UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE AGRONOMÍA (REDISEÑO)

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo.

Título del Proyecto de Investigación:

Evaluación de efectos letales de insumos agrícolas en abejas melíferas (*Apis mellifera*).

Autor:

Juliana Daniela Haón Ramírez

Tutora del Proyecto de Investigación:

Dra. Mayra Carolina Vélez Ruiz

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2022

DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **JULIANA DANIELA HAÓN RAMÍREZ**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacerse uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

JULIANA DANIELA HAÓN RAMÍREZ

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

La suscrita, **MAYRA CAROLINA VÉLEZ RUIZ**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante **JULIANA DANIELA HAÓN RAMÍREZ**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado **"Evaluación de efectos letales de insumos agrícolas en abejas melíferas (*Apis mellifera*)"**, previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

DRA. MAYRA CAROLINA VÉLEZ RUIZ.

TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

La suscrita, **MAYRA CAROLINA VÉLEZ RUIZ**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en calidad de Directora del Proyecto de Investigación titulado **"Evaluación de efectos letales de insumos agrícolas en abejas melíferas (*Apis mellifera*)"**, pertenece a la estudiante **JULIANA DANIELA HAÓN RAMÍREZ**, certifica: el cumplimiento de los parámetros establecidos por la SENESCYT, y se evidencia al reporte de la herramienta de prevención y coincidencia y/o plagio académico (URKUND) con un porcentaje de coincidencia del 5%.

Curiginal

Document Information

Analyzed document	Tesis_Haon_Juliana_Urkund.docx (D135392808)
Submitted	2022-05-04T02:53:00.0000000
Submitted by	
Submitter email	mvelez@uteq.edu.ec
Similarity	5%
Analysis address	mvelez.uteq@analysis.urkund.com

DRA. MAYRA CAROLINA VÉLEZ RUIZ.

TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE AGRONOMÍA (REDISEÑO)

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

"Evaluación de efectos letales de insumos agrícolas en abejas melíferas (*Apis mellifera*)"

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo

Aprobado por:

Dr. Fernando Abasolo Pacheco

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. MSc. David Campi Ortiz

INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

Ing. MSc. Luis Llerena Ramos

INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2022

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, ante todo, por guiar mi camino con su inmensa bondad, manteniéndome con salud, brindándome fortaleza y dándome la oportunidad de lograr culminar satisfactoriamente la carrera de Agronomía.

Mis más sinceros agradecimientos a mi madre, hermanos y sobrina porque a pesar de las dificultades que presenta la vida me han dado fuerzas para seguir adelante, en especial a mi hermana Gabriela Haón por brindarme confianza, amor, paciencia y estar siempre en los momentos más difíciles animándome a seguir adelante.

Infinitamente agradecida con mi tutora de tesis la Dra. Mayra Vélez, gracias por la paciencia, por motivarme, por brindarme sus conocimientos y no abandonarme en mi trabajo investigativo, además de gratitud siento una profunda admiración hacia ella, por ser una excelente profesional.

Le agradezco al Ing. Ronald Cabezas, por la ayuda que me brindó para llevar a cabo la realización de la presente investigación.

A los docentes miembros de mi tribunal: Dr. Fernando Abasolo, Ing. David Campi y Ing. Luis Llerena, por su tiempo y sugerencias.

A mis compañeros y amigos, Saúl Castro y René Ronquillo, que conocí durante el proceso de la carrera, por estar presentes en los momentos que más necesitaba y de alguna forma fueron parte del camino recorrido.

Finalmente, a una persona muy especial, por el apoyo que me brindó en mi trabajo investigativo, gracias por darme ánimos para seguir adelante con mis metas profesionales y personales.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a Dios por bendecirme día a día, dándome la fortaleza y sabiduría para no rendirme en el camino, logrando cumplir mi meta.

A mi madre, hermanos y sobrina quienes son el principal motivo de este logro, por creer en mí siempre, por compartir junto a mí, mis alegrías, lágrimas y triunfos, brindándome confianza e inculcándome valores, lo cual me permitió ser la persona que soy hoy en día.

A cada una de las personas que me acompañaron durante estos cinco largos años de formación, brindándome consejos y motivación para seguir adelante logrando culminar mi carrera.

RESUMEN

El uso intensivo de insumos agrícolas (fertilizantes foliares, fungicidas e insecticidas) en la actualidad están provocando la reducción poblacional de abejas melíferas, causando así un desequilibrio en los ecosistemas. El objetivo de la presente investigación fue evaluar los efectos letales de insumos agrícolas (Evergreen, Energy Track, Oxithane e Imidalaq) en abejas melíferas (*Apis mellifera* L.). La investigación se realizó en el laboratorio de Química y Bioquímica ubicada en el Campus experimental "La María" perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Se realizaron bioensayos de consumo de alimento, mortalidad y tiempo letal medio. Para cada bioensayo se utilizó un DCA con 5 tratamientos, la unidad experimental estuvo constituida por 10 abejas (UE). Los cinco tratamientos; fueron los fertilizantes foliares Evergreen (T1); Energy Track (T2); insecticida Imidalaq SC (T3); el fungicida Oxhitane (T4) y el tratamiento testigo (sacarosa líquida) (T5). De acuerdo a los resultados obtenidos se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos durante las 36 primeras horas de exposición. El menor consumo de alimento fue cuando se alimentó a las abejas con Energy-Track ($\bar{X}$=0.25 g), Imidalaq ($\bar{X}$=0.29 g) y Oxithane ($\bar{X}$=0.44 g), al comparar con el tratamiento testigo (Sacarosa) ($\bar{X}$=0.56 g). Con excepción del tratamiento testigo (T5= 4 abejas), a las 36 horas de evaluación se presentó la mayor mortalidad entre los tratamientos (T1= 8 abejas; T2= 19 abejas; T3=9 abejas; T4= 20 abejas). El mayor porcentaje de mortalidad de abejas se obtuvo al ser expuestas al insecticida Imidalaq (T4) y el fertilizante foliar Energy Track (T2) con medias de mortalidad del 50% y 47.5% respectivamente. El insecticida Imidalaq obtuvo el valor de TL_{50} más bajo (33,60 horas). La presente investigación se realizó con la finalidad de generar información para los agricultores y apicultores de la zona sobre los efectos que estos productos tienen en las abejas de la región y sus consecuencias sobre la reducción de sus poblaciones.

Palabras claves: Mortalidad, polinizadores, agroecosistemas, pesticidas.

ABSTRACT

The intensive use of agricultural supplies (foliar fertilizers, fungicides, and insecticides) is currently causing the population reduction of honeybees, causing an imbalance in ecosystems. The aim of this research was to evaluate the lethal effects of agricultural supplies (Evergreen, Energy Track, Oxithane, and Imidalaq) on honeybees (Apis mellifera L.). The research was carried out in the Chemistry and Biochemistry laboratory located in the experimental Campus "La María" belonging to the Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Bioassays of food consumption, mortality and mean lethal time was carried out. For each bioassay, a DCA with 5 treatments was used, the experimental unit consisted of 10 bees (EU). Five treatments were studied; Evergreen (T1); Energy Track (T2) foliar fertilizers; Imidalaq SC insecticide (T3); the fungicide Oxhitane (T4) and the control treatment (liquid sucrose) (T5). According to the results obtained, significant differences were evidenced between the treatments during the first 36 hours of exposure. The lowest feed intake was for the treatment in which the bees were fed Energy-Track ($\bar{X}$=0.25 g), Imidalaq ($\bar{X}$=0.29 g), and Oxithane ($\bar{X}$=0.44 g), compared to the control treatment (Sucrose) ($\bar{X}$=0.56 g). Except for the control treatment (T5= 4 bees), at 36 hours of evaluation, the highest mortality among treatments occurred (T1= 8 bees; T2= 19 bees; T3=9 bees; T4= 20 bees). The highest percentage of bee mortality was obtained when exposed to the insecticide Imidalaq (T4) and the foliar fertilizer Energy Track (T2) with mortality rates of 50% and 47.5%, respectively. The Imidalaq insecticide obtained the lowest TL_{50} value (33.60 hours). This research was carried out with the aim of generating information for farmers and beekeepers in the area on the effects of these products on bees in the region and their consequences on the reduction of bee populations.

Keywords: Mortality, pollinators, agroecosystems, pesticides.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

PORTADA……i
DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.. iii
REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO iv
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN..... v
AGRADECIMIENTO vi
DEDICATORIA vii
RESUMEN viii
ABSTRACT ix
ÍNDICE DE CONTENIDOS x
ÍNDICE DE TABLAS xiii
ÍNDICE DE FIGURAS xiv
ÍNDICE DE ANEXOS xv
CÓDIGO DUBLÍN..... xvi
INTRODUCCIÓN..... 1

CAPÍTULO I CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN
1.1. Planteamiento del Problema. 3
1.1.1 *Diagnóstico.* 3
1.1.2 *Pronóstico.* 3
1.1.3 *Formulación del Problema.* 4
1.1.4 *Sistematización del Problema.* 4
1.2 Justificación 5
1.3 Objetivos..... 6
1.3.1 *Objetivo General.* 6
1.3.2 *Objetivos Específicos.* 6

CAPÍTULO II FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN
2.1 Marco Referencial 8
2.1.1 *Abeja (Apis mellifera).* 8
2.1.2 *Clasificación Taxonómica.* 9

2.1.3 *Anatomía y Fisiología de las Abejas.* 9
2.1.4 *Generalidades de la Biología de las Abejas.* 11
2.1.5 *Digestión de las Abejas.* 13
2.1.6 *Nutrición de las Abejas.* 13
2.1.7 *Productos de la Colmena Secretados por las Abejas.* 14
2.1.8 *Función de las Abejas en los Agroecosistemas.* 15
2.1.9 *Efecto de los Insumos Agrícolas Sobre las Abejas.* 16
2.1.10 *Insecticidas que Afectan las Abejas Apis mellifera.* 17
2.1.11 *Herbicidas que Afectan las Abejas Apis mellifera.* 17
2.1.12 *Fungicidas que Afectan las Abejas Apis mellifera.* 18
2.1.13 *Fertilizantes que Afectan las Abejas Apis mellifera.* 18

CAPÍTULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN
3.1. Localización..... 20
3.2. Tipo de Investigación. 20
3.3. Método de Investigación. 20
3.4. Fuente de Recopilación de Información. 21
3.5. Tratamientos en Estudio. 21
3.5.1. *Descripción de los Tratamientos.* 21
3.6. Diseño del Experimento 22
3.6.1 Manejo del Experimento. 23
3.7. Datos a Tomar y Formas de Evaluación. 24
3.9. Recursos Humanos y Materiales. 25
3.9.1. *Recursos Humanos.* 25
3.9.2. *Material Genético.* 26
3.9.3. *Materiales, Herramientas y Equipos.* 26
3.9.4. *Materiales de Oficina.* 27

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN
4.1 Resultados..... 29
4.1.1 *Consumo de Alimento de Abejas (A. mellifera).* 29
4.1.2 *Mortalidad de Abejas (A. mellifera).* 29
4.1.3 *Tiempo Letal Medio (TL_{50}) de Abejas (A. mellifera).* 30
4.2 Discusión 33

CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES
5.1. Conclusiones 37
5.2 Recomendaciones 38

CAPÍTULO VI BIBLIOGRAFÍA
6.1. Bibliografía 40

CAPÍTULO VII ANEXOS
7.1 Anexos 48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características morfológicas de las castas de *Apis mellifera*. 13
Tabla 2. Características climáticas de la zona de estudio..... 20
Tabla 3. Tratamientos y dosis..... 21
Tabla 4. Esquema del análisis de varianza. 23
Tabla 5. Valores de tiempo letal medio (TL_{50}) de abejas expuestas a insumos agroquímicos. 31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Alimento consumido por adultos de *A. mellifera* expuestas a diferentes insumos agrícolas durante periodo de 36 horas. Diferentes letras sobre los cuerpos geométricos indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey (P<0.05). 29

Figura 2. Comportameinto de mortalidad de abejas (*A. mellifera*) expuestas a diferentes insumos agrícolas durante periodo de 120 horas. 30

Figura 3. Porcentaje de mortalidad de adultos de *A. mellifera* expuestas a diferentes insumos agrícolas durante periodo de 36 horas. Diferentes letras sobre los cuerpos geométricos indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey (P<0.05). 31

Figura 4. Tiempo letal medio (TL_{50}) de adultos de *A. mellifera* expuestas a diferentes insumos agrícolas durante periodo de 120 horas. Diferentes letras sobre los cuerpos geométricos indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de Holm- Sidak (P<0.05). 32

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza del consumo de alimento de abejas a las 36 horas de evaluación. 48
Anexo 2. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de abejas a las 36 horas de evaluación. 48
Anexo 3. Preparación de sacarosa líquida, peso de azúcar en balanza analítica. 48
Anexo 4. Preparación de sacarosa líquida, medición de agua destilada. 49
Anexo 5. Alimentación de abejas en campo utilizando sacarosa como atrayente. 49
Anexo 6. Colecta de abejas melíferas (*A. mellifera*) en colmenas. 50
Anexo 7. Acondicionamiento de las abejas melíferas en el laboratorio. 50
Anexo 8. Preparación de soluciones para alimentar las abejas. 51
Anexo 9. Alimentación de las abejas con las soluciones preparadas. 51
Anexo 10. Revisión de la mortalidad de las abejas en cada tratamiento. 52

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	Evaluación de efectos letales de insumos agrícolas en abejas melíferas (*Apis mellifera*)
Autor:	Juliana Daniela Haón Ramírez
Palabras clave:	Mortalidad, polinizadores, agroecosistemas, pesticidas.
Fecha de publicación:	
Editorial:	
Resumen:	El uso intensivo de insumos agrícolas (fertilizantes foliares, fungicidas e insecticidas) en la actualidad están provocando la reducción poblacional de abejas melíferas, causando así un desequilibrio en los ecosistemas. El objetivo de la presente investigación fue evaluar los efectos letales de insumos agrícolas (Evergreen, Energy Track, Oxithane e Imidalaq) en abejas melíferas (*Apis mellifera* L.). La investigación se realizó en el laboratorio de Química y Bioquímica ubicada en el Campus experimental "La María" perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Se realizaron bioensayos de consumo de alimento, mortalidad y tiempo letal medio. Para cada bioensayo se utilizó un DCA con 5 tratamientos, la unidad experimental estuvo constituida por 10 abejas (UE). Los cinco tratamientos; fueron los fertilizantes foliares Evergreen (T1); Energy Track (T2); insecticida Imidalaq SC (T3); el fungicida Oxhitane (T4) y el tratamiento testigo (sacarosa líquida) (T5). De acuerdo a los resultados obtenidos se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos durante las 36 primeras horas de exposición. El menor consumo de alimento fue cuando se alimentó a las abejas con Energy-Track ($\bar{X}$=0.25 g), Imidalaq ($\bar{X}$=0.29 g) y Oxithane ($\bar{X}$=0.44 g), al comparar con el tratamiento testigo (Sacarosa) ($\bar{X}$=0.56 g). Con excepción del tratamiento testigo (T5= 4 abejas), a las 36 horas de evaluación se presentó la mayor mortalidad entre los tratamientos (T1= 8 abejas; T2= 19 abejas; T3=9 abejas; T4= 20 abejas). El mayor porcentaje de mortalidad de abejas se obtuvo al ser expuestas al insecticida Imidalaq (T4) y el fertilizante foliar Energy Track (T2) con medias de mortalidad del 50% y 47.5% respectivamente. El insecticida Imidalaq obtuvo el valor de TL_{50} más bajo (33,60 horas). La presente investigación se realizó con la finalidad de generar información para los agricultores y apicultores de la zona sobre los efectos que estos productos tienen en las abejas de la región y sus consecuencias sobre la reducción de sus poblaciones.
Descripción:	
URL:	

INTRODUCCIÓN

La polinización es el insumo agrícola que más contribuye a los rendimientos mundiales, por encima de otras prácticas de gestión agrícola. Varios cultivos que dependen de la polinización representan una fuente de ingresos importante para los agricultores, en particular los pequeños agricultores y las explotaciones agropecuarias familiares, sobre todo de países en desarrollo (1).

En Ecuador, las principales fuentes de néctar y polen que recogen las abejas son de especies florales de eucalipto, trébol blanco, trébol rojo, cultivos melíferos, diente de león, vegetación de quebradas y aguacate. Entre los tipos de flora melífera se encuentran frutos como: mango, limón, naranja, cacao, banano, achotillo, café, guaba, capulí y manzana (2).

El rol que cumplen las abejas en la agricultura es ampliamente reconocido. La situación de esta especie es preocupante, debido a los altos índices de mortalidad registrados, producto del uso extensivo de agroquímicos en los cultivos que buscan potenciar el rendimiento de la producción (3). Las abejas no solo hacen miel, realizan algo esencial para la diversidad de las plantas en el mundo: la polinización, su preservación y la de su hábitat nos beneficia a todos (4).

La mayor parte de los estudios sugiere que la mortalidad de las abejas se debe a la exposición directa o indirecta que tienen con insecticidas; sin embargo, estudios recientes indican que estos productos agroquímicos no son los únicos que pueden ocasionar efectos nocivos en las abejas (41).

Los productos agrícolas como insecticidas tienen la capacidad de causar efectos letales y subletales en abejas nativas como *Friesella schrottkyi*, *Partamona helleri* y *Apis mellifera*. En el caso de *A. mellifera* muy poco se conoce sobre los efectos que pueden ocasionar especialmente los fungicidas y fertilizantes foliares a base de cobre en la fisiología y comportamiento de esta especie (33). Por este motivo con el presente estudio se pretende generar información que muestre los efectos letales de estos productos en uno de los principales insectos polinizadores de los cultivos agrícolas.

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema.

La Sociedad Latinoamericana de Investigación en Abejas, reportó que la reducción de poblaciones de abejas melífera en el Ecuador es de 12,6%.

La reducción de las abejas está directamente relacionada con el uso intensivo de productos agroquímicos tales como: herbicidas, insecticidas y fungicidas, los cuales pueden causar afectaciones en el desarrollo, movilidad, navegación y orientación, comportamiento alimentario, capacidad de aprendizaje, alteración del patrón de pecoreo, entre otros.

Los efectos letales y subletales de insecticidas de los grupos de los neonicotinoides, organofosforados y piretorides (imidacloprid, tiametoxam, clotianidina, clorpirifos,), son considerados altamente tóxicos para las abejas, sin embargo, productos agrícolas como fertilizantes foliares han sido poco explorados, y su utilización dentro de los agro ecosistemas ha sido ignorado.

El uso de fertilizantes foliares es perjudicial para especies de abejas nativas siendo los responsables de alteraciones en su comportamiento y mortalidad, sin embargo, en abejas melíferas se conoce muy poco sobre los efectos letales de los fertilizantes foliares por lo que este tema necesita ser estudiado.

1.1.1 *Diagnóstico.*

La población de polinizadores en la agricultura es extensa en cuanto especies, siendo la abeja melífera (*Apis mellifera*) predominante en esta clasificación, sin embargo, la contaminación ambiental, la extensión de zonas urbanas y el uso excesivo de agroquímicos para el manejo convencional de la agricultura moderna, han provocado la reducción poblacional de la abeja melífera y otras especies nativas.

1.1.2 *Pronóstico.*

Los agricultores utilizan insumos agrícolas constantemente, sin embargo, su aplicación puede repercutir directamente sobre las poblaciones de insectos benéficos tales como las

abejas melíferas. El efecto negativo de los insumos agrícolas sobre las abejas puede causar un desequilibrio en los agroecosistemas.

1.1.3 *Formulación del Problema.*

¿Cuáles son los efectos letales de los insumos agrícolas en abejas melíferas (*Apis mellifera*)?

1.1.4 *Sistematización del Problema.*

¿Cuál es la cantidad de alimento consumido por abejas melíferas previamente tratado con insumos agrícolas?

¿Cuál es el porcentaje de mortalidad de abejas melíferas expuestas a alimento previamente tratado con insumos agrícolas?

¿Cuál es el tiempo letal medio (TL_{50}) de abejas melíferas expuestas a alimento tratado con insumos agrícolas?

1.2 Justificación

Las abejas melíferas cumplen una función preponderante en el equilibrio de los ecosistemas, ya que son las principales polinizadoras de las plantas, tanto silvestres como cultivadas, su labor de polinización es insustituible, contribuyendo así a la seguridad alimentaria mundial.

Las plantas y los polinizadores tienen una relación mutuamente beneficiosa y simbiótica, necesitándose así los unos a los otros para sobrevivir, la desaparición de las abejas melíferas como polinizadoras representaría un desastre en términos agronómicos, biológicos, medioambientales y económicos.

Las abejas se encuentran entre las especies de insectos benéficos más importantes en los sistemas de producción agrícola debido a que realizan el proceso de polinización en los cultivos. La importancia de las abejas según la Organización de las Naciones Unidas radica en que, del 90% del alimento producido en el mundo por lo menos el 71% lo polinizan las abejas.

Preservar la abeja melífera, es proteger un servicio ecológico fundamental para el bienestar humano, debido a su principal labor de polinización; por lo tanto, este proyecto de investigación permitirá evaluar los efectos letales de los insumos agrícolas más utilizados en la región sobre las abejas melíferas (*Apis mellifera*) con la finalidad de generar información para los agricultores y apicultores de la zona sobre los efectos que estos productos puedan tener en las abejas y sus consecuencias sobre la reducción de sus poblaciones.

1.3 Objetivos

1.3.1 *Objetivo General.*

Evaluar los efectos letales de insumos agrícolas en abejas melíferas (*Apis mellifera*).

1.3.2 *Objetivos Específicos.*

- Determinar la cantidad de alimento consumido por abejas melíferas previamente tratado con insumos agrícolas.

- Determinar el porcentaje de mortalidad de abejas melíferas expuestas a alimento tratado con insumos agrícolas.

- Identificar el tiempo letal medio (TL_{50}) de abejas melíferas expuestas a alimento tratado con insumos agrícolas.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Marco Referencial

2.1.1 *Abeja (Apis mellifera).*

Las abejas, son insectos que participan en el proceso de polinización en cultivos agrícolas y silvestres, por lo que poseen una gran importancia económica y ecológica en los agroecosistemas; de hecho, una gran parte de los alimentos que hoy en día se consumen y comercializan masivamente, dependen directa o indirectamente de la polinización realizada por abejas; así por ejemplo, se estima que en los Estados Unidos las abejas son responsables de casi 3 billones de dólares en frutas y vegetales producidas cada año (5).

Los primeros registros de la domesticación de *Apis mellifera* se remontan a 3000 A.C. en el antiguo Egipto y desde entonces, la relación con el ser humano se ha mantenido y mejorado a través de diferentes civilizaciones (6) y (7).

Las abejas melíferas más ampliamente usadas son las razas europeas de *Apis mellifera*, una especie de abeja que se encuentra también en África y el Medio Oriente. Las melíferas no son originarias de América, Australia, Nueva Zelanda ni de las islas del Pacífico, pero durante los últimos siglos han introducidos razas europeas en todas estas Regiones (8).

Las abejas melíferas ingresaron América al Alto Perú, por Chile a la provincia de Mendoza. En Uruguay se introdujo a la *Apis mellifera* mellifera o alemana y *Apis mellifera* caucásica. En 1956 en Brasil, el Dr. Warwick Kerr, reconocido genetista, introdujo varias razas de abejas africanas, que en menos de 30 años se recombinaron con las razas existentes en casi todo el continente, produciendo un cambio considerable en las características de las abejas y en el manejo de los apicultores (9).

En los Estados Unidos se estima que el valor de la polinización por *A. mellifera* es alrededor de USD 20 billones (10) y (7). En determinadas regiones de Asia oriental y Europa, el valor de la polinización puede alcanzar los 1.500 dólares por hectárea (1.170,50 euros) (11). Sin embargo, recientemente diversos autores han mostrado que las abejas silvestres son los principales polinizadores de plantas silvestres y cultivadas (12) (13) y (7).

2.1.2 *Clasificación Taxonómica.*

La clasificación taxonómica de las abejas melíferas según (14), sigue a continuación:

Reino : Animalia

División : Arthropoda

Clase : Insecta

Orden : Hymenoptera

Familia : Apidae

Género : *Apis*

Especie : *A. mellifera*

2.1.3 *Anatomía y Fisiología de las Abejas.*

A. melífera es una especie polimorfa que vive formando colonias compuestas por la reina (hembra fértil, hay una en cada colmena), obreras (hembras estériles) y zánganos (machos fecundos) (15).

Su anatomía está compuesta por:

- **Cabeza:** En ella se encuentran los ojos (simples y compuestos) las antenas y el aparato bucal. En el interior de la cabeza se encuentran las glándulas hipofaríngeas, productoras de jalea real, las glándulas mandibulares, glándulas salivales y otras estructuras además del cerebro (16).

- **Ojos:** Tienen tres ojos simples (ocelos) en la parte superior y dos compuestos, llamados así porque están formados por muchos ojos simples conocidos como omatidios (17).

Los ojos simples situados en la parte alta de la cabeza, usados para una visión cercana y rudimentaria dentro de la colmena y para estimular los ojos compuestos, sirven para captar la intensidad, longitud de onda y la duración de la acción de la luz. Los ojos compuestos

son laterales curvos, con pelos, cada uno conformado por los omatidios: 3.000 a 9.000 facetas yuxtapuestas (especie de conos alargados cuyo ángulo de abertura mide un grado) (18).

La cantidad de omatidios en la reina es de 3.000 a 4.000, en las obreras de 4.000 a 5.000 y en los zánganos de 7.000 a 9.000. Estos elementos le permiten una visión lejana, fuera de la colmena, captar la polarización de la luz, y así orientarse respecto al sol cuando vuelan (18).

- **Antenas:** En el centro de la cabeza, entre los ojos, se encuentran las antenas, que constan de un escapo basal y un flagelo, que está subdividido en once artejos en las obreras y las reinas y doce en los zánganos. Están cubiertas por abundantes pelos sensoriales y albergan el sentido del olfato. En cada subdivisión del flagelo existen múltiples órganos sensoriales, olfatorios y de tacto (19).

- **Tórax:** Es la parte media del cuerpo, similar a una caja semirrígida donde se insertan los dos pares de alas y los tres pares de patas. También se encuentran los primeros tres pares de espiráculos (aparato respiratorio) (16).

- **Patas:** Las abejas tienen 3 pares de patas. Las patas anteriores son cortas, en la parte media presentan una cavidad que forma un peine, el segundo par de patas son más largas y llevan cerdas con las cuales desprenden el polen de los cestillos, en el tercer par de patas hay una cavidad llamada cestillo y una línea de pelillos que forman la espátula. Con la espátula la abeja se limpia el cuerpo lleno de polen y luego lo deposita en los cestillos (17).

Las patas de la reina y de los zánganos no tienen cestillos y espátulas. La abeja tiene dos pares de alas, son del mismo tamaño en la reina y las obreras, en los zánganos más anchas (17).

- **Alas:** Las alas son membranosas y están surcadas por nervaduras. En la parte posterior del ala anterior y en la parte anterior del ala posterior se encuentra un mecanismo que permite la unión de ambas con el fin de aumentar su superficie para perfeccionar el vuelo (16).

- **Abdomen:** El abdomen se compone de 9 segmentos, el primero de los cuales se encuentra sobre el tórax y recibe el nombre de propodeo; solo son visibles 6 segmentos, pues los otros sufrieron transformaciones al servir de apoyo e inserción del aguijón y de los órganos genitales (zángano). En el zángano se encuentran 7 segmentos (20) y (21).

- **Glándulas:** En la cabeza existen las glándulas salivales que se encuentra en la cabeza (cefálicas) y otro en el tórax (torácicas), aunque también desemboca en la boca. Segregan saliva que se mezcla con el néctar o la miel que está siendo absorbida hacia el interior de la probóscide, aunque también es adecuada para solubilizar alimentos sólidos como el azúcar e incluso para el ablandamiento de la cera, también es posible encontrar glándulas productoras de jalea real, estas glándulas son tanto hipofaríngeas como mandibulares (22).

La jalea real se formará cuando las obreras disponen de polen, agua, miel y unas condiciones determinadas de temperatura en la colmena. Con este fluido alimentarán a la reina, las larvas y los zánganos (22).

- **Aparato defensivo:** Consta de tres partes que son: 1) la vesícula; que es un saco blanquecino receptáculo del veneno, que se encuentra alojado en el interior del abdomen 2) glándulas, que son las que producen el veneno y 3) aguijón, que es la modificación del octavo y noveno terguito. El aguijón está formado de dos partes; la vaina y el estilete. El zángano no posee aguijón, por lo que es incapaz de picar; lo mismo pasa con la reina puesto que el aguijón posee curvatura que favorece y facilita la puesta de los huevos (23).

2.1.4 *Generalidades de la Biología de las Abejas.*

Las abejas son insectos sociales con un alto grado de especialización y organización. El conjunto de abejas que descienden de una misma abeja reina se denomina colonia. Su estructura social se compone de grupos de abejas con distintas funciones, denominados “castas”. Existen tres castas de abejas: abeja reina, abeja obrera y zánganos. La abeja reina y las obreras son las hembras y proceden de huevos fecundados y por lo tanto son individuos diploides (2n). En cambio, los zánganos son los machos y proceden de huevos sin fecundar, por lo que son haploides (n) (24).

a) Abeja reina: Es la madre de toda la población es la única con capacidad de reproducirse. También regula y controla muchas conductas sociales (desarrollo de ovarios en las obreras, cohesión de la colmena, la recolección de alimento, el cuidado de la cría y la construcción de panales (25).

Una reina se forma en una celda en posición vertical, a diferencia de las obreras que están horizontales, la alimentación de la larva que será reina es jalea real a partir que es larva hasta que muera, las larvas que son obreras se alimentarán con una pasta de miel y polen. Está probado que una colmena con reina joven produce de 15 a 30 % más miel que una colmena con una reina mayor a un año (25).

Mantiene unidas a las abejas de la colonia, mediante la secreción constante de una sustancia llamada feromona. Cuando la reina envejece disminuye la postura y también las secreciones de su feromona que motiva a las abejas a prepararse para sustituirla (23).

b) Abeja obrera: Las obreras son hembras más pequeñas que la reina y sus aparatos reproductores se encuentran atrofiados (no son funcionales), sólo en algunos casos de orfandad, las obreras ponen huevos (que no están fecundados) de los que saldrán zánganos de tamaño más pequeño que los puestos por la reina (22).

c) Zánganos: Los zánganos son los machos de la colmena; se desarrollan en celdas más grandes que las obreras y proceden de huevos sin fecundar. Nacen a los 24 días de la puesta, la celda operculada es fácilmente reconocible ya que es más abultada que la de una obrera (22).

La función del zángano es básicamente fecundar a la abeja reina mediante varios vuelos nupciales en los que la reina inicia un vuelo en vertical y es alcanzada sólo por los zánganos más vigorosos. En el interior de la colmena sus funciones son más discutidas, aunque se considera que ayudan a mantener el calor de la colmena y a repartir el néctar (24).

Tabla 1. Características morfológicas de las castas de *Apis mellifera*.

Característica	Reina	Obrera	Zángano
Longitud del cuerpo	18-20 mm	12-13 mm	15 mm
Peso	250 mg	100 mg	230 mg
Número de facetas en ojos	5.000	6.000	13.000
Longitud de la proboscis	Muy corta	57 mm	Corta
Duración del desarrollo	16	21	24
Aguijón	Presente	Presente	Ausente

(15).

2.1.5 *Digestión de las Abejas.*

El aparato digestivo de las abejas está compuesto por la faringe, esófago, buche melario, proventrículo, ventrículo, tubos de Malphigi, intestino medio, recto y ano (17).

El estómago es donde se aprovechan todas las substancias alimenticias que la abeja come. Las sunstancias de desecho salen finalmente por el intestino delgado y grueso al exterior (17). El nectar que ingiere la abeja queda guardado en el buche mielario, (40mm^3 de capacidad), para su traslado a la colmena. La abeja puede derivar una porcion de nectar a su aparato digestivo para consumirla (18).

2.1.6 *Nutrición de las Abejas.*

Las abejas al igual que la mayoría de los seres vivos pluricelulares no son formadores, si no transformadores de energía y materia, por lo tanto, necesitan, al igual que la mayoría de los individuos, ingerir alimentos con todos los nutrientes necesarios para el mantenimiento de las funciones vitales del organismo (21).

Las abejas, necesitan de proteínas, carbohidratos, minerales, grasas, vitaminas y agua, para el desempeño de sus funciones vitales, obtenidos de la recolección de néctar, polen y agua. Es muy difícil establecer cuáles son las necesidades nutritivas de las colonias de abejas. Los alimentos requeridos por las abejas y las necesidades de nutrientes cambian con las

fases de desarrollo en que se encuentran, inclusive pueden variar con las estaciones del año (26), sin embargo, de forma general las abejas requieren de los siguientes elementos:

a) Hidratos de carbono (azúcares): Las moléculas de los hidratos de carbono están compuestos por hidrógenos, oxígeno y carbono. Son azucares, pero también los componen las harinas y los almidones. Las abejas encuentran hidratos de carbono en la miel (80%) y en el polen (40%) (21). Los carbohidratos una importante aportación a la dieta de la colmena, siendo necesarios tanto para las abejas adultas como por las larvas para su normal crecimiento y desarrollo (27) y (28).

b) Proteínas: Son los que contribuyen a la estructura de los tejidos, siendo la principal fuente el polen. Las proteínas que están presentes en la miel son principalmente constitutivas de enzimas tales como la invertasa, amilasa, glucoxidasa, fosfatasa y catalasa. Para las abejas, el constituyente más importante del polen es la proteína. No todo el polen tiene igual valor nutricional, variando el contenido de proteínas entre 10 y 36 % (29).

c) Lípidos (grasas): Los lípidos son importantes como moléculas nutritivas de reserva y energía ya que contribuye junto con el azúcar a aumentar la energía que este producto suministra (30) y (31). Entre los lípidos, los que deben mencionarse en primer lugar son los ácidos grados esenciales (AGE). Los ácidos tales como; linoleico y linoleico también los fosfolípidos y los fitoesteroles, especialmente el P-sitosterol (31).

d) Agua y minerales: El agua es colectada principalmente para el enfriamiento del interior de la colonia en los días cálidos y para la dilución de la miel en la alimentación de las larvas. Los minerales mayores permiten mantener la presión osmótica, asegura neutralidad eléctrica, permite el equilibrio entre ácidos y bases, funciones en relación a la permeabilidad celular y transmisión de impulsos (29).

2.1.7 *Productos de la Colmena Secretados por las Abejas.*

a) Miel: La miel es definida como una sustancia dulce, no fermentada, producida por las abejas que recogen y procesan el néctar de las flores o de las secreciones de ciertas especies de plantas. Las abejas, transforman y combinan esta sustancia con otras específicas propias que finalmente almacenan y maduran en panales. Los beneficios de la

miel se conocen desde hace miles de años y ha sido utilizada en la antigüedad por su valor nutritivo y medicinal (32).

b) Jalea real: La jalea real es el producto de las glándulas hipofaríngeas de las abejas obreras jóvenes, de color blanco marfil, consistencia cremosa/gelatinosa, olor penetrante y sabor ácido. Este producto de la colmena es reconocido tradicionalmente por su actividad regeneradora. Su uso como estimulante del metabolismo ha sido concebido en terapias antienvejecimiento; sin embargo, esta actividad no está demostrada científicamente (33).

c) Cera de abejas: Es el producto de las glándulas ceríparas de las abejas, de color blanquecino cuando es recién secretada y se torna amarilla con el tiempo. Las ceras más viejas son más oscuras. Su consistencia plástica y su bajo punto de fusión, hace posible que sea moldeada en panales por las abejas. La cera de abejas es un producto muy versátil. El hombre la ha utilizado en actividades tan diversas como la orfebrería y la cosmetología, por sus propiedades galénicas como vehículo en supositorios, cápsulas y pomadas (33).

d) Pan de abejas: El pan de abejas es polen almacenado parcialmente fermentado que las obreras mezclan con sus propias enzimas digestivas (34) y que almacenan en las celdillas agregando una capa de miel como única fuente de carbono (35). Esto, al quedar sellado y en los panales adyacentes a la cámara de cría 35°C a 360Q, sufre una serie de transformaciones, debido a la acción de diferentes enzimas, como esterasas, lipasas, proteasas, aminopeptidasas y fosfatasas que hacen al pan de abejas más digerible (36) y (37).

2.1.8 *Función de las Abejas en los Agroecosistemas.*

La polinización entendida como la transferencia de polen desde la parte masculina de una flor hasta la parte femenina de la misma u otra flor, es un proceso esencial para el mantenimiento de la viabilidad y la diversidad genética de las plantas con flor, además de mejorar la calidad y cantidad de semillas y frutos, así como de las características de la descendencia (38).

De las 352.000 plantas con flores estimadas en el planeta, el 85% son polinizadas por animales; 78% de las especies en zonas estacionales y 94% en zonas tropicales (39). Las

abejas son los insectos polinizadores más importantes de los agroecosistemas. La mayoría de las cerca de 20.000 especies de abejas (Hymenoptera: Apidae) son polinizadores, de las cuales se obtiene al menos el 30% de los alimentos consumidos por humanos (39).

2.1.9 *Efecto de los Insumos Agrícolas Sobre las Abejas.*

La situación actual de las abejas es preocupante; la densidad poblacional ha disminuido drásticamente por el uso extensivo de pesticidas y agroquímicos en monocultivos tecnificados que buscan potenciar el rendimiento de la producción (40) (3) y (41).

La agricultura depende de diversos insumos químicos sintéticos que van desde fertilizantes inorgánicos hasta plaguicidas tóxicos diseñados para atacar a las plagas de insectos y hongos, así como para controlar las plantas adventicias. Si bien algunos de estos tratamientos químicos se realizan cuando las abejas están pecoreando, esto puede exponerlas directamente a las mezclas de plaguicidas (42). La evolución de las prácticas agrícolas tiene grandes consecuencias sobre las poblaciones de abejas e insectos polinizadores silvestres (43).

En Estados Unidos, el número de colonias se ha reducido en un 45%, de tal modo que, se estimó un descenso de 42 millones a 24 millones de colmenas de abejas en el transcurso de 60 años (44) y (41).

Uno de los cambios que repercute en el colapso de las colonias de abejas es el reemplazo de especies leguminosas ricas en la producción de néctar y polen por fertilizantes sintéticos (45). El Consejo Civil Mexicano para la Silvicultura Sostenible (46), publicó que el uso de fertilizantes, plaguicidas y herbicidas altamente tóxicos ha propiciado la muerte de miles de colmenas de abejas en México.

Los agrotóxicos no solo son causantes de la mortalidad de las abejas también están relacionados con efectos subletales donde la abeja no muere, pero se altera su nutrición, su sistema de comunicación, su comportamiento, la termorregulación y la memoria. De este modo la colmena se debilita y disminuye su resistencia a agentes patógenos y parásitos (47).

2.1.10 *Insecticidas que Afectan las Abejas Apis mellifera.*

El uso de insecticidas en los cultivos (en particular los neonicotinoides de amplio uso, organofosforados y carbamantos) afectan directamente (envenenamiento) o indirectamente (contaminación de recursos alimentarios: polen y néctar) a los polinizadores nativos, principalmente abejas, pues numerosos estudios recientes han demostrado una alta correlación entre el síndrome del colapso de colonias, con el uso de insecticidas neonicotenoides en cultivos polinizados por abejas melíferas (5).

La Comisión Europea en varios países prohibió el uso de tres insecticidas neonicotinoides (clotianidina, tiametoxam e imidacloprid), frecuentes en la siembra del girasol, la colza, el algodón y el maíz, una vez que se evidenció que la exposición crónica de abejas a esos pesticidas en concentraciones aproximadas a nivel de campo, impide su comportamiento forrajero natural e incrementa la mortalidad de obreras, conduciendo a una reducción significativa en el desarrollo de cría y éxito de la colonia (48).

La utilización de piretroides como el esfenvalerato, lambda cihalotrin, permetrina y fluvalinato están relacionados con la pérdida de movimiento y coordinación de las abejas, ocasionando parálisis y convulsiones (49).

2.1.11 *Herbicidas que Afectan las Abejas Apis mellifera.*

Los herbicidas tienen un efecto perjudicial indirecto para los polinizadores, al limitar la presencia de flores y, por tanto, de recursos tróficos (50). La aplicación de estos insumos agrícola como estrategia en el manejo de arvenses en los cultivos agrícolas afecta de forma selectiva a la abundancia de distintas plantas y modifica la comunidad vegetal lo que posiblemente afecte a la disponibilidad de polen y néctar para los polinizadores (51).

En condiciones controladas han sido demostrados los efectos negativos del glifosato sobre las abejas, inclusive llegando a causar su muerte (52). Entre los efectos directos que el glifosato puede tener en otras especies de insectos benéficos están que pueden ocasionar mutaciones en la descendencia y se asocia a pérdida de peso en *Chrysoperla* externa (53).

2.1.12 *Fungicidas que Afectan las Abejas Apis mellifera.*

Los fungicidas pueden ser letales y / o subletales para las abejas (54) y (55), enfatizaron que los fungicidas solos no se consideran altamente tóxicos para *A. mellifera* (Hymenoptera, Apidae), también hicieron énfasis en que cuando este grupo de pesticidas se combina con otros grupos, la toxicidad de los componentes aumenta, causando más daño a las abejas. Las abejas que se alimentan de polen contaminado con fungicida (grupo prístino-piractrostrobina + boscalid) presentan efectos subletales de desnutrición, mayor cantidad de virus y mayor susceptibilidad a los patógenos (56) y (57).

2.1.13 *Fertilizantes que Afectan las Abejas Apis mellifera.*

Los fertilizantes foliares tienen en su formulación ciertas cantidades de metales pesados como zinc (Zn), cobre (Cu) y manganeso (Mn), que son esenciales para el desarrollo de las plantas (58), pero que solos o mezclados pueden ser letales o proporcionar efectos subletales a los insectos. Sin embargo, su toxicidad para los insectos depende de varios factores como la dosis, la ruta de exposición, las especies químicas, así como la edad y el sexo y genética de individuos expuestos (59) (60) y (61).

Los fertilizantes pueden contener además del cobre (Cu), zinc (Zn) y manganeso (Mn), otros metales pesados como: hierro (Fe), cobalto (Co), selenio (Se). Su aplicación repetida puede causar acumulación en las plantas y en las abejas que recogen el polen y el néctar de plantas contaminadas. El aprovechamiento de estos productos por las abejas es altamente perjudicial para su salud y en muchos casos puede tener efectos letales (61).

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Química y Bioquímica ubicada en el Campus experimental "La María" perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en el Km 7.5 vía Quevedo - El Empalme, situada en el cantón Mocache de la Provincia de los Ríos, cuyas coordenadas geográficas son las siguientes: 1°02´24´´ de latitud Sur y 26°26´70´´ de longitud Oeste, altitud 75 msnm.

Tabla 2. Características climáticas de la zona de estudio.

Parámetros	Características
Temperatura	24.9 °C
Precipitación media anual	2295.1. mm
Heliofanía media anual	870.2 horas
Humedad relativa	84%

Fuente: INAMHI. Serie Multianual Estación Meteorológica Pichilingue 1990 - 2019.

3.2. Tipo de Investigación.

La investigación fue de tipo experimental, para ello se realizaron bioensayos de mortalidad e ingestión oral de insumos agrícolas, a nivel de laboratorio, para determinar el efecto letal en la abeja melífera (*Apis mellifera*).

3.3. Método de Investigación.

Se utilizó el método deductivo al utilizar investigaciones realizadas anteriormente en donde se relatan algunos efectos negativos de los insumos agrícolas en abejas nativas y melíferas, además se utilizó el método inductivo que permitió establecer las variables para cumplir con los objetivos estimados en la presente investigación.

3.4. Fuente de Recopilación de Información.

La recopilación de la información se realizó a través de la observación directa (fuentes primarias) y de información extraída de artículos científicos, libros, boletines divulgativos, censos, etc. (fuentes secundarias).

3.5. Tratamientos en Estudio.

Se estudiaron 5 tratamientos:

Tabla 3. Tratamientos y dosis.

	Tratamientos	Dosis
T_1	Evergreen (Fertilizante foliar)	50 uL + Sacarosa líquida 10 ml
T_2	EnergyTrack Cobre (Fertilizante foliar)	125 uL + Sacarosa líquida 10 ml
T_3	Imidalaq SC (Insecticida - Imidacloprid)	20 uL + Sacarosa líquida 10 ml
T_4	Oxhitane (Fungicida - Mancozeb + Oxicloruro de Cobre	0.1 g + Scarosa líquida 10 ml
T_5	Sacarosa líquida (Testigo)	(50 ml de agua destilada; 50 g de azúcar)

3.5.1. *Descripción de los Tratamientos.*

- **Tratamiento 1:** Constituido por la aplicación de 50 uL del fertilizante foliar Evergreen (Ácido fólico 1 ppb, ácido pantoténico 12 ppb, ácidos húmicos 3.76 %, auxinas 40 ppm, boro (B) 0.0024 %, citoquininas 90 ppm, cobre (Cu) 0.0013 %, colina 750 ppb, fósforo P_2O_5 7 %, giberelinas 40 ppm, hierro (Fe) 0.05 %, magnesio (MgO) 0.036 %, manganeso (Mn) 0.018 %, molibdeno (Mo) 0.0003 %, niacina 90 ppb, nicotanimida 2 ppb, nitrógeno total 7 %, potasio (K_2O) 7 %, rivoflavina 1.5 ppb, tiamina 150 ppb, zinc 0.0009 %; EXCELAG CORP - Estados Unidos, Jordacycorp Cia. Ltda, Distribuido por Agripac, Guayaquil-Ecuador); disuelto con 10 ml de sacarosa líquida (agua + azúcar).

- **Tratamiento 2:** Este tratamiento consistió en la aplicación de 125 uL del fertilizante inorgánico Energy Track (8% Cu) con propiedades fungicidas y bactericidas (Ácidos fúlvicos 0,5 %; aminoácidos 2 %; Sulfato de cobre pentahidratado 8%; Campo Track, Guayaquil - Ecuador); disuelto con 10 ml de sacarosa líquida.

- **Tratamiento 3:** Consistió en la utilización de 20 uL del insecticida Imidalaq SC; Imidacloprid 350G/L (100ml, 500ml, 1l, 250ml); Fabricante Ningbo Sunjoy Agroscience co., LTD; Formulador China, Sinochem Ningbo LTD., FAB/FORM - China; Distribuido por Agripac, Guayaquil-Ecuador) disuelto con 10 ml de sacarosa líquida.

- **Tratamiento 4:** Este tratamiento consistió en la aplicación de 0.1 g del fungicida Oxhitane; Polvo mojable que contiene 500 g de Mancozeb + 190 g de Oxicloruro de Cobre + 50 g de Complejo Férrico por kg de producto comercial; Distribuido por FARMAGRO; disuelto con 10 ml de sacarosa líquida.

- **Tratamiento 5 (Testigo):** Consistió en la utilización de sacarosa líquida, preparada a partir de la disolución de 50 ml de agua destilada mezclada con 50 g de azucar.

3.6. Diseño del Experimento

Para los bioensayos en laboratorio la presente investigación empleó el diseño experimental completamente al azar (DCA) con 5 tratamientos en 4 repeticiones, la unidad experimental (UE) estuvo constituida por 10 abejas. Todas las variables se sometieron al análisis de varianza para establecer la significancia estadística y a la prueba de Tukey con un 95% de probabilidad, para la comparación de medias entre los tratamientos.

Tabla 4. Esquema del análisis de varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	
Tratamientos	(t-1)	4
Error experimental	t (r-1)	15
Total	tr-1	19

3.6.1 Manejo del Experimento.

a) Identificación de colmenas de abejas (*Apis mellifera*).

Fueron seleccionadas cuatro colonias de abejas pertenecientes a la Finca Experimental "La María" propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

b) Colecta de abejas.

Las abejas fueron colectadas durante su periodo de forrajeo (10:00 am - 12:00 m) utilizando sacarosa como atrayente; posteriormente se las colocó dentro de recipientes de plástico de 250 ml para trasladarlas al laboratorio. Los recipientes tenían pequeños orificios en la tapa para que las abejas puedan respirar.

c) Acondicionamiento de las abejas.

Las abejas permanecieron sin alimento en el laboratorio de Química y Bioquímica de la UTEQ por un periodo de 2 horas bajo condiciones controladas de temperatura (25.3 °C) y humedad relativa (75%).

d) Preparación de soluciones para alimentar las abejas.

Para preparar las soluciones se verificó la dosis comercial de cada uno de los insumos agrícolas: Evergreen (1l/ha); EnergyTrack Cobre (2.5l/ha); Imidalaq SC (0.4 l/ha); Oxhitane (2 kg/ha) y se disolvió en 10 ml de sacarosa líquida.

e) Alimentación y tratamiento de las abejas.

Posterior a las 2 h en que las abejas permanecieron sin alimentación, se realizaron los bioensayos a partir de la ingestión oral de las soluciones preparadas. Las abejas fueron alimentadas con 2 ml de las diferentes soluciones, el alimento fue colocado en tubos de eppendorf los cuales fueron introducido a través de una perforación realizada en el envase plástico en el que se encontraban las abejas.

3.7. Datos Tomados y Formas de Evaluación.

a) Cantidad de Alimento Consumido (g)

El consumo promedio de alimento por cada abeja obrera se determinó pesando los tubos eppendorf que contenían el alimento tratado en una balanza analítica al inicio y al final de cada evaluación con una frecuencia de 6, 12, 18, 24 y 36 horas. Se realizó recambio de alimento con los diferentes tratamientos al concluir cada periodo de evaluación. Adicionalmente, un tubo de eppendorf con sacarosa fue mantenido sin abejas para determinar las pérdidas de alimento a causa de la evaporación. Fueron evaluadas cuatro repeticiones (10 abejas/repetición) por cada tratamiento.

4.1.1 Mortalidad de Abejas (*A. mellifera*) (N°)

Las abejas fueron sometidas por un periodo de 120 horas de exposición al alimento tratado y fueron identificadas como muertas al no poder mantenerse en posición dorsal con sus tres pares de patas sobre la superficie del envase plástico. La mortalidad de las abejas fue verificada utilizando la punta de un pincel con el que se movía cuidadosamente cada insecto que mostraba señales de mortalidad. Las evaluaciones se realizaron cada seis horas hasta alcanzar ciento veinte horas posteriores al inicio del bioensayo. Fueron evaluadas cuarenta abejas por cada tratamiento.

4.1.2. Porcentaje de Mortalidad de abejas (*A. mellifera*) (%)

Los valores obtenidos de la cantidad de abejas muertas, las cuales estuvieron expuestas por un periodo de 120 horas a alimento tratado con insumos agrícolas fueron transformados a

porcentajes. Entre las horas de evaluación de la mortalidad (6 a 120 horas) se seleccionó el periodo de tiempo con el mayor porcentaje de mortalidad de las abejas *A. mellifera* (36 horas) para realizar los respectivos análisis. Fueron evaluadas cuarenta abejas por cada tratamiento.

b) Tiempo Letal Medio (TL_{50}) (h)

Utilizando el registro de datos de insectos vivos (0) y muertos (1) tomados de la variable de mortalidad, se estimó el tiempo letal medio (TL_{50}) de cada tratamiento. La mortalidad fue registrada cada seis horas de exposición hasta alcanzar las ciento veinte horas de exposición. Fueron evaluadas cuarenta abejas por cada tratamiento.

4.2. Tratamientos de los Datos

Las variables de consumo de alimento y porcentaje de mortalidad de abejas *A. mellifera* obtenido a las 36 horas posteriores a la exposición a los tratamientos, fueron evaluados utilizando la metodología descrita en la sección 3.6: Diseño experimental. Para identificar el periodo de tiempo con mayor mortalidad de individuos durante la ejecución del biosensayo, se realizó un análisis descriptivo a través de un gráfico de curvas. La variable de tiempo letal medio se la estableció a partir de los estimadores de Kaplan-Meier y la comparación de los tratamientos utilizando el método de Holm–Sidak ($P<0.05$).

Los resultados obtenidos en cada variable estudiada se los realizó utilizando el programa estadístico Infostat (versión universitaria 2019) y herramientas estadísticas del programa de R Studio (versión 3.6.1) y Microsoft Excel 2016.

4.3. Recursos Humanos y Materiales.

4.3.2. Recursos Humanos.

- Tutora del Proyecto de Investigación.
- Estudiante responsable del Proyecto de Investigación.

4.3.3. Material Genético.

- Abejas obreras meliferas (*Apis mellifera*).

4.3.4. Materiales, Herramientas y Equipos.

- Agua destilada
- Azúcar
- Papel aluminio
- Fertilizante foliar Evergreen
- Fertilizante foliar Energytrack cobre
- Insecticida Imidalaq SC
- Fungicida Oxithane
- Cajas petri
- Vasos de precipitado
- Pipeta graduada
- Micropipetas
- Puntas para micropipetas
- Barilla agitadora
- Balanza analítica
- Tubos eppendorf
- Cautin
- Bandejas de plástico
- Envases plásticos (250 ml)
- Alcohol
- Fundas
- Guantes
- Lámpara
- Toallas de papel
- Higrómetro-termómetro
- Pincel

4.3.5. Materiales de Oficina.

- Lapicero
- Regla
- Tijeras
- Marcadores
- Cinta
- Laptop
- Celular

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.2 Resultados

4.2.1 *Consumo de Alimento de Abejas (A. mellifera).*

De acuerdo al análisis de varianza y utilizando la prueba de Tukey (P<0.05), fue posible evidenciar que existen diferencias significativas entre los tratamientos durante las 36 primeras horas de exposición. Las abejas alimentadas con insumos agrícolas consumieron menor cantidad de alimento comparadas con el tratamiento testigo (Sacarosa) ($\bar{X}$=0.56 g). El menor consumo de alimento en que las abejas fueron alimentadas se observó con el fertilizante foliar Energy-Track ($\bar{X}$=0.24 g) y el tratamiento con el insecticida (Imidalaq) ($\bar{X}$=0.29 g). En la Figura 1, se muestran los resultados obtenidos de consumo de alimento.

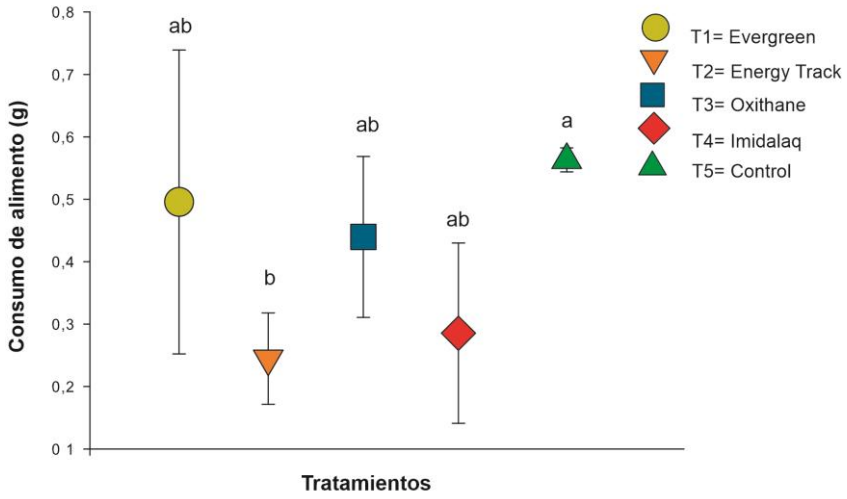


Figura 1. Alimento consumido por adultos de *A. mellifera* expuestas a diferentes insumos agrícolas durante periodo de 36 horas. Diferentes letras sobre los cuerpos geométricos indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey (P<0.05).

4.2.2 *Mortalidad de Abejas (A. mellifera).*

Durante el ensayo de mortalidad se contabilizó el número de abejas muertas por cada periodo de tiempo de evaluación y tratamiento. De esta manera, fue posible identificar el comportamiento de la mortalidad de las abejas con respecto al tiempo de evaluación. De acuerdo al análisis descriptivo realizado fue posible observar que con excepción del

tratamiento testigo (Sacarosa) (T5= 4 abejas), a las 36 horas de evaluación se presentó la mayor mortalidad entre los tratamientos (T1= 8 abejas; T2= 19 abejas; T3=9 abejas; T4= 20 abejas) (Figura 2).

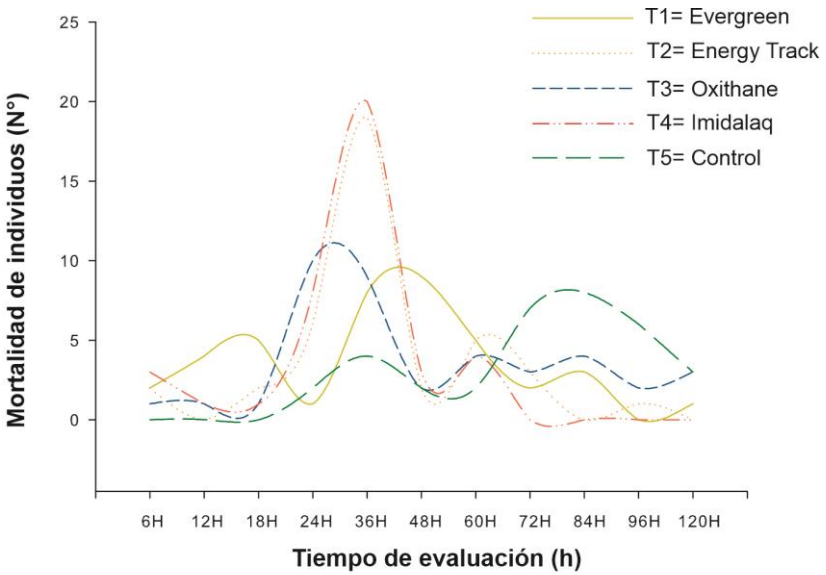


Figura 2. Comportamiento de mortalidad de abejas (*A. mellifera*) expuestas a diferentes insumos agrícolas durante periodo de 120 horas.

4.2.3 *Porcentaje de Mortalidad de Abejas* (*A. mellifera*)

Al cabo de 120 horas de evaluación únicamente en el tratamiento testigo fue posible identificar seis individuos vivos, para los tratamientos en los que se utilizó los insumos agrícolas todos los individuos en estudio murieron por lo que, para verificar el porcentaje de mortalidad entre los tratamientos se consideró el valor obtenido a las 36 horas (periodo de tiempo en donde mayor mortalidad se presentó).

Considerando los resultados obtenidos de la prueba de Tukey, se encontró diferencias significativas en el porcentaje de mortalidad entre los tratamientos. El mayor porcentaje de mortalidad fue para el tratamiento 4 (Imidalaq) y el tratamiento 2 (Energy Track) con medias de mortalidad del 50% y 47.5% respectivamente. El tratamiento 3, en el que se utilizó el fungicida Oxithane obtuvo 22,5% de mortalidad mientras que, para el tratamiento 1 (Evergreen) la mortalidad media fue de 20% y el tratamiento testigo 10% de mortalidad (Figura 3).

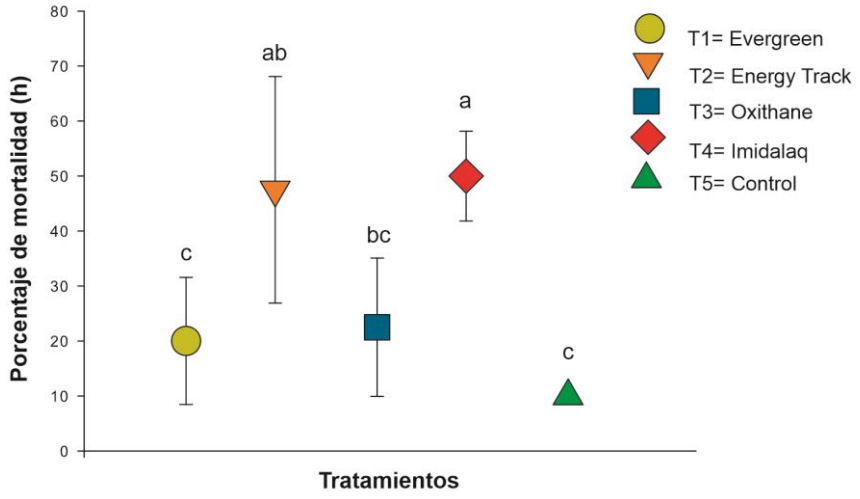


Figura 3. Porcentaje de mortalidad de adultos de *A. mellifera* expuestas a diferentes insumos agrícolas durante periodo de 36 horas. Diferentes letras sobre los cuerpos geométricos indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey ($P<0.05$).

4.2.4 *Tiempo Letal Medio (TL_{50}) de Abejas (A. mellifera).*

El análisis realizado durante las 120 horas de evaluación permitió reconocer que el tratamiento testigo obtuvo el valor de TL_{50} más alto comparado con los demás tratamientos (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de tiempo letal medio (TL_{50}) de abejas expuestas a insumos agroquímicos.

Tratamientos	TL_{50} (h)	Error St.	Limite inf.	Limite sup.
T1= Evergreen	42,75	3,98	34,93	50,56
T2= Energy Track	39,60	2,94	33,85	45,36
T3= Oxithane	51,00	4,96	41,29	60,71
T4= Imidalaq SC	33,60	2,16	29,37	37,83
T5= Testigo	80,70	4,66	71,58	89,83

De acuerdo a los resultados obtenidos a partir de la prueba de Holm- Sidak, fue posible identificar diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.05). El tiempo de supervivencia de las abejas varía con cada tratamiento. En la Figura 4 se puede identificar el tratamiento que en menor tiempo puede causar la mortalidad del 50% de los individuos y corresponde al tratamiento 4 en el que se utilizó el insecticida Imidalaq, seguido por el tratamiento 2, (Energy Track), tratamiento 1 (Evergreen), y tratamiento 3 (Oxithane).

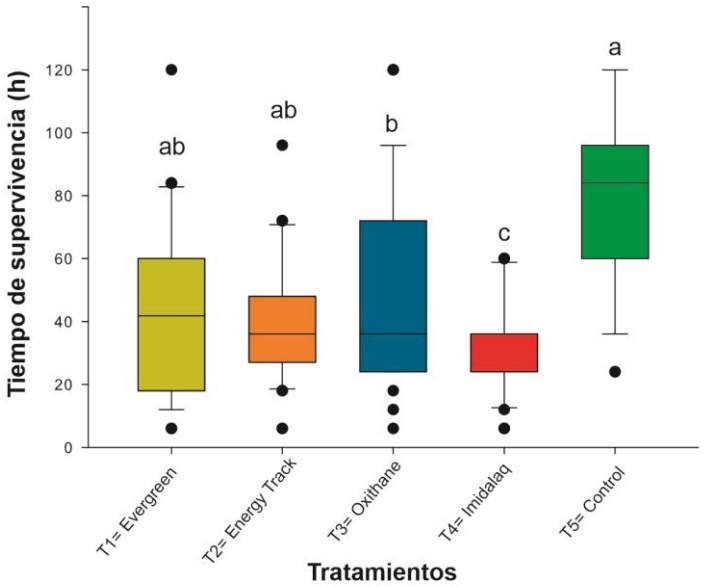


Figura 4. Tiempo letal medio (TL_{50}) de adultos de *A. mellifera* expuestas a diferentes insumos agrícolas durante periodo de 120 horas. Diferentes letras sobre los cuerpos geométricos indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de Holm- Sidak (P<0.05).

4.3 Discusión

En la presente investigación fue posible evidenciar los efectos letales de cuatro insumos agrícolas (Evergreen, Energy Track, Oxithane e Imidalaq) sobre las abejas melíferas (*A. melliferas*), especie de mayor distribución en el mundo. Los insumos agricolas mencionados ocasionaron la mortalidad de las abejas en cuestion de horas y sus efectos adversos son bien conocidos, especialmente en los insecticidas del grupo de los neonicotinoides. De acuerdo a la investigación de Montero en abejas *A. melliferas* el uso de pesticidas puede producir la muerte en dependencia de protocolos de utilización del químico y factores climatológicos, la efectividad puede darse de manera inmediata o después de horas de aplicación en dependencia a la respuesta de la especie (28). Rodrigues menciona que los efectos sobre abejas *A. melliferas* sometidas a un proceso de aplicación de pesticidas provoca de manera inmediata dificultades para volar y navegar, reducción de la sensibilidad gustativa hasta producir su muerte, pero pueden existir químicos con una mayor toxicidad que provoquen una muerte rápida (61).

Los insumos agricolas utilizados demostraron tener en su composición compuestos con impactos negativos sobre las abejas meliferas obreras. De acuerdo a estudios realizados por Martin y Arenas las abejas melíferas exhiben hipersensibilidad a la mayoría de pesticidas que actualmente existen en el mercado, presentándose en la especie alteraciones fisiológicas a nivel del sistema nervioso y ciclo reproductivo, lo que conllevan a alteraciones negativas sobre los cultivos (41). Otro estudio presentado por Brown y Paxton ratifica lo indicado, los insumos agrícolas con productos químicos tóxicos en los cultivos conllevan a un proceso de polinización bajo por las abejas melíferas que a su vez producen un ciclo reproductivo bajo (62).

En la presente investigación se utilizó el insecticida Imidalaq (Imidacloprid) el cual mostró los efectos negativos más evidentes sobre el porcentaje de mortalidad y tiempo letal medio (TL_{50}). Imidacloprid es un insecticida que altera las funciones neurofisiológicas de los artrópodos, con probada eficacia en el control de insectos chupadores, por ingestión y por contacto. El Imidacloprid, Acetamiprid, Thiametoxan y otros insecticidas neonicotinoides reducen la capacidad de orientarse y alimentarse adecuadamente, reducen la polinización de los cultivos y disminuye el rendimiento de las colonias (48) y (61). Considerando lo antes expuesto, el modo de acción de Imidalaq está relacionado con los resultados

obtenidos; en este estudio se confirmó el efecto negativo que tienen sobre las abejas *A. mellifera*.

El mayor porcentaje de mortalidad de abejas meliferas se evidenció con la aplicación del insecticida Imidalaq que contiene imidacloprid en su composición. Un estudio realizado por Delkash para determinar los efectos letales y subletales de imidacloprid, etion y glifosato en abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) evidenció un impacto negativo en el aprendizaje y el movimiento aversivo de las abejas a partir de los 20 minutos de exposición aguda a imidacloprid con una dosis de (0,2 y 0,4 mgL^{-1}), las abejas presentaron una alteración de movilidad determinando que partir de ese tiempo la mortalidad de las abejas melíferas dependia de la dosis de este insecticida, los resultados de esta investigación sugieren que la exposición a corto plazo a imidacloprid afecta negativamente a las abejas melíferas (63)

Adicionalmente, en la investigación se utlizaron los fertilizantes foliares Evergreen y Energy Track los cuales contienen una serie de compuestos. Entre los compuestos reconocidos como dañinos para las abejas encontramos metales pesados como el cobre que estuvo presente en la formulación de Evergreen y Energy Track en 0.0013% y 8% respectivamente, lo cual podría estar relacionado directamente en los resultados obtenidos de consumo de alimento, porcentaje de mortalidad y tiempo letal medio (TL_{50}). En una investigación Rodrigues menciona que el sulfato de cobre que se encuentra en los fertilizantes foliares compromete la supervivencia de las abejas obreras sin aguijón (*Friesella schrottkyi*), particularmente con la exposición oral. La exposición subletal de fertilizantes foliares también causa efectos significativos sobre las abejas obreras, las abejas expuestas de forma oral a la mezcla de fertilizantes foliares con sulfato de cobre exhiben una tasa de respiración reducida. Por lo tanto, los fertilizantes foliares con sulfato de cobre afectan a las abejas comprometiendo potencialmente su actividad de polinización, lo que merece atención (61).

Uno de las tratamientos que causo la mortalidad de las abejas en menor tiempo fue el fertilizante foliar Energy track cobre. Los metales pesados como el Cobre actúan como cofactores de varias enzimas, pero son tóxicos en concentraciones muy altas, lo que lleva a relaciones dosis-respuesta bifásicas (64), (65), (66), (67) y (68) lo cual podría estar

relacionado directamente con los resultados obtenidos; sin embargo, estudios adicionales son requeridos.

El menor consumo de alimento por parte de las abejas se presentó en los tratamientos donde se utilizó el fertilizante foliar Energy-Track e Imidalaq, a diferencia del tratamiento testigo (Sacarosa) la cual tuvo una mayor aceptación de consumo por las abejas melíferas. Con estos resultados, podemos inferir que posiblemente las abejas redujeron el consumo de alimento debido a su capacidad de detección de toxinas en los insumos agrícolas o por los efectos adversos que estos ocasionan en su fisiología. De acuerdo a un estudio presentado por la Universidad de Newcastle (Reino Unido) respecto a la habilidad para la detección de toxinas por las abejas melíferas, se ha podido conocer que la especie *A. mellifera* es capaz de detectar alimentación tóxica, además evitan las flores cuyo néctar las indispone tras su ingestión; este mismo estudio ha podido determinar que la abeja detecta lo tóxico mediante el gusto o bien lo aprenden tras haberlo ingerido, el problema radica en, que, las abejas podrían alimentarse de néctar tóxico al no tener mucho más donde elegir (69).

Aunque el consumo de alimento del fungicida Oxithane fue mayor, el porcentaje de mortalidad fue menor y el tiempo letal medio (TL_{50}) fue mayor en comparación con los insumos agrícolas Energy Track e Imidalaq, se identificaron efectos negativos sobre las abejas. Oxithane es un producto que tiene en su composición 500 g de Mancozeb + 190 g de Oxicloruro de Cobre + 50 g. Como fue mencionado anteriormente, los metales pesados como el cobre tienen efectos negativos sobre las abejas, posiblemente este compuesto esté relacionado directamente con los resultados en esta investigación.

Evidentemente con el estudio realizado fue posible confirmar que no solo los insecticidas ocasionan efectos negativos sobre las abejas, sino que algunos fertilizantes foliares y fungicidas también pueden tener repercusión directa sobre estas por lo que estudios adicionales son necesarios. El correcto uso o manejo de los insumos agrícolas y su conocimiento sobre los efectos que ocasionan en las abejas y otros organismos benéficos es de vital importancia para mantener el equilibrio de los agroecosistemas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El consumo de alimento más bajo de las abejas corresponde al tratamiento en el que se utilizó fertilizante foliar Energy-Track (T2) $\bar{X}$=0.25 g y el insecticida Imidalaq (T4) $\bar{X}$=0.29 g.

- El mayor porcentaje de mortalidad de abejas se presentó a las 36 horas posteriores a la aplicación de los tratamientos.

- El más alto porcentaje de mortalidad de abejas corresponde al tratamiento (T4) Imidalaq 50% y al tratamiento (T2) Energy Track 47.5%.

- El tiempo letal medio (TL_{50}) de las abejas expuestas a insumos agrícolas difiere entre tratamientos, el insecticida Imidalaq registró el menor tiempo de (TL_{50}) 33.60 horas.

5.2 Recomendaciones

- Evitar el uso de insecticidas tales como Imidalaq (Imidacloprid), fertilizantes foliares y fungicidas con altos porcentajes de metales pesados en su composición.

- Considerar los efectos dañinos que causan los insumos agrícolas al medio ambiente, a la economía de los apicultores y a los agricultores que requieren de la polinización de las abejas para la producción de alimentos.

- Fomentar el uso de una agricultura orgánica y sostenible, teniendo en cuenta el grave daño que los insumos agrícolas causan en la población de abejas melíferas.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía

1. FAO. Comité de Agricultura: Celebración del Día Mundial de las Abejas. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2016; http://www.fao.org/3/mr243s/mr243s.pdf.
2. Granda R. Análisis del potencial de la actividad apícola como desarrollado socioeconómico en sectores rurales. Universidad San Francisco de Quito. 2017; http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/7106/1/135301.pdf.
3. Kovács A, Espindola A, Vanbergen A, Setterle J, Kremen C, Dicks L. Ecological intensification to mitigate impacts of conventional intensive land use on pollinators and pollination. In: Ecology Letters. 2017; vol. 20 no. 5 p. 673-689. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ele.12762.
4. BAYER. Héroes polinizadores: la importancia de las abejas para los cultivos. 2021; https://www.conosur.bayer.com/es/heroes-polinizadores-la-importancia-de-las-abejas-para-los-cultivos.
5. FAO. Principios sobre polinización como servicio ambiental para la Agricultura Sostenible en Países de Latinoámerica y el Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2014; http://www.fao.org/3/a-i3547s.pdf.
6. Crane E. History of honey. In CRANE E (ed) Honey, a comprehensive survey. London: William Heinemann. 1975; p. 439-488.
7. Montoya P, Leon D, Chamorro F, Nates G. *Apis mellifera* como polinizador de cultivos en Colombia. Iniciativa Colombiana de Polinizadores: Abejas ICPA. Universidad Nacional de Colombia. 2016; p. 95-110.
8. Bradbear N. La apicultura y los medios de vida sostenibles. Direccion de Sistemas de Apoyo a la Agricultura. Organizacion de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentacion (FAO). 2005; p. 70.
9. Rodríguez F. Apicultura Para Pequeños Emprendedores. Manual teorico-practico para el manejo comercial de la abeja. Colecciòn Bioemprendimientos Rentables. 2011; p. 253.
10. Calderone N. Insect pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: Trend analysis of aggregate data for the period. 2012; p. 1992–2009. PLoS ONE5.

11. Tirado R, Simon G, Johnston P. El declive de las abejas. Peligros para los polinizadores y la agricultura de Europa. Greenpeace. Nota técnica de los laboratorios de Greenpeace. 2013; https://archivo-es.greenpeace.org/espana/Global/espana/report/Agricultura-ecologica/el_declive_de_las_abejas.pdf.
12. Kremen C. Managing ecosystem services: what do we need to know about their ecology?. Ecology letters. 2005; 8(5). p. 468-479.
13. Ollerton J, V P, Armbruster W, Memmott J, Waser N, Totland O, et al. Overplaying the role of honey bees as pollinators: A com-ment on Aebi and Neumann. Trends in Ecology and Evolution. 2011; No. of Pages 2.
14. O. Bánki, Y. Roskov, L. Vandepitte, R. E. DeWalt, D. Remsen, P. Schalk, T. Orrell, M. Keping, & J. Miller. The Integrated Taxonomic Information System. Catalogue of Life Checklist. 2021 Jul 26.
15. Padilla F, Cuesta A. Zoologia aplicada. Ediciones Díaz de Santos. 2003 ; p. 488.
16. Rodríguez G, Silva M. Implementacion, mejoramiento y desarrollo en la produccion y comercializacion de miel de abeja en la Parroquia de Puellaro, Provincia de Pichincha. Universidad Central del Ecuador. 2012.
17. Rodríguez F. Cria Rentable de Abejas Reinas Y Produccion de Jalea Real. Manual teorico practico para su produccion y comercializacion. Ed.Continente. 2007.
18. Mendizabal E. Abejas. Ed. Albatros. 2005; p. 255.
19. Matricardi L. Efecto de la alimentacion con yogurt sobre el conteo de quistes de Malphigamoeba melificae y esporas Nosema apis en la abeja *Apis mellifera*. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2014; http://www.repositorio.usac.edu.gt/1894/1/Tesis%20Med%20Vet%20Luci%20Matricardi.pd
20. Persano L. Apicultura Practica. AGT. Editor. S.A. no. 202- colonia Escandon. 2002.
21. Gonzales R. Nutricion de las abejas. Apicultura sin Fronteras N 67. Periodico Apicola de Distribucion Mundial. 2012.
22. Quero A. Las abejas y la apicultura. Universidad de Oviedo. 2004; http://www.mieldemalaga.com/data/Las_abejas_y_la_apicultura.pdf.
23. Suasnavar M, De Leon G, Guzman M. Manual de apicultura. Asociacion de

Cooperacion al Desarrollo Integral de Huehuetenango (ACODIHUE). 2015; https://coba.com.gt/wp-content/uploads/2015/07/MANUAL-BASICO-DE APICULTURA-I.pdf.

24. Rubiano M, Sanchez J, Goyache J, Kukielka D. Análisis virológico y epidemiológico del síndrome de despoblamiento de las colmenas en España: estudio de causas y consecuencias. Universidad Complutense de Madrid. Tesis Doctoral. 2016; https://eprints.ucm.es/38831/1/T37638.pdf.
25. Magaña A, Lanz P, Pacheco O, Velazquez C, Navarro A. Autoproduccion de abejas reina. Colegiode Post Graduados. 2017; https://www.researchgate.net/publication/320434322_Autorpoduccion_de_abejas_reina.
26. Vaquero J, Vargas P. Guia tecnica de nutricion apicola. Proyecto Apícola Swisscontact FOMIN-BID. 2010; http://www.osiap.org.mx/senasica/sites/default/files/nutricion%20apicola.pdf.
27. APITEN. Las proteínas y los carbohidratos en la alimentación de las abejas. Asociación de Apicultores de Tenerife. 2009; www.apiten.com/tag/polen/..
28. Montero A, Martos A, Chura J. Dietas artificiales en la crianza de la abeja melífera, *Apis mellifera*. 2012; 73 (1). p. 1- 5.
29. Palacio M. Alimentacion Natural. Curso de actualizacion en sanidad apicola. 2009; Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. p. 63.
30. Orzaes M, Marquina A, Bravo R, Blazquez G. The importance of bee-collected pollen in the diet: a study of its composition. International Journal of FoodSciences and Nutrition.2002; 53. p. 217–224.
31. Mungsan N, Molina J. Origen y divesidad de polen apicola. Universidad Complutense de Madrid. 2018; http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/NOOSIN%20MUNGSAN.pdf.
32. Schencke C, Vásquez B, Sandoval C, del Sol M. El Rol de la Miel en los Procesos Morfofisiológicos de Reparación de Heridas. Int. J. Morphol. 2016; vol.34 no.1. https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022016000100056.
33. Vit P. Productos de la colmena secretados por las abejas: Cera de abejas, jalea real y veneno de abejas. 2005; INHRR v.36 n.1.

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772005000100006.

34. Nagai T, Nagashima T, Myoda T, Inoue R. Preparation and functional properties of extracts from bee bread. 2004; Nahrung/Food 48 (3): 226-229.
35. Audisio C, Terzolo R, Apella C. Bacteriocin from honeybee beebread Enterococcus avium, active. Applied and Environmental Microbiology. 2004; 71 (6): 3373-3375.
36. Dustmann J. Fresh pollen offers best therapeutic and nutritional benefits. 2007; In: 5th German Apitherapy Congress. Passau, Germany, p. 2.
37. Araneda X, Velásquez C, Morales D, Martínez I. Producción de pan de abejas (*Apis mellifera* L.) bajo condiciones de laboratorio. 2014; Idesia vol.32 no.4. https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292014000400008.
38. García M, Ríos L, Álvarez J. La polinización en los sistemas de producción agrícola: revisión sistemática de la literatura. 2016; Idesia vol.34 no.3. https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292016000300008.
39. Parram G. Iniciativa Colombiana de Polinizadores: abejas (ICPA). Universidad Nacional de Colombia. 2016; https://www.uneditorial.com/pageflip/acceso-abierto/pdf/abejas-polinizadoras-ebook-40217.pdf.
40. Goulson D, Nicholls E, Botias C, Rotheray E. Bee declines driven by combined stress fromparasites, pesticides, and lack of flowers. 2015; In: Science vol. 347 no 6229. 6229 p. https://science.sciencemag.org/content/347/6229/1255957.
41. Martin N, Arenas N. Daño colateral en abejas por la exposición a pesticidas de uso agrícola. 2018; Entramado. vol. 14, no. 1, p. 232-240. http://dx.doi.org/10.18041/entramado.2018v14n1.27113.
42. GREENPEACE. La pesada carga de las abejas. Analisis de residuos de plaguicidas en el polen de panal y en el polen capturado a abejas meliferas en doce Paises Europeos. GREENPEACE. Laboratorio de investigacion de Greenpeace. Informe tecnico 2014; http://ibdigital.uib.es/greenstone/collect/cd2/index/assoc/gp0130.dir/gp0130.pdf.
43. Vallat B. Proteger a las abejas, preservar nuestro futuro. Organizacion Mundial de Sanidad Animal. 2014; Boletin Nº 2. https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Publications_&_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull_2014-2-ESP.pdf.

44. Johnson R, Ellis M, Mullin C, Frazier M. Review article pesticides and honey bee toxicity – USA. 2010; In: Apidologie. vol. 41. no. 3. p. 312–331. https://link.springer.com/article/10.1051%2Fapido%2F2010018.

45. RALLT. Transgenicos, plaguicidas y el declive de la polinizacion y la produccion Melifera. Red por una America Libre de Transgenicos (RALLT). 2016; http://www.rallt.org/PUBLICACIONES/abejas_web.pdf.

46. Consejo Civil Mexicano para la Silvicultura Sostenible. Para evitar la extinción de las abejas, urge cambiar el paradigma de producción agrícola paradigma de producción agrícola. Consejo Civil Mexicano para la Silvicultura Sostenible (CCMSS). 2018; https://www.ccmss.org.mx/para-evitar-la-extincion-de-las-abejas-urge-cambiar-el-paradigma-de-produccion-agricola/.

47. Coppa R, Huerta G. Pesticidas vs Abejas. Estación Experimental Agroforestal Esquel (Chubut). 2011; https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_agricultura20_apicola_pesticidas.pdf.

48. Henry M, Béguin M, Requier F, Rollin O, Odoux J, Aupinel P, et al. Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees. 2012; Science: p. 348-350. DOI: 10.1126/science.1215039.

49. Ingram E, Augustin J, Marion E, Siegfrieg B. Evaluating sub-lethal effects of orchard-applied pyrethroids using video-tracking software to quantify honey bee behaviors. Chemosphere. 2015; vol 135: p. 272-277.

50. Miñarro M, García D, Martínez R. Los insectos polinizadores en la agricultura: importancia y gestión de su biodiversidad. Ecosistemas. 2018; 27 (2): p. 81-90.

51. Miñarro M. Weed communities in apple orchards under organic and conventional fertilization and tree-row management. Crop Protection. 2012; vol.39: p. 89-96.

52. Ruiz J, Sánchez D. 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 Zool. 2014; vol.30 no.2. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372014000200014.

53. Scheider M. Impact of glyphosate on the development, fertility and demography of Chrysoperla externa (Neuroptera: Chrysopidae): ecological approach. In: Chemosphere. 2009; vol. 76. no. 10. p. 1451–1455.

https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2012.06.

54. Riedl H, Johansen E, Brewer L, Barbour J. How to reduce bee poisoning from pesticides. Oregon Sta-te University; University of Idaho; Washington State University, Corvallis, OR, USA. 2006.

55. Johnson R, DahlGren L, Siegfried D, Ellis M. Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (*Apis mellifera*). 2013; PloS One no. 8. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054092.

56. Degrandi-Hoffman G, Chen EDM, Cham-bers L, Hidalgo G. Effects of oral exposure to fungicides on honey bee nutrition and virus levels. J. Econ. Entomol. 2015; vol. 251 no. 6, p. 1-11. https://doi.org/10.1093/jee/tov251.

57. Silva C, Chaves A, Gomes F, Neves J, Campos A, Calil F, et al. Interaction between biological and chemistry fungicides and tomato pollinators. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 2018; vol. 12 - No. 2 - p. 425-43. https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias_horticolas/article/view/7690/7105.

58. Singh R, Neetu G, Anurag M, Rajiv G. Heavy metals and living systems: An overview'. Indian Journal of Pharmacology. 2011; vol. 43: p. 246-53.

59. Tchounwou P, Clement Y, Anita P, Dwayne S. Heavy Metals Toxicity and the Environment. 2012; EXS, vol. 101: p. 133-64.

60. Søvik E, Clint P, LaMora A, Barron A, Ben-Shahar Y. Negative impact of manganese on honeybee foraging. 2015; Biology Letters, vol. 11.

61. Rodrigues C, Kruger A, Barbosa W, Guedes R. Leaf Fertilizers Affect Survival and Behavior of the Neotropical Stingless Bee *Friesella schrottkyi* (Meliponini: Apidae: Hymenoptera). Journal of Economic Entomology, 2016; vol. 109, no. 3. https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/11823/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

62. Brown M, Paxton R. The conservation of bees: a global perspective. In:Apidologie. 2009; vol. 40, no. 3.

63. Delkash S. Assessment of lethal and sublethal effects of imidacloprid, ethion, and glyphosate on aversive conditioning, motility, and lifespan in honey bees (*Apis mellifera* L.). Ecotoxicology and Environmental Safety. 2020; 204.

64. Calabrese E. J. Hormesis: why it is important to toxicology and toxicologists. Chem. 2008; p. 1451–1474.

65. Cutler G. C. Insects, insecticides and hormesis: Evidence and considerations for study. 2013 Nov; p. 154–177.
66. Guedes R. N. C, Cutler G. C. Insecticide-induced hormesis and arthropod pest management. 2014; (70): p. 690–697.
67. Linder M. C, Hazegh-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. Am. J. Clin. Nutr. 2013; p. 797–811.
68. Cox W. D. Disorders of copper transport. Br. Med. Bu. 1999; (55): p. 544–555.
69. Europea C. Las abejas melíferas aprenden a evitar el néctar con toxinas. [Online]. 2010; [cited 2022 abril 23]. Available from: https://cordis.europa.eu/article/id/32901-how-honeybees-avoid-toxins-in-flower-nectar/es.

CAPÍTULO VII
ANEXOS

7.1 Anexos

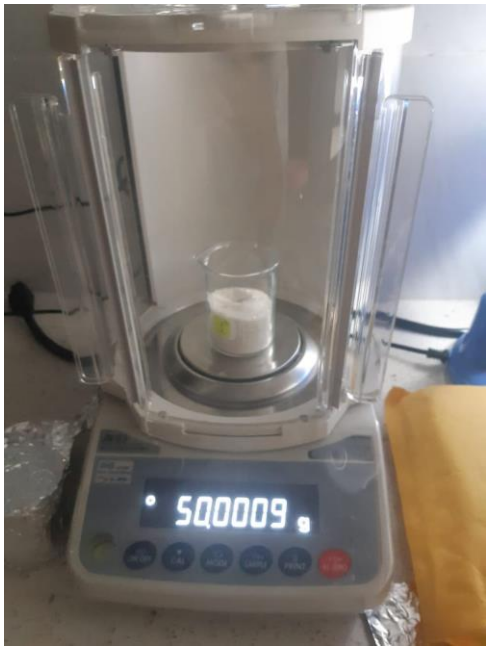
Anexo 1. Análisis de varianza del consumo de alimento de abejas a las 36 horas de evaluación.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,30	4	0,07	3,63	0,0292
Tratamiento	0,30	4	0,07	3,63	0,0292
Error	0,31	15	0,02		
Total	0,60	19			

Anexo 2. Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de abejas a las 36 horas de evaluación.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5050,00	4	1262,50	8,06	0,0011
Tratamiento	5050,00	4	1262,50	8,06	0,0011
Error	2350,00	15	156,67		
Total	7400,00	19			

Anexo 3. Preparación de sacarosa líquida, peso de azúcar en balanza analítica.

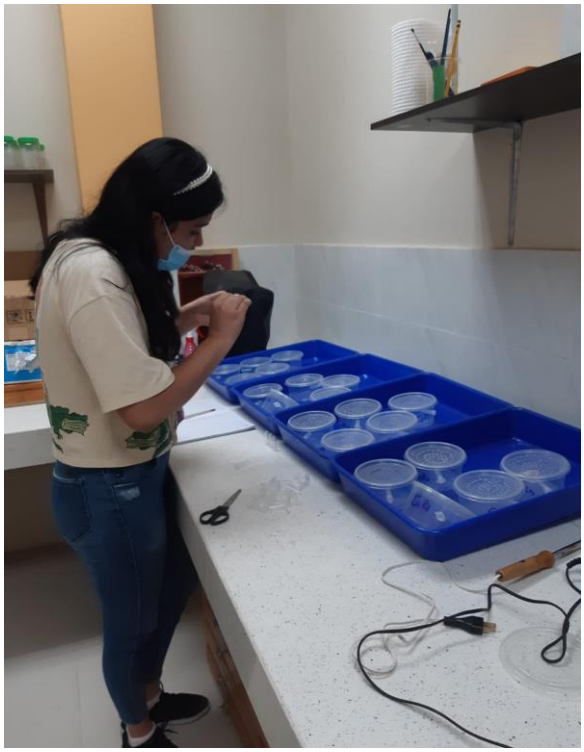


Anexo 4. Preparación de sacarosa líquida, medición de agua destilada.

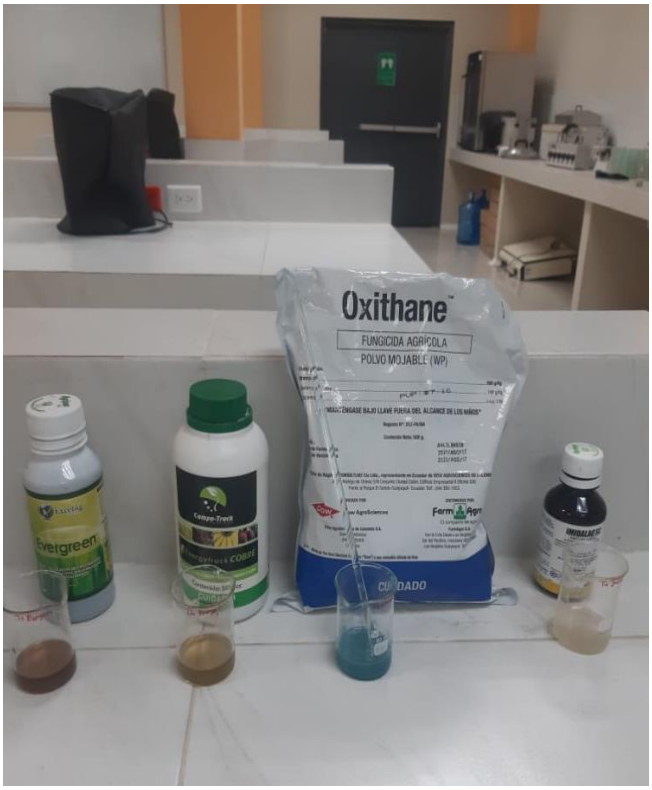
Anexo 5. Alimentación de abejas en campo utilizando sacarosa como atrayente.

Anexo 6. Colecta de abejas melíferas (*A. mellifera*) en colmenas.

Anexo 7. Acondicionamiento de las abejas melíferas en el laboratorio.



Anexo 8. Preparación de soluciones para alimentar las abejas.



Anexo 9. Alimentación de las abejas con las soluciones preparadas.

Anexo 10. Revisión de la mortalidad de las abejas en cada tratamiento.