

**Efecto de seis plaguicidas sobre mortalidad en
dos especies de abejas:
Apis mellifera y *Tetragonisca angustula*
(Hymenoptera: Apidae)**

Ricardo Andrés Díaz Meraz

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2015

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Efecto de seis plaguicidas sobre mortalidad en
dos especies de abejas:
Apis mellifera y *Tetragonisca angustula*
(Hymenoptera: Apidae)**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura

Presentado por:

Ricardo Andrés Díaz Meraz

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2015

**Efecto de seis plaguicidas sobre mortalidad en
dos especies de abejas:
Apis mellifera y *Tetragonisca angustula*
(Hymenoptera: Apidae)**

Presentado por:

Ricardo Andrés Díaz Meraz

Aprobado:

Rogelio Trabanino, M.Sc.
Asesor principal

John J. Hincapié, Ph.D.
Director
Departamento de Ciencia y
Producción Agropecuaria

Blanca Valladares, M.Sc.
Asesora

Raúl Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Efecto de seis plaguicidas sobre mortalidad en dos especies de abejas: *Apis mellifera* y *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae)

Ricardo Andrés Díaz Meraz

Resumen: El uso intensivo de agroquímicos es la base del trastorno del colapso de las colonias, que es un fenómeno que pone en peligro la supervivencia de una especie clave para la biodiversidad en la tierra; *Apis mellifera*, y otros polinizadores como las abejas sin aguijón (*Meliponini*). El objetivo de este estudio fue determinar el efecto en la mortalidad de dos especies de abejas, hacía seis plaguicidas de uso común en cultivos que ocupan de polinización por insectos. Se elaboraron jaulas para evaluar la variable de mortalidad de las abejas, con el diseño del libro Coloss Beebook. Dentro de cada jaula se introdujeron 10 abejas, cada jaula contaba como una unidad experimental. Se aplicó un mL de solución por jaula. Una vez aplicadas, las abejas se introdujeron a una incubadora con temperatura constante de 34.5°C, con humedad relativa superior de 50%. Cada tratamiento contaba con seis repeticiones, más dos testigos por especie los cuales solo fueron aplicados con agua. Un total de 84 unidades experimentales fueron usadas, y analizadas en un total de 10 días en un diseño de bloques completos al azar. La especie *T. angustula* presentó mortalidades del 100% con los tratamientos metalaxil, spinosyn e imidacloprid en las primeras 24 horas, y presentando mortalidades significativas en relación al testigo con oxifluorofeno y glifosato al mismo tiempo. Presentó mortalidades significativas a las 48 horas con chlorothalonil. La especie *A. mellifera*, a las 24 horas, presento mortalidades de 90% para el tratamiento metalaxil, y del 100% con tratamientos de spinosyn e imidacloprid. Presento mortalidades significativas con el tratamiento de chlorothalonil a las primeras 24 horas de aplicación. Los tratamientos oxifluorofeno y glifosato presentaron mortalidades significativas a las 48 horas de aplicación. En conclusión los tratamientos metalaxil, spinosyn e imidacloprid tienen un efecto inmediato en la mortalidad de las dos especies de abejas, y los tratamientos con glifosato, chlorothalonil, y oxifluorofeno tienen un efecto en la mortalidad a largo plazo.

Palabras Clave: Abejas mellíferas, abejas sin aguijón, funguicidas, herbicidas, insecticidas.

Abstract: The intensive use of agrochemicals is the foundation of colony collapse disorder, a phenomenon that threatens the survival of key species for biodiversity on earth; *Apis mellifera*, and other pollinators such as stingless bees (*Meliponini*). The objective of this study was to determine the effect on mortality of two species of bees, with six pesticides commonly used on crops that occupy pollination by insects. Cages were developed to evaluate the variable bee mortality, with the design of Coloss Beebook. Within each cage 10 bees were introduced, each cage was an experimental unit. 1 ml of

solution per cage was applied. Once applied, bees were introduced in an incubator with constant temperature of 34.5 ° C, with relative humidity of 50%. Each treatment had six replicates and two control groups which were applied with water. A total of 84 experimental units were used, and tested in a total of 10 days. The species *T. angustula* presented 100% mortality with metalaxyl, spinosyn and imidacloprid treatments in the first 24 hours, and presenting significant mortality than the control with oxyfluorfen and glyphosate at the same time. Significant mortality was showed at 48 hours with chlorothalonil. The species *A. mellifera*, at 24 hours, presented mortalities of 90% for metalaxyl treatment, and 100% with spinosyn treatments and imidacloprid. Significant mortalities were present with chlorothalonil treatment, the first 24 hours of application. The oxyfluorfen and glyphosate treatments showed significant mortality after 48 hours of application. In conclusion the metalaxil, spinosyn, and imidacloprid treatments have an immediate effect on the mortality of the two species of bees, and treatments with glyphosate, chlorothalonil, and oxyfluorfen have an effect on long-term mortality.

Keywords: Fungicides, herbicides, insecticides, mellifera bees, stingless bees.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	v
Índice de cuadros, figuras y anexos	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
4. CONCLUSIONES	12
5. RECOMENDACIONES	13
6. LITERATURA CITADA	14

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros	Página
1. Tratamientos del estudio.....	7
2. Efecto de plaguicidas sobre porcentaje de mortalidad de <i>Apis mellifera</i> , Zamorano, Honduras.....	8
3. Efecto de plaguicidas sobre porcentaje de mortalidad de <i>Tetragonisca angustula</i> , Zamorano, Honduras.....	10

Figuras	Página
1. Jaula según diseño del libro COLOSS BEEBOOK (Dietemann <i>et al.</i> 2013).....	3
2. Aplicación de las soluciones de plaguicidas a las jaulas con abejas.....	5
3. Jaula con abejas.....	5
4. Abejas en jaulas en incubación.....	6

1. INTRODUCCIÓN

Aunque la polinización puede ser llevada por factores bióticos (Organismos vivos) como abióticos (agua o viento), la gran mayoría de las plantas con flores dependen de los organismos vivos, principalmente de la polinización por insectos. Las abejas son los insectos que por excelencia participan en esta labor, por lo que poseen una gran importancia económica y ecológica en los agroecosistemas (FAO 2014). Según Estadística Agrícola del Servicio Nacional (NASS) / USDA conjunto con los miembros de la industria apícola de Estados Unidos de América, los ingresos de la polinización en 2012 se estimaron en \$ 655,6 millones y responsables de casi 3 billones de dólares en frutas y vegetales producidas cada año (USDA 2014).

Se han identificado más de 20,000 especies de abejas a nivel mundial que también son responsables de la polinización, algunas de las cuales son utilizadas para producción de miel, cera y resinas, entre otros productos, (principalmente de la tribu *Meliponini*) que al ser comercializados, se constituyen en una alternativa de ingresos adicionales para comunidades indígenas y campesinas (FAO 2014). Las abejas de la miel de ninguna manera son exclusivamente responsables de la polinización de las plantas con flores. Tanto en entornos no agrícolas y en los cultivos agrícolas, los polinizadores nativos, juegan un papel esencial en la reproducción y producción de alimentos (Protecting Honey Bees From Pesticides 1998).

La tribu *Meliponini* pertenece a la subfamilia Apinae y congrega aquellas abejas conocidas como “Abejas sin Aguijón” o meliponas encontradas en la mayoría de las áreas tropicales y subtropicales del mundo (Roubik 1989), junto con las abejas mellíferas (*Apis mellifera*), son las que poseen un comportamiento altamente social (Eusocialidad). La característica importante de los meliponas es la carencia de aguijón funcional, pero tienen otros métodos efectivos para defenderse de sus enemigos naturales (Velthuis 1997). Actualmente se conocen alrededor de 400 a 500 especies de abejas sin aguijón, las cuales se ubican en unos 50 géneros. En general, la taxonomía de las meliponas no está resuelta, trabajos que abordan la diversidad intraespecífica de meliponas son pocos, y podrían resultar en la detección de nuevas especies, la presencia de especies gemelas o crípticas que son relativamente comunes en las meliponas, estas son especies que morfológicamente y fisiológicamente son muy parecidas pero tienen comportamientos que las aíslan reproductivamente (Velthuis 1997).

En los últimos años y en la mayoría de los continentes (Excepto Antártida), se ha documentado la disminución de poblaciones y especies de abejas en los agroecosistemas y áreas naturales. Lo cual ha generado preocupación general, tanto ambiental como económicamente. Se sabe con certeza que se están diezmado las colonias de las abejas introducidas al continente americano (*Apis mellifera*). Reportes del departamento de agricultura de los Estados Unidos de América indican una pérdida de colmenas del 28.7% en el 2014, siendo este número un 0.6% mayor que el año pasado, se espera que este número aumente para años venideros, en cambio se sabe muy poco que está pasando con las colonias de abejas nativas del continente americano (*Meliponini*).

Se ha identificado que las causas de la denominada “crisis de los polinizadores” o “crisis de la polinización” que afecta también a las abejas sin aguijón (*Meliponini*), se basa en la introducción de especies que compiten o son portadoras de parásitos nuevos para los polinizadores nativos, la destrucción de hábitats naturales y principalmente al uso indiscriminado e intensivo de agroquímicos (Priess *et al.* 2007).

A finales del 2006 y principios del 2007, la comunidad apícola mundial conoció de un nuevo evento inusual (Verde 2010). El trastorno del colapso de las colonias (CCD por sus siglas en inglés) es un fenómeno que tiene desconcertada a la comunidad científica y que pone en peligro la supervivencia de una especie clave para la biodiversidad en la tierra, la especie *Apis mellifera*. Según los estudios de la Universidad de Harvard: El colapso de las colonias de *Apis mellifera* probablemente sea multifactorial, pero el factor principal es la toxicidad de los pesticidas sistémicos llamados neonicotinoides, que mata a los insectos atacando su sistema nervioso central.

Según FAO (1990), los plaguicidas son cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir, o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción. Las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración durante el almacenamiento y transporte pueden tener un impacto ecológico, amenazando especies no blanco.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto en la mortalidad de dos especies de abejas, a seis plaguicidas de uso común en cultivos que requieren de polinización por insectos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó entre junio y julio del 2015, en la unidad especializada apícola y la unidad especializada de control biológico de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Ubicada a 32 km de Tegucigalpa, Honduras. Precipitación promedio anual de 1100mm, temperatura promedio anual 26 °C y una altura de 800 msnm.

Construcción de jaulas.

Se utilizaron dos especies de abejas *Tetragonisca angustula* y *Apis mellifera*. Las abejas fueron introducidas en jaulas preparadas para poder registrar la mortalidad post aplicadas (Figura 1.). Dichas jaulas fueron construidas con vasos plásticos de 10 onzas con dos agujeros medianos donde se introdujeron tubos de microcentrifuga o Eppendorf perforados de 1ml, los cuales sirvieron como alimentadores para las abejas. El primero contenía una solución 50% de agua, 50% azúcar en base a peso (kg/Litro) que servirá de alimento energético, el segundo tubo contenía agua para hidratar a las abejas y mantener una humedad dentro de la jaula de 50%. Además tenían múltiples agujeros de tamaño pequeño que permitían la circulación del aire dentro de la jaula. En la parte inferior de la jaula, una placa de Petri, que mantiene papel secante y un recipiente que contendrá granos de polen para suplementar el alimento proteico que necesitan las abejas. La evaluación y diseño de esta jaula se encuentra en el libro Coloss Beebook, que explica los métodos estándar para la investigación de abejas (Dietemann *et al.* 2013).



Figura 1. Jaula según diseño del libro COLOSS BEEBOOK (Dietemann *et al.* 2013).

Preparación de las unidades experimentales.

Las unidades experimentales corresponden al conjunto entre la jaula (figura 1) y el grupo de 10 abejas pecoreadoras o recolectoras; Cuando las abejas obreras de ambas especies llegan a la edad de 21 a 30 días post emergidas empiezan a salir de la colmena para recolectar néctar, polen, agua y resinas. Para la recolección de abejas pecoreadoras de la especie *Apis mellifera* se tapó la entrada de la colmena, de esta forma todas las abejas que venían del campo se agrupaban en la entrada de la colmena, permitiendo colectarlas de forma manual. Para la especie *Tetragonisca angustula* se colocó la jaula en la entrada de la colmena de esta forma todas las abejas que salían de la colmena caían en la jaula, la no manipulación de estas abejas con las manos es crucial, debido a que son abejas de 4 a 5 mm de longitud y cualquier fuerza puede causar la muerte de las mismas. Para ambas especies se recolectaron diez abejas por jaula.

Dosificaciones.

Se usaron dosificaciones habituales de estos plaguicidas, para poder determinar los niveles de mortalidad de las abejas que se encontrarían trabajando en el campo en los tiempos de aplicación.

Para las aplicaciones de los plaguicidas dentro de las jaulas ya previamente instaladas, se realizaron calibraciones por plaguicida, tomando en cuenta las etiquetas de cada producto, así poder obtener dosificaciones que se aplicarían de forma regular en los cultivos. Las dosificaciones y plaguicidas utilizados fueron los siguientes.

Herbicidas

- Oxifluorofeno 240 EC 1cc producto comercial/L.
- Glifosato 720 WG 2gr producto comercial/L.

Funguicidas

- Chlorothalonil 720 SC 1 cc producto comercial/L.
- Metalaxyl 68 WP 2gr producto comercial/L.

Insecticidas

- Imidacloprid 70 WG 1gr producto comercial/L.
- Spinosyn 12 SC 1cc producto comercial/L.

Aplicación de Plaguicidas.

Para asegurar que se simulen las condiciones normales de aplicación de campo se prepararon las dosis antes mencionadas usando, atomizadores de 500 ml, debidamente calibrados para que dispersaran 1 ml de solución en cada jaula (Figura 2 y 3.). Se aplicó 1 ml de solución por jaula. El tratamiento control se aplicó 1 ml de agua, al momento de la aplicación la jaula mantuvo en la parte inferior papel absorbente para retener todo el excedente de la aplicación. Se esperó 10 minutos se retiró el papel y se le colocó la placa Petri antes mencionada.



Figura 2. Aplicación de las soluciones de plaguicidas a las jaulas con abejas.



Figura 3. Jaula con abejas.

Incubación de abejas post-aplicación.

Una vez aplicadas las abejas se introdujeron a incubadora eléctrica que mantenía una temperatura constante de 34.5 °C, simulando la temperatura interna de la colmena siendo este de alrededor de 35 °C (Figura 4.). Se colocaron vasos de agua adentro de la incubadora para mantener la humedad relativa arriba del 50%, simulando la humedad que se encontraría en una colmena sana.



Figura 4. Abejas en jaulas en incubación.

Variables medidas.

Para evaluar el efecto de los plaguicidas sobre las especies de abejas, se evaluaron los siguientes parámetros: porcentaje de abejas muertas y porcentaje de abejas vivas para finalmente estimar el porcentaje de mortalidad. El ensayo se evaluó durante 10 días para determinar el efecto toxico de los plaguicidas sobre las abejas.

Porcentaje de abejas muertas. Se evaluó diariamente el número de abejas muertas por tratamiento durante 10 días. El porcentaje de mortalidad se obtuvo con la siguiente ecuación 1.

$$\% \text{ Mortalidad} = \text{AM/AT} * 100 \quad [1]$$

Dónde:

AM= Abejas muertas

AT= Abejas totales

Diseño experimental y análisis estadístico.

Para análisis de resultados se usó un diseño de bloques completamente al azar (BCA), con un total de 7 tratamientos por cada especie en estudio (Cuadro 1.). Los tratamientos se evaluaron en seis repeticiones para un total de 42 unidades experimentales por especie. Los resultados se procesaron mediante el análisis de GLM, ANDEVA y separación de medias a través de la prueba DUNCAN en el programa SAS “Statistical Analysis System” SAS versión 9.3 con un nivel de significancia de 0.05. Valores de P menores a 0.05 indican que hay diferencia significativa.

Cuadro 1. Tratamientos del estudio.

Especie	Plaguicida	Tratamiento
<i>Tetragonisca angustula</i>	Clorotalonil	1
<i>Tetragonisca angustula</i>	Metalaxyl	2
<i>Tetragonisca angustula</i>	Oxifluoren	3
<i>Tetragonisca angustula</i>	Glifosato	4
<i>Tetragonisca angustula</i>	Imidacloprid	5
<i>Tetragonisca angustula</i>	Spinosyn	6
<i>Tetragonisca angustula</i>	Agua	7
<i>Apis mellifera</i>	Clorotalonil	1
<i>Apis mellifera</i>	Metalaxyl	2
<i>Apis mellifera</i>	Oxifluoren	3
<i>Apis mellifera</i>	Glifosato	4
<i>Apis mellifera</i>	Imidacloprid	5
<i>Apis mellifera</i>	Spinosyn	6
<i>Apis mellifera</i>	Agua	7

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los plaguicidas sobre la especie *Apis mellifera*.

Para el tratamiento con Imidacloprid la especie *Apis mellifera* presento una mortalidad total de 100% a los 15 minutos de aplicadas. El modo de acción de imidacloprid es similar al de los insecticidas derivados de la nicotina, actuando en el sistema nervioso central, actuando en el receptor de acetilcolina nicotínico postsináptico, causando parálisis en el insecto (IRAC 2011). Según la USDA la familia de insecticidas, Neonicotinoides a la cual pertenece Imidacloprid, ha sido culpables de millones de muertes de colmenas desde 1990 (ARS 2014). Alemania en el 2008, eliminó el uso total de este insecticida en el país (ARS 2014).

Estudios demuestran que las abejas expuestas a este insecticida las vuelve susceptibles a *Nosema apis*, microsporidio causante de una enfermedad que ataca a abejas adultas (ARS 2014). Los compuestos de los neonicotinoides son muy persistentes en los suelos, estudios demuestran que pueden estar latentes en el suelo hasta un año (Krupke 2012). Los cultivos que sus semillas fueron tratadas con neonicotinoides, encontraron que pueden producir dosis similares a los de una aplicación de campo, en las gotas que se producen en las hojas, conocidas como glutación (Taparro 2012).

Cuadro 2. Efecto de plaguicidas sobre porcentaje de mortalidad de *Apis mellifera*, Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Días									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Oxifluorofeno 240 EC 1CC / Litro	7 d	12 b	17 c	18 cb	18 cd	18 cd	18 d	22 cd	23 c	28 c
Glifosato 720 WG 2Gr / Litro	3 d	10 c	22 bc	22 cb	22 c	22 c	22 cd	23 cd	25 c	28 c
Chlorothalonil 720 SC 1 CC / Litro	13 c	18 b	25 b	32 b	33 b	40 b	40 b	40 b	43 b	43 b
Metalaxil 68 WP 2Gr / Litro	90 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Imidacloprid 70 WG 1Gr / Litro	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Spinosyn 12 SC 1CC/Litro	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Testigo	0 d	2 d	3 d	10 c	12 d	15 d	17 d	17 d	17 d	17 d
CV	16.02	12.24	10.7	10.96	11.43	12.42	12.29	12.32	11.4	10.75
P	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
R ₂	0.97	0.98	0.98	0.98	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97

Tratamientos con diferente letra difieren entre sí ($P \leq 0.05$).

El tratamiento con Spinosyn presento mortalidades del 100% en las primeras 24 horas de aplicadas, Desde el punto de vista bioquímico, spinosad puede actuar de dos formas: i) tiene un efecto sinérgico sobre la actividad de la acetilcolina, ya que actúa sobre un sitio diferente del receptor postsináptico. Cuando la molécula de spinosad se fija sobre este receptor permite la entrada continua de cationes, provocando una excitación constante de la célula nerviosa (Salgado 1997), ii). Existen evidencias de que spinosad puede afectar a los receptores del ácido gamma-aminobutírico (GABA), neurotransmisor que activa los canales que permiten el flujo de los iones Cl hacia las células (Salgado 1997). El spinosyn es un insecticida de origen natural producido por la fermentación de una bacteria actinomiceto llamado *Saccharopolyspora spinosa* (Dow AgroSciences 2015). El Insecticida Spinosyd es toxico para las abejas, según estudio realizado por Dow AgroScience, por más de diez años, y se deben de tomar medidas de prevención para evitar la intoxicación de las abejas. Está incluido en el listado de insecticidas neurotóxicos registrados en el ministerio de Agricultura de España, el cual incluye 32 formulaciones, de un total de 7 materias activas entre ellas spinosyn (MAGRAMA 2013).

El funguicida metalaxyl, resulto toxico para las abejas causando un 90% de mortalidad La especie *Apis mellifera* presento una mortalidad de 90% a las 24 horas y 100% a las 48 horas. El grupo testigo presento un 17% en mortalidad al día diez, siendo este nivel aceptado por los métodos estándares del libro Coloss Beebook (Dietemann *et al.* 2013). La especie *Apis mellifera* mantuvo una diferencia significativa en todos los días evaluados a comparación del grupo testigo, el tratamiento con el funguicida chlorothalonil alcanzo un 43.33% al día diez. Estos porcentajes de mortalidad elevados para ambos funguicidas, se deben a que estos plaguicidas tienen un efecto directo en el sistema inmune de las abejas, bajando sus defensas después de aplicadas (USDA 2013). Según el grupo de extensión de la cooperativa de Alabama, este funguicida se encuentra como moderadamente peligroso para las abejas, y la correcta aplicación, momento y método estratégico, son factores que pueden reducir la muerte de las abejas (Protecting Honey Bees From Pesticides 1998).

La especie *Apis mellifera*, presento mortalidades desde el día dos de aplicadas con el herbicida glifosato, y alcanzo una mortalidad de 28.33% al día diez. lo que confirma la no toxicidad a corto plazo reportada por la FAO (2000) debido a que ellos usaron protocolos de evaluación de 48 a 96 horas, donde no se observa mortalidad a largo plazo, a la vez Schuette (1998) y Giesy *et al.* (2000) también reportaron bajas toxicidades de este plaguicida. Sin embargo se pudo observar que para la especie *Apis mellifera*, el herbicida glifosato tiene un efecto significativo en la mortalidad a largo plazo.

La especie *Apis mellifera*, con el tratamiento del herbicida de oxifluorofeno, mantuvo una mortalidad no significativa el primer día. Fue el día dos en el cual la mortalidad fue significativa con un 12%, la especie alcanzo un 28.33% de mortalidad al día diez. Esto posiblemente se debe por el efecto que tiene este plaguicida sobre la longevidad de las abejas, presentando tendencias parecidas con el tratamiento de glifosato. Estos resultados difieren con la ficha técnica del producto en el cual ellos afirman que prácticamente no es toxico para las abejas.

Efecto de plaguicidas sobre la especie *Tetragonisca angustula*.

El tratamiento con imidacloprid en la especie *Tetragonisca angustula* se comportó de la misma forma que en la especie *Apis mellifera*, causando el 100% de la mortalidad en esta especie a los 15 minutos de aplicada la solución. Como se explicó anteriormente este insecticida tiene acción en el sistema nervioso central causando una parálisis inmediata en el insecto. A diferencia de la especie *Apis mellifera*, no se han documentado efectos de este plaguicida sobre esta especie de abeja, debido a la poca recolección de datos de esta especie en los trópicos Americanos.

Al igual que con el tratamiento con imidacloprid y metalaxil, el tratamiento con spinosyn, presento una mortalidad similar al de la especie *Apis mellifera*, causando el 100% de las muertes en las 24 horas de aplicadas.

El tratamiento con el funguicida chlorothalonil, no causó una mortalidad inmediata en esta especie, al día uno la especie presentó una mortalidad del 5%, siendo significativa con el testigo, al día siete la especie alcanzó el 100% de mortalidad, lo que sugiere que este insecticida no tiene un efecto directo en la mortalidad pero si presenta un efecto directo sobre la longevidad de esta especie.

Cuadro 3. Efecto de plaguicidas sobre porcentaje de mortalidad de *Tetragonisca angustula*, Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Dias									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Oxifluorofeno 240 EC 1CC / Litro	15 c	25 c	30 c	30 c	32 c	40 d	40 c	47 c	95 a	100 a
Glifosato 720 WG 2Gr / Litro	30 b	38 b	38 b	52 b	57 b	58 c	60 b	60 b	67 b	68 b
Chlorothalonil 720 SC 1 CC / Litro	5 d	12 d	20 d	30 c	53 b	85 b	100 a	100 a	100 a	100 a
Metalaxil 68 WP 2Gr / Litro	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Imidacloprid 70 WG 1Gr / Litro	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Spinosyn 12 SC 1CC/Litro	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Testigo	2 e	3 e	7 e	13 d	17 d	27 e	28 d	28 d	28 c	28 c
CV	14.98	10.13	11.27	13.1	12.33	14.23	10.22	7.05	6.23	3.79
P	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
R ₂	0.97	0.98	0.97	0.95	0.95	0.91	0.94	0.97	0.96	0.98

Tratamientos con diferente letra difieren entre sí ($P \leq 0.05$).

El tratamiento con el herbicida oxifluorofeno, presentó mortalidades significativas en las primeras 24 horas de aplicación con un 15% de mortalidad, al día cinco con 32%, y finalmente al día diez con un 100% de mortalidad, lo que sugiere que este herbicida tiene un efecto gradual en la mortalidad, y no directo como en el caso de los insecticidas.

El herbicida glifosato la especie *Tetragonisca angustula*, presentó las mortalidades más bajas de todos los plaguicidas evaluados, al día uno esta especie presentó un 30% de mortalidad, y al día diez un 68% de mortalidad, Es importante destacar que fue el único plaguicida para esta especie que no mató a todos los individuos. Los datos obtenidos con el efecto del herbicida no difieren al estudio realizado en el 2014 por Ruiz-Toledo y

Sanchez-Guillen (2014) donde confirman la alta sensibilidad de esta especie hacia el plaguicida.

El tratamiento testigo alcanzó una mortalidad del 28%, no existen ningún parámetro de esta especie para evaluar una mortalidad correcta en las jaulas. %. La mortalidad en el grupo testigo, puede ser por el efecto que tiene la manipulación de estas abejas y el estrés que causa mantenerlas en las jaulas.

4. CONCLUSIONES

El funguicida metalaxyl y los insecticidas imidacloprid y spinosyn fueron altamente tóxico para ambas especies de abejas.

Los herbicidas glifosato y oxifluorofeno mostraron menor mortalidad que los demás tratamientos en ambas especies.

Las abejas *Apis mellifera* presentaron una mayor mortalidad al funguicida chlorothalonil que a los herbicidas evaluados.

La especie *Tetragonisca angustula*, presento una mortalidad total al día siete con el funguicida chlorothalonil.

5. RECOMENDACIONES

Replicar el estudio con otras especies de abejas nativas del continente americano, como la especie *Melipona beecheii*.

Replicar este estudio con otros plaguicidas usados con regularidad en cultivos que necesitan de polinización por insectos.

Evaluar diferentes porcentajes de concentración de plaguicida y su efecto sobre las abejas.

Evaluar el efecto sinérgico que puedan tener de dos o más plaguicidas sobre la mortalidad de las abejas.

Replicar este estudio con diferentes porcentajes de concentración de plaguicida y evaluar el efecto sobre las abejas.

Evaluar la bioacumulación de estos químicos dentro de la colmena y la biotransformación del mismo.

6. LITERATURA CITADA

ARS. 2014. Honey Bee Health and Colony Collapse Disorder. 06 octubre, 2015, de USDA Sitio web: <http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=15572>.

Dietemann V., Ellis J, P. Neumann, 2013. COLOSS BEEBOOK Volume II: Standard Methods for *Apis mellifera* Pest and Pathogen Research. USA: COLOSS.

Dow AgroSciences. 2015. Effects of spinosad on Honey bees (*Apis mellifera*). 23 agosto, 2015, de Dow AgroSciences Sitio web: file:///D:/Downloads/Miles_Spinosad_bees_Miles_et_al_2011.pdf.

FAO. 2014. Principios y avances sobre polinización como servicio ambiental para la agricultura sostenible en países de Latinoamérica y el caribe. 2014, de FAO Sitio web: <http://www.fao.org/3/a-i3547s.pdf>.

FAO. 2000. FAO specifications and evaluations for plant protection products. Glyphosate. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/agp/agpp/pesticid/specs/docs/pdf/new/glypho01.pdf> (Fecha de acceso: 17/Junio/2012).

FAO. 1990. Eliminación de Grandes Cantidades de Plaguicidas en Desuso en los Países en Desarrollo - Colección FAO: Eliminación de Plaguicidas - 4. (En Línea). Consultado el 16 de junio del 2015, de FAO Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/w1604s/w1604s04.htm#peligros> que entrañan los plaguicidas en desuso.

Giesy J., Dobson P., K. Solomon. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 167: 35–120.

IRAC. 2011. Clasificación del Modo de Acción de Insecticidas y Acaricidas. 04 septiembre, 2015, de Comité de Acción para la Resistencia a los Insecticidas Sitio web: http://www.irac-online.org/content/uploads/modo_de_accion_Oct11.pdf.

Krupke . 2012. Multiple Routes of Pesticide Exposure for Honey Bees Living Near Agricultural Fields. 29 septiembre, 2015, de PLOS ONE Sitio web: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0029268>.

MAGRAMA. 2013. Productos Registrados en España. 29 septiembre, 2015, de Ministerio de Agricultura de España Sitio web: <http://www.magrama.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productosfitosanitarios/registro/productos/consusact.asp>.

NASS. 2012. Fruit and Tree Nuts Outlook: Economic Insight. 01 agosto, 2015, de USDA Sitio web: http://www.ers.usda.gov/media/1679173/special-article-september_-pollinator-service-market-4-.pdf.

Roubik G., Nates-Parra P. *Biota Colombiana* 2 (3) 233 - 248, 2001. Las Abejas sin Aguijón (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) de Colombia (En línea). Consultado el 05 de Mayo del 2015. Disponible en: [http://www.researchgate.net/profile/Guioamar_Parra/publication/237794949_Las_Abejas_sin_Aguijn_\(Hymenoptera_Apidae_Meliponini\)_de_Colombia/links/02e7e522a7fcade0c3000000.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Guioamar_Parra/publication/237794949_Las_Abejas_sin_Aguijn_(Hymenoptera_Apidae_Meliponini)_de_Colombia/links/02e7e522a7fcade0c3000000.pdf).

Priess, J., Mimler, M., Klein, S., Schwarze, T., Tschardt L., I. Steffan-Dewenter. 2007. Linking deforestation scenarios to pollination services and economic returns in coffee agroforestry systems. *Ecological Applications* 17(2): 407–417.

Protecting Honey Bees From Pesticides. 1998. *Pesticide Problems*. 02 agosto, 2015, de ALABAMA A&M AND AUBURN UNIVERSITIES Sitio web: <http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-1088/ANR-1088.pdf>.

Ruiz-Toledo, J., D, Sánchez-Guillén. 2014. Effect of the concentration of glyphosate present in body waters near transgenic soybean fields on the honeybee *Apis mellifera*, and the stingless bee *Tetragonisca angustula*. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.), 30(2): 408-413.

Salgado. 1997. El SPINOSAD, una alternativa para el control de insectos plaga. 23 agosto, 2015, de Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Sitio web: http://www.cic.umich.mx/documento/ciencia_nicolaita/2007/46/CN46-029.pdf.

Schuette, J. 1998. Environmental fate of glyphosate. Environmental Monitoring & Pest Management. Department of Pesticide Regulation Sacramento. CA 95824-5624. Disponible: <http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/glyphos.pdf> (Fecha de acceso: 16/06/2013).

Taparro. 2012. Multiple Routes of Pesticide Exposure for Honey Bees Living Near Agricultural Fields. 25 septiembre, 2015, de PLOS ONE Sitio web: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0029268>.

USDA. 2014. pollinator service market. Octubre 01, 2015, de USA Sitio web: http://www.ers.usda.gov/media/1679173/special-article-september_-pollinator-service-market-4-.pdf.

USDA. 2013. Bees Exposed to Fungicide More Vulnerable to Nosema Parasite. 25 septiembre, 2015, de USDA Sitio web: <http://www.ars.usda.gov/is/pr/2013/130724.htm>.

Verde, M. 2010. Síndrome del desorden del colapso de las colmenas (DCC) CAUSAS Y CONSECUENCIAS (En línea). Consultado el 05 de Mayo del 2015. Disponible en: <http://www.actaf.co.cu/revistas/Revista%20ACPA/2010/REVISTAS%2003/20%20SINDROME%20DEL%20DESORDEN.pdf>.

Velthuis. 1997. Producción tradicional de miel: abejas nativas sin aguijón (Trigonas y Meliponas). Septiembre 20, 2015, de Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatan. Sitio web: <http://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Sitios/Biodiversidad/pdfs/Cap7/19%20Produccion%20tradicional%20de%20miel.pdf>.