



## **GOTAS DE VENENO PARA LAS ABEJAS**

### **Análisis de los insecticidas neonicotinoides presentes en el agua de gutación de las plantas de maíz**

Informe técnico nº 05/2013 elaborado por los laboratorios de investigación de Greenpeace, cuya versión inglesa fue redactada por Gergely Simon, Christiane Huxdorff, David Santillo & Paul Johnston.  
Publicado por Greenpeace España en diciembre de 2013. [info.es@greenpeace.org](mailto:info.es@greenpeace.org)

#### **RESUMEN**

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, en sus siglas en inglés) ha analizado los plaguicidas neonicotinoides (tiametoxam, imidacloprid y clotianidina) para evaluar los posibles riesgos que estos insecticidas sistémicos presentan para las abejas. Este análisis ha contribuido a avalar la decisión de la Comisión Europea de prohibir estas tres sustancias activas en algunas aplicaciones específicas durante un periodo de dos años. En particular, estos análisis han identificado errores y carencias en la información disponible, lo que ha impedido la realización de una evaluación de riesgos integral y exhaustiva. Una de las ambigüedades fundamentales identificadas por la EFSA está relacionada con el papel que desempeña el agua de gutación que exudan las plantas para cultivo comercial como posible fuente de exposición a sustancias químicas para las abejas, cuando la utilizan para abastecerse de agua a ellas mismas o al conjunto de la colonia.

Se ha comprobado que la utilización de insecticidas neonicotinoides en el tratamiento de semillas, y en forma de gránulos aplicados al suelo, hace que estas sustancias químicas estén presentes en el agua de gutación de varias plantas cultivadas. Aunque no existe mucha literatura científica sobre este tema, la investigación realizada hasta la fecha demuestra que los neonicotinoides pueden llegar a estar presentes en concentraciones altas.

Para investigar este fenómeno con más profundidad, Greenpeace ha elaborado un estudio sobre el agua de gutación generada por las plantas de maíz cultivadas en condiciones de campo en Hungría. Según el agricultor, estas plantas se habían tratado con dos productos comerciales para el tratamiento de semillas. En uno de los campos se plantaron semillas tratadas con Poncho®, cuya sustancia activa principal es la clotianidina. Y en otro campo se plantaron semillas tratadas con Cruiser®, cuya sustancia activa principal es el tiametoxam. Se obtuvieron muestras del agua de gutación en cada uno de los campos durante un conjunto de días y se analizaron utilizando las técnicas HPLC-MS/MS.

Los resultados de los análisis revelaron concentraciones importantes de neonicotinoides en el agua de gutación. En efecto, se hallaron hasta 11.709 µg/l de clotianidina en el agua de gutación de las semillas tratadas con Poncho®, mientras que se encontraron 55.260 µg/l de

tiametoxam en agua de gutación de las semillas tratadas con Cruiser®. Además, las plantas tratadas con Cruiser® exudaron 9.651 µg/l de clotianidina, probablemente como producto de degradación de la sustancia activa principal utilizada en las semillas.

Los valores elevados de neonicotinoides en el agua de gutación presentados en este informe son similares o superiores a las concentraciones de la sustancia activarecomendada en las fórmulas comerciales de insecticidas para aplicación foliar. Es importante señalar que, incluso después de un periodo de crecimiento de un mes, las plantas todavía exudaban concentraciones de plaguicida capaces de producir la cantidad de toxicidad de LD50 (o superior) oral aguda para las abejas en un único viaje de pecoreo en busca de agua<sup>1</sup>. Este dato se calculó tomando como referencia la misma metodología utilizada por la EFSA en sus evaluaciones y utilizando los datos disponibles, muy limitados, sobre el volumen de agua que recolectan las abejas durante su actividad de pecoreo.

Estos resultados y su posible significado toxicológico para las abejas, tanto a nivel individual como para toda la colonia en general, no solamente indican que la restricción de los tres neonicotinoides está completamente justificada, sino que debería mantenerse, al menos hasta que se defina la importancia que puede tener el agua de gutación como fuente de abastecimiento para las abejas y hasta que se resuelvan las ambigüedades y la falta de información identificada por la EFSA. El alcance y la escala de este estudio, que se ha tenido que realizar a pequeña escala por necesidad, tiene que ser ampliado para dar cabida al espectro completo de cultivos cuyas semillas están tratadas con neonicotinoides. Por otro lado, el impacto de la gutación como vía de exposición toxicológica para las abejas debería investigarse en una variedad más amplia de cultivos, teniendo en cuenta las condiciones en las que estos cultivos se desarrollan en Europa, con el objetivo de ampliar la fuerte limitación de información disponible en la actualidad.

---

<sup>1</sup> La LD50 (dosis letal media) oral aguda es una dosis estadística derivada (en este caso) de la sustancia activa de un plaguicida que puede causar la muerte al 50% de las abejas en un periodo máximo de 96 horas después de que se administre una única dosis oral.

## INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas sistémicos pueden definirse como plaguicidas que, al aplicarse en las plantas o en los animales, se transportan desde la zona en la que se aplicaron originalmente hasta alcanzar tejidos que no han sido tratados. Es posible, por ejemplo, utilizar plaguicidas sistémicos para controlar infestaciones parasitarias externas e internas en animales. En el caso de las plantas, el plaguicida aplicado puede tener una actividad herbicida y puede estar diseñado para matar a la planta, o puede estar dirigido a plagas de hongos o insectos que afecten a la planta (Ministerio de Agricultura, British Columbia, Canadá, 2013).

Un tipo específico de insecticidas sistémicos que se utilizan en las plantas son los **neonicotinoides**. Este tipo de insecticidas sistémicos ha sido objeto de una considerable atención debido a sus posibles efectos en los polinizadores, especialmente en las abejas de miel. Gran parte de la investigación sobre este tema se ha centrado en la abeja occidental o europea (*Apis mellifera*), ya que los investigadores han intentado resolver la compleja interacción de los diversos factores que pueden ser responsables de la disminución de las poblaciones de polinizadores y del "síndrome de despoblamiento de las colmenas" (CCD en sus siglas en inglés). Greenpeace ha realizado recientemente un resumen de los factores que pueden contribuir al declive de los polinizadores, como puede ser la posible implicación de los insecticidas sistémicos, bien como de otros tipos (Tirado *et al.* 2013).

Como indica claramente el informe de Greenpeace *El declive de las abejas*, no hay un único factor responsable de lo que esencialmente se considera un declive global de las poblaciones de abejas y de su salud en general. Los factores más importantes identificados están relacionados con las enfermedades y los parásitos, así como con las prácticas agrícolas industriales generales, que pueden tener un impacto en muchos de los aspectos del ciclo vital de las abejas. Además de todos estos factores, el cambio climático también está limitando la salud de los polinizadores. Este declive, por tanto, es, sin duda, el resultado de múltiples factores, tanto conocidos como desconocidos, y que pueden actuar de forma individual o conjunta.

En lo que respecta a las enfermedades, hay que resaltar el ácaro parasitario *Varroa destructor*, que tiene una importancia global, y el parásito *Nosema ceranae*, un patógeno relevante dentro de un ámbito regional, especialmente en el sur de Europa. Otras enfermedades nuevas, como pueden ser por ejemplo nuevos virus, podrán ser identificadas en el futuro de una manera más concreta. La capacidad de las abejas para resistir enfermedades y parásitos parece verse influenciada por varios factores, en concreto por su estado nutricional y su exposición a sustancias químicas tóxicas. Algunos plaguicidas, por ejemplo, parecen debilitar el sistema inmune de las abejas, lo que las hace más susceptibles a padecer infecciones e infestaciones parasitarias.

Las sustancias químicas en forma de biocidas son habituales en los sistemas actuales de producción agrícola industrializada. Algunos de ellos suponen un riesgo directo para los polinizadores. Por otro lado, la destrucción de los hábitats y la fragmentación de los hábitats naturales y seminaturales, la expansión de los monocultivos y la reducción de la diversidad vegetal son factores, todos ellos, que desempeñan un papel en la salud de los polinizadores.

En último lugar, el cambio climático, que puede afectar a las temperaturas, lo que provoca que estas sean menos predecibles o más extremas, es uno de los factores cuyo impacto en

las abejas y en otros polinizadores puede ser enorme, aunque a la vez, muy difícil de caracterizar y de predecir.

Ante esta diversidad de factores determinantes, *El declive de las abejas* ha concluido que un primer paso esencial que se debería tener en cuenta sería el de prohibir la utilización de varios plaguicidas que tienen niveles altos de toxicidad para las abejas. El listado incluye los siguientes: imidacloprid, tiametoxam, clotianidina, fipronil, clorpirifos, cipermetrin y deltametrin. Después de las evaluaciones sobre el imidacloprid, el tiametoxam y la clotianidina llevadas a cabo por la EFSA (ICPBR 2011; EFSA 2012a; EFSA 2013a) en abril de 2013, la mayoría de los países de la Unión Europea apoyaron la propuesta de la Comisión Europea (EFSA 2013b) de restringir temporalmente la utilización de estos plaguicidas. Ya existían prohibiciones parciales de neonicotinoides en Italia, Francia, Alemania y Eslovenia. En Italia no se han documentado impactos significativamente negativos en la producción agrícola pero esta restricción sí ha tenido efectos positivos en la salud de las abejas (Parlamento Europeo, 2012).

El Reglamento de Ejecución de la Comisión Europea (CE) adoptado reflejaba el acuerdo de suspender los tres insecticidas neonicotinoides en cuestión, debido a la importante carencia de datos existente en el conjunto de la información que se considera necesaria para llevar a cabo una evaluación integral de los riesgos que estos pueden suponer para las abejas. Una de las principales carencias identificada en los insecticidas utilizados como tratamiento de las semillas o del suelo está relacionada con las posibilidades que tienen las abejas de exponerse a dichos insecticidas sistémicos a través del agua de gutación. Muchas plantas exudan el agua de gutación, como es el caso de aquellas cultivadas a partir de semillas tratadas con neonicotinoides. Existe información que muestra que el exudado puede contener neonicotinoides, pero los datos hallados no son todavía suficientemente exhaustivos.

Este estudio se ha diseñado para investigar y documentar la presencia de estos plaguicidas en el agua de gutación de los cultivos comerciales tratados con fórmulas patentadas, con el objetivo de ofrecer más información a este respecto.

## LA GUTACIÓN Y SU RELEVANCIA PARA LAS ABEJAS

La palabra “gutación” viene del latín “gutta”, que significa gota (Girolami *et al.* 2009). La gutación es un proceso que puede tener lugar en muchas plantas vasculares. Básicamente, es la expulsión de la savia del xilema de la planta, que después forma pequeñas gotas en las puntas o a lo largo de los bordes de las hojas. Este proceso no debe confundirse con la formación del rocío, que también tiene lugar en condiciones atmosféricas similares. La gutación normalmente se produce cuando los suelos están húmedos, la presión de la raíz de la planta es alta y, sobre todo, cuando los estomas están cerrados durante las horas de oscuridad, lo que da como resultado una capacidad de transpiración reducida (Hoffmann *et al.* 2012). Bajo estas circunstancias, el líquido se exuda a través unas estructuras especializadas llamadas hidátodos (Stevens 1956) y forma pequeñas gotas. La frecuencia de episodios de exudación varía entre los diferentes cultivos, pero la tendencia es que ocurra con mayor frecuencia en los cultivos de cereales (monocotiledóneas) en comparación con plantas de cultivos de hoja ancha (dicotiledóneas) (Joachimsmeier *et al.* 2011).

En los cultivos sometidos a ensayo en este estudio, se ha observado que la gutación tiene lugar en condiciones variantes de humedad relativa. En un trabajo previo sobre este tema, se establecía que el agua de gutación contiene azúcares y sustancias químicas inorgánicas (Goatley & Lewis 1966). Trabajos posteriores han mostrado que los aminoácidos y las proteínas también están presentes y, aunque la función de los hidátodos no está documentada en profundidad, parece que está bastante extendida la idea de que estos también desempeñan un papel a la hora de recuperar los solutos del flujo de gutación (Pilot *et al.* 2004). Las gotas de gutación son más visibles al amanecer y se evaporan rápidamente cuando hay sol o viento, lo que deja, en ocasiones, un residuo blanquecino. También pueden ser reabsorbidas por la planta.

Además de los solutos normales, orgánicos e inorgánicos, que pueden estar presentes en el agua de gutación de las plantas, los plaguicidas sistémicos son absorbidos por el sistema vascular de la planta, trasladarse por todo ese sistema y ser exudados de esta forma. **Se ha demostrado que el agua de gutación de las plantas cultivadas con semillas tratadas con neonicotinoides contiene concentraciones importantes de estos insecticidas** (Girolami *et al.* 2009; Tapparo *et al.* 2011). En el estudio de Girolami *et al.* (2009), se encontraron concentraciones de hasta 100 mg/l de tiametoxam y clotianidina, y de hasta 200 mg/l de imidacloprid en el agua de gutación de las hojas de las plantas de maíz cultivadas a partir de semillas recubiertas con neonicotinoides y fipronil. Se detectaron concentraciones de insecticidas de hasta 346 mg/l en el caso del imidacloprid, de 102 mg/l en el caso de la clotianidina y de 146 mg/ en el caso del tiametoxam. Se comprobó que las concentraciones de neonicotinoides en el agua de gutación disminuían progresivamente durante los primeros 10-15 días una vez que la planta emergía del suelo. No se detectó fipronil en el agua de gutación.

También se descubrió que las plantas de melones amarillos cultivadas en suelos tratados con una aplicación líquida de imidacloprid exudan el insecticida en el agua de gutación en concentraciones similares (Hoffmann & Castle 2012). Los investigadores documentaron unas concentraciones máximas de imidacloprid de 4,1 mg/l en el agua de gutación recolectado tres días después de su aplicación en el suelo y de 37 mg/l un día después de realizar otra aplicación de insecticida a la concentración máxima recomendada por el fabricante en la etiqueta del producto.

**La gutación es un proceso muy importante para las abejas porque el líquido que se genera puede ser recolectado como fuente de agua.** El agua se recolecta por dos motivos diferentes y ambos están relacionados con el clima. El agua recolectada se utiliza para refrescar a las crías en los días cálidos a través de un proceso de enfriamiento por evaporación. Por otro lado, en los días en los que la recolecta de néctar es escasa debido a temperaturas frías o húmedas, el agua puede utilizarse para disolver la miel almacenada que después se utiliza para alimentar a las crías (Nicolson 2009).

El grupo de trabajo del Comité Internacional de la Relación Planta-Abeja (ICPBR-Bee Protection Group, en inglés) ha evaluado los riesgos que supone la ingestión del agua de gutación para las abejas y ha identificado una serie de factores que se podrían modificar para mitigar el riesgo potencial de la exposición a los insecticidas sistémicos mediante esta vía (ICPBR 2011). Aunque este grupo de trabajo se muestra relativamente positivo sobre las posibilidades de mitigar las exposiciones a través de esta vía e identificaron al maíz como el cultivo con el riesgo más alto, esta visión contrasta en cierto modo con las conclusiones publicadas por la EFSA (EFSA 2012a; EFSA 2012a; EFSA 2012b) en las evaluaciones de riesgo de los tres insecticidas sistémicos (tiametoxam y clotianidina e imidacloprid). Estas evaluaciones de riesgo concluyeron que no hay suficientes datos para evaluar completamente los riesgos que estos plaguicidas entrañan para las abejas a través del agua de gutación. Sin embargo, si solamente se tienen en cuenta los datos observados, los expertos consideraron que los riesgos de algunos cultivos pueden ser bajos, pero que no son capaces de extraer conclusiones definitivas. Las ambigüedades relacionadas con los riesgos potenciales del agua de gutación, junto con otras incertidumbres existentes en los datos disponibles, han contribuido de forma significativa a la decisión de formular e imponer el Reglamento de Ejecución N° 485/2013 de la Comisión Europea (Comisión Europea, 2013) para prohibir estos tres plaguicidas en la aplicación de tratamientos de semillas durante un periodo de dos años.

Por este motivo, Greenpeace ha realizado un estudio piloto acerca del agua de gutación generada en los cultivos de maíz, con el objetivo de añadir información a los datos disponibles sobre el contenido de neonicotinoides presentes en este líquido.

## MUESTREO DE GREENPEACE: METODOLOGÍA Y RESULTADOS

### Muestreo

#### Zona de muestreo y organización temporal

Las zonas seleccionadas para estudiar la concentración de neonicotinoides en el agua de gutación están ubicadas en la parte central de Hungría, al norte de Budapest. Constan de dos campos de maíz convencional cultivados activamente a cielo abierto y emplazados cerca el uno del otro en suelos de origen aluvial, arenosos y húmicos. Según el agricultor, ambos campos se habían sembrado con semillas de maíz tratadas con neonicotinoides. Un campo – el campo A – se había sembrado el 24 de abril de 2013 con semillas tratadas con Poncho® (con clotianidina como sustancia activa). El otro – el campo B – se había sembrado el 1 de mayo de 2013 y las semillas se habían tratado con Cruiser® (la sustancia activa es el tiametoxam). El muestreo comenzó aproximadamente tres semanas después de la siembra y después de formarse las tres primeras hojas en la plúmula. Las plantas tenían entre 8 y 12 centímetros de altura al comienzo del muestreo y entre 25 y 35 centímetros al finalizar, dependiendo de la fecha de plantación en los campos respectivos.

El muestreo tenía lugar cada dos días pero el programa se organizó con cierta flexibilidad para prever condiciones climáticas adversas, como la lluvia o el viento, que hacían imposible llevar a cabo un muestreo de calidad. En estos casos, el muestreo se realizaba al día siguiente. Todas las muestras fueron tomadas al amanecer. El agua de gutación se había evaporado normalmente entre la primera y la segunda hora después del amanecer. El campo A fue muestreado en siete ocasiones (del 17 de mayo al 2 de junio). Por otro lado, se recogieron muestras del campo B en cinco ocasiones (del 21 de mayo al 2 de junio). El número de muestras recogidas estuvo limitado por un episodio de inundación del río Danubio, que dejó el campo inaccesible.

El número de muestras que se tomaron en cada ocasión se presenta en la siguiente tabla:

NÚMERO DE MUESTRAS

Fecha	CAMPO A	CAMPO B
17 de mayo de 2013	3	-
19 de mayo de 2013	3	-
21 de mayo de 2013	3	3
23 de mayo de 2013	1	2
25 de mayo de 2013	3	2
29 de mayo de 2013	3	3
2 de junio de 2013	3	3

#### Método de muestreo

El muestreo se realizó a partir de tres hileras de plantas paralelas en cada uno de los campos. Se eligió una hilera en el centro del campo y se marcó junto con la quinta y la

décima hileras adyacentes a la misma para replicar las muestras. Se eligió el punto central del campo para eliminar los efectos que los bordes de los campos pudieran tener en las plantas cultivadas y para minimizar la posibilidad de contaminación cruzada con otros tratamientos de semillas previamente utilizados en la sembradora. Las muestras se recogieron con micropipetas de tipo Gilson® con puntas de 50µl o 10µl, dependiendo del tamaño de las gotas. Se eligieron las gotas de la punta o borde de las hojas para reducir la posibilidad de muestrear gotas de rocío.

Los contenidos de la pipeta se depositaron en viales criogénicos de polipropileno desechables de 5 mililitros (Corning Life Sciences) hasta recoger aproximadamente entre 1,5 y 2,5 ml de exudado. Los tubos se cerraron con tapas enroscadas y se sellaron. Los tubos sellados se envolvían en papel de aluminio después del muestreo y se mantenían fríos en un recipiente refrigerado entre 3 y 4°C hasta realizar el análisis. En condiciones de sol o viento, los volúmenes de las muestras fueron en ocasiones inferiores a la cantidad de 1,5 - 2,5 ml fijada como objetivo. En todos los casos se recogieron muestras idénticas de las plantas en las mismas hileras. Además, se obtuvo, directamente del agricultor, aproximadamente un kilo de muestras de semillas plantadas en cada uno de los campos, para utilizarlas en un análisis de confirmación.

#### Preparación y análisis de las muestras

Después de su recogida, las 32 muestras se procesaron a través de jeringa con filtro de teflón de 13 mm de diámetro y poros de 0,45 micrones (Whatman) para eliminar partículas y bacterias. Después, las muestras se transportaron hasta el laboratorio para realizar el análisis en un recipiente refrigerado entre 3 y 4°C. Las muestras se analizaron como se describe a continuación, basándose en la inyección directa de una parte alícuota de la muestra filtrada en un sistema LC-MS/MS. El sistema utilizado fue el Waters Acquity UPLC acoplado al espectrómetro de masas Xevo TQS (Waters) ejecutado mediante ionización por electrospray en modo positivo.

Las muestras fueron diluidas de acuerdo a un rango de trabajo de entre 0,001 y 5,0µg/l, y se añadió un estándar interno de clotianidina deuterada. Una parte alícuota de 20µl de esta se inyectó en el instrumento para su posterior análisis. Se utilizaron dos fases móviles. La Fase Móvil A se compuso de un 95% de H<sub>2</sub>O y de un 5% de MeOH (metanol) en 0,25 mM de NH<sub>4</sub>Ac (acetato de amonio) y 0,01% de HAc (ácido acético). La Fase Móvil B se compuso de 100% de MeOH (metanol) en 0,25mM de NH<sub>4</sub>Ac. La columna de UPLC utilizada fue Kinetex®, de 50 mm de longitud, 2,6µm de tamaño de partículas, fase C8, tamaño de poros 100Å, con una columna de fase reversa de 2,1 mm de diámetro interno (Phenomenex).



El programa del gradiente de fase se puede ver en la tabla a continuación:

MINUTOS	Fase Móvil A	Fase Móvil B
0	80	20
1	80	20
2	10	90
3,4	10	90
3,6	100	0

El tiempo total de ejecución fue de cinco minutos con un caudal de 0,4 ml/min.

El espectrómetro de masas se ejecutó con ionización por electrospray (ESI, en sus siglas en inglés) en modo positivo.

Para cada uno de los plaguicidas, se monitorizaron dos transiciones de iones específicas:

Clotianidina: 250 → 169                      Tiametoxam: 292 → 211  
                  250 → 132                                 292 → 181

Los límites de detección (LOD, en sus siglas en inglés) y los límites de cuantificación (LOQ, en sus siglas en inglés) fueron de 5 µg/l y 10 µg/l respectivamente, tanto en el caso de la clotianidina como en el del tiametoxam.

## Resultados

Se detectó clotianidina en todas las muestras del agua de gutación tomadas del maíz cultivado en el Campo A y en los lugares donde las semillas fueron tratadas con un recubrimiento de 1,25 mg de clotianidina por semilla (APENET 2011). Se realizaron análisis de tres muestras idénticas tomadas en seis ocasiones y de una única muestra tomada en una ocasión posterior, y todas dieron concentraciones de entre 391 y 11.709 µg/l. Las concentraciones de tiametoxam que se observaron en las muestras idénticas del agua de gutación del Campo B (semillas tratadas con Cruiser® a una concentración de 0,6 mg de tiametoxam por semilla) (APENET 2011) fueron mucho más elevadas, de entre 678 y 55.260 µg/l. En estas muestras, también se encontraron concentraciones significativas de clotianidina, de entre 167 y 9.651 µg/l. Esto puede deberse a que la clotianidina no es solamente una sustancia activa por sí misma, sino que también actúa como metabolito del tiametoxam (EFSA 2012b), la sustancia activa principal del Cruiser®.

Las concentraciones de los dos neonicotinoides en el agua de gutación disminuyeron progresivamente mientras avanzaba el periodo de muestreo, tal y como se puede ver en las tablas 1 y 2. La concentración de clotianidina en las plantas del Campo A disminuyó rápidamente desde un valor alto inicial de 9,6 mg/l, y se estabilizó aparentemente hasta una concentración de alrededor de 0,5-1,0 mg/l en todas las muestras idénticas. También se observó una disminución en las concentraciones de tiametoxam en el caso del Campo B, pero parece que ocurrieron menos rápidamente que en el caso de la clotianidina. Los residuos registrados de tiametoxam fueron inicialmente superiores a 50 mg/l (50 ppm) y

disminuyeron hasta aproximadamente 0,8 mg/l a lo largo del periodo de muestreo. Merece la pena resaltar que las concentraciones iniciales halladas fueron similares o incluso superiores a las concentraciones de la sustancia activa utilizada habitualmente en fórmulas para aplicación foliar. Por ejemplo, para pulverizar sobre pimentón, tomate y lechuga, Syngenta recomienda soluciones de 10–40 g de Actara® por cada 100 litros de agua, lo que equivale a entre 25-100 mg de la sustancia activa tiametoxam por litro de agua<sup>2</sup>.

### **Implicaciones de los resultados para las abejas**

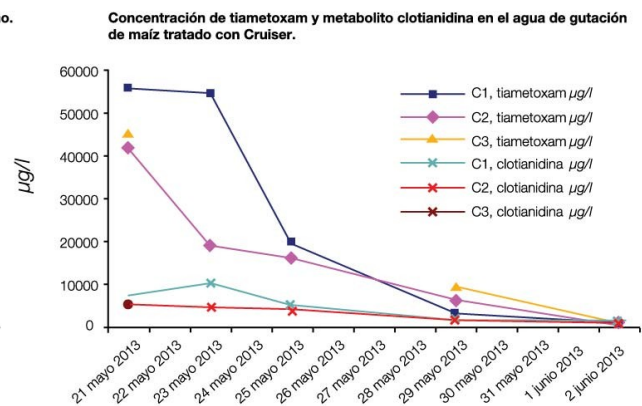
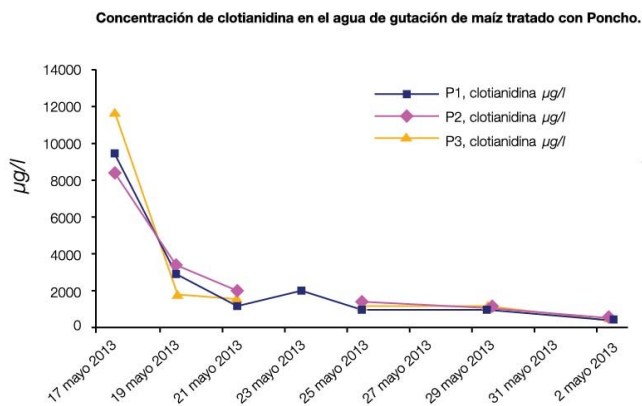
La EFSA (2013b) proporcionó un método de cálculo para evaluar el riesgo potencial que supone para las abejas el contenido de plaguicida del agua de gutación. Este método se basa en una comparación de los valores LD50 de toxicidad oral aguda con ingesta de plaguicidas, basándose en ingestas estimadas de agua de gutación contaminada. El informe de la EFSA (2013b) asume que las abejas que pecorean en busca de agua realizan una media de 46 viajes al día. La cantidad transportada por la abeja en cada viaje a la planta varía entre 30 y 58  $\mu$ l, con lo que llega a un total de entre 1,4 ml y 2,7 ml de agua cada día. Aunque la mayoría de este agua no la retiene la abeja, hay que tener en cuenta que el transporte de la misma puede suponer una exposición de un día a los contaminantes existentes. Por tanto, **las concentraciones de plaguicidas presentes en el agua de gutación**, tal y como se puede ver en este estudio, **pueden suponer un riesgo significativo para las abejas**, incluso si el agua de gutación es solamente una proporción pequeña del agua recolectada durante el pecoreo.

El cálculo se realiza teniendo en cuenta que el valor de LD50 de toxicidad oral aguda del tiametoxam para las abejas es de 0,005  $\mu$ g de sustancia activa por abeja, y que el valor de LD50 de toxicidad oral aguda de clotianidina es de 0,00379  $\mu$ g por abeja, de acuerdo a los métodos de cálculo generales utilizados en la evaluación de la EFSA (2013b). El valor registrado de tiametoxam más elevado en las muestras tratadas con Cruiser® en el Campo B fue de 55.260  $\mu$ g/l, con un contenido asociado de 6.794  $\mu$ g/l de clotianidina como producto de degradación. Si se tiene en cuenta el contenido de tiametoxam solamente, una abeja solo tendría que consumir 0,09  $\mu$ l de agua de gutación para ingerir el valor LD50 de toxicidad oral aguda de sustancia activa. Si se considera el contenido de clotianidina solamente, una abeja tendría que consumir tan solo 0,558  $\mu$ l de agua para ingerir el valor LD50 de toxicidad oral aguda. Si se consideran el tiametoxam y la clotianidina conjuntamente, y se asume un modelo aditivo sencillo de toxicidad en proporción a los valores de LD50 (una concentración de tiametoxam “equivalente” a 64.223  $\mu$ g/l), el volumen de agua ingerido tendría que ser de 0,078  $\mu$ l. Si se hacen cálculos similares para la concentración de clotianidina más elevada en el agua de gutación de los cultivos tratados con Poncho® en el Campo A, que es de 11.709  $\mu$ g/l, una abeja solamente tendría que consumir 0,324  $\mu$ l de agua para ingerir el valor LD50 de toxicidad oral aguda.

Los valores de concentración medios de las tres muestras idénticas, recopilados 12 días después de que empezara el experimento, fueron de 828  $\mu$ g/l de tiametoxam en las muestras tratadas con Cruiser® (2 de junio de 2013, 32 días después de la siembra) y de 1.050  $\mu$ g/l de clotianidina en las muestras tratadas con Poncho® (29 de mayo de 2013, 34 días después de la siembra). Estos datos sugieren que, **aproximadamente un mes después de la siembra, el agua de gutación generada por los cultivos de maíz todavía**

<sup>2</sup> Véase <http://www3.syngenta.com/country/hu/hu/cp/Termekeink/Rovarolo-szerek/Pages/Actara-25-WG.aspx>

podría liberar una cantidad de plaguicida a las abejas pecoreadoras equivalente a una dosis letal (LD50 de toxicidad oral aguda) en una cantidad tan pequeña como 6,04  $\mu\text{l}$  (en el caso del tiametoxam) y en solamente 3,61  $\mu\text{l}$  (en el caso de la clotianidina). Dado que se estima que una abeja ingiere un máximo de 30-58  $\mu\text{l}$  de agua en un único viaje de pecoreo, es evidente entonces que una única visita a una planta de maíz con agua de gutación tratada con Poncho® o Cruiser® podría resultar en una exposición bastante por encima del valor LD50 de toxicidad oral aguda.



Existen una serie de ambigüedades relacionadas con estos cálculos y con el supuesto en el que se basan. De todas maneras, el consumo necesario de agua de gutación está, en algunos casos, muy por debajo de los volúmenes que se calcula que ingieren las abejas cuando pecorean en busca de agua. Incluso, dada la posibilidad de que no estén expuestas a dichas concentraciones durante todo el periodo de pecoreo porque el agua de gutación desaparezca por la evaporación a primera hora del día, o por otros motivos, estas cifras sugieren que el agua de gutación podría constituir un riesgo tóxico significativo para las abejas. No es posible estimar el riesgo que supone el agua transportada a la colmena y que se evapora por motivos de enfriamiento. Sin embargo, podría resultar en cantidades de plaguicida transportado en el agua y depositado en las celdillas de las crías.

## CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio muestran que los insecticidas neonicotinoides aplicados como tratamiento de semillas comerciales de maíz pueden encontrarse en el agua de gutación de las plantas que se cultivan con los sistemas agrícolas convencionales. **Las concentraciones halladas sugieren que el agua de gutación puede suponer un peligro de toxicidad importante para las abejas si las pecoreadoras la utilizan como fuente de abastecimiento de agua.** Las concentraciones encontradas son lo suficientemente altas en algunas muestras por lo que no es necesario ni siquiera asumir que la cantidad total, o incluso la mayor parte, de los 1,4-2,7 ml de agua transportados de forma potencial por una única abeja en el transcurso del periodo de pecoreo, se obtiene del agua de gutación. **Incluso un único episodio de pecoreo podría hacer que una abeja ingiriera dosis muy superiores al valor LD50 de toxicidad oral aguda, tanto en el caso de clotianidina como en el de tiametoxam. Incluso en el agua de gutación generado por las plantas después de 12 días, los volúmenes que se tienen que ingerir para alcanzar el valor LD50 de toxicidad oral aguda están bastante por debajo del máximo teórico que puede ingerir una abeja durante un viaje de pecoreo.**

Los resultados sugieren otras preguntas que requieren una investigación al respecto para comprender con más detalle la importancia de esta vía de exposición de las abejas a los insecticidas, tanto en lo que respecta al impacto que puedan tener en las pecoreadoras como en toda la colonia en general. Una cuestión fundamental que habría que responder es hasta qué punto las abejas utilizan el agua de gutación y en qué circunstancias. Se necesita más información sobre la proporción de plaguicidas que las abejas retienen al ingerir el agua de gutación, y sobre qué proporción transportan y transmiten a la colonia, así como para qué emplean esta agua de gutación. En el caso de la refrigeración por evaporación, hay posibilidades de que el insecticida se extienda por toda la colonia. En el caso de la disolución de la miel para alimentar a las crías, el riesgo potencial se transfiere a las larvas. Estos dos aspectos requerirían una investigación específica para poder aclararlos en profundidad.

**Hasta que todas estas importantes cuestiones se resuelvan, se debería adoptar y utilizar un enfoque basado en el principio de precaución para fundamentar el desarrollo de las políticas y prácticas agrícolas que permitan salvaguardar a las abejas.** Además, las normativas de la Unión Europea sobre el uso de sustancias que pueden ser perjudiciales para las abejas deberían desarrollarse aplicando rigurosamente el principio de precaución. Estas normativas tendrían que incorporar no solo los datos científicos actuales respecto al peligro potencial de estas sustancias para las abejas y la vulnerabilidad general de las mismas, sino también tendrían que ampliar estas normativas basadas en el principio de precaución a otras especies de polinizadores silvestres, debido a su papel crucial para garantizar los servicios de polinización en el presente y en un futuro incierto. En resumen, se requieren acciones urgentes para proteger el servicio de la polinización del ecosistema.

### Recomendaciones

Las abejas y los polinizadores silvestres desempeñan un papel fundamental en la producción agrícola y alimentaria. Sin embargo, el modelo de agricultura industrial actual,

que utiliza sustancias químicas de forma intensiva, es una amenaza para las abejas y los polinizadores silvestres y pone en riesgo la alimentación europea. Este informe ofrece datos adicionales sobre cómo los neonicotinoides pueden suponer un riesgo significativo para las abejas de miel y cómo puede contribuir al declive general y al empeoramiento de la salud de las colonias de abejas.

Por lo tanto, los responsables políticos deberían tomar las siguientes medidas:

**1) Hacer que la prohibición del uso de los plaguicidas peligrosos para las abejas** (tiametoxam, clotianidina, imidacloprid y fipronil) sea **permanente y total** y ampliar la prohibición a otros productos que actualmente están autorizados en la Unión Europea y que contienen otras sustancias activas peligrosas para las abejas como el clorpirifos, cipermetrin y deltametrin.

**2) Adoptar Planes de Acción en favor de las abejas** que incluyan la monitorización de la salud de las mismas y la de otros polinizadores. Mejorar la conservación de los hábitats naturales y seminaturales en los paisajes agrícolas, así como mejorar la biodiversidad en los campos agrícolas.

**3) Aumentar la financiación para la investigación y el desarrollo de prácticas agrícolas ecológicas** que puedan sustituir el control actual de las plagas con sustancias químicas, por herramientas basadas en la biodiversidad que mejoren la salud del ecosistema. Los responsables políticos de la Unión Europea deberían destinar una financiación mayor a las soluciones de agricultura ecológica bajo el auspicio de la PAC (en forma de pagos directos) y del Horizonte 2020 (marco de investigación de la Unión Europea).

## REFERENCIAS

**APENET (2011).** "Effects of coated maize seed on honey bees". Report based on results obtained from the third year (2011) activity of the APENET project, (2011) the APENET project.

**Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (2012a).** Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance clothianidin EFSA Journal 2013;11(1):3066 [58 pp.].

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3066.htm>

**Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (2012b).** Reasoned opinion on the modification of the existing MRLs for thiamethoxam and clothianidin in various crops. EFSA Journal 2012; 10(11):2990. [44pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2990.

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2990.pdf>

**Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (2013a).** Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance thiamethoxam. EFSA Journal 2013;11(1):3067. [68 pp.]

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/3067.pdf>

**Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (2013b).** Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance imidacloprid EFSA Journal 11(1): 3068 55pp.

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/3068.pdf>

**Comisión Europea (2013).** Reglamento de Ejecución (UE) No 485/2013 de la Comisión de 24 de mayo de 2013 por el que se modifica el Reglamento de Ejecución (UE) no 540/2011 en lo relativo a las condiciones de aprobación de las sustancias activas clotianidina, tiametoxam e imidacloprid, y se prohíben el uso y la venta de semillas tratadas con productos fitosanitarios que las contengan

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:139:0012:0026:ES:PDF>

**Girolami V, Mazzon L, Squartini A, Mori N, Marzaro M, Bernardo AD, Greatti M, Giorio C és Tapparo A (2009).** Translocation of Neonicotinoid Insecticides from Coated Seeds to Seedling Guttation Drops: A Novel Way of Intoxication for Bees. Journal of Economic Entomology, 102: 1808-1815.

**Goatley J & Lewis R (1966).** Composition of Guttation Fluid from Rye, Wheat, and Barley Seedlings. Plant Physiology 41 (3): 373–375.

**Hoffmann E, Castle S (2012).** Imidacloprid in Melon Guttation Fluid: A Potential Mode of Exposure for Pest and Beneficial Organisms. Journal of Economic Entomology, 105(1):67-71. 2012.

**ICPBR (2011).** International Commission for Plant-Bee Relationships (Bee Protection Group) 11th International Symposium on Hazards of Pesticides to Bees Working Group ICPBR:

Assessment of risks posed by guttation. Wageningen, The Netherlands November 2-4th 2011

<https://secure.fera.defra.gov.uk/beebase/downloadDocument.cfm?id=693>

**Joachimsmeier I, Pistorius J, Heimbach U, Scehnke D, Kirchner W & Zwerger P (2011).** Frequency and intensity of guttation events in different crops in Germany. Proceedings of the 11th International Symposium of the ICPBR Bee Protection Group, Wageningen (The Netherlands), November 2-4, 2011 pp87-90.

[http://www.researchgate.net/publication/239520834\\_Frequency\\_and\\_intensity\\_of\\_guttation\\_events\\_in\\_different\\_crops\\_in\\_Germany](http://www.researchgate.net/publication/239520834_Frequency_and_intensity_of_guttation_events_in_different_crops_in_Germany)

**Ministry of Agriculture, British Columbia, Canada (2013).** About Pesticides: General Information.

[http://www.agf.gov.bc.ca/pesticides/a\\_3.htm](http://www.agf.gov.bc.ca/pesticides/a_3.htm)

**Nicolson S (2009).** Water Homeostasis in bees, with emphasis on sociality. The Journal of Experimental Biology 212: 429-434

<http://jeb.biologists.org/content/212/3/429.full>

**Parlamento Europeo (2012).** Directorate General for Internal Policies, Policy Department Economic and Scientific Policy A: Environment, Public Health and Food Safety. Existing Scientific Evidence of the Effects of Neonicotinoid Pesticides on Bees. [27pp]

<http://www.europarl.europa.eu/committees/en/studiesdownload.html?file=79433&languageDocument=EN>

**Pilot G, Stransky H, Bushey D, Pratelli R, Ludewig U, Wingate V & Frommer W (2004).** Overexpression of GLUTAMINE DUMPER1 leads to hypersecretion of glutamine from hydathodes of Arabidopsis leaves. The Plant Cell 16: 1827-1840.

<http://www.plantcell.org/content/16/7/1827.full.pdf+html>

**Stevens A, (1956).** The structure and development of the hydathodes of *Caltha palustris* L. New Phytologist 55 (3): 339-345.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.1956.tb05293.x/pdf>

**Tapparo A, Giorio C, Marzaro M, Marton D, Solda L & Girolami V (2011).** Rapid analysis of neonicotinoid insecticides in guttation drops of corn seedlings obtained from coated seeds. Journal of Environmental Monitoring 13: 1564-1568.

**Tirado R, Simon G & Johnston P (2013).** El declive de las abejas. Peligros para los polinizadores y la agricultura de Europa. Nota técnica de la Unidad Científica de Greenpeace Revisión 01/2013 46pp.

[http://www.greenpeace.org/espana/Global/espana/report/Agricultura-ecologica/el\\_declive\\_de\\_las\\_abejas.pdf](http://www.greenpeace.org/espana/Global/espana/report/Agricultura-ecologica/el_declive_de_las_abejas.pdf)