puede observarse que los mayores porcentajes de Mortandad variaron en cada estación, siendo mayores en Primavera 14 (11,1%), Otoño 15 (10,7%) y Otoño 14 (9,6%), mientras que las estaciones de Verano 13 e Invierno 14 presentaron las menores pérdidas (2,6% y 4,5%).

La zona que presentó mayores pérdidas de colmenas fue la de Monte Nativo con el 43,6% de Mt, en comparación con la zona Agrícola que presentó una Mt del 22,2%. Si comparamos por

tratamiento, vemos que bajo control Orgánico se perdieron el 36,1% de las colmenas, presentando las colmenas bajo tratamiento Sintético una Mortandad del 30,76%.

Para las colmenas bajo tratamiento rotativo entre amitraz y flumetrina (sintético), las ubicadas en la zona Agrícola, tuvieron pérdidas del orden del 10,52%, mientras que las de Monte Nativo tuvieron una Mortandad del 50,0%. Este mismo análisis, aplicado al tratamiento orgánico, revela que las diferencias entre Zonas no fueron significativas (AG/ORG= 33,3% vs MN/ORG=38,8%).

Esto implica que bajo tratamiento Sintético, por cada colmena muerta en la zona AG se murieron 5 colmenas de la zona MN, mientras que bajo tratamiento Orgánico la zona de MN supero solo en un 14,2% la Mt de la zona AG. Aquí se evidencia que estas diferencias entre las zonas y tratamientos, responden en mayor medida a los manejos apícolas realizados por cada apicultor en sus respectivos apiarios, ya que las mayores pérdidas se dieron en colmenas ubicadas en la zona de MN bajo tratamiento SINT.

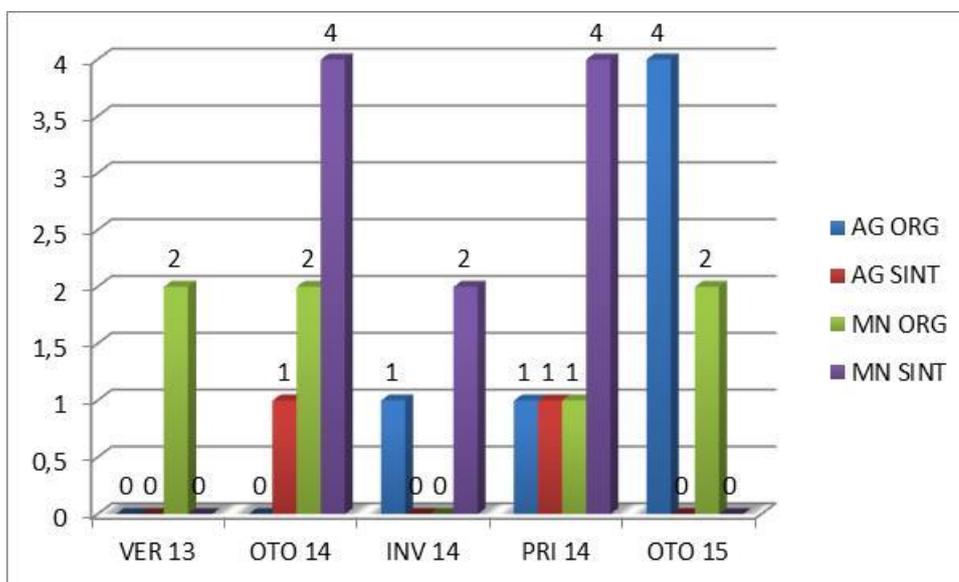


Figura 17. Distribución de la pérdida de colmenas (nº) por Zona, Tratamiento y Estación de muestreo.

La supervivencia de las colmenas al final del ensayo se presenta en la Tabla 17.

Tabla 17. Porcentajes de supervivencia de las colmenas al finalizar el ensayo por Zona y Tratamiento.

ZONA / TRATAMIENTO	% SUPERVIVENCIA FINAL
AGRICOLA/ORGANICO	66,7
AGRICOLA/SINTETICO	89,5
MONTE NATIVO/ORGANICO	61,1
MONTE NATIVO/SINTETICO	50,0

Las colmenas de la zona AG bajo tratamiento SINT fueron las que presentaron las menores pérdidas durante el transcurso del ensayo. En la zona de MN las colmenas ORG tuvieron mayor porcentaje de supervivencia.

Como se mencionó anteriormente, estos resultados evidencian las implicancias que tiene el manejo apícola. En este sentido, la aplicación de los tratamientos acaricidas en los momentos oportunos y la suplementación nutricional, ambos aspectos que estuvieron bajo el criterio de los apicultores, fueron implementados en forma diferente en ambas zonas. Esto se dió principalmente debido a las diferencias ecológicas y de aportes de néctar y polen en cada una, con lo cual es factible considerar que estas medidas de manejo disímiles podrían ser parte de la explicación de los porcentajes de prevalencia de la Mortandad, considerando tanto los aportes nutricionales, como los momentos óptimos para la aplicación de los acaricidas.

Esto se condice con una de las premisa en cuanto a manejo integrado de plagas, que indica que los tratamientos no deben ser aplicados a calendario, sino que se debe monitorear y realizar las curas en función de la prevalencia encontrada, el estado de desarrollo de la colmena y el momento del año.

3.5.3. Sanidad

Dentro de las otras patologías que fueron objeto de estudio, encontramos en las correspondientes revisiones, que la presencia de *Ascophaera apis*, agente causal de Cría yesificada, estuvo relacionada a colmenas que se volvieron zanganeras, al igual que la observación de síntomas de Loque Europea (*Melisococus plutonium*). Esto se explica por la disminución de obreras que se produce en aquellas colmenas que por un motivo u otro hayan quedado huérfanas y se volvieron zanganeras, es decir, colmenas que ante la ausencia prolongada de reina, presenta varias obreras ponedoras, dando origen solamente a zánganos, con lo cual se ve afectada la capacidad de limpieza y acopio de la colonia de abejas. Por otro lado, es de destacar que no se detectaron síntomas de *Paenibacillus larvae*, agente causal de Loque Americana en ninguna de las colonias participantes del ensayo.

Nosemosis

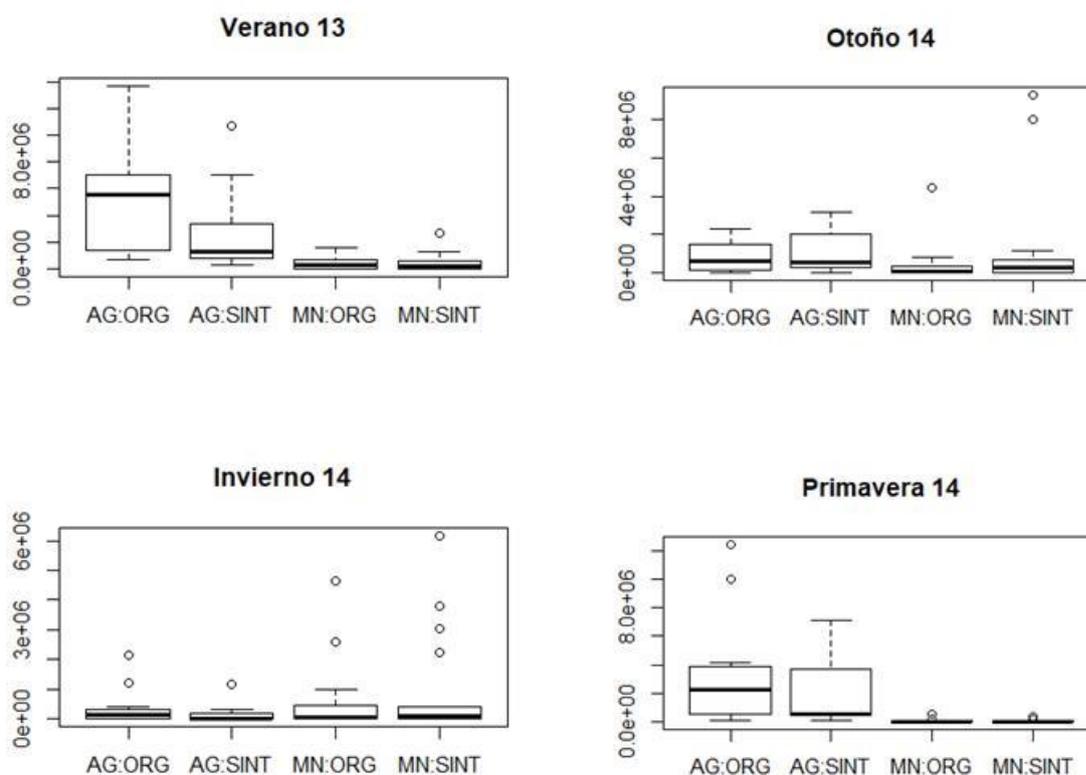
Para la determinación de esta patología que afecta a las abejas adultas y que es producida por el microsporidio *Nosema sp.*, se procedió a muestrear abejas pecoreadoras desde la piquera en cada colmena, con el fin de realizar el diagnóstico de la carga de esporas por abeja en el laboratorio mediante la Técnica de Cantwell. Se recolectaron un total de 330 muestras. Los resultados obtenidos muestran que un 29,6% de las muestras fueron negativas. De las muestras positivas, un 25,2% presentaron intensidad Fuerte (más de 1 millón de esporas/abeja), un 10,9% tuvieron niveles considerados Medios (entre 500.000 y 1 millón de esporas/abeja), mientras que la mayoría (33,6%) tuvieron recuentos menores a las 500.000 esporas/abeja (Débil) (Tabla 18).

Tabla 18. Proporción de muestras en los diferentes niveles de clasificación del n° de esporas/abeja, discriminado por zona y tratamiento.

NOSEMOSIS	NEGATIVAS	DEBIL	MEDIO	FUERTE
ZONA	N° (%)	N° (%)	N° (%)	N° (%)
AG/ORG	6 (1,75)	26 (7,79)	11 (3,20)	37 (10,85)
AG/SINT	19 (5,57)	26 (7,62)	11 (3,22)	32 (9,38)
MN/ORG	38 (11,14)	28 (8,21)	8 (2,34)	7 (2,05)
MN/SINT	35 (10,26)	31 (9,09)	6 (1,75)	9 (2,63)

Como se aprecia en la Tabla 18, en la zona de Monte Nativo, se registraron los mayores porcentajes de muestras negativas a Nosemosis, mientras que en zona Agrícola, los mayores porcentajes de muestras dieron resultados con una carga esporular superior al millón de esporas/abeja (fuerte), para ambos tratamientos.

Se realizó un Análisis de Medidas Repetidas Multivariado para analizar si el comportamiento de la variable N° esporos de nosema/abeja cambia a lo largo del tiempo (Estaciones) en cada combinación Zona:Tratamiento. Se determinó que en al menos una época el comportamiento era diferente ($p < 0.05$), por lo tanto se realizó un análisis a posteriori para cada una de las Estaciones de muestreo. Por el comportamiento de la variable (muchos 0 y valores extremos para algunas de las colmenas) se realizó un test No Paramétrico de Kruskal Wallis , dentro de cada Estación (Ver13 – Oto14 - Inv14 – Prim14 – Oto15) comparando con las combinaciones Zona: Tratamiento (AG/ORG - AG/SINT - MN/ORG - MN/SINT).



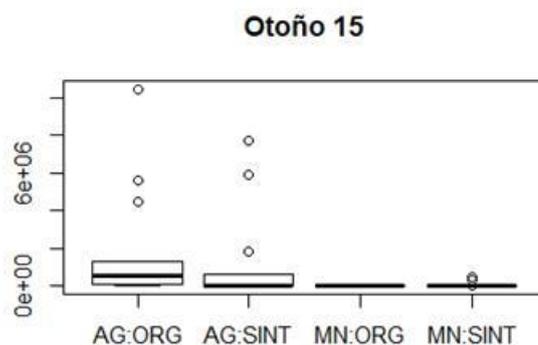


Figura 18. Diagrama de cajas del n° de esporos/abeja (Nosemosis) para la interacción Zona:Tratamiento en las cinco Estaciones de muestreo.

En la Figura 18, se puede apreciar el comportamiento de la variable n° de esporos/abejas (Nosemosis) en cada estación de muestreo.

En VER13 y OTO15, los conteos del n° de esporos por abeja de las colmenas de la Zona Agrícola presentan diferencias significativas entre los tratamientos ORG y SINT, con valores mayores para ORG. La Zona de Monte Nativo no presentó diferencias significativas entre ORG y SINT (casi todos negativos).

En OTO14 y PRIM14, se presentan diferencias significativas entre las colmenas de ambas Zonas ($p < 0,05$).

En INV14 no se presentaron diferencias significativas entre las combinaciones ($p > 0,05$).

Varroosis

Para el diagnóstico de esta parasitosis, se tomaron 341 muestras que permitieron determinar de prevalencia de *Varroa destructor* (porcentaje de infestación de varroa /colmena) utilizando la metodología de D´Jong modificada por Marcangeli. En la Tabla 19 se muestra la distribución de los niveles de infestación.



Tabla 19. Distribución de los porcentajes de infestación de *Varroa destructor* según los niveles de infestación.

Niveles de Infestación (%)	Nº Muestras	%
0	151/341	44,28
0,1 a 1	71/341	20,82
1,1 a 3	40/341	11,73
+ 3	79/341	23,16

De modo general, se puede observar en la tabla 19 que la mayoría de las muestras recolectadas (44,2%), corresponden a colmenas negativas, mientras que un 32,5 % presentaron valores entre 0,1% y 3,0% y un 23,1% superaron el umbral del 3,0% a partir del cual, dependiendo del estado de desarrollo de las colmenas y el momento del año (poscosecha, otoño o primavera) se sugiere realizar un control de la parasitosis. Las opciones disponibles consisten en la administración de un acaricida orgánico o sintético, o bien aplicando un control mediante el uso de cuadros zanganeros o la confección de núcleos, ambos métodos mecánicos que reducen la parasitosis entre un 30 al 80%.

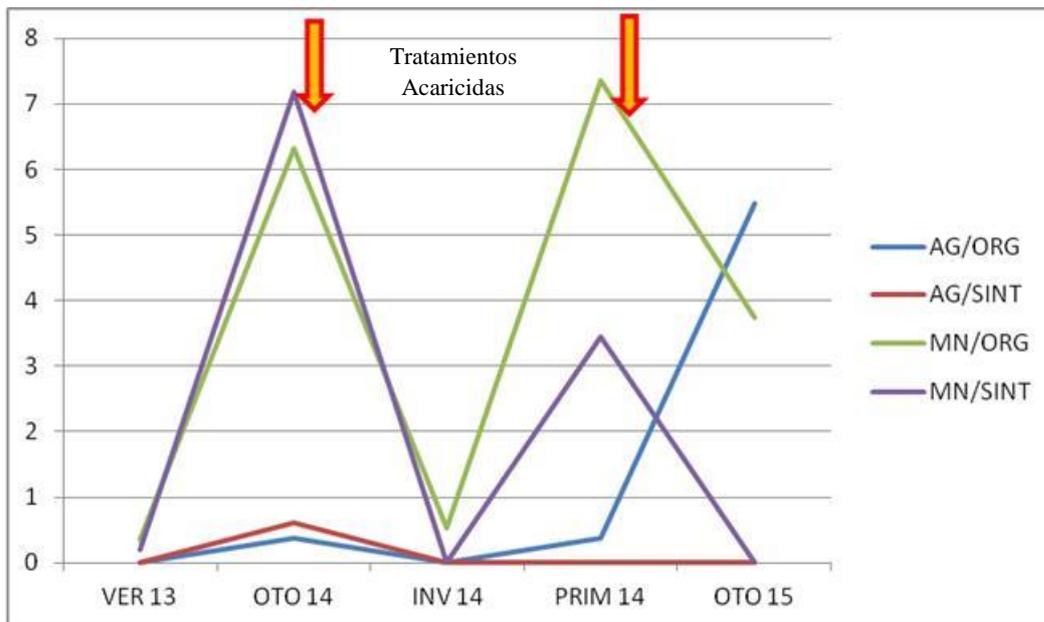


Figura 19. Comportamiento de la mediana del porcentaje de prevalencia de Varroa por Zona, Tratamiento y Estación. Momentos de aplicación de los tratamientos acaricidas.

Sintéticos (otoño = flumetrina; primavera = amitraz)

Orgánicos (timol en ambas estaciones).

Tal como se aprecia en la Figura 19, los tratamientos acaricidas fueron aplicados en Otoño 14 y Primavera 14, previa toma de muestras para Varroosis.

Los resultados del análisis estadístico de la combinación Zona:Tratamiento y Estación resultan significativos ($p < 0,05$). Por ésta razón se analiza la interacción de dicha combinación con la Estación de muestreo. Dado que la distribución de la variable Varroa es asimétrica, se aplicó un MODELO LINEAL GENERALIZADO (Fig. 20)

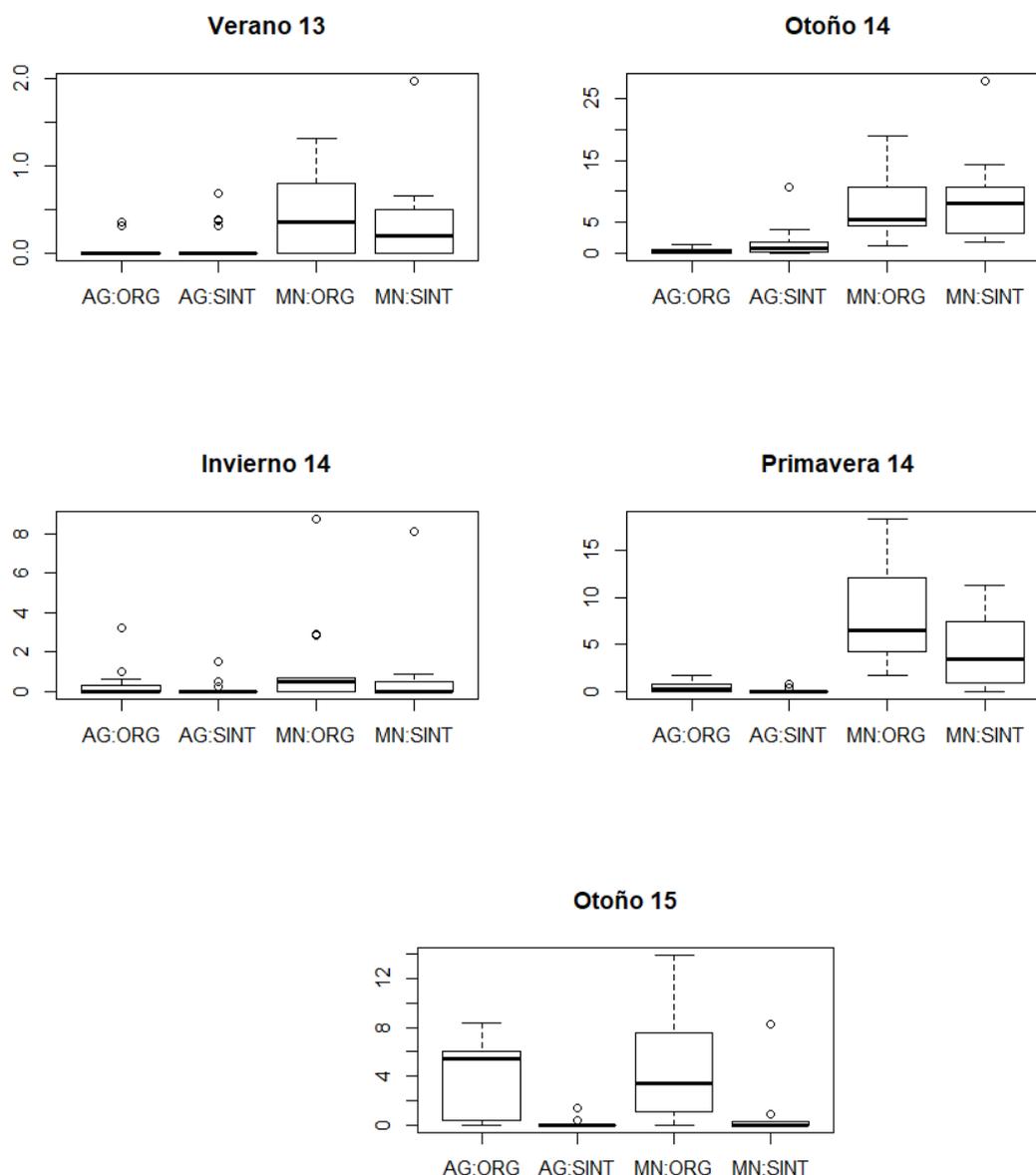


Figura 20. Diagrama de cajas del % de prevalencia (Varroosis) para la interacción Zona:Tratamiento en las cinco Estaciones de muestreo.



Entonces podemos apreciar que para el VER13 (Fig.9), no se encontraron diferencias significativas entre AG/ORG y AG/SINT ($p > 0,05$), mientras que sí se presentan diferencias significativas para las combinaciones MN/ORG ($p < 0,05$) y MN/SINT ($p < 0,05$) con respecto a AG/ORG.

Los resultados correspondientes a OTO14, muestran que existen diferencias significativas entre AG/ORG con el resto de las combinaciones AG/SINT ($p < 0,05$), MN/ORG ($p < 0,05$) y MN/SINT ($p < 0,05$).

Para la Estación INV14, no hay diferencias significativas entre las combinaciones Zona:Tratamiento ($p > 0,05$).

En la PRIM 14, todas las combinaciones Zona:Tratamiento presentan diferencias significativas ($p < 0,05$).

En la Estación OTO15, MN/ORG Y AG/ORG no presentan diferencias significativas ($p > 0,05$). Las colmenas pertenecientes a la combinación AG/SINT ($p < 0,05$) y MN/SINT ($p < 0,05$) presentan diferencias significativas con las AG/ORG.

Los mayores valores de la mediana del porcentaje de prevalencia de Varroosis corresponden a la zona de Monte Nativo para ambos tratamientos (Orgánico y Sintético) y se producen tanto en Otoño 14 como Primavera 14.

Esto en parte podría deberse a que en la zona de MN el desarrollo de la cría, acompaña los períodos de floración desde el invierno tardío hasta el otoño (agosto - abril) lo que facilita la reproducción de los ácaros en el interior de las celdas operculadas, en comparación con la zona AG donde el flujo de néctar y polen esta acotado en el tiempo a unos pocos meses (octubre – febrero).

Además cabe señalar que si bien los tratamientos en ambas zonas fueron aplicados en forma conjunta, su incidencia en el control de la parasitosis podría haber sido diferente, debido a la dinámica poblacional disímil entre las zonas, en relación al flujo de néctar y polen y la consecuente presencia y abundancia de cría.



3.5.4. Residuos

En relación a las muestras de miel recolectadas de las colmenas del presente ensayo, las mismas fueron analizadas en busca de residuos de plaguicidas, por la Química Lina Marcela León Gallón, como parte de su trabajo de tesis para acceder al título de Doctora en Ciencias Químicas (León Gallón, 2017).

Durante el transcurso del proyecto, se recolectaron un total de 445 muestras de miel y cera que fueron refrigeradas a -4°C hasta el momento de ser procesadas. A los fines de la presente tesis, solo se analizaron 100 muestras obtenidas desde diciembre de 2013 a mayo de 2015.

Estas muestras fueron organizadas en 43 pools, principalmente teniendo en cuenta la cantidad de miel recolectada (ya que las mismas fluctuaron entre pocos gramos a 10 gramos de miel) y el volumen necesario para llevar adelante las determinaciones (aproximadamente 30 gramos). De esta manera se priorizó la conformación de los mismos considerando abarcar las dos zonas, los tratamientos tanto orgánico como sintético, los apiarios y las estaciones del muestreo. También se diferenció por la procedencia de la muestra: cámara de cría (6 pools) o alza melaria (37 pools).

Se analizaron los siguientes plaguicidas: timol, amitraz, coumaphos, atrazina, clorpirifos, fipronil, endosulfan, diclorvos, cipermetrina. Las técnicas utilizadas fueron Cromatografía Gaseosa (GC – MS/MS) y Cromatografía Líquida (UPLC- MS/MS) (León Gallón, 2017). Ambos métodos poseen diferentes Límite de Detección (LD), definido como la mínima cantidad de una sustancia que corresponde a una respuesta, igual a TRES (3) veces la magnitud de la señal de ruido del equipo.

En la tabla 20 se muestra los métodos analíticos utilizados para la determinación de los plaguicidas, sus correspondientes Límites de Detección y los Límites Máximos de Residuos para diferentes matrices.

Tabla 20. Plaguicidas evaluados, valores de LD según técnica aplicada y LMR tomados como referencia.

PLAGUICIDA	Método analítico utilizado	Límite de Detección (LD)	Límite Máximo de Residuo (LMR)
ATRAZINA	GC- MS/MS	2 a 5 ppb	100 ⁽⁷⁾ ppb
	UPLC- MS/MS	1 ppb	
DICLORVOS ***	GC- MS/MS	2 a 5 ppb	200 ⁽⁶⁾ a 500 ⁽²⁾ ppb
FIPRONIL	GC- MS/MS	2 a 5 ppb	0,5 ⁽¹⁾ a 1 ⁽²⁾ ppb
ENDSULFAN **	GC- MS/MS	2 a 5 ppb	10 ⁽³⁾ a 2000 ⁽⁴⁾ ppb
CIPERMETRINA	GC- MS/MS	2 a 5 ppb	5 ⁽⁵⁾ a 5000 ⁽¹⁾ ppb
TIMOL ***	GC- MS/MS	2 a 5 ppb	No probado en alimentos específicos
AMITRAZ	GC- MS/MS	2 a 5 ppb	200 ⁽⁷⁾ ppb
	UPLC- MS/MS	1 ppb	
COUMAPHOS	GC- MS/MS	2 a 5 ppb	100 ⁽⁷⁾ ppb
	UPLC- MS/MS	1 ppb	

LMR según diferentes matrices: (1) Pasturas consociadas, (2) Granos (3) Cebada, (4) Girasol, pepino, (5) Arveja, (6) Tabaco, (7) Te.

Por otro lado, todo producto y subproducto de la producción agropecuaria destinado a consumo humano o animal se le otorga un Límite Máximo de Residuo o Tolerancia (LMR) definido como la máxima concentración de residuo de un plaguicida o medicamento de uso veterinario legalmente permitido. Para su cálculo son considerados varios factores de seguridad partiendo de la IDA (Ingesta Diaria Admisible) o NOEL (siglas en inglés de “nivel

de efecto no observado”). Sin embargo, los LMRs no deberían ser considerados como límites de seguridad según Mutinelli et al (2007).

Tabla 21. Conformación de los pools de miel según origen (AM/CC), zona (AG/MN) y tratamiento (ORG/SINT).

			SINTETICO
		AGRICOLA	7
		16	ORGANICO
	ALZAS		9
	MELARIAS		SINTETICO
	37	MONTE	11
		NATIVO	ORGANICO
		21	10
TOTAL			SINTETICO
POOLS		AGRICOLA	0
ANALIZADOS		2	ORGANICO
43	CAMARAS		2
	DE		SINTETICO
	CRIA	MONTE	3
	6	NATIVO	ORGANICO
		4	1

Como se mencionó previamente, para el análisis de residuos se conformaron 43 pools (Tabla 21) a partir de las 100 muestras de miel. De éstos, 18 pools provinieron de la zona Agrícola y 25 de la de Monte Nativo. Como la exposición a plaguicidas es diferente si se trata de alzas melarias o cámaras de cría, también se los clasifico según el origen de la muestra del panal en la colmena (37 pools de alzas melarias y 6 pools a mieles de las cámaras de cría). Esto se debe principalmente a que los panales de la cámara de cría están expuestos a los diferentes compuestos acaricidas utilizados para el control de varroa, mientras que las alzas melarias permanecen en la colmena unos pocos meses y en ellas se deposita la miel de la temporada, por lo cual, los residuos encontrados en ellas, estarían relacionados a la exposición a plaguicidas durante la mielada. Además se tuvo en cuenta los tratamientos acaricidas recibidos (Orgánico 22 y Sintético 21).

Tabla 22. Detalle de los pools y método analítico utilizado en la determinación de residuos.

Pool	Zona	Tratamiento	Estación	Origen	Método
1	AG	SINT	INV 14	AM	GC-MS/MS
2	AG	ORG	INV 14	AM	GC-MS/MS
3	AG	ORG	OTO 14	AM	GC-MS/MS
4	AG	SINT	OTO 14	AM	GC-MS/MS
5	AG	SINT	PRI 14	AM	GC-MS/MS
6	AG	ORG	PRI 14	AM	GC-MS/MS
7	MN	SINT	INV 14	AM	GC-MS/MS
8	MN	ORG	INV 14	AM	GC-MS/MS
9	MN	SINT	PRI 14	AM	GC-MS/MS
10	MN	ORG	PRI 14	AM	GC-MS/MS
11	MN	SINT	VER13	AM	GC-MS/MS
12	AG	ORG	OTO 15	AM	GC-MS/MS
13	AG	SINT	OTO 15	AM	GC-MS/MS
14	MN	ORG	OTO 14	AM	GC-MS/MS
15	MN	SINT	OTO 14	AM	GC-MS/MS
16	MN	ORG	OTO 15	AM	GC-MS/MS
17	MN	SINT	OTO 15	AM	GC-MS/MS
18	AG	SINT	INV 14	AM	UPLC- MS/MS
19	AG	ORG	PRI 14	AM	UPLC- MS/MS
20	MN	SINT	OTO 15	AM	UPLC- MS/MS
21	MN	SINT	PRI 14	AM	UPLC- MS/MS
22	MN	ORG	OTO 14	AM	UPLC- MS/MS
23	MN	SINT	OTO 15	AM	UPLC- MS/MS
24	MN	ORG	OTO 15	AM	UPLC- MS/MS
25	MN	SINT	VER13	AM	UPLC- MS/MS
26	AG	ORG	PRI 14	AM	UPLC- MS/MS
27	AG	ORG	PRI 14	AM	UPLC- MS/MS
28	AG	SINT	OTO 15	AM	UPLC- MS/MS
29	AG	ORG	VER13	AM	UPLC- MS/MS
30	MN	ORG	PRI 14	AM	UPLC- MS/MS
31	MN	ORG	PRI 14	AM	UPLC- MS/MS
32	MN	SINT	PRI 14	AM	UPLC- MS/MS
33	MN	ORG	INV 14	AM	UPLC- MS/MS
34	MN	SINT	INV 14	AM	UPLC- MS/MS
35	AG	SINT	OTO 14	AM	UPLC- MS/MS
36	MN	ORG	VER13	AM	UPLC- MS/MS
37	AG	ORG	OTO 14	AM	UPLC- MS/MS
38	AG	ORG	VER 13	CC	GC-MS/MS
39	MN	ORG	PRI 14	CC	UPLC- MS/MS
40	MN	SINT	VER 13	CC	UPLC- MS/MS
41	AG	ORG	VER 13	CC	UPLC- MS/MS
42	MN	SINT	PRI 14	CC	UPLC- MS/MS
43	MN	SINT	PRI 14	CC	UPLC- MS/MS

En las siguientes tablas (Tabla 23 y 24) se muestran los resultados obtenidos de residuos de plaguicidas determinados por GC-MS/MS y Cromatografía Líquida (UPLC-MS/MS), en las muestras de miel provenientes de alzas melarias y cámaras de cría. Los resultados que están por debajo del límite de detección (LD) del método se informan cómo no detectados (ND). Los plaguicidas que no fueron analizados por las técnicas señaladas se informan cómo sin analizar (SA).

Tabla 23. Residuos de plaguicidas apícolas (ppb).

Pool	Timol	Amitraz	Coumafos
1	ND	9,41	ND
2	1501,00	12,66	ND
3	1201,00	10,06	ND
4	ND	11,30	ND
5	ND	320,00	ND
6	41,83	319,00	ND
7	ND	45,99	ND
8	1398,00	37,81	ND
9	21,25	48,80	ND
10	ND	10,20	ND
11	ND	11,41	ND
12	655,00	7,10	ND
13	456,00	14,80	ND
14	ND	7,22	ND
15	ND	7,92	ND
16	1692,00	7,33	ND
17	4061,00	7,04	ND
18	SA	ND	1,24
19	SA	ND	25,84
20	SA	ND	2,28
21	SA	ND	3,74
22	SA	ND	0,54
23	SA	ND	7,03
24	SA	ND	5,96
25	SA	ND	2,88
26	SA	ND	3,61
27	SA	ND	4,45
28	SA	ND	6,92
29	SA	ND	0,82

30	SA	ND	1,03
31	SA	ND	8,43
32	SA	ND	7,95
33	SA	ND	1,04
34	SA	ND	0,63
35	SA	ND	3,71
36	SA	ND	2,89
37	SA	ND	2,07
38	62,15	68,47	ND
39	SA	ND	1,31
40	SA	ND	23,15
41	SA	ND	1,67
42	SA	ND	9,82
43	SA	ND	2,72

Tabla 24. Residuos de plaguicidas agrícolas (ppb)

Pool	Diclorvos	Atrazina	Clorpirifos	Fipronil	Endosulfan	Cipermetrina
1	ND	10,96	ND	ND	ND	ND
2	ND	10,45	ND	ND	ND	ND
3	4,75	11,20	ND	ND	ND	ND
4	ND	10,71	ND	ND	ND	ND
5	ND	26,57	ND	ND	ND	ND
6	ND	10,40	ND	ND	ND	ND
7	ND	10,38	ND	ND	ND	ND
8	ND	10,39	ND	ND	ND	ND
9	ND	10,38	ND	ND	ND	ND
10	ND	10,38	ND	ND	ND	ND
11	ND	10,38	ND	ND	ND	ND
12	ND	10,40	ND	ND	ND	ND
13	56,56	10,39	ND	ND	ND	ND
14	ND	10,36	ND	ND	ND	ND
15	ND	10,41	ND	ND	ND	ND
16	ND	10,36	ND	ND	ND	ND
17	ND	10,37	ND	ND	ND	ND
18	SA	ND	SA	SA	SA	SA
19	SA	ND	SA	SA	SA	SA
20	SA	ND	SA	SA	SA	SA
21	SA	ND	SA	SA	SA	SA
22	SA	ND	SA	SA	SA	SA



23	SA	ND	SA	SA	SA	SA
24	SA	3,77	SA	SA	SA	SA
25	SA	ND	SA	SA	SA	SA
26	SA	1,67	SA	SA	SA	SA
27	SA	ND	SA	SA	SA	SA
28	SA	0,25	SA	SA	SA	SA
29	SA	ND	SA	SA	SA	SA
30	SA	ND	SA	SA	SA	SA
31	SA	ND	SA	SA	SA	SA
32	SA	ND	SA	SA	SA	SA
33	SA	ND	SA	SA	SA	SA
34	SA	ND	SA	SA	SA	SA
35	SA	ND	SA	SA	SA	SA
36	SA	ND	SA	SA	SA	SA
37	SA	ND	SA	SA	SA	SA
38	2,22	10,46	5,00	5,00	5,00	5,00
38	SA	ND	SA	SA	SA	SA
40	SA	ND	SA	SA	SA	SA
41	SA	ND	SA	SA	SA	SA
42	SA	ND	SA	SA	SA	SA
43	SA	ND	SA	SA	SA	SA

Tabla 25. Resumen general de los plaguicidas encontrados en pools de muestras de miel según la procedencia de la misma y la técnica analítica implementada.

Origen muestra	Método analítico	Pesticida	N	Nº casos positivos	Media (ppb)	D.E. (ppb)	Mín. (ppb)	Máx. (ppb)
Alza Melaria (37)	UPLC-MS/MS (20)	Coumaphos	20	20	4,65	5,59	0,59	25,84
		Atrazina	20	2	2,72	1,48	1,67	3,77
	CG-MS/MS (17)	Diclorvos	17	1	-	-	-	56,56
		Timol	17	9	651,00	1073,52	5,00	4061,00
		Atrazina	17	17	11,44	3,91	10,36	26,57
		Amitraz	17	17	52,24	101,52	7,04	320,00
	Cámara de Cría (6)	UPLC-MS/MS (5)	Coumaphos	5	5	7,73	9,29	1,31
CG-MS/MS (1)		Timol	1	1	-	-	-	68,47
		Amitraz	1	1	-	-	-	68,47
		Atrazina	1	1	-	-	-	10,46
		Diclorvos	1	1	-	-	-	2,22

El análisis de los resultados de residuos según el origen de la muestra (AM o CC) y el tratamiento acaricida recibido (SINT u ORG) se detalla a continuación.

Para el acaricida orgánico TIMOL, el 52,63% de las muestras analizadas de alzas melarias y la única muestra de cámara de cría, presentaron residuos por encima del LD. En su



mayoría fueron muestras de miel de colmenas bajo tratamiento ORG (7 pools), sin embargo 3 pools, cuyo origen fueron colmenas bajo tratamiento SINT, tanto de la zona AG como de la de MN, presentaron residuos. Cabe destacar que el 50% de los pools que presentaron residuos, superaron los valores recomendados de timol para evitar modificar las características sensoriales de la miel (1100 a 1300 ppb). Los mismos corresponden a pools de AM bajo tratamiento ORG, de ambas zonas, a excepción de un pool bajo tratamiento SINT de la zona de Monte Nativo.

En relación al COUMAPHOS, la totalidad de los pools, tanto de AM como de CC, analizados por Cromatografía Gaseosa presentaron niveles por debajo del LD de la técnica (5 ppb). Con la técnica de Cromatografía Líquida, el 100,0% de los pools de AM y CC presentaron residuos, sin embargo no superan el LMR (100 ppb) establecido para éste organofosforado en la matriz miel. Los valores máximos de residuos de éste acaricida se encontraron tanto en colmenas de la Zona Agrícola como de las de Monte Nativo, y tanto bajo tratamiento ORG (25,84 ppb) como SINT (23,15 ppb).

El tercer plaguicida de origen apícola estudiado fue el AMITRAZ. Este acaricida sintético fue determinado por ambas técnicas: Cromatografía Gaseosa (GC-MS/MS) y Líquida (UPLC-MS/MS). Ninguno de los pools sometidos a Cromatografía Líquida supero el LD (1 ppb), mientras que el 100% de los pools analizados por Cromatografía Gaseosa fueron positivos (Tabla 27). El valor máximo detectado en CC fue de 68,47 ppb y de 320 y 319 ppb en pools de AM de mieles provenientes de la zona AG. Este acaricida fue el único pesticida analizado que presentó niveles superiores a los LMR para miel.

Dentro de los plaguicidas de origen agrícola, en los pools provenientes de AM y CC analizados por Cromatografía Gaseosa, los niveles de clorpirifos, fipronil, endosulfan y cipermetrina no superaron los LD (2 a 5 ppb). Estos mismos plaguicidas no fueron analizados (SA) por Cromatografía Líquida.

El herbicida ATRAZINA fue determinado por ambos métodos. El 100% de los pools de AM y CC analizados por Cromatografía Gaseosa presentó residuos, sin embargo el valor máximo (26,57 ppb AG/SINT) representa un cuarto del LMR establecido para este herbicida



en te (100 ppb). Solo dos pools provenientes de AM (MN/ORG y AG/ORG) analizados por Cromatografía Líquida superaron el LD (1 ppb), con 3,77 y 1,67 ppb respectivamente, no superando el LMR (200 ppb).

Con respecto al DICLORVOS, vemos que con la técnica de Cromatografía Gaseosa, dos pools, uno de AM (AG/SINT) y otro de CC (AG/ORG) presentaron residuos, sin embargo sus niveles no superan el 25% del LMR para tabaco y el 10% para granos de consumo. No se analizaron pools con la metodología de Cromatografía Líquida para éste insecticida.

El análisis de los residuos de origen agrícola según la Zona, revela que los valores máximos de Atrazina (26,57 ppb) y Diclorvos (56,56 ppb) se presentaron en la Zona Agrícola y si analizamos los datos por Estación en la misma zona, se observa que para los pools de alzas melarias, la estación donde coexistieron la mayor variedad de residuos fue en Otoño 15 (amitraz, coumaphos, timol, diclorvos y atrazina). Esta misma situación se presentó en pools de muestras de miel provenientes de cámaras de cría para el Verano 13.



3.6. Discusión

Como se mencionó anteriormente éste ensayo a campo se llevó a cabo durante un ciclo de desarrollo poblacional de las abejas, para estudiar el efecto de los plaguicidas de origen agrícola y apícola sobre la población de abejas melíferas. Involucró dos zonas ecológicas diferentes: agrícola y de monte nativo. En cada zona se trabajó en tres apiarios. En cada apiario las unidades experimentales fueron las colmenas (mínimo 5 y máximo 8) sometidas a dos tratamientos acaricidas: orgánico y sintético (en total 36 y 39 respectivamente).

Desde el verano 2013 hasta el otoño 2015 se realizaron cinco inspecciones con la finalidad de evaluar el desarrollo poblacional (Índice Poblacional), revisión de la salud de las colonias (% Varroosis, Nº esporas/abeja para Nosemosis, otras enfermedades), establecer los porcentajes de Mortandad y recolectar muestras de trozos de panal para la determinación de la presencia de residuos de plaguicidas agrícolas y apícolas en miel.

3.6.1. Índice Poblacional

El desarrollo poblacional de las colmenas está atravesado por un sinnúmero de variables. Entre ellas climáticas, genéticas, de manejo, de disponibilidad de recursos forrajeros, pérdida de hábitats, de una combinación de agentes estresantes como patógenos y parásitos, pero también de químicos (acaricidas, insecticidas, herbicidas, fungicidas, fertilizantes), etc, en una compleja trama biológica que aún no ha sido descifrada completamente (Neumann y Carreck, 2010).

En este ensayo se evaluó la evolución de la población de abejas adultas y cría mediante la implementación de un Índice Poblacional. Se encontró que los valores máximos del IP ($A > C$) se registraron en Otoño 14 y Otoño 15, en sincronía con la disminución del ingreso de néctar que ocasiona una reducción en la postura de la reina previo al ingreso a la invernada, cuando todavía persiste una abundante cantidad de abejas adultas. Ingresando a la invernada (Invierno 14), el IP nuevamente disminuye, presentando las colmenas MN/SINT mayores IP que las demás, mientras que las colmenas AG/ORG presentaron los menores IP.



En relación a los valores negativos del Índice Poblacional durante Verano 13 y Primavera 14, una posible interpretación es que estas colmenas hayan atravesado un proceso de enjambrazón, fenómeno natural que se caracteriza por el abandono de la mitad de la población adulta junto a la reina vieja, quedando en la colmena el resto de la población adulta, abundante cría y celdas reales por nacer. Es de destacar que las cinco colmenas se mantuvieron con vida hasta el final del ensayo (Otoño 15).

En Francia, en un estudio realizado en cinco provincias, analizando 125 colmenas, Chauzat et al. (2009), no encontraron efecto significativo de los residuos de pesticidas analizados en diversas matrices (polen, miel, abejas y cera) sobre la abundancia de abejas adultas y cría.

3.6.2. Sanidad

Durante los cinco muestreos no se observaron síntomas de enfermedades bacterianas (Loque Americana y Loque Europea). En algunas colmenas que se perdieron porque se volvieron zanganeras, se pudo constatar la presencia de *Ascosphaera apis* (Cría yesificada). No se registraron síntomas o signos de otras plagas o patologías.

Varroosis

En referencia a esta parasitosis, en el presente estudio, el 76,8% de las muestras presentaron niveles menores al 3,0% de prevalencia de Varroosis. El valor máximo de prevalencia fue de 35,82% en una colmena del Monte Nativo bajo tratamiento Orgánico en Otoño 14.

Trabajos realizados durante el otoño del año 2007 en seis provincias argentinas (Río Negro, Neuquén, Santa Fe, Mendoza, Tucumán y Salta) demuestran que el 74,0% de las muestras recolectadas presentan resultados positivos, de las cuales el 46,0% presentaron prevalencias superiores al 3,0% de varroas foréticas. En dichos relevamientos se encontró que más del 70,0% presentaba infestaciones por encima del 1,0%, incluso en muestras tomadas de colmenas que ya habían recibido su tratamiento acaricida de fin de temporada (Bacci., 2010).

En Entre Ríos se llevó adelante un Plan Sanitario Apícola de Nosema y Varroa donde determinaron en la primera etapa (mayo de 2010 pre invernada) para varroa, que un 59,0% de las



29 colmenas analizadas tenía parasitosis menores al 1,0% de prevalencia (débil), un 17,0% entre 1,1 y 3,0% (medio) y un 24,0% mayor a 3,0% de prevalencia (fuerte). En la segunda etapa (septiembre a octubre 2010) se analizaron un total de 92 muestras. El 72,0% presentó prevalencia débil, 13,0% media y 9,0% fuerte (Raticelli et al., 2011).

Comparativamente, en un estudio epidemiológico sobre la pérdida de colmenas (EPILOBEE) llevado a cabo en la Unión Europea durante 2012-2014 en 17 Estados miembros (Bélgica, Dinamarca, Inglaterra y Gales, Estonia, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Italia, Letonia, Lituania, Polonia, Portugal, Eslovaquia, España, Suecia) la prevalencia clínica de la varroosis fue superior al 10,0% en al menos una de las tres visitas en siete Estados miembros con una tasa máxima del 62,6 en 2012/2013 (Polonia) y 17,1% en 2013/2014 (Francia) (Laurent et al., 2016).

Prevalencias superiores al 3,0% en abejas adultas podría asociarse a múltiples factores, evidenciando la complejidad de la epidemiología de *V. destructor* (Giacobino, et al 2014). Alimentar con polen natural, usar suplemento de hidratos de carbono, realizar recambios de reinas frecuentes, monitorear los niveles de ácaros después de aplicar un tratamiento y desinfectar los materiales de las colmenas, son prácticas de manejo que permiten una menor infestación de *V. destructor*.

Se considera que el umbral de tolerancia económica de la presencia de Varroa depende de la estación y la región, pero en general una carga promedio superior a los 3 ácaros por cada 100 abejas se torna preocupante (Rose, 2014). La presencia de Varroa incrementa el número de virus detectados en una colonia (Mondet et al., 2014). Un adecuado control periódico evita el colapso de las colonias (Rosenkranz et al., 2010), disminuye los costos de producción de miel, aumentando la rentabilidad de la apicultura (vanEngelsdorp y Maixner, 2010).

Tanto las prácticas de manejo como las condiciones ambientales y los factores socioeconómicos en conjunto, influyen en la distribución espacio-temporal de las colonias con altos niveles de infestación de Varroa. Giacobino et al (2014), encontraron que entre los factores de riesgos relacionados a las pérdidas de colmenas, se encuentran cuatro variables asociadas con el porcentaje de infestación de *Varroa destructor* al comienzo de la temporada apícola: (1) tratamiento invernal, (2) reemplazo de reina, (3) experiencia apícola y (4) tiempo de muestreo al inicio de la temporada.

El uso de timol en tratamientos orgánicos, ha sido estudiado en numerosas ocasiones con el fin determinar su eficacia en el control de infestaciones de ácaros en colonias de abejas melíferas



(*Tropilaelaps* y *Varroa destructor*), con resultados variables (Calderon et al., 1997; Imdorf et al., 1995). Lindberg et al. (2000) evaluaron varios aceites esenciales y compuestos relacionados que incluyen timol, acetato de bencilo y salicilato de metilo como tratamientos para los ácaros. Los resultados obtenidos indican que los compuestos que probaron no tuvieron altas eficiencias en todas las condiciones del ensayo, pero sugieren que podrían ser un componente útil en la implementación de un manejo integrado de plagas.

Nosemosis

En relación a Nosemosis los niveles de esporas por abeja son marcadamente superiores en la zona Agrícola con respecto a la de Monte Nativo. Esto podría atribuirse en principio a la mayor disponibilidad natural de alimento y por consiguiente una dieta más equilibrada de la colmena en este último sitio (área de monte) y también podría deberse, en parte, al mayor uso de sustituto energéticos en otoño y primavera en la zona Agrícola.

Resultados similares fueron obtenidos en un estudio llevado a cabo en dos departamentos del Noroeste de la provincia de Córdoba (Ischilin y San Junto, monte y agrícola respectivamente) durante 2008-2009 (Sosa et al., 2009-2011). En estudios llevados a cabo en la provincia de Buenos Aires, se determinó que los niveles medio y fuerte alcanzaban valores del 43,0% (Perez, 2014).

En Entre Ríos, observaron que los niveles de nosemosis encontrados en 2007 (Fuerte: 49,0%; Medio: 6,0%; Debil: 45,0%) mejoraron significativamente para 2010 (Fuerte: 0,0%; Medio: 5,0%; Debil: 95,0%) y concluyen que esta progreso se relaciona a las instancias de capacitación que recibieron los apicultores participantes del Plan (Raticelli et al., 2011) .

En el mismo estudio llevado a cabo en la UE citado anteriormente (EPILOBEE), se observaron casos positivos de nosemosis en diez de los 16 Estados miembros. La prevalencia clínica superó el 10,0% en al menos una de las tres visitas en cinco Estados miembros (Polonia, Suiza, Hungría, Lituania e Inglaterra y Gales), mientras que en 2013/2014 solo tres Estados miembros (Polonia, Grecia y Estonia) superaron dicha prevalencia.

Evidencias crecientes muestran que una deficiente nutrición proteica se constituye en el principal factor que afecta el estado de salud de las abejas. Una buena nutrición disminuye la susceptibilidad de las abejas a nosemosis (Eischen y Graham, 2008).



3.6.3. Mortandad

Este ensayo que involucró a 75 colmenas, presentó una Mortandad del 33,3%. Las pérdidas totales invernales fueron del 4,5%.

Estos valores se encuentran dentro de los rangos de estudios realizados en otras partes del mundo. Las tasas de Mortandad registrada en los 17 Estados miembros de la UE que participaron en EPILOBEE, variaron desde 3,2% a 32,4%, durante el primer año de la implementación de éste programa. Las tasas de Mortandad invernal variaron de 2,4% a 15,4% durante el segundo año del programa. Si bien se considera que el 10,0% de Mortandad es un nivel aceptable, este umbral está abierto a debate. En EPILOBEE durante 2012, las tasas de Mortandad durante el invierno superaron el 10,0% en 12 Estados miembros, señalando una marcada variación según las condiciones geográfica (Laurent et al., 2016). Para estos autores, el análisis estadístico de las correlaciones entre las pérdidas de colonias y los factores de riesgo potenciales es un tema de estudio.

En otro trabajo realizado durante tres años en Francia por Chauzat et al (2009) se registraron Mortandades invernales del 7,3% (2003); 9,2% (2004) y 5,8% (2005) en 125 colmenas que fueron monitoreadas.

3.6.4. Residuos

Cuando de pesticidas se trata, existe abundante bibliografía sobre el efecto agudo de los mismos (Meled, 1998; Kirchner, 1999; Giacobino, et al. 2000; Porrini, et al. 2003; Decourtye, et al. 2003; Higginson et al. 2004; Rortais, et al. 2005; Faucon, et al. 2005; Rogers, et al. 2007; Karise, 2007; Kremen, 2007; Oldroyd, 2007; Chauzat, et al. 2009). Sin embargo, en recientes publicaciones científicas se han evaluado los efectos subletales y crónicos de la exposición constante a las que están sometidas las colmenas en distintos territorios, con efectos sobre la salud y el comportamiento de las abejas (Desneux, et al. 2007; Newman, et al. 2010; Medrzycki, 2010; Potts, et al. 2010b; Orantes-Bermejo, 2010; Alaux, et al. 2010; Williams, et al. 2010; Johnson, et al. 2010; Herbert, et al. 2014; Goulson, et al. 2015; Helmer, et al. 2015; Requier, et al. 2016; O'Neal, et al. 2017).



Las abejas, más que los productos de la colmena (miel, cera, polen), han sido utilizadas como bioindicadoras de contaminación por plaguicidas en diversas regiones geográficas (Celli et al., 1996). En la miel, la concentración relativamente baja de pesticidas parece deberse a un efecto de filtrado que realizan las abejas, disminuyendo las altas concentraciones de plaguicidas que contiene el néctar inicialmente, por lo que la concentración final en la miel sería sensiblemente menor (Schur y Wallner, 1998; Schur y Wallner, 2000).

Paralelamente, el uso de acaricidas sintéticos destinados al control de *Varroa destructor* son la fuente más importante de contaminación en una colmena dado que tienen que estar actuando en su interior por un período de hasta 45 días, por lo cual es imprescindible que sean de liberación lenta.

Trabajos realizados con el fin de establecer la relación de los pesticidas con la disminución de la población de abejas, determinaron que los mismos pueden tener un efecto adverso sobre la salud de la colonia como consecuencia de la alteración sobre la síntesis, transporte, acción o eliminación de moléculas naturales como hormonas o enzimas, responsables de mantener el desarrollo, los mecanismos inmunes y el comportamiento (Chauzat et al., 2009).

Si bien en el presente estudio, al igual que otros realizados a nivel mundial (Chauzat et al., 2009) no se encontraron diferencias significativas entre la presencia de pesticidas y la población de abejas, mediante test de laboratorio se han evidenciado los efectos adversos sobre la biología cuando se evalúan abejas individualmente, sin embargo las colonias no han sido estudiadas en forma colectiva bajo condiciones de campo (Decourtye et al., 2005).

En relación a la calidad de la miel como alimento, en Argentina no se encuentran establecidos los límites máximos permitidos de distintos plaguicidas relacionados con la producción de miel (Codex Alimentarius, 1999). Información de la UE (Mutinelli, 2007) establece los LMR en miel para coumaphos y amitraz en 100 y 200 ppb respectivamente. Para los plaguicidas de origen agrícola se compararon los niveles de residuos detectados en la matriz miel, considerando los LMR de diferentes alimentos para consumo humano (SENASA).



Atrazina

En el caso de Atrazina los residuos encontrados en miel representan entre un 10 al 25 por ciento del LMR para maíz y te respectivamente. En estudios realizados en Canadá (Jumarie et al, 2017) no encontraron diferencias significativas en la supervivencia entre las abejas alimentadas con jarabe conteniendo glifosato, atrazina o cadmio y las del grupo control ($\chi^2 = 13.59$; $p = 0.059$). Previamente Hedrei Helmer et al., (2015) determinaron que una dosis diaria de 5 ng/abeja de atrazina o glifosato, no modificó la supervivencia de las abejas, aunque no evaluaron los efectos subletales.

Timol

El timol, tiene como uno de los componentes principales al 5-metil-2-(1-metiletil) fenol, que se encuentra presente en especies vegetales de la Familia de las Labiadas. Su acción acaricida es ejercida fundamentalmente por evaporación sobre un soporte (en este estudio, de vermiculita), pero también por contacto, ya que las abejas al acceder a los soportes lo “disgregan” y “dispersan” en toda la colmena. Su eficacia como varroocida ha sido demostrada con valores que fluctúan desde el 70,0% al 97,0% (Carmona et al, 2002), dependiendo de condiciones ambientales (temperatura ambiente) y otros factores (prevalencia inicial del ácaro, fortaleza de la colonia, forma de administración y la presencia o no de cría) (Eguaras et al., 2006). En este estudio, el 66,6% de los pools de alza melaria que presentaron residuos de Timol, provenían de muestras de colmenas bajo tratamiento orgánico. El único pool analizado de cámara de cría también presentó niveles superiores del LD. Sin embargo, encontramos que 3 pools provenientes de tratamiento sintético, en ambas zonas, también tuvieron residuos de timol por encima del LD. Una posible explicación es que, en la zona de Monte Nativo, debido a las intensas lluvias de ese verano (2015) que impidieron el muestreo correspondiente, resolvimos enviar los envases, planillas y los sobres con las almohadillas de timol. Una vez cosechadas las colmenas, el apicultor y su ayudante tomaron las muestras, registraron los datos y aplicaron el timol en forma conjunta con el tratamiento sintético a sus colmenas. En el muestreo en mayo (Otoño 15) nos encontramos con que, por confusión, dos colmenas del ensayo bajo tratamiento sintético tenían puestas las almohadillas de timol. Por



otro lado, en la zona Agrícola, pudo haber un error en el etiquetado o conformación de los pools ya que estas colmenas recibieron tratamiento sintético.

Si bien el timol es un componente natural de la miel, los residuos en miel pos tratamiento podrían afectar las características sensoriales de la miel. Niveles de residuos de timol de 1,1 a 1,3 mg/kg (1100 a 1300 ppb) son los máximos aconsejados si se quiere evitar alterar el gusto de la miel (Bogdanov et al, 1999). En nuestro estudio el 50,0% de los pools que presentaron residuos detectables por la técnica aplicada, superaron los niveles aconsejables citados.

Coumaphos

Este acaricida organofosforado fue detectado en el 100,0% de las muestras de miel, tanto de alzas melarias como de cámara de cría, sin embargo, sus residuos no superaron los LMR establecidos para miel. Otros estudios realizados por Martel (2007) en Francia, encontraron 2020 ppb de residuos en muestras de miel de panales de la cámara de cría, tras la segunda aplicación de coumaphos en las colmenas, que se detectaron hasta transcurridos 26 días de la segunda aplicación.

Si bien, ninguno de los apicultores había utilizado este acaricida sintético al menos en los últimos 15 años, su presencia en la miel puede deberse a contaminación externa producida con la introducción de cera estampada, y su posterior contaminación a la miel (Lanzelotti et al. 2006; Medici, 2011).

Amitraz

En nuestro estudio, este acaricida fue el único que presentó en dos pools, de la zona Agrícola bajo tratamiento SINT y ORG, en el muestreo de Primavera 14, niveles aproximadamente 50,0% superiores a los LMR establecidos en la matriz miel. En éste caso, las posibles causas pudieron ser un error en el etiquetado de las muestras o en la conformación de los pools, ya que en las colmenas bajo tratamiento orgánico solo se utilizó timol para el control de varroosis.

El amitraz es uno de los acaricidas que se degrada en menor tiempo, razón por la cual se encuentran bajos niveles en miel y cera (Jimenez et al. 1997). Esto se debería a que su molécula se



descompone en la miel, siendo completamente degradado dentro de los 10 días por ruptura de los enlaces amino (Korta et al. 2001).

Un estudio reciente donde se evaluó los efectos fisiológicos e inmunológicos del acaricida amitraz y su principal metabolito en las abejas melíferas, demostró que la exposición a éste acaricida formamidina, podría tener un impacto negativo en la capacidad de las abejas para tolerar la infección viral, alterando significativamente la función cardíaca de la abeja melífera, probablemente a través de la interacción con los receptores de octopamina. Los resultados sugieren un posible inconveniente para el uso de amitraz en la colmena (O'Neal et al., 2017).

Diclorvos

Para Diclorvos, el pool 16 formado por muestras de miel de colmenas bajo tratamiento sintético, procedentes del apiario Camino Cabrera de la zona agrícola, en la estación otoño 15, presentó los mayores niveles de residuos de éste insecticida (56,56 ppb) es decir, 2,8% del LMR para el tabaco y 1,13% del LMR para los granos en general.

Otros autores (Zlatkovic et al, 2004) utilizando la misma metodología analítica de nuestro estudio, encontraron concentraciones de diclorvos en abejas de 0,287 mg/kg (287 ppb) y en panal de 3,07 mg/kg. (3070 ppb), sin embargo no determinaron este insecticida organofosforado en miel.

Aunque fueron detectados residuos de plaguicidas, salvo dos excepciones, los mismos no superaron los Límites Máximos de Residuos (LMR) y su presencia no estuvo estadísticamente relacionada con la Mortandad y/o el Índice Poblacional.

Esto se condice con estudios realizados en Francia, donde no se encontró relación estadística entre la Mortandad de las colonias y los residuos de plaguicidas en matrices de miel, cera y abejas (Chauzat, M.P. 2009).

En relación a los pesticidas agrícolas cuyos residuos no superaron los LD de la técnica empleada, para el caso del endosulfán, Chauzat et al. (2006) informaron contaminación por este insecticida organoclorado en 7,0% de muestras de polen en un estudio de monitoreo realizado durante tres años en apiarios ubicados en Francia. El nivel promedio de contaminación fue 81 ng g⁻¹ (81ppb). Otro trabajo también realizado en Francia, Wiest et al. (2011) encontraron una muestra de miel contaminada con endosulfán en 31 ng g⁻¹ (0.031 ppm) entre 142 muestras recolectadas de 16 colmenares en todo el país entre 2008 y 2009.



En Grecia un estudio realizado por Kasiotis et al. (2014), donde se evaluó la presencia de 115 analitos de diferentes químicos, reveló la existencia de plaguicidas principalmente en abejas y polen y en menor medida miel. Los análisis confirmaron la presencia de residuos de al menos un plaguicida de origen agrícola en el 73,0% de las abejas melíferas, el 43,0% del polen y el 0,1% de las muestras de miel. Para las muestras de abejas, 22 muestras contenían clotianidina (50,0% de todas las muestras de abejas melíferas analizadas), 6 clorpirifos etilo (14,0%), 4 tiametoxam (9,0%), 2 imidacloprid (4,5%) y 2 muestras de coumaphos (4,5%).

En Italia, un estudio llevado a cabo durante tres años, determinó la presencia de 18 de los 66 plaguicidas analizados en la matriz del polen corbicular. Los investigadores (Tosi et al. 2018) encontraron que en 53 apiarios (2012-2014), de 554 muestras de polen analizadas para detectar residuos de plaguicidas, el 62,0% contenía al menos un plaguicida. El 38,0% de las muestras presentaron multiresiduos, con un máximo de 7 pesticidas por muestra (1,0%), mientras que un 24,0% de las muestras presentaron un pesticida. El pesticida que se detectó con mayor frecuencia fue el insecticida clorpirifos (30,0% de las muestras).

Comparativamente, un estudio realizado en Francia durante tres años (2002 a 2005) para determinar la relación entre la Mortandad, la presencia de pesticidas en matrices apícolas (miel, polen y cera) y la estación del año, reveló que bajo las condiciones del mismo, no se encontraron diferencias significativas entre la Mortandad de las colonias y los residuos de plaguicidas detectados (Chauzat, 2009).

Un concepto que cobra cada vez más peso es el de analizar la posibilidad de efectos sinérgicos entre los distintos acaricidas que conduzcan a toxicidad en las abejas (Bogdanov et al, 2003b) y aparición de ácaros resistentes (Milani, 1995). Otro problema asociado a esta situación es el posible pasaje de los acaricidas lipofílicos retenidos en la cera a la miel. Si bien se ha demostrado que acaricidas como el coumaphos es poco estable en la miel (Korta, 2001) ya que se degradaría durante el almacenamiento los resultados obtenidos son controversiales si los comparamos con los alcanzados por Taccheo Barbina (1998) cuyos resultados demuestran lo contrario.

Los estudios a campo para indagar cuáles son los efectos de los plaguicidas presentes en la naturaleza son observacionales, lo que dificulta establecer relaciones causales entre las variables



ambientales observadas y la pérdidas o la salud de las abejas. Como ya se mencionó estas relaciones dependen de una multiplicidad de factores como el clima, la nutrición, genética, los agentes patógenos y enfermedades, presencia de compuestos tóxicos múltiples, características de comportamiento contrastantes de las colonias estudiadas y enfoques metodológicos diferentes (Pisa, 2017).

Por último, otros aspectos a considerar para futuras investigaciones de éste tipo, tienen relación con la frecuencia de los muestreos, como así también, la diferencia en los manejos realizados en las dos zonas vinculados a la nutrición y control del espacio. En el primer caso representan sesgos de información que afecta por igual a ambos grupos (son aleatorios) y son del observador, y en el segundo un factor confundidor. Si bien estos sesgos tendrían mayor influencia en la valoración de los resultados de cada zona ecológica, también incidirían sobre los tratamientos (ORG/SINT) ya que el manejo nutricional y la dedicación en cada caso no serían homogéneos.



3.7. Conclusiones

La transformación del sector agropecuario, a partir de la introducción de los “paquetes tecnológicos” ha generado la pérdida de especies vegetales de interés melífero y la exposición continua a los efectos de los plaguicidas. La principal vía de exposición en las abejas es oral, a través de la dieta (consumo de néctar y polen) y por contacto (rociado directo). Sumado a este contexto, la apicultura argentina es altamente dependiente del uso de acaricidas sintéticos para el control de la parasitosis provocada por el ácaro *Varroa destructor*, los cuales además de generar resistencia en el parásito, dejan residuos en miel y/o cera.

Como se mencionó anteriormente éste ensayo a campo se llevó a cabo durante un ciclo de desarrollo poblacional de las abejas, en dos zonas ecológicas diferentes: agrícola y de monte nativo. Desde el verano 2013 hasta el otoño 2015 se realizaron cinco inspecciones con la finalidad de evaluar el desarrollo poblacional (Índice Poblacional), revisión de la salud de las colonias (% Varroosis, Nº esporas/abeja para Nosemosis, otras enfermedades), establecer los porcentajes de Mortandad y recolectar muestras de trozos de panal para la determinación de la presencia de residuos de plaguicidas agrícolas y apícolas en miel.

En el presente experimento no se evidencian diferencias estadísticas significativas entre las Zonas y Tratamientos con relación al Índice poblacional en las cinco Estaciones de muestreo por lo cual no se puede aseverar la presencia del efecto de estos factores sobre la población de abejas.

En la matriz miel, los residuos de plaguicidas en ambas zonas no superaron los Límites Máximos Residuos (LMR mg/kg) para diferentes alimentos, establecidos por la UE, a excepción del Amitraz para la Zona Agrícola durante la primavera de 2014.

Sería de interés poder realizar la comparación de las técnicas implementadas para la determinación de los residuos de plaguicidas, ya que ambas (HPLC-MS/MS y GC-MS/MS) presentan diferente sensibilidad y trazabilidad.

Por otra parte, se debe tener presente que estos residuos pueden tener un efecto sinérgico sobre la población de *Apis mellífera* y que el mismo puede ser a nivel subletal o crónico. Por ésta



razón se necesitan estudios que profundicen y mejoren los métodos de monitoreo con el fin de aportar información que continúe engrosando las evidencias científicas que revelan el papel de los tóxicos ambientales sobre los polinizadores, en especial sobre *Apis mellifera*.

3.8. Anexos

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO – CENSO APÍCOLA DEPARTAMENTO RÍO CUARTO – MAYO/JUNIO 2008

N° Padrón: 103 Realizado: SI NO (1.1 y fin). 1.1) Por qué dejó la actividad? ENCUESTADOR: CONTROL Coord: ✓

2) La apicultura es su actividad principal? NO SI 3) En qué año comenzó con la actividad apícola? 1996

4) Perteneció a alguna Asociación o Grupo Apícola? NO SI (4.1.) Cuál: Al Int. y a 20 (grupo rural)

5) Atiende solo las colmenas? NO SI (5.1.) Quién lo ayuda (Nro)? Fija: Personal Temporal: Personal Permanente:

6) Qué productos obtiene de sus colmenas además de miel? Los comercializa?

Produce	Cera	Propóleo	Pólen	Jalea Real	Apitaxina	Reinas	Celdas Reales	Núcleos	Paqueotes
Comercializa	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>					

7) Cómo comercializa la miel que produce?

	Acopiador	Exportador	Exporta Directo	Minorista	Mayorista	Otros
A Granel	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Fracionada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

8) Cuántas colmenas se le murieron durante el año 2007? N°: 200 Porcentaje: 40

9) Si tuvo mortalidad invernal, cuál cree que fue el motivo (Colocar Nro de jerarquía de los motivos)

Pesa Atención	Hambre	Despoblamiento	Fumigaciones	Zanganeras	Varros	Loque Americana	Nosemosis	Moscaldón	Otros
		<u>2</u>	<u>1</u>		<u>3</u>				

10) 10.1) Realiza algún tratamiento para las enfermedades? 10.2) Cuando lo aplica? 10.3) Qué principio activo utiliza?

	Varros	Loque Americana	Loque Europea	Nosemosis	Polilla de la cera	Acarosis	Otros
Primavera	<input checked="" type="checkbox"/>						
Poscosecha							
Ototoño	<input checked="" type="checkbox"/>						
P. Activo (Nro)	<u>3</u>						
Tipo de Producto	<u>1</u>						

PRINCIPIO ACTIVO: 1: Antibiótico 2: Amitraz 3: Coumaphos 4: Flumetrina 5: Flouvalinato
6: Timol 7: Ácido Oxálico 8: Fumagilina 9: Otros:

TIPO DE PRODUCTO: 1: Comercial (Aprobado por SENASA) 2: Preparación Casera

11) CASO VARROASIS: utiliza algún método para determinar el nivel de infestación pre o post-tratamiento?
 De Jong (prueba del frasco) Conteo de ácaros en 100 celdas de cría Conteo de ácaros en pisos trampa Otros:

12) CASO LOQUE AMERICANA: ¿Qué métodos utiliza para el control de esta enfermedad?
 Antibióticos Paquetado Cepillado Parafinado del material Sopleteado Otros:
 Incineración parcial (marcos con cría y reservas) Incineración total (toda la colmena)

13) CASO NOSEMOSIS: si en algún momento sospechó la presencia de esta enfermedad, ¿Envío muestras a un laboratorio para confirmarlo?
 NO SI (13.1) ¿Le dio resultados positivos? NO SI

14) ¿Considera que es necesario un PLAN SANITARIO REGIONAL? NO SI

15) 15.1) ¿Qué alimento utiliza para sus colmenas? 15.2) ¿Cuánto usa? 15.3) ¿Dónde lo compra? 15.4) ¿A quién lo compra?

	Azúcar	Jarabe de malta	Fructosa	Glucosa	Miel	No alimento
Cuál utiliza			<input checked="" type="checkbox"/>			
Kilos / Litros			<u>10 kg</u>			
Dónde (RC - F)			<u>F</u>			
A quién (F-M-S-A)			<u>F</u>			

Dónde lo compra: Río Cuarto (RC) Fuera de Río Cuarto (F)
A quién lo compra: Fabrica (F) Mayoristas (M) Supermercados (S) Almacenes (minoristas) (A)

16) ¿Dónde realiza la extracción? Sala Propia Sala de 3ros 16.1.) La sala está en: Zona Rural Zona Urbana
16.2) La Sala está: Autorizada por SENASA Autorización Provisoria Con autorización Municipal Sin autorización

17) ¿En qué temática le interesaría recibir capacitación?
 No le interesa Manejo de Apiario Sanidad Alimentación Gestión Cría de Reinas Alternativas de Producción Otras

18) ¿Cuál es su principal problema en la producción? Financiero Productivo Comercial Seguridad Otro: No floración

19) ¿Recibe asesoramiento? NO SI (19.1.) ¿Qué tipo de asesoramiento? Comercial Sanitario Productivo Otro:

20) ¿Participa del Consejo Asesor Apícola de la Provincia de Córdoba? NO SI Desconoce su existencia

21) ¿Le interesaría recibir vía correo electrónico información del Consejo Asesor Apícola? NO SI

22) ¿Desea recibir información sobre los servicios que se brindan en la UNRC? NO SI

23) ¿Qué tipo de acción debería concretarse para mejorar el sector apícola y qué institución debería llevarla adelante?
Capacitación Gestión Producción Injuntiva Comercialización Otro
U-M-I-S

M=Municipalidad U=UNRC I=INTA S=Secretaría de AGyA de la Provincia

24) ¿Cuántos APIARIOS tiene? 8 ¿En qué localidad, provincia o provincia se encuentran sus APIARIOS? En la zona y los que en Washington

25) ¿En qué tipo de zona están? Agrícola Ganadera Mixto Monte Natural

26) ¿Realiza trashumancia? NO SI (26.1.) ¿A qué localidad?

27) Cuántas colmenas tiene aproximadamente en este otoño? 500

28) ¿Qué rendimiento de miel (kg/colmena) obtuvo en la temporada?

	Menos de 10	De 11 a 20	De 21 a 30	De 31 a 40	Mas de 41
2006/2007		<input checked="" type="checkbox"/>			
2007/2008				<input checked="" type="checkbox"/>	

29) DATOS DEL ENCUESTADO
Teléfono: 03582-465298 e-mail: zangeli@moldecorp.com.ar

Figura 21. Anexo 1. Encuesta Censo Apícola, Departamento Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

GIGENA (Capilla Tegu) Visita anterior: Abril 2014						
Fecha: 14/08/14		Personas: Lino, Fabri, Benigno y Yo			Vehículo: SCYT	
N° Colmena	N°marcos abejas	N°marcos cria	Reina pintada	Miel	Polen	Observaciones
23 PICT	10	3	no	si	si	Varios Neg
40 PICT	8	2	no	si	no	Varios 0,3144
47 PICT	6	3	no	si	si	Varios 0,6097
32 PICT	8	4	no	si	no	Varios 1
34 PICT	8	4	-	si	si	Varios 0,4830
24 PICT	4	3	no	si	si	Varios 1,1764
50 PICT	4	4	no	si	no	Varios Neg
7 R	6	3	si	si	si	Varios Neg
8 R	7	3	-	-	no	Varios Neg
9 R	9	4	no	-	-	Varios Neg
10 R	10	4	no	si	si	Varios Neg
11 R	7	3	-	si	si	Varios Neg
12 R	9	3	no	si	no	Varios Neg
13 R	7	3	no	si	no	Varios Neg

Figura 22. Anexo II. Planilla de Campo



3.9. Referencias bibliográficas

Agresti, A (1990). *Categorical data analysis*. Jhon Wiley&Sons. New York, NY.

Aizen M, Garibaldi L, Cunningham S, Klein AM (2008) *Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency*. *Curr. Biol.* 18, 1572-1575.

Aizen M, Garibaldi L, Cunningham S, Klein AM (2009) *How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production*. *Ann Bot* 103: 1579–1588.

Aizen, M; Harder, L.D; (2009) *The global stock of domestical honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination*. *Curr. Biol.* 19, 915-918.

Alaux, C.; Brunet, J.L.; Dussaubat, C.; Mondet, F.; Tchamitc Han, S.; Cousin, M.; Brillard, J.; Baldy, A.; Belzunces, L.P.; Le Conte, Y. (2010). *Interactions between Nosema microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (Apis mellifera)*. *Environ. Microbiol.* 112 (3), 774e782.

Albrecht, M.; Duelli, P.; Muller, C.; Kleijn, D.; Schmid, B. (2007). *The Swiss agrienvironment scheme enhances pollinator diversity and plant reproductive success in nearby intensively managed farmland*. *J. Appl. Ecol.* 44, 813–822.

Alippi, A. (2011). *Loque americana y Loque europea*. 42° Congreso Internacional de Apicultura, APIMONDIA 2011. Buenos Aires, Argentina. 21 al 25 de septiembre 2011.

Allsopp, M.H.; de Lange, W.J.; Veldtman, R. (2008). *Valuing insect pollination services with cost of replacement*. *PLoS One* 3, e3128.

Anderson, D.; Trueman, J. (2000). *Varroa jacobsoni (Acari: Varroidae) is more than one Species*. *Experimental and Applied Acarology* 24: 165–189.

Arenas, A.; Farina, W. M. (2008). *Age and rearing environment interact in the retention of early olfactory memories in honeybees*. *J. Comp. Physiol. A* 194, 629-640.

ATSDR (2003) *Toxicological profile for atrazine U.S. department of health and human services*. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry

Auditoria General de la Nación (2016). *Examen en el Ministerio de Salud de la Nación y la Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable*. Recuperado el 19/03/2018 de https://www.agn.gov.ar/files/informes/2016_090info.pdf

Aufauvre, J.; Biron, D.G.; Vidau, C.; Fontbonne, R.; Roudel, M.; Diogon, M.; Vignes, B.; Belzunces, L.P.; Delbac, F.; Blot, N. (2012). *Parasite-insecticide interactions: a case study of Nosema ceranae and fipronil synergy on honeybee*. *Sci. Rep.* 2012 (2), 326. Epub 2012 Mar 22.



Bacci, M. (2010). *Situación actual de la varroosis en la República Argentina*. Programa de Control de Enfermedades de las Abejas. SENASA.

Bailey, L.; Ball, B.V. (eds.) (1991). *Honey Bee Pathology*. Second ed. Academic Press, London.

Bailey, L.; Collins, M. D. (1982). *Reclassification of Streptococcus pluton (White) in a new genus Melissococcus, as Melissococcus pluton nom. rev.; comb. nov.* Journal of Applied Bacteriology 53: 215-217.

Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Casanoves F., Di Rienzo J.A., Robledo C.W. (2008). *Manual del Usuario*, Editorial Brujas, Córdoba, Argentina.

Bedascarrasbure, E.L. (2009) *Documento Base del Programa Nacional Apícola*. INTA. ProApi.

Bernardi, N.; Gentile, N.; Mañas, F.; Méndez, A.; Gorla, N.; Aiassa, D. (2015). *Evaluación del nivel de daño en el material genético de niños de la provincia de Córdoba expuestos a plaguicidas*. Archivo Argentino Pediatría 2015;113(2):126-132.

Berthoud, H; Imdorf, A; Haueter, M; Radloff, S; Neumann, P (2010). *Virus infections and winter losses of honey bee colonies (Apis mellifera)*. Journal of Apicultural Research 49(1): 60-65. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.08

Biesmeijer, J.C; Roberts, S.P; Reemer, M; Ohlemueller, R; Edwards, M; Peeters, T; Schaffers, A; Potts, S.G; Kleukers, R; Thomas, C.D; Settele, J; Kunin, W. (2006). *Parallel declines in pollinators and insect pollinated plants in Britain and the Netherlands*. Science 313: 351–354.

Blengino, C. (2014). *Informe de coyuntura sector apícola*. Área de Estudios Sectoriales. Dirección de Agroalimentos. (In Spanish: accessed on 05.15) [URL:http://www.alimentosargentinos.gov.ar](http://www.alimentosargentinos.gov.ar).

Bogdanov, S.; Kilchenmann, V.; Fluri, P.; Bühler, U.; Lavanchy, P. (1999). *Influence of organic acids and components of essential oils on honey taste*. American Bee Journal, 139(1), 61-63.

Bogdanov, S.; Kilchenmann, V.; Imdorf, A. (1999). *Acaricide residues in honey, beeswax and propolis*. Swiss Bee Research Centre, Dairy Research Station, Liebfeld, Bern, Switzerland, 11.

Bogdanov, S. (2003 b). *Current state of analytical methods for the detection of residues in bee products*. Trakia Journal of Sciences. Vol. 1 N°3, 19-22.

Bogdanov, S. (2004) *Beeswax: quality issues today*. Bee World 85: 46–50

Bogdanov, S. (2005) *Contaminants of bee products*. Apidologie 37 (2006) 1–18

Boletín Oficial de la República Argentina (2018) *Prohibición Diclorvos*. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Res. 149/2018.



Boletín Oficial de la República Argentina (2011) *Prohibición Endosulfan*. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Res. 511/2011.

Botías, C., Martín-Hernández, R., Días, J., García-Palencia, P., Matabuena, M., Juarranz, A., Barrios, L., Meana, A., Nanetti, A., Higes, M., (2012). *The effect of induced queen replacement on Nosema spp. infection in honey bee (Apis mellifera iberiensis) colonies*. Environ. Microbiol. 14 (4), 845–859.

Brodtschneider, R., Gray, A., van der Zee, R., Adjlane, N., Brusbardis, V., Charrière, J.-D., Woehl, S. (2016). *Preliminary analysis of loss rates of honey bee colonies during winter 2015/ 16 from the COLOSS survey*. Journal of Apicultural Research, 55 (5), 375–378. doi:10.1080/00218839.2016.1260240

Brodtschneider, R.; Gray, A.; Adjlane, N.; Ballis, A.; Brusbardis, V.; Charrière, J.D.; Chlebo, R.; Coffey, M.; Dahle, B.; Graaf, D.; Dražić, M.M.; Evans, G.; Fedoriak, M.; Forsythe, I.; Gregorc, A.; Grzęda, U.; Hetzroni, A.; Kauko, L.; Kristiansen, P.; Martikkala, M.; Martín-Hernández, R.; Medina-Flores, C.A.; Mutinelli, F.; Raudmets, A.; Ryzhikov, V.; Simon-Delso, N.; Stevanovic, J.; Uzunov, A.; Vejsnæs, F.; Wöhl, S.; Zammit-Mangion, M.; Danihlík, J. (2018) *Multi-country loss rates of honey bee colonies during winter 2016/2017 from the COLOSS survey*, Journal of Apicultural Research, 57:3, 452-457, DOI: 10.1080/00218839.2018.1460911

Brodtschneider, R.; Crailsheim, K. (2010). *Nutrition and health in honey bees*. Apidologie 41 (2010) 278–294.

Buchmann, S., Nabhan, G. (1996). *The Forgotten Pollinators*. Washington, DC: Island. Bee World 68: 15-22.

Calderón, R.A.; Zamora, L.G.; Van Veen, J.W.; Quesada, M.V. (2007). *A comparison of the reproductive ability of Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae) in worker and drone brood of Africanized honey bees (Apis mellifera)*, Exp. Appl. Acarol. 43 (1) 25–32.

Calderone, N.W.; Wilson, W. T.; Spivak, M. (1997). *Plant extracts used for control of the parasitic mites Varroa jacobsoni (Acari: Varroidae) and Acarapsi woodi (Acari: Tarsonemidae) in colonies of Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae)*. J. econ. Ent., 90: 1080-1086.

Camugli, E.N. (1962). *Estudio bacteriológico de la Loque Europea grave enfermedad de las larvas de abejas en la Argentina*. Revista de la Facultad de Agronomía de la UNLP 38: 73-82.

Cane, J.H. (2002). *Pollinating bees (Hymenoptera: Apiformes) of U.S. alfalfa compared for rates of pod and seed set*. Journal of Economic Entomology 95: 22-27.

Cantwell, G.E. (1970). *Standard methods for counting nosema spores*. Am. Bee J., 110, 222–223.

Carmona, M.; Valero, A.; Zalacaín, I.; Zalacaín, A. y Salinas, M. R. (2002). *Influencia del timol en la puesta de cría de la abeja melífera*. Vida Apícola. Nº 113.



Carreck, N. L.; Ball, B. V.; Martin, S. J (2010a) *The epidemiology of cloudy wing virus infections in honey bee colonies in the UK*. Journal of Apicultural Research 49(1): 66-71.

Carreck, N. L.; Ball, B. V.; Martin, S. J (2010b) *Honey bee colony collapse and changes in viral prevalence associated with Varroa destructor*. Journal of Apicultural Research 49(1): 93-94. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.13.

Casafe (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes) (2011). *Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina*. Tomo I (996 pp.) y Tomo II, (997-1976 pp.) Buenos Aires, Argentina. 15° Ed.

Casafe (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes) (2016) *Modo de acción de los insecticidas*. Recuperado el 26/04/16 de <http://www.casafe.org/modo-accion-los-insecticidas>

Celli G., Porrini C., Radeghieri P., Sabatini A.G., Marcazzan G.L., Colombo R., Barbattini R., Greatti M., D'Agaro M.D. (1996) *Honeybees (Apis mellifera L.) as bioindicators for the presence of pesticides in the agroecosystem*. Field tests, Insect Social Life 1, 207–212.

Chagnon, M. (2011). 42° Congreso Internacional de Apicultura, APIMONDIA 2011. Buenos Aires, Argentina. 21 al 25 de septiembre 2011.

Chauzat, M.-P., Faucon, J.-P., Martel, A.-C., Lachaize, J., Cougoule, N., Aubert, M., (2006). *A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France*. J. Econ. Entomol. 99, 253e262.

Chauzat, M.P.; Carpentier, P.; Martel, A.C.; Bougeard, S, Cougoule; N.; Porta, P.; Lachaize, J.; Madec, F.; Aubert, M.; Faucon, J.P. (2009). *Influence of Pesticide Residues on Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colony Health in France*. Environ. Entomol. 38(3): 514D523

Codex Alimentarius (1999). *Tema 3. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación*. Organización Mundial de la Salud.

Codex Alimentarius (1999). http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_X.pdf. Consultado: 12/05/2017.

Complejo Productivo Apícola 2016 Agroindustria. Consultado 27/03/2017.

Crailsheim, K. (1991). *Interadult feeding of jelly in honeybee (Apis mellifera L.) colonies*, J. Comp. Physiol. B 161, 55–60.

Crailsheim K. (1998) *Trophallactic interactions in the adult honeybee (Apis mellifera L.)*, Apidologie 29, 97–112.

Dahle, B. (2010). *The role of Varroa destructor for honey bee colony losses in Norway*. Journal of Apicultural Research 49(1): 124-125. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.26



De Titto, E. ; Pórfido, O. con colaboración de Eduardo Butler ... [et.al.]. (2013) *Los plaguicidas en la República Argentina* - 1a ed. - Buenos Aires : Ministerio de Salud de la Nación. 192 p. Director Nacional de Determinantes de la Salud e Investigación.

Decourtye, A.; Lacassie, E.; Pham-Delegue, M.H. (2003). *Learning performances of honeybees (Apis mellifera) are differentially affected by imidacloprid according to the season*. Pest Manag. Sci. 59, 269e278.

Decourtye, A., J. Devillers, E. Genecque, K. LeMenach, H.; Budzinski, S. Cluzeau, and M. H. PhamDelegue. (2005). *Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee Apis mellifera*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 48: 242-250.

Delaplane, K. ; Mayer, D. (2000). *Crop pollination by bees*. CABI Publishing.

Desneux, N; Decourtye, A; Delpuech, J.M. (2007). *The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods*. Annu. Rev. Entomol. 52, 81-106.

Domínguez, A.; Bedano, J.C.; Becker, A.R. (2009). *Cambios en la comunidad de lombrices de tierra (Annelida:Lumbricina) como consecuencia del uso de la técnica de siembra directa en el centro-sur de Córdoba, Argentina*. Ci. Suelo (Argentina) 27(1): 11-19.

Doublet, V. (2011). *Interacciones entre patógenos de la abeja mellifera y pesticidas y su impacto en la salud de la abeja individual*. 42º Congreso Internacional de Apicultura, APIMONDIA 2011. Buenos Aires, Argentina. 21 al 25 de septiembre 2011.

Duay, P., De Jong, D., Engels, W. (2003). *Weight loss in drone pupae (Apis mellifera) multiply infested by Varroa destructor mites*. Apidologie 34, 61-65.

Duvernoy I.(2000). *Use of a land cover model to identify farm types in the Misiones agrarian frontier (Argentina)*. Agric Syst 2000;64(3):137-149.

EFSA (2012). *Scientific Opinion on the science behind the development of a risk assessment of Plant Protection Products on bees (Apis mellifera Bombus spp. and solitary bees)*. EFSA J. 10 (5), 266.

Eguaras, M.; Ruffinengo, S.; Faverin, C.; Cora, D.; Palacio, A.; Basualdo, M. *Od 15 control de Varroa Destructor (Acari: Varroidae) mediante el uso de Timol*. Conicet, Fac. De Cs. Ex.y Naturales, UNMdP. Fac. de Cs. Agrarias, UNMdP. Fac.Cs.Vet., UNICEN, Buenos Aires.

Eguaras, M.; Ruffinengo, S. (2006). *Estrategia para el control de Varroa*. Ed. Martin, Mar del Plata, Argentina. 149 pp

Eischen, F.; Graham, R.H. (2008). *Feeding overwintering honey bee colonies infected with Nosema ceranae*. Am. Bee Journal, 148.p.555.

Ellis, J.D.; Zettel Nalen, C.M. (2010). *Varroa mite, Varroa destructor Anderson and Trueman (Arachnida: Acari: Varroidae)*, EENY-473. Entomology and Nematology Department,



Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. EE.UU.

Elzen, P., Baxter, J.; Spivak, M.; Wilson, W. (1999). *Amitraz resistance in Varroa: new discovery in North America*. American Bee Journal, 139(2): 362.

Elzen, P.; Westervelt, D. (2002). *Detection of coumaphos resistance in Varroa destructor in Florida*. American Bee Journal, 142(4): 291–292.

Erickson, H. (1966). *Atlas of the honey bee*. EEUU Iowa State University.

Escobar, G.; Berdegué, J. (1990). *Tipificación de sistemas de producción agrícola*. Red Internacional Metodologías de Investigación de Sistemas de Producción. Santiago de Chile.

Estrada, M.E. (2007). *Producciones agroalimentarias no tradicionales en la provincia de Buenos Aires*. V Jornadas Interdisciplinarias de Estudios Agrarios y Agroindustriales. Buenos Aires. 2007.

Estrada, M.E. (2014) Tesis de Doctorado en Geografía. *Rasgos de la territorialización en complejos productivos no tradicionales basados en recursos naturales. La apicultura en el sudoeste bonaerense*. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

FAO (2017). <http://teca.fao.org/es/read/8676>. Tomado el 29/11/17.

FAO (2008). *Tratado internacional sobre los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura*.

Farina, W.M.; Grüter, C.; Acosta, L.E.; Mc Cabe, S. (2007). *Honeybees learn floral odors while receiving nectar from foragers within the hive*. Naturwissenschaften 94:55-60.

Farina, W.M.; Grüter, C.; Diaz, P.C. (2005). *Social learning of floral odours within the honeybee hive*. Proc. R.Soc. B 272, 1923-1928.

Faucon, J. P., Aurières, C. ; Drajnudel, P. ; Mathieu, L. ; Ribière, M. ; Martel, A.C. ; Zeggane, S. ; Chauzat, M.P. ; Aubert, M. (2005). *Experimental study on the toxicity of imidacloprid given in syrup to honey bee (Apis mellifera) colonies*. Pest Manag. Sci. 61: 111-125.

Figueroa, V.; Patricio, A. (2003). *Análisis de residuos de aceite esencial mentol en miel de abejas (Apis mellifera L.)*. Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Licenciado en Ingeniería en Alimentos. Escuela de Ingeniería en Alimentos. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile.

Free, J. B. (1987). *Pheromones of social bees*. Chapman and Hall, London, UK.

Fries, I. (1993). *Nosema apis – a parasite in the honey bee colony*. Bee World 74, 5–19.

Fries, I., Ekbohm, G., Villumstad, E. (1984) *Nosema apis, sampling techniques and honey yield*. J Apicult Res. 23: 102–105.



Garzón, J.M.; Young, M. (2016). IERAL – Ministerio de Agricultura y Ganadería de Córdoba. *La actividad apícola en Córdoba. Aspectos básicos y potencial productivo.*

Genersch E, Forsgren E, Pentikäinen A, Ashiralieva A, Rauch S, Kilwinski J, Fries I. (2006). *Reclassification of Paenibacillus larvae subsp. pulvifaciens and Paenibacillus larvae subsp. larvae as Paenibacillus larvae without subspecies differentiation.* Int J Syst. Evol. Microbiol. 56:501-11.

Genersch, E. (2010). *American Foulbrood in honeybees and its causative agent, Paenibacillus larvae.* J Invertebr Pathol.;103 (Suppl 1):S10-9).

Genersch, E.; Aubert, M. (2010). *Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (Apis mellifera L.)* Vet. Res. (2010) 41:54 DOI: 10.1051/vetres/2010027_ INRA, EDP Sciences.

Guillén–Garcés, R.A.; Hansen, A.M.; Afferden Van, M. (2007). *Mineralization of atrazine in agricultural soil: Inhibition by nitrogen.* Environmental Toxicology and Chemistry, 26, 844–850.

Ghazoul, J. (2005a) *Buzziness as usual? Questioning the global pollination crisis.* Trends Ecol. Evol. 20, 367-373.

Ghazoul, J. (2005b) *Response to Steffan-Dewenter et al.: questioning the global pollination crisis.* Trends Ecol. Evol. 20, 652-653.

Giacobino, A.; Molineri, A.I.; Bulacio Cagnolo, N.; Merke, J.; Orellano, E.; Bertozzi, E.; Giesy, J. P.; Dobson, S.; Solomon, K. R. (2000). *Ecotoxicological Risk Assessment for Roundup® Herbicide.* Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 167, pp. 35-120. New York: Springer.

Giacobino, A.; Bulacio Cagnolo, N.; Merke, J; Orellano, E; Bertozzi, E; Masciangelo, G; Pietronave, H; Salto, C. E.; Signorini, M. L. (2014). *Risk factors associated with the presence of varroa destructor in honey bee colonies from east-central Argentina.* Preventive Veterinary Medicine 115 (2014) 280–287

Goulson, D.; Nicholls, E.; Botias, C; Rotheray, E.L. (2015) *Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers.* Science, 347, 1435.

Greenhouse, S. W.; Geisser, S. (1959). *On methods in the analysis of profile data.* Psychometrika, 24, 95-112.

Grimberg, C; Svanström, R; Riaño, T y Tamayo, M. (1983). *El alba de la civilización : el despertar de los pueblos.* Madrid: Daimon.

Grometbauer, C.; Hedman, G.; Vázquez, F. (2010). *Informe de Coyuntura Mensual, Sector Apícola, N° 149.* Buenos Aires: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. 2010. Disponible en: http://www.minagri.gob.ar/SAGPyA/economias_regionales/_apicultura/_si

Grüter, C., Acosta, L. E.; Farina, W. M. (2006). *Propagation of olfactory information within the honeybee hive.* Behav. Ecol. Sociobiol. 60, 707-715.



Grüter, C.; Farina, W. M. (2009a). *The honeybee waggle dance: can we follow the steps?* Trends Ecol. Evol. 24, 242-247.

Guez, D.; Suchail, S.; Gauthier, M.; Maleszka, R.; Belzunces, L.P. (2001). *Contrasting effects of imidacloprid on habituation in 7-and 8-day-old honeybees (Apis mellifera)*. Neurobiol. Learn. Mem. 76 (2), 183e191.

Harz, M; Müller, F; Rademacher, E (2010). *Organic acids: Acute toxicity on Apis mellifera and recovery in the haemolymph*. Journal of Apicultural Research 49(1): 95-96.

Haydak, M. H. (1970). *Honey bee nutrition*. Annual Review of Entomology 15:143-156.

Hedrei Helmer, S., Kerbaol, A., Aras, P., Jumarie, C., Boily, M., 2015. *Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (Apis mellifera)*. Environ. Sci. Pollut. Res. 22, 8010e8021.

Helmer, S.H.; Kerbaol, A.; Aras, P.; Jumarie, C.;Boily, M. (2015). *Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (Apis mellifera)*. Environ Sci Pollut Res (2015) 22: 8010. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2879-7>.

Herbert, L.T., Vázquez, D.E.; Arenas, A.; Farina, W.M. (2014). *Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour*. The Journal of Experimental Biology. 217, 3457-3464 doi:10.1242/jeb.109520.

Hernández-Avila, M.; Garrido, F.; Salazar-Martínez, E. (2000). *Sesgos en estudios epidemiológicos*. Salud pública de México / vol.42, no.5.

Herzog, F., Steiner, B., Bailey, D., Baudry, J., Billeter, R., Bukacek, R., de Blust, G., de Cock, R., Dirksen, J., Dormann, C.F., de Filippi, R., Frossard, E., Liira, J., Schmidt, T., Stockli, R., Thenail, C., van Wingerden, W., Bugter, R. (2006). *Assessing the intensity of temperate European agriculture at the landscape scale*. Eur. J. Agron. 24, 165–181.

Hickman, Jr; Roberts, L; Larson, A. (1986). *Zoología, principios integrales*. 9º Edición. ISBN 0-8016-6375-X.

Higes, M., Martín, R., Meana, A. (2006). *Nosema ceranae, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe*. J. Invertebr. Pathol. 92, 93–95.

Higes, M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Garrido Bailón, E., González-Porto, A.V., Barrios, L., Del Nozal, M.J., et al. (2008). *How natural infection by Nosema ceranae causes honey bee colony collapse*. Environ. Microbiol. 10, 2659–2669.

Higes, M.; Garcia-Palencia. P.; Martin-Hernandez, R.; Meana, A. (2007) *Experimental infection of Apis mellifera honeybees with Nosema ceranae (Microsporidia)*. J Invertebr Pathol 94: 211–217.



Higginson, A.D.; Barnard, C.J. (2004). *Accumulating wing damage affects foraging decisions in honeybees (Apis mellifera L.)*. Ecol. Entomol. 29: 52–59.

<https://inta.gob.ar/proyectos/PNAPI-1112042>. *Estrategias multidisciplinarias para mitigar el efecto del nuevo contexto ambiental y productivo sobre la colmena*. Resumen Ejecutivo INTA PROAPI. Captura 06/02/2018.

Huynh, H.; Feldt, L. S. (1976). *Estimation of the Box correction for degrees of freedom from sample data in randomised block and split-plot designs*. Journal of Educational Statistics, 1, 69-82.

Ibrahim, S. H. (1974). *Composition of pollen gathered by honeybees from some major sources*. Agricultural Research Review 52:121-123.

Imdorf, A.; Bogdanov, S.; Kilchen, V.; Maquelin, C. (1995). *Apilife VAR: a new varroacide with thymol as the main ingredient*. Bee Wld., 76: 77- 83.

Imdorf, A., Bogdanov, S., Ibañez Ochoa, R., Calderone, N. W. (1999). *Use of essential oils for the control of Varroa jacobsoni Oud. in honey bee colonies*. Apidologie, 30, 209-228.

Imdorf, A.; Charriere, J.D.; Kilchenmann, V.; Bogdanov, S.; Fluri, P. (2003). *Alternative strategy in central Europe for the control of Varroa destructor in honey bee colonies*. APIACTA 38, 258–285.

INTA *La apicultura en La Pampa*. Recuperado el 23 de Marzo de 2017 en Inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-bol85.pdf.

Jimenez, J; Bernal, J.; Nozal, M. ; Toribido, L. (1997). *Characterization and monitoring of Amitraz degradation products in honey*. J. High Resol. Chromatograph, 20:81-84.

Johnson R.M., Ellis M.D., Mullin C.A., Frazier M. (2010) *Pesticides and honey bee toxicity*. U.S.A., Apidologie, 41, 312–331.

Johnson, Dallas E. (2000). *Métodos multivariados aplicados al análisis de datos*. International Thomson Editores.

Jumarie, C.; Aras, P.; Boily, M. (2017). *Mixtures of herbicides and metals affect the redox system of honey bees*. Chemosphere 168 (2017) 163e170.

Kaminsky, M. (1988). “*Enfoque de sistemas de fincas y tipificación de unidades de producción agropecuaria: referencias, comentarios y posiciones preliminares*”. En: Escobar, G. (Ed). *Clasificación de sistemas de finca para generación y transferencia de tecnología apropiada*. Seminario efectuado en Ciudad de Panamá, Dic. 7-12186. IDRC, Ottawa, Canada, pp: 27-36.

Karise, R. (2007). *Foraging behavior and physiology of bee: impact of insecticides*. PhD Tesis. Estonia University of Life Sciences, Tartu, Estonia, pp.1-123.



Kasiotis, K.; Anagnostopoulos, C.; Anastasiadou, P.; Machera, K. (2014) *Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees*. Science of the Total Environment 485–486 633–642.

Kevan P.G. (1975) *Aplicación forestal del insecticida fenitrotión y sus efectos en las abejas silvestres polinizadoras (Hymenoptera: Apoidea) de arándanos de matorrales bajos (Vaccinium spp.) en New Brunswick meridional, Canadá*. Biological Conservation 7: 301-309; Batra, S.W.T. (1981) Control biológico de los ecosistemas agrícolas. Science 215: 134-139.

Kirchner, W. H. (1999). *Mad-bee-disease? Sublethal effects of imidacloprid (“Gaucho”) on the behavior of honey-bees*. Apidologie 30, 422.

Klein, A.M; Vaissiere, B.E; Cane, J.H; Steffan-Dewenter, I; Cunninham, S.A; Kremer, C; Tschamtker, T. (2007) *Importance of pollinators in changing landscapes for word crops*. Proc. Royal Soc. B. 274,303-313.

Knox, D. A.; Shimanuki, H; Herbert, E. W. (1971). *Diet and the longevity of adult honey bee (Hymenoptera: Apidae)*. Journal of Economic Entomology 64:1415-1416.

Köbrich, C.; Rehman, T.; Khan, M. (2003). *Typification of farming systems for constructing representative farm models: two illustrations of the application of multivariate analyses in*

Kochansky, J.; Knox, D. & Shimanuki, H.. (1999). *Comparative stability of tetracycline and tilosyn in sugar syrup*. Apidologie 31: 321-326.

Korta, E.; Bakkali, A.; Barruetta, L.; Gallo, B.; Vicente, F.; Kilchenmann, B.; Bogdanov, S. (2001). *Study of acaricide stability in honey. Characterization of amitraz degradation products in honey and beeswax*. J. Agric. Food. Chem., 49: 5835-5842.

Korst, P. J.A. M.; Velthuis, H. H. (1982) *The nature of trophallaxis in honeybees*. Insectes Sociaux 2: 209-221.

Korta, E.; Bakkali, A.; Berrueta, L.; Gallo, B.; Vicente, F.; Kilchenmann, V.; Bogdanov, S. (2001). *Study of acaricide stability in honey. Characterization of Amitraz degradation products in honey and beeswax*. J. Agric. Food Chem. 49, 5835-5842.

Kremen, C; et al. (2007) *Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 99, pp. 16812–16816.

Kuehl, Robert.(2001). *Diseño de experimentos*. Segunda edición. Thomson Learning.

Lanzelotti, P.; Maldonado, M.; Ocampo, V.; Arroyo, J. (2006). *Exploración en el estudio de distribución de concentraciones del acaricida coumpahos en cera y en miel de mismo cuadro melario en condiciones de campo*. Laboratorio de Control de Calidad, MELACROM, Buenos Aires, Argentina.



Laurent, M.; Hendrikx, P.; Ribiere-Chabert.; Chauzat, M.P.(2016) *A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2014*. European Union Reference Laboratory for honeybee health (EURL). EPILOBEE consortium.

Le-Conte Y., Mohammedi, A; Robinson, G.E. (2001). *Primer effects of a brood pheromone on honeybee behavioural development*. Proc. R. Soc. Lond. B 268:163-168.

Lindberg, C.M., Melathopoulos, A.P.; Winston, M.L. (2000). *Laboratory evaluation of miticides to control Varroa jacobsoni (Acari: Varroidae), a honeybee Hymenoptera:Apidae) parasite*. J. econ. Ent., **93**: 189-198.

Machado, J. O; Camargo, J. M. F. (1972). *Alimentação em apis e composição da geléia real, mel e pólen*. Manual de Apicultura. Editora Agronômica Ceres Ltda., Sao Paulo, Brasil, pp. 117-142.

Mackintosh, N.J. (1994). *Animal learning and cognition*. Academic Press, London, UK .

Maggi, M., Ruffi nengo, S.; Gende, L.; Eguaras, M.; Sardella, N. (2008). *Baseline LC50 levels of Amitraz, Coumaphos, Fluvalinate and Flumethrine in populations of Varroa destructor from Buenos Aires Province, Argentina*. Journal of Apicultural Research, 47(4): 292–295.

Maggi, M., Ruffi nengo, S.; Mendoza, Y.; Ojeda,P.; Ramallo, G.; Flores, I.; Eguaras,M. (2011b.) *Susceptibility of Varroa destructor (Acari: Varroidae) to synthetic acaricides in Uruguay: Varroa mites' potential to develop acaricide resistance*. Parasitology Research, 108(4): 815-821.

Maggi, M., Ruffi nengo, S.; Negri, P.; Eguaras, M. (2010^a). *Resistance phenomena to amitraz from populations of the ectoparasitic mite Varroa destructor of Argentina*. Parasitology Research 107 (5): 1189-1192.

Maggi, M., Ruffinengo, S.; Damiani, N.; Sardella, N.; Eguaras, M. (2009). *First detection of Varroa destructor resistance to coumaphos in Argentina*. Experimental and Applied Acarology, 47(4): 317–320.

Maggi, M., S. Ruffi nengo, L. Gende, G. Sarlo, P. Bailac, M. Ponzi and M. Eguaras. 2010b. *Laboratory evaluations of Syzygium aromaticum (L.) Merr. et Perry essential oil against Varroa destructor*. Journal of Essential Oil Research, 22(2): 119–122.

Mahmood, R.; Wagchoure, E.S.;Mohsin, A.U.; Raja. S.; Sarwar, G. *Control of Ectoparasitic Mites in Honeybee (Apis mellifera L.) Colonies by Using Thymol and Oxalic Acid*. Pakistan J. Zool., vol. 44 (4), pp. 985-989, 2012.

Malone, L. A.; Gatehouse, H. S. (1998). *Effects of Nosema apis Infection on Honey Bee (Apis mellifera) Digestive Proteolytic Enzyme Activity*. J. Invertebr. Pathol. 71, 169-174.

Mañas, F.; Peralta, L.; Gorla, N.; Bosh, B.; Aiassa, D. (2009). *Aberraciones Cromosómicas en Trabajadores Rurales de la Provincia de Córdoba Expuestos a Plaguicidas*. Journal of Basic & Applied Genetics, 20 (1): 09-13 ISSN: BAG 1666-0390.



Manuel-Navarrete, D.; Gallopín, G.; Blanco, M.; Diaz-Zorita, M.; Ferraro, D.; Herzer, H.; Laterra, P.; Morello, J.; Murmis, M.; Pengue, W.; Piñeiro, M.; Podesta, G.; Satorre, E.; Torrent, M.; Torres, F.; Viglizzo, E.; Caputo, M.; Celis, A. (2005). *Análisis sistémico de la agriculturización en la pampa húmeda argentina y sus consecuencias en regiones extrapampeanas: sostenibilidad, brechas de conocimiento e integración de políticas*, en: Serie Medio Ambiente y Desarrollo, N° 118. Santiago de Chile: CEPAL, 2005.

Marcangeli, J.A., Eguaras, M.J., Fernandez, N.A., (1992). *Reproduction of Varroa jacobsoni (Acari: Mesostigmata: Varroidae) in temperate climates of Argentina*. *Apidologie* 23 (1), 57–60.

Martel, A.C.; Zeggane, S.; Aurieres, C.; Drajnudel, P.; Faucon, J.P.; Aubert, M. (2007) *Acaricide residues in honey and wax after treatment of honey bee colonies with Apivar or Asuntol 50**. *Apidologie* 38. 534–544

Martin, S.J. (2001). *The role of Varroa and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach*. *J. Appl. Ecol.* 38 (5) 1082–1093.

Martin, S.J; Ball, B.V; Carreck, N.L (2010) *Prevalence and persistence of deformed wing virus (DWV) in untreated or acaricidetreated Varroa destructor infested honey bee (Apis mellifera) colonies*. *Journal of Apicultural Research* 49 (1): 72 - 79. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.10

Masciangelo, G.O.; Pietronave, H.; Pacini, A.C.; Salto, C.E.; Signorini, M. *Clave para prevenir la Mortandad invernal de colmenas*. Recuperado el 14 de agosto de 2017 en <https://inta.gov.ar/documentos/clave-para-prevenir-la-Mortandad-invernal-de-colmenas>.

Matheson, A. (1993). *World bee health report*. *Bee World* 74, 176–212.

Mathieu, L.; Faucon, J. (2000). *Changes in the response time for Varroa jacobsoni exposed to amitraz*. *Journal of Apicultural Research*, 39(3-4): 155-158.

Maurizio, A. (1962). *From the raw material to the finished product: Honey*. *Bee World*. 43:66-80

Medici, S. (2011). Tesis Doctoral. *Determinación del contenido de residuos de acaricidas y antibióticos en miel y cera en colmenares argentinos destinados a la producción*. Universidad Nacional de Mar del Plata.

Medrzycki, P; Sgolastra, F; Bortolotti, L; Bogo, G; Tosi, S; Padovani, E; Porrini, C; Sabatini, A G (2010). *Influence of brood rearing temperature on honey bee development and susceptibility to poisoning by pesticides*. *Journal of Apicultural Research* 49(1): 52-59.

Meixner, M D; Costa, C; Kryger, P; Hatjina, F; Bouga, M; Ivanova, E; Buchler, R (2010). *Conserving diversity and vitality for honey bee breeding*. *Journal of Apicultural Research* 49(1): 85-92. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.12

Meled, M.; Thrasylvoulou, A.; Belzunces, L.P. (1998). *Seasonal variations in susceptibility of Apis mellifera to the synergistic action of prochloraz and deltamethrin*. *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 2517e2520.



Milani, N. (1995). *The resistance of Varroa jacobsoni Oud to pyrethroids: a laboratory assay*. *Apidologie* 26(5): 415-429

Milani, N.; Della-Vedova, G. (2002). *Decline in the proportion of mites resistant to fluvalinate in population of Varroa destructor not treated with pyrethroids*. *Apidologie*; 33:417-422.

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Plan Estratégico Agroalimentario y Agroindustrial participativo y federal 2010-2020.

Ministerio de Agroindustria, Sector Apícola (2016). Informe de coyuntura N° 158, Enero.

Ministerio de Relaciones Exteriores y Culto (2017). Consulado General de la República Argentina. Chicago, Estados Unidos. *Estudio de Mercado de la Miel*.

Mitton, G.; Quintana, S.; Medici, S.; De Piano, F.; Eguaras, M.; Maggi, M.; Rufinengo, S. (2014). *Evaluación de los niveles de susceptibilidad a cumafos y amitraz de poblaciones de ácaros de apiarios del SE de la provincia de Buenos Aires*. XI Congreso Latinoamericano de Apicultura 2014. FILAPI. Pto. Iguazú, Misiones, Argentina.

Mondet, F., de Miranda, J.R., Kretzschmar, A., Le Conte, Y., Mercer, A.R. (2014). *On the front line: quantitative virus dynamics in honeybee (Apis mellifera L.) colonies along a new expansion front of the parasite Varroa destructor*. *PLoS Pathog.* 10 (8), e1004323, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1004323>.

Moser, E.B. (1994). *Graphical Analysis of Multidimensional Ecological Community Data*. Proceedings of the 19th Annual sas Users Group International Conference, Dallas, TX.

Mutinelli, F.; Gallina, A. (2007). *Programa de la Union Europea para el control de residuos en miel*. Laboratorio Nacional de Referencia para la Apicultura, Instituto Zooprofiláctico Experimental de Venecia, Legnaro (PD), Italia. *Agro Sur* 35(1): 30-34.

Nates-Parra, G. (2011). *Genética del comportamiento: abejas como modelo*. *Acta biología Colomb.*, Vol. 16 n.º 3, 2011 213 – 230.

Naug, D. (2009). *Nutritional stress due to habitat loss may explain recent honeybee colony collapses*. *Biol. Conserv.* 142, 2369–2372.

Neumann, P.; Carreck, N.L. (2010). *Honey bee colony losses*. *J Apic Res* 49: 1–6. [ntesis/149_06_10.pdf](https://doi.org/10.1080/1490610.2010.500000). Recuperado en octubre de 2013.

OIE (2004). *Nosemosis de las abejas*. Manual de la OIE sobre animales terrestres.

Oldroyd B.P. (2007). *What's killing American honey bees?* *PLoS Biol.* 5, e168.

O'Neal, S.; Brewster, C.; Bloomquist, J.; Anderson, T. (2017). *Amitraz and its metabolite modulate honey bee cardiac function and tolerance to viral infection*. *Journal of Invertebrate Pathology* 149 (2017) 119–126.



Orantes-Bermejo, F. J., Pajuelo, A. G., Megías, M. M., Fernández Píñar, C. T. (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, 49(3), 243-250.

Paxton, R J (2010). *Does infection by Nosema ceranae cause “Colony Collapse Disorder” in honey bees (Apis mellifera)?* Journal of Apicultural Research 49(1): 80-84. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.11.

Paz, R. y Rodriguez, R. (1998). *Desarrollo territorial, cambios institucionales y transformación productivas. sistematizando la experiencia de la cuenca lechera caprina.* Disponible en: <http://www.rimisp.org/getdoc.php?docid=2852>.

Peng ,Y.S; Fang, Y; Xu, S; Ge, L. (1987). *The resistance mechanism of the Asian honey bee, Apis cerana, to an ectoparasitic mite, Varroa jacobsoni Oudemans, J.* Invertebr. Pathol. 49 (1) 54–60 .

Percival, M. (1961). *Types of nectar in angiosperms.* New Phytologist 60: 235-281.

Perez, R.C.; Bruno, B.; Zucherino, A.; Guardia Lopez, A.R. ; Taverna, A. ; Reynaldi, F.J. (2014). *Determinación de niveles de nosemosis en la provincia de Buenos Aires.* XI Congreso Latinoamericano de Apicultura 2014. FILAPI. Pto. Iguazú, Misiones, Argentina.

Pfeiffer, D.U., Robinson, T.P., Stevenson, M., Stevens, K.B., Rogers, D.J., Clements, A.C. (2008). *Spatial Analysis in Epidemiology*, 1era edición. Oxford University Press, Gran Bretaña, pp. 142.

Piro, R (2000) *Polen y cera: Características físico-químicas y residuos.* En: González I, Vit P. *Calidad de la Colmena para la Apiterapia.* VII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas, Mérida.

Pisa, L.; Goulson, D.; Cheng Yang, E.; Gibbons, D.; Sánchez-Bayo, F.; Mitchell, E.; Aebi, A.; van der Sluijs, J.; MacQuarrie, C.J.K.; Giorio, Ch.; Yim Long, E.; McField, M.; van Lexmond, M.L.; Bonmatin, J.M. (2017). *An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 2: impacts on organisms and ecosystems.* Worldwide integrated assessment of the impact of systemic pesticides on biodiversity and ecosystems. Environ sci pollut res doi 10.1007/s11356-017-0341-3

Porrini, C.; Sabatini, A.G.; Girotti, S.; Fini, F.; Monaco, L.; Celli, G.; Bortolotti, L.; Ghini, S. (2003). *The death of honey bees and environmental pollution by pesticides: the honey bees as biological indicators.* Bulletin of Insectology 56 (1): 147-152, 2003 ISSN 1721-8861.

Potts, S.G.; Biesmeijer, J.C.; Kremen, C.; Neumann, P.; Schweiger, O.; Kunin, W.E. (2010b). *Global pollinator declines: trends, impacts and drivers.* Trends in Ecology & Evolution, 25, 345-53.

Potts, S.G.; Imperatriz-Fonseca, V.L.; Ngo, H.T.; Biesmeijer, J.C.; Breeze, T.D.; Dicks, L.V.; Garibaldi, L.A.; Hill, R.; Settele, J.; Vanbergen, A.J.; Aizen, M.A.; Cunningham, S.A.; Eardley, C.; Freitas, B.M.; Gallai, N.; Kevan, P.G.; Kovács-Hostyánszki, A.; Kwapong, P.K.; Li, J.; Li, X.; Martins, D.J.; Nates-Parra, G.; Pettis, J.S.; Rader, R.; Viana, B. F. (2016). *Summary for policymakers of the assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on*



Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production. IPBES, Bonn, Germany. 36p.

Potts, S.G.; Roberts, S.P.M.; Dean, R.; Marris, G.; Brown, M.A.; Jones, R.; Neumann, P.; Settele, J. (2010a). *Declines of managed honeybees and beekeepers in Europe.* Journal of Apicultural.

Raticelli, F.; Cardón, A.; Monti, H.; Córscico, F. (2011) “*Plan Sanitario Apícola de Diagnostico de Nosema y Varroa en la Ciudad de Gobernador Maciá -Entre Ríos- y Zona de Influencia*” XI Congreso Iberoamericano de Extensión Universitaria. Encuentro de Redes Interinstitucionales y Organizaciones Sociales.

R Core Team (2016). *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Real Ortellado, M (2011). *La Apicultura en La Pampa.* Disponible en <https://inta.gob.ar/documentos/la-apicultura-en-la-pampa>. Captura: 16/04/2017.

Reglamento N° 2377/90 del consejo de la CEE del 26 de junio (1990). Donde se establece un procedimiento de fijación de límites de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal.

Requier, F.; Garcia, N.; Andersson, G.; Oddi, F.; Garibaldi, L.A. (2016). *Honey bee colony losses: what's happening in south america?* <http://americanbeejournal.com/honey-bee-colony-losses-whats-happening-south-america/> Research, 49, 15-22.

Reynaldi, F. (2006) “*Evaluación de antibióticos para el control de loque americana en colmenas de abejas melíferas*”. Tesis Doctoral. Unidad de Bacteriología del CIDEFI, Fac. Cs. Agr. y Ftiles. UNLP. Argentina.

Reynaldi, F.J; Sguazza, G.H; Pecoraro, M.R; Tizzano, M.A; Galosi, M.C. (2010). *First report of viral infections that affect Argentine honeybees.* Env Microbiol Report 2010; 2: 749-51.

Ricketts, T.H; et al. (2008). *Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns?* Ecol. Lett. 11 pp. 499–515.

Riley, J. R., Greggers, U., Smith, A. D., Reynolds, D. R. and Menzel, R. (2005). *The flight paths of honeybees recruited by the waggle dance.* Nature 435, 205-207.

Rodriguez, G. (2018) *Estrategias multidisciplinarias para mitigar el efecto del nuevo contexto ambiental y productivo sobre la colmena.* Recuperado el 02 de marzo de 2018 en <https://inta.gob.ar/proyectos/PNAPI-1112042>.

Rodríguez-Dehaibes, S., Otero-Colina, G.; Sedas, V.; Jiménez, J. (2005). *Resistance to amitraz and fl umethrin in Varroa destructor populations from Veracruz, México.* Journal of Apicultural Research, 44: 124-125.



Rogers, R.E.L.; Williams, G.R. (2007). *Honey bee health in crisis: what is causing bee mortality?* Am Bee J 147: 441.

Rortais A., Arnold G., Halm M.-P., Touet-Briens F. (2005) *Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees.* Apidologie 36, 71–83.

Rose, R; Pettis, J; Rennich, K; vanEngelsdorp, D (2014). *Programa de Cuarentena y Protección de Plantas (PPQ) del Servicio de Inspección Zoonosanitaria y Fitosanitaria (APHIS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) Laboratorio de Investigación sobre las Abejas del Servicio de Investigaciones Agrícolas (ARS) del USDA.* Universidad de Maryland (Estados Unidos de América). OIE y sus aliados.

Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B. (2010). *Biology and control of Varroa destructor.* J. Invertebr. Pathol. 103, 96–119.

Ruiz de Villa, M del C. (2004) Med Clin (Barc);122(Supl 1):51-8 51. *Técnicas emergentes. Análisis de medidas repetidas.* Departament d'Estadística i Investigació Operativa. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

Salizzi, E. (2014). *Estudios socioterritoriales.* Revista de Geografía. N° 16, vol. 1, jul-dic 2014, pág. 13-46.

Santrac, V; Granato, A; Mutinelli, F (2010). *Detection of Nosema ceranae in Apis mellifera from Bosnia and Herzegovina.* Journal of Apicultural Research 49(1): 100-101. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.16.

Schneider, G. y Caporgno, J. (2000) *Análisis de las empresas apícolas ubicadas en la zona central de Santa Fe, pertenecientes al Programa Cambio Rural.* EEA INTA Rafaela. p. 5.

Secretaria de Agricultura y Ganadería (2001). *Datos socioeconómicos y productivos del sector agropecuario.*

Seeley, T. D. (1995). *The wisdom of the hive.* Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.

Seitz, N.; Traynor, K.S.; Steinhauer, N.; Rennich, K.; Wilson, M.E.; Ellis, J.D.; Rose, R.; Tarpy, D.R.; Sagili, R.R.; Caron, D.M.; Delaplane, K.S.; Rangel, J.; Lee, K.; Baylis, K; Wilkes, J.T.; Skinner, J.A.; Pettis, J.S.; vanEngelsdorp, D. (2016). *A national survey of managed honey bee 2014–2015 annual colony losses in the USA.* Journal of Apicultural Research, 54, 292-304.

SENASA. *Listado Limites Maximos Permitidos.* Consultado en: www.senasa.gov.ar/sites/default/files/normativas/archivos/anexo-1-934-10.pdf

Shimanuki, H. (1990). *Bacteria.* In: *Honey bee pests, predators and diseases.* Second Ed., Morse R.A and Nowogrodzki R. (eds.). Cornell University Press, USA, pp. 27-47.



Schur A., Wallner K. (1998) *Wirkstoffeintrag durch Sammelbienen nach Applikation von bienenungefährlichen Pflanzenschutzmitteln in blühenden Winterraps*. Apidologie 29, 417–419.

Schur A., Wallner K. (2000) *Bewertung des individuellen Wirkstoffeintrages von Sammelbienen nach Pestizidapplikation in blühenden Kulturen*. Apidologie 31, 615–616.

Simone-Finstrom, M.; Li-Byarlay, H.; Huang, M.H.; Strand, M.K.; Rueppell, O.; Tarpy, D.R. (2016). *Migratory management and environmental conditions affect lifespan and oxidative stress in honey bees*. Scientific Reports, DOI: 10.1038/srep32023

Sosa, E. E.; Spadoni, J. A.; Osés, D. H.; Cavenio, M. R. y Cisternas A. P. (2009-2011). *Nosemosis, niveles esporulares en apiarios de productores del norte y nor-este de Córdoba*. Avances en la producción vegetal y animal del noa. pp. 395-401.

Squierre, J; Kandel, E.R. (1999). *Memory: from mind to molecules*. Scientific American Library.

Standifer, L. N. (1967). *A comparison of the protein quality of pollens for growth-stimulation of the hypopharyngeal glands and longevity of honey bees, Apis mellifera L (Hymenoptera: Apidae)*. Insectes Sociaux 14 (4): 415-425.

Steffan – Dewentwer, I.; Potts, S.G.; Packer, L. (2005). *Pollinator diversity and crop pollination services are at risk*. Trend Ecol. Evol. 0. 651-652.

Taccheo Barbina, M.; De Paoli, M.; Spessotto, C. (1998). *The determination of coumaphos residues in honey by HPTLC with in-situ fluorimetry*. Pest Management Science, volume 25, Issue 1.

Thom, C., Gilley, D. C., Hooper, J. and Esch, H. E. (2007). *The scent of the waggle dance*. PLoS Biol. 5, e228.

Thompson, H., M. Brown, R. Ball and M. Bew. (2002). *First report of Varroa destructor resistance to pyrethroids in the UK*. Apidologie, 33(4): 357-366.

Tiranti, K.; Melegatti, P.; Ingrassia, M; Julian, A; Degioanni, A; Aime, F; Larriestra, A. (2006). *Relevamiento de enfermedades en Apis mellifera de apiarios en el sur de la provincia de Córdoba*. Segundo Congreso Argentino de Apicultura. 07 al 09 de agosto de 2008. Mar del Plata. Prov. de Buenos Aires, Argentina.

Todd, F. E.; Bretherick, O (1942). *The composition of pollens*. Journal of Economic Entomology 35 (3):312-317.

Tosi, S.; Costa, C.; Vesco, U.; Quaglia, G.; Giovanni, Guido. (2018). *A 3-year survey of Italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides*. Science of the Total Environment 615 (2018) 208–218

Trhlin, M; Rajchard, J. (2011). *Chemical communication in the honeybee (Apis mellifera L.): a review*. Veterinari Medicina, 56:265-273.



Tscharntke, R et al. (2005). *Contribution of small habitat fragments to conservation of insect communities of grassland-cropland landscapes*. Ecol. Appl., 12, pp. 354–363

Ulmer, J.; Travadelo, M.; Caporgno, J.; Castignani, H. (2012). *Identificación y caracterización de los modelos de producción apícola representativos de la Zona Central de la provincia de Santa Fe*. Ciencias Agronómicas - Revista XVIII - Año 11 - 2011 / 043 – 049.

USDA. (2018). *Plant & Soil Sciences eLibrary*. Recuperado el 27/06/2018. <http://passel.unl.edu/pages/informationmodule.php?idinformationmodule=1130447067&topicorder=3&maxto=5&mintto=1>

Ustarroz, D.; Rainero, H. P. (2011) Persistencia y fitotoxicidad de atrazina en el cultivo de soja. Investigadores del INTA, área de Agronomía. 76-78

vanEngelsdorp, D. (2007) *An estimate of managed colony losses in the winter of 2006-2007: a report commissioned by the apiary inspector of America*. Am. Bee J. 147, 599-603.

vanEngelsdorp, D., Maixner, M.D., (2010). *A historical review of managed honey beepopulations in Europe and the United States and the factors that may affect them*. J. Inver. Pathol. 103, 80–95.

Vélez Izquierdo, A.; Espinosa García, J.A.; Amaro Gutiérrez, R.; Arechavaleta Velasco, M.E. (2016). *Tipología y caracterización de apicultores del estado de Morelos, México*. Rev Mex Ciens Pec 2016; 7(4):507-524.

Vinocur, M.; Montani, N.; Finola, M. (1994). *Situación de la Apicultura de el Sur de Córdoba*. Comisión de desarrollo Región. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales. Facultad de Ciencias Económicas. U.N.R.C.

von Frisch, K. (1927). *La vida de las abejas*. 10ª Edición. Editorial Hemisferio Sur. I.S.B.N.950-504-553-0.1999.

von Frisch, K.; Lindauer, M. (1955). *Über die fluggeschwindigkeit der bienen und über ihre richtungsweisung bei seitenwind. Sobre la velocidad de vuelo de las abejas y sobre su dirección en caso de viento lateral*. Naturwissenschaften 42, 377-385.

Wallner, K. (1997). *Varroacides and their residues in bee products*. Apidologie 30 (1999)235-248

Wallner, K., Fries, I., 2003. *Control of the mite Varroa destructor in honey bee colonies*. Pestic.Outlook, <http://dx.doi.org/10.1039/b301510f>.

Watkins, M. (1997). *Resistance and its relevance to beekeeping*. Bee World;78:15-22.

Westrich, P. (1989) *Die Wildbienen Baden-Württembergs. Las abejas silvestres de Baden-Wuerttemberg*. Stuttgart, Ulmer.

Wiest, L., Bulete, A., Giroud, B., Fratta, C., Amic, S., Lambert, O., Pouliquen, H., Arnaudguilhem, C. (2011). *Multi-residue analysis of 80 environmental contaminants in honeys, honeybees and pollens by one extraction procedure followed by liquid and gas chromatography coupled with mass spectrometric detection*. J. Chromatogr. A 1218, 5743e5756.



Williams, G.R. et al (2010). *Colony collapse disorder in context*, Bioessays 32 (10) 845–846.

Winston, M (1987) *Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.

Zlatkovic, M.; Ciric, B.; Cusic, S.(2004) *Bees and honeycomb intoxication with organophosphorus insecticide - dichlorvos* Vojnomedicinska akademija, Beograd (Serbia and Montenegro). Nacionalni centar za kontrolu trovanja)