Guía de evaluación de riesgos de plaguicidas para las abejas

Oficina de Programas de Plaguicidas
Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos
Washington, D.C. 20460

Salud Canadá Agencia de Manejo de Plagas
Ottawa, ON, Canadá

Departamento de Regulación de Plaguicidas de California*
Sacramento, CA

*Actualmente, debido a limitaciones de recursos, el Departamento de Regulación de Plaguicidas no realiza evaluaciones completas de riesgo ecológico, pero se reserva el derecho de hacerlo en el futuro.

9 de diciembre de 2014

Resumen ejecutivo

Este documento es una guía para los evaluadores del riesgo potencial de los plaguicidas para las abejas, en particular las abejas melíferas (*Apis mellifera*). Esta guía no se limita a describir el proceso de evaluación de riesgos, sino que considera además los datos subyacentes en los que se basa el proceso. En términos sucintos, esta guía hace referencia al Documento Técnico en Apoyo al Proceso de Evaluación de Riesgos para Abejas[1] presentado en septiembre de 2012 al Grupo Asesor Científico (SAP, por sus siglas en inglés) de la Ley Federal de Insecticidas, Fungicidas y Rodenticidas (FIFRA, por sus siglas en inglés) para su revisión y comentarios. Dicho documento técnico describe el marco básico del proceso de evaluación de riesgos y los datos utilizados para explicar los distintos niveles de refinamiento que puedan ser necesarios para apoyar las decisiones de manejo de riesgos. Esta guía también considera las recomendaciones[2] proporcionadas por el FIFRA SAP, en respuesta al documento técnico, que puedan ser implementadas de inmediato. Aquellas recomendaciones adicionales del FIFRA SAP que no puedan ser implementadas en este momento, debido a que la evidencia científica que apoya esos esfuerzos no se ha examinado suficientemente, serán consideradas a medida que la ciencia evolucione.

El proceso de evaluación de los riesgos descrito en el documento técnico considera un enfoque escalonado en el que se recogen datos sobre las abejas individuales, que son representativas de las diferentes etapas de su ciclo de vida (larvas/pupas versus adultos), y de las castas (por ejemplo, las abejas obreras). Si bien pueden existir datos adicionales en otras especies de abejas y estos datos pueden incluirse en el proceso de evaluación de riesgos escalonado como una línea adicional de evidencia, el proceso primario se basa en datos de abejas melíferas como representantes tanto de abejas *Apis* como no *Apis*. En este proceso, los estudios de laboratorio de larvas/pupas y adultos de abejas melíferas proporcionan datos sobre las abejas individuales que se pueden utilizar como subrogados de otras especies de abejas, incluidas las especies solitarias. En los niveles de semi-campo y campo, los estudios de colonias pueden utilizarse para representar los efectos en las propias abejas melíferas y como un subrogado para otras abejas sociales. Una ventaja de utilizar a las abejas es que su mantenimiento y ciclo de vida, así como su importancia en los servicios de polinización son bien conocidos y existen protocolos de pruebas disponibles. A medida que la ciencia evolucione, los métodos y estudios que utilizan abejas no *Apis* podrán considerarse e incorporarse en la evaluación de riesgos.

El proceso de evaluación de riesgos para las abejas es consistente con el utilizado para otros taxones, tal y como lo describe el Documento de Compendio[3], dado que comprende tres fases (es decir, la formulación del problema, el análisis y la caracterización de riesgos) y ocurre por etapas. La primera etapa consiste en una evaluación general de riesgos de nivel básico, que se pretende que sea lo suficientemente conservadora para que las sustancias químicas que pasen este nivel de evaluación representen un riesgo relativamente bajo de efectos adversos para las abejas. Para aquellas sustancias químicas que no pasen esta evaluación inicial, pueden considerarse ajustes en las estimaciones de exposición o en las medidas de mitigación, lo cual puede reducir suficientemente los Cocientes de Riesgo (RQs, por sus siglas en inglés), por debajo de los Dietaria (LOCs, por sus siglas en inglés), de tal manera que no se necesitan ajustes adicionales. Para las sustancias químicas cuyos valores de RQ sigan excediendo los LOC, dependiendo de las necesidades en el manejo de riesgos, se pueden hacer refinamientos adicionales en la exposición o en los efectos estimados basados en estudios que se acerquen más a las condiciones ambientales reales. Aunque los enfoques para la

estimación de la exposición y de los efectos son diferentes en los sistemas acuáticos y terrestres, así como entre las plantas y los animales, el proceso básico de pasar de una evaluación de nivel general, con suposiciones conservadoras, a una más refinada es consistente a través de los diversos taxones.

Esta guía sigue una estructura genérica del proceso de evaluación de riesgos, tal como se describe en el documento técnico y el Documento de Compendio. Si bien esta guía no pretende ser exhaustiva, proporciona a sus usuarios información suficiente para garantizar consistencia en las evaluaciones de riesgos ecológicos desarrolladas en apoyo a las decisiones del registro de plaguicidas nuevos y existentes. Los diferentes niveles de refinamiento que se describen en esta guía no están destinados a ser prescriptivos; el conjunto de datos específico utilizados en la evaluación de los riesgos potenciales de un plaguicida para las abejas depende en última instancia de múltiples líneas de evidencia y de los objetivos de manejo de riesgos.

1 USEPA. 2012. White Paper in Support of the Proposed Risk Assessment Process for Bees. Submitted to the FIFRA Scientific Advisory Panel for Review and Comment September 11 – 14, 2012. Office of Chemical Safety and Pollution Prevention Office of Pesticide Programs Environmental Fate and Effects Division, Environmental Protection Agency, Washington DC; Environmental Assessment Directorate, Pest Management Regulatory Agency, Health Canada, Ottawa, CN; California Department of Pesticide Regulation http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPP-2012-0543-0004

2 USEPA 2012. Final FIFRA SAP Pollinator Meeting Report. SAP Minutes No. 2012-06. A Set of Scientific Issues Being Considered by the Environmental Protection Agency Regarding Pollinator Risk Assessment Framework. September 11 – 14, 2012, FIFRA Scientific Advisory Panel Meeting. http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPP-2012-0543-0047

3 USEPA. 2004. Overview of the Ecological Risk Assessment Process in the Office of Pesticide Programs, U. S. Environmental Protection Agency. Endangered and Threatened Species Effects Determinations. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances Office of Pesticide Programs, Washington DC. January 23, 2004. http://www.epa.gov/espp/consultation/ecorisk-overview.pdf

Agradecimientos

Los siguientes individuos y organizaciones contribuyeron a éste documento guía[4]:

Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, Oficina de Programas de Plaguicidas (OPP)

Rueben Baris
Joseph DeCant
Frank Farruggia
Kristina Garber
Anita Pease
Keith Sappington
Mah Shamim
Thomas Steeger
Allen Vaughan
Christina Wendel

Salud Canadá Agencia de Manejo de Plagas (PMRA, por sus siglas en inglés)

Connie Hart
Wayne Hou

Departamento de Regulación de Plaguicidas de California (CDPR, por sus siglas en inglés)

Richard Bireley

SEMARNAT MX
Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades Riesgosas (DGGIMAR)
Coordinación General de Contaminación y Salud Ambiental (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, INECC)

SAGARPA MX
Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera (DGIAAP), Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA)

[4] Esta guía fue traducida al español por Karen Milians, José Meléndez, Freeborn Jewett y Ana Rivera-Lupiañez, USEPA.

Tabla de contenido

1. Visión general del proceso de evaluación de riesgos para polinizadores 6
1.1 Aplicaciones foliares mediante rocío (aerosol) 6
1.2 Aplicación al suelo y tratamiento de semillas 11
2 Formulación de problema 13
3 Fase de análisis 15
3.1 Caracterización de la exposición 15
3.1.1 Estimación de exposición del nivel I 15
3.1.2 Refinamientos de las estimaciones de exposición de nivel I 17
3.2 Caracterización de efectos 20
3.2.1 Requisitos de la USEPA para los estudios de toxicidad en abejas 20
3.2.2 Guía adicional de USEPA para el estudio de polinizadores 21
3.2.3 Requisitos de PMRA para los estudios de toxicidad en abejas 24
3.2.4 Caracterización de los efectos de nivel I 26
3.2.5 Caracterización de los efectos de nivel II 28
3.2.6 Caracterización de efectos de nivel III 32
4 Caracterización de los riesgos 36
4.1 Estimación del riesgo 37
4.1.1 Cálculo de los cocientes de riesgo para la evaluación de nivel I 37
4.1.2 Niveles de preocupación para la evaluación de riesgo de nivel I 39
4.2 Descripción de riesgo 41
4.2.1 El uso de otras líneas de evidencia 41
4.2.2 Síntesis de los riesgos entre los niveles 42
4.2.3 Descripción de riesgo para efectos subletales 43
4.2.4 Uso de los modelos de simulación 44
4.2.5 Incertidumbres 44
4.2.6 Deficiencia de datos o de información 48
Apéndice 1. Modelos conceptuales 50
A1.1 Plaguicidas no sistémicos: Aplicación foliar 50
A1.2. Plaguicidas sistémicos: Aplicación foliar 51
A1.3 Plaguicidas sistémicos: Tratamientos de semillas 52
A1.4 Plaguicidas sistémicos: Aplicación al suelo 53
Apéndice 2. Consideraciones relacionadas con la cuantificación de residuos de plaguicidas en el polen y en el néctar utilizando estudios específicos de plaguicidas 54
Apéndice 3. Bee-REX 56
Apéndice 4. Consideraciones de los estudios de campo a nivel III 65

1. Visión general del proceso de evaluación de riesgos para polinizadores

En esta sección se resume el proceso global de evaluación de riesgo para la caracterización de los riesgos de los plaguicidas para las abejas melíferas (*Apis mellifera*) que se utilizan como especie representativa de otras abejas *Apis* y no *Apis* y de otros insectos polinizadores. También proporciona una breve descripción de los pasos clave y puntos de decisión involucrados en el proceso de evaluación de riesgos. De esta forma, no se debe utilizar de manera aislada; sino que debe considerarse en conjunto con la guía de evaluación de riesgos descrita en las secciones siguientes: en la formulación del problema (**Sección 2**), el análisis (**Sección 3**) y la caracterización de los riesgos (**Sección 4**). Si existen datos aceptables disponibles de abejas no *Apis*, esta información debe considerarse como una línea de evidencia para determinar los riesgos potenciales.

Las **Figuras 1** y **2** muestran diagramas de flujo que representan el proceso de toma de decisiones para la evaluación de riesgos para las abejas, como resultado de aplicaciones foliares y de tratamiento de suelos o semillas con plaguicidas, respectivamente. El enfoque general es un proceso en etapas o niveles en el cual los riesgos se evalúan inicialmente utilizando modelos de exposición simples y conservadores para generar los Estimados de Concentraciones Ambientales (EECs, por sus siglas en inglés), junto con estimaciones de toxicidad derivados de los estudios de laboratorio (nivel I) para calcular los Cocientes de Riesgo (RQs) para las abejas individuales. Dependiendo de los resultados de la estimación de riesgos del nivel I, es recomendable considerar la recopilación y la evaluación de información de las etapas subsiguientes (niveles II y III), en las cuales los resultados se basan en los efectos en las colonias, y se contemplan escenarios ambientales más realistas pero que también requieren mayores recursos para llevarse a cabo y para interpretar la información que generan. Un resumen, paso a paso, de los procesos se muestra a continuación.

El proceso no pretende ser prescriptivo, por lo tanto los evaluadores de riesgos deben tomar en cuenta múltiples líneas de evidencia para determinar qué datos recomendar y estar conscientes del tiempo disponible para la toma de decisiones para el manejo de riesgos. A través de todos los escenarios descritos a continuación se deberá hacer una determinación inicial en cuanto a si existe un potencial razonable para la exposición de las abejas al plaguicida en cuestión. Si no hay exposición, entonces la probabilidad de efectos adversos (es decir, de riesgo) se presume que es baja y se justifica una evaluación adicional. En estos casos, el evaluador de riesgos debe dar una explicación de por qué no es probable que el uso del plaguicida resulte en un nivel de exposición de preocupación para las abejas. Además, en concordancia con el proceso que se utiliza para evaluar el riesgo para otros taxones, el proceso de evaluación de riesgos pretende ser iterativo, y el evaluador debe considerar el efecto que las opciones de mitigación pueden tener en la reducción de la exposición y, de este modo, reducir la necesidad de refinamientos adicionales.

1.1 Aplicaciones foliares mediante rocío (aerosol)

Paso 1. Determine si las abejas pueden estar expuestas. Como parte de la formulación del problema (**Sección 2**), la información sobre el uso de plaguicidas (**Recuadro 1, Figura 1**), sus propiedades químicas y las posibles vías de exposición es examinada para determinar la necesidad de llevar a cabo la evaluación de riesgos para las abejas. Para ello se debe consultar la información proporcionada por los modelos conceptuales genéricos para la evaluación del riesgo para las abejas (**Apéndice 1**). En general, se asume que las aplicaciones al aire libre de plaguicidas mediante rocío tienen un potencial razonable para ocasionar la exposición de las abejas adultas y sus crías (huevos, larvas y pupas), cuando éstos se aplican a los cultivos o se desplazan (el rocío) hacia plantas aledañas que atraen a los polinizadores durante los períodos en que

las abejas probablemente se encuentran libando. Se espera que la exposición de las crías y de otras castas en las colmenas ocurra cuando se reconoce la exposición de las abejas adultas mientras liban, ya que al ser recolectoras traerán residuos de plaguicidas a las colmenas. La aplicación foliar de plaguicidas antes de la floración de cultivos que atraen a los polinizadores también puede dar lugar a la exposición de las abejas si los plaguicida son persistentes y se traslada a través de las plantas hasta el polen y el néctar después de la aplicación. En contraste, generalmente se asume, que los usos de plaguicidas en interiores no tienen un potencial razonable de exposición para las abejas. Sin embargo, existen excepciones, como en los invernaderos donde se utilizan abejas para la polinización (por ejemplo, con abejorros en jitomates).

Paso 2. Determine los riesgos en la etapa I de evaluación general. Si se identifica un potencial razonable de exposición al plaguicida, se lleva a cabo una evaluación de riesgos a nivel general. Este paso implica una comparación de los EECs de nivel I, para las vías de exposición oral y de contacto para larvas y abejas adultas (**Recuadros 3a, b, c; Sección 3.1**), contra los niveles de efectos agudos y crónicos de las abejas individuales de nivel I, usando estudios de laboratorio (por ejemplo, Dosis Letal media aguda (DL_{50}) o la Concentración sin Efecto Crónico Adverso Observable (NOAEC, por sus siglas en inglés) (**Sección 1.1**). Los EECs de nivel I pueden estimarse utilizando el modelo Bee-REX (ver **Apéndice 3** para detalles adicionales). El enfoque conservador del valor del RQ de nivel de evaluación general resulta principalmente de las estimaciones de exposición generadas por modelos que, si bien tienen la intención de representar niveles de exposición de relevancia ambiental, son considerados estimaciones extremas. Los valores de RQ agudos y crónicos resultantes (**Recuadros 4a, b, c**) se comparan con el Niveles de preocupación (LOC) para el riesgo agudo y crónico correspondiente (es decir, 0.4 y 1.0, respectivamente). Generalmente, si los valores de RQ están por debajo de sus respectivos LOCs, se presume un riesgo mínimo, ya que los métodos de estimación de riesgo de nivel I están diseñados para ser conservadores. Los evaluadores de riesgos deberán considerar también otras líneas de evidencia en la toma de esta decisión, tal y como se explica en la **Sección 3**. Además, es importante que las incertidumbres relativas a las estimaciones de exposición o toxicidad en el nivel de evaluación general se describan en la sección de discusión de la caracterización del riesgo.

Paso 3. Refine las estimaciones de riesgo del nivel de evaluación general. Si se identifican problemas de riesgo, la evaluación del nivel I se puede refinar usando datos adicionales (**Recuadro 6; Sección 3.1.2**). La estimación inicial del riesgo para el nivel I está diseñado para producir resultados conservadores con el fin de minimizar la aparición de valores falsos negativos. Los refinamientos en estas estimaciones pueden incluir la consideración de datos de residuos de plaguicidas específicos obtenidos en estudios de magnitud de residuos en cultivos que sean relevantes a las abejas o de estudios disponibles que cuantifican los residuos de plaguicidas en el polen y néctar (**Recuadro 9a**). Los valores refinados de RQ, basados en estimaciones depuradas de la exposición, junto a los niveles de efecto toxicológicos en abejas individuales de nivel I, se comparan con los LOCs antes mencionados para determinar el potencial de riesgo (**Recuadro 7**).

Paso 4. Considere las incertidumbres, las opciones de mitigación de riesgo y la necesidad de estimaciones de riesgo del nivel II. Si se identifican riesgos en el nivel I, el evaluador debe tener en cuenta las incertidumbres asociadas a la estimación del riesgo, información de otras líneas de evidencia, y el impacto de las opciones de mitigación de riesgos identificados para el plaguicida en cuestión (**Recuadro 8**). Estas opciones de mitigación de riesgos pueden incluir reducciones en las tasas de aplicación y restricciones en los métodos de aplicación, y el recálculo de las estimaciones de riesgo de nivel I como resultado de una reducción en la carga ambiental. Otras medidas para minimizar la exposición a las abejas

pueden incluir la imposición de restricciones relativas al tiempo o periodo para efectuar las aplicaciones de plaguicidas, así como el tipo de cultivos (las especies) recomendados.

El evaluador también debe considerar si la información sobre la exposición a plaguicidas y los efectos, recolectados usando estudios al nivel II, son necesarios (por ejemplo, estudios sobre residuos en polen y néctar que se describen en el **Apéndice 2**; o estudios de semi-campo de túnel como se describe en la **Sección 3.2.5**). Los estudios de nivel II pueden ser utilizados para identificar opciones de mitigación de riesgos más específicas que las que podrían ser identificadas con base en datos de nivel I. También se pueden utilizar resultados de residuos medidos en polen y néctar (**Recuadro 9a**) para refinar las estimaciones de riesgo del nivel I, como se describió anteriormente. En los estudios de efectos de nivel II se caracterizan los efectos de los plaguicidas a nivel de colonias, como un conjunto, y por lo tanto se reduce la incertidumbre asociada a efectos en las abejas individuales bajo condiciones de laboratorio (estudios de toxicidad de nivel I), con respecto a los efectos examinados en las colonias. Es importante reconocer que los estudios de efectos de nivel II se llevan a cabo en condiciones de semi-campo donde se espera que ocurra una exposición elevada en las colonias. En los estudios de nivel II pueden existir otros estresores, pero también pueden presentarse mecanismos potenciales de compensación de las colonias. Estos estudios deben ser diseñados para corresponder las incertidumbres potenciales identificadas en la evaluación de nivel I o en otras etapas (por ejemplo, en los informes de incidentes). A diferencia del nivel I, la caracterización del riesgo en el nivel II no involucra el cálculo de los valores de RQ *per se* (**Recuadro 10**). Más bien, los riesgos a nivel de la colonia se caracterizan en relación con la tasa de aplicación de plaguicidas o los niveles de residuos medidos (**Sección 3.2.6**). La interpretación de estos estudios de los efectos integrales en las colonias a menudo es mucho más compleja que los estudios de nivel I, y se basa en consideraciones amplias acerca de las posibilidades de que se produzcan efectos adversos en ellas.

Paso 5. Considere las incertidumbres, las opciones de mitigación de riesgo y la necesidad de estudios al nivel III. Basados en los riesgos identificados en las evaluaciones de niveles inferiores, incertidumbres asociadas, y otras líneas de evidencia, el evaluador del riesgo debe considerar el impacto de las opciones de mitigación de riesgos identificadas para el plaguicida (**Recuadro 11**). La necesidad de información más refinada obtenida en el Nivel III deberá determinarse en función de la naturaleza de los riesgos estimados, las incertidumbres asociadas y las opciones de mitigación disponibles. Las opciones de mitigación pueden incluir tasas de aplicación reducidas, disminución en la frecuencia de aplicación, restricciones en las aplicaciones en o cerca del período de floración o eliminación del uso en un cultivo en particular e información a indicarse en la etiqueta. Por ejemplo, los efectos en la capacidad de las colonias para resurgir con éxito en la primavera (como la producción de suficientes crías y abejas adultas después del invierno) puede ser una preocupación, en el caso de algunos plaguicidas y/o aplicaciones, que no suelen considerarse en los niveles inferiores. Los estudios de nivel III son realizados completamente en campo y están diseñados para imitar aplicaciones más reales de los plaguicidas y la exposición a las abejas que se encuentran en el medio ambiente (**Sección 3.2.6; Recuadro 12**). Los estudios de campo suelen ser muy complejos y requieren de un gran esfuerzo para diseñarlos y conducirlos, con el fin de aclarar incertidumbres y riesgos potenciales identificados en los niveles inferiores. Debido a la duración prolongada y la complejidad de estos estudios, otros factores que afectan la supervivencia de colonias (por ejemplo, las enfermedades, las plagas, la nutrición) también pueden afectar su cumplimiento exitoso y su interpretación. De igual manera, en cualquier estudio de campo, el diseño y ejecución de tales estudios es crucial en su interpretación y en la utilidad que puedan tener para la evaluación de riesgos. De la misma forma que en la caracterización del riesgo del nivel II, la caracterización del nivel III considera las múltiples líneas de evidencia disponibles a partir de los niveles inferiores y otras fuentes de información (por ejemplo, la documentación pública) que cumplan con los estándares de la agencia respectiva, para la inclusión en la evaluación de riesgo. Las

conclusiones de esta evaluación se obtienen con base en el peso de las pruebas, las opciones de mitigación disponibles y las incertidumbres en los datos y en los métodos disponibles (**Sección 4**).

En cualquier etapa del proceso de evaluación de riesgos, EPA/PMRA/CDPR pueden determinar que la mitigación de riesgos es apropiada. La decisión de implementar la mitigación del riesgo se basa en el análisis existente y no depende necesariamente de completar los tres niveles del proceso de evaluación de riesgos.

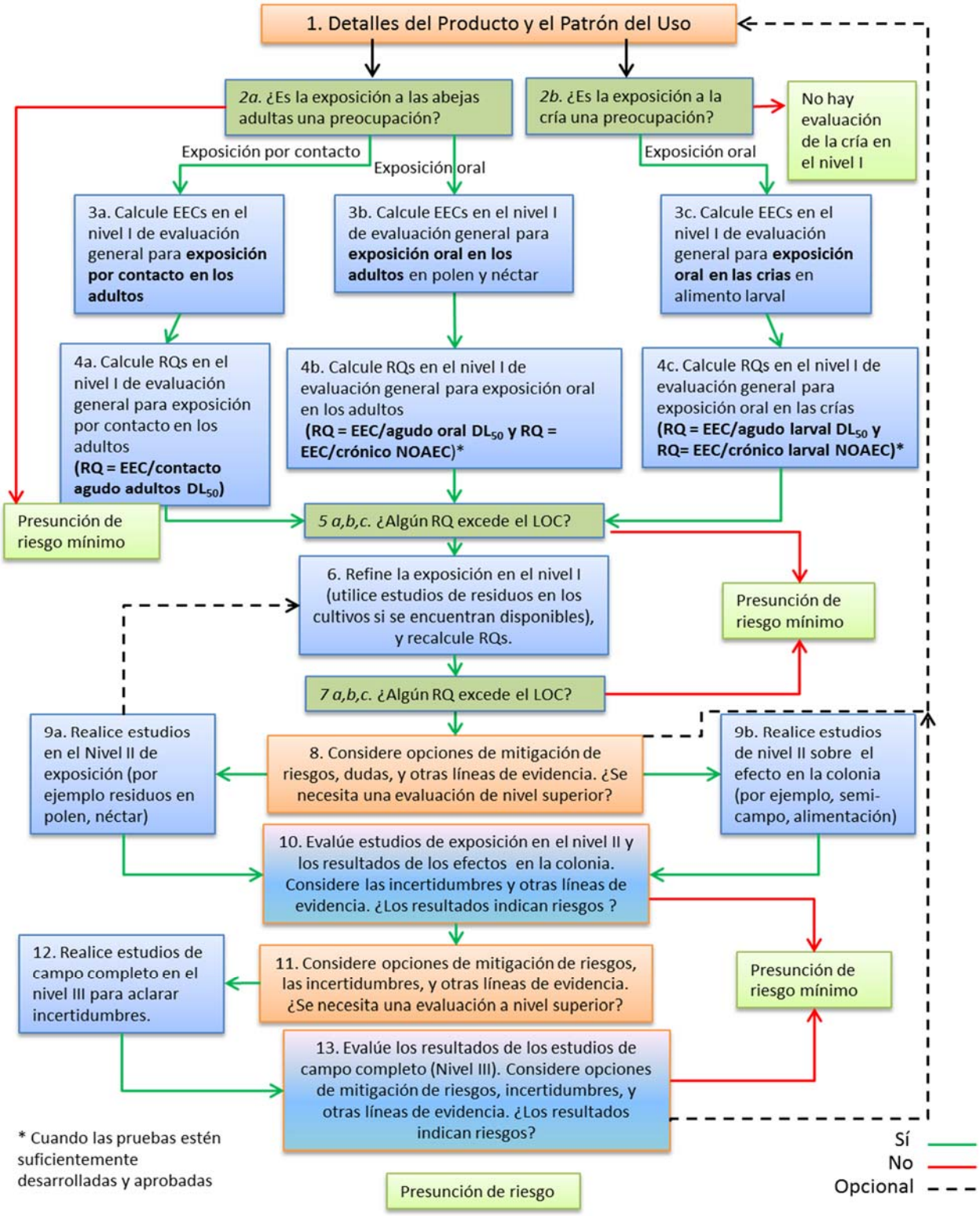


Figura 1. Enfoque por etapas para evaluar el riesgo en abejas melíferas de aplicaciones foliares mediante rocío.

1.2 Aplicación al suelo y tratamiento de semillas

El proceso de evaluación de riesgos para las aplicaciones directas al suelo (por ejemplo, empapado del suelo) y para el tratamiento de semillas es similar al descrito previamente para aplicaciones foliares, excepto que no se evalúa el riesgo de exposición por contacto. Para las aplicaciones al suelo generalmente se asume que, dada la naturaleza de la aplicación al suelo expuesto, la exposición por contacto directo de las abejas con el plaguicida es mínima, aunque puede haber excepciones si las aplicaciones se realizan en pastizales que atraen a las abejas. La exposición por contacto de las abejas no *Apis* (por ejemplo, abejas solitarias y abejas que anidan en el suelo) puede ser significativa para las aplicaciones directas al suelo; sin embargo, el alcance de esta exposición potencial es incierto. También es importante subrayar que se ha documentado la exposición de las abejas a plaguicidas que se han aplicado para el tratamiento de semillas. Dicha exposición se atribuye a la emisión de polvo de la cascarilla de la semilla escarificada bajo ciertas condiciones de siembra; sin embargo, hay varios factores que determinan el grado en que la emisión de este polvo ocurre. Las herramientas de modelación para estimar la exposición bajo estas condiciones no se han desarrollado todavía. La EPA y la PMRA pueden determinar si la implementación de mejores prácticas de manejo, diseñadas para mitigar esta vía de exposición, resulta apropiada. Como se discutió en la sección anterior, la decisión de implementar dichas medidas de mitigación se basa en la evidencia existente y no depende necesariamente de completar los tres niveles de todo el proceso de evaluación de riesgos.

Paso 1. Determinar si las abejas pueden estar expuestas. Como parte de la formulación del problema (**Sección 2**), la información sobre las condiciones de uso del plaguicida (**Recuadro 1, Figura 2**), sus propiedades químicas y las vías de exposición potenciales se evalúan para determinar la necesidad de llevar a cabo una evaluación de riesgos en las abejas. Se debe consultar la información proporcionada por los modelos conceptuales genéricos (**Apéndice 1**). En ausencia de información que indique lo contrario, se parte de la suposición de que los plaguicidas aplicados al suelo y en el tratamiento de semillas son sistémicos y capaces de ser transferidos al polen y néctar. Por lo tanto, se asume generalmente que el tratamiento de semillas y las aplicaciones al suelo y al aire libre tienen un potencial razonable de ocasionar la exposición de las abejas a los plaguicidas (incluidas tanto a las abejas adultas como otros estadios inmaduros) a través del consumo de polen o néctar contaminados.

Paso 2. Calcular riesgos de nivel I como evaluación general. Si se identifica un potencial razonable de exposición a plaguicidas, se lleva a cabo una evaluación general de riesgos de nivel I. Este paso es idéntico al descrito en el paso 2 para la evaluación de las aplicaciones foliares mediante rocío, excepto que las herramientas para modelar la exposición son distintas. Se utilizan diferentes métodos para estimar los residuos de plaguicidas en el polen y el néctar derivados de la aplicación al suelo y el tratamiento de semillas (véase la **Sección 3.1.1**). Por otro lado, la estimación de riesgo, el cálculo de los LOCs y la consideración de múltiples líneas de evidencia son idénticos a los descritos anteriormente.

Todas las etapas posteriores, es decir, el **Paso 3. Refinar las estimaciones de riesgo de nivel I; Paso 4. Considerar incertidumbres, opciones de mitigación de riesgos y necesidad de refinamientos de nivel II y Paso 5. Considerar incertidumbres, opciones de mitigación de riesgo y necesidad de estudios de nivel III,** también son idénticas a las descritas anteriormente.

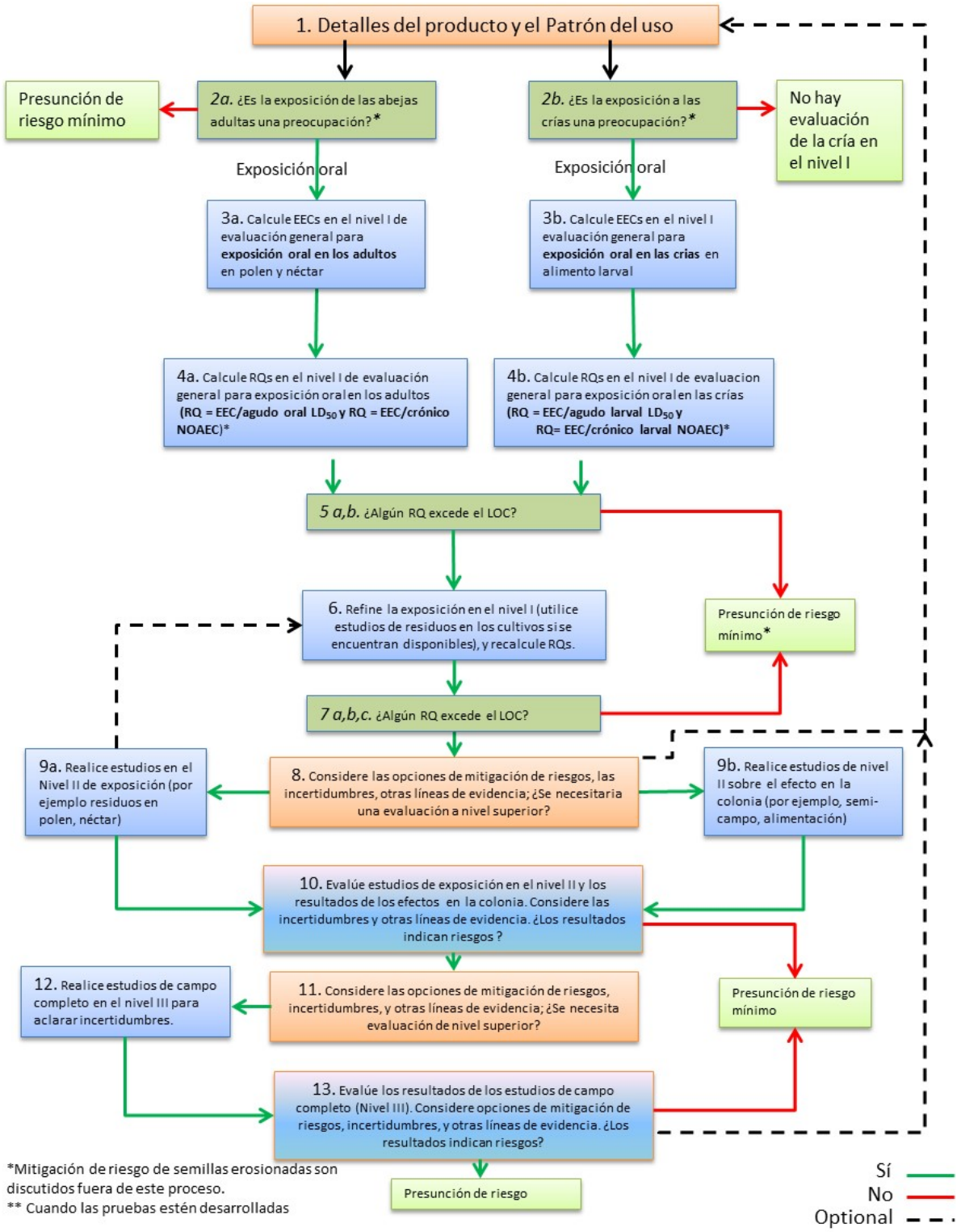


Figura 2. Enfoque por niveles para evaluar el riesgo de las abejas melíferas por tratamientos de suelo/semillas.

2 Formulación de problema

La formulación del problema es un paso crítico en la evaluación de riesgo ecológico y articula, entre otras cosas, los objetivos de protección alrededor de los cuales se lleva a cabo la evaluación. En relación con las abejas, los objetivos de protección incluyen el mantenimiento de los servicios de polinización, la obtención de productos de las colmenas y la biodiversidad (**Tabla 1**). Estos objetivos no se aplican de manera uniforme entre las abejas *Apis* y no-*Apis*; sin embargo, se considera que protegen a las abejas sociales y solitarias, y las abejas melíferas generalmente sirven como subrogado para las abejas no *Apis*. Estos objetivos de protección/manejo, a su vez, determinan respuestas toxicológicas para las que se identifican medidas específicas de evaluación. Idealmente, la formulación del problema debe articular los objetivos de protección/manejo, así como la hipótesis de riesgo, incluyendo cómo estos objetivos pueden verse comprometidos debido al uso o usos propuestos o ya existentes de un plaguicida. El modelo conceptual se utiliza para representar la hipótesis de riesgo en términos del agente estresor, la vía de exposición, el receptor y los cambios en el atributo del receptor de interés. Se han desarrollado una serie de modelos conceptuales genéricos y éstos deben ser adaptados para reflejar, donde sea apropiado, los posibles riesgos a ser evaluados para las abejas. En el documento técnico y en el **Apéndice 1** de esta guía se discuten los modelos conceptuales (por ejemplo; la aplicación foliar de plaguicidas no sistémicos y sistémicos[5], plaguicidas sistémicos aplicados al suelo y en el tratamiento de semillas) para las abejas melíferas, los cuales pueden adaptarse e integrarse fácilmente en modelos conceptuales que incluyan a otros taxones o para que sirvan de modelos conceptuales autónomos.

Tabla 1. Objetivos de protección y ejemplos de parámetros medibles (en poblaciones e individuos) asociados a las respuestas (*endpoints*) obtenidas de los estudios en abejas.

Objetivo de protección	Respuesta (*endpoint*)	Ejemplos de parámetros medibles de las respuestas de las abejas	
		Nivel poblacional o más alto	Nivel individual
Contribución a la biodiversidad de las abejas	La riqueza de las especies[1] y la abundancia	Supervivencia individual de abejas (abejas solitarias), y fortaleza y supervivencia de la colonia (abejas sociales) Riqueza de especies y la abundancia[1]	Ensayos de supervivencia de abejas obreras individuales y de larvas; emergencia de larvas; fecundidad/reproducción de la abeja reina
Prestación de los servicios de polinización	Tamaño de la población[2] y estabilidad de las abejas nativas y las abejas que son manejadas comercialmente	Fortaleza y supervivencia de la colonia; desarrollo de la colonia	Ensayos de supervivencia de abejas obreras individuales y de larvas; fecundidad de la abeja reina; sobrevivencia de las crías,

[5] Dependiendo de las propiedades físico-químicas, los plaguicidas sistémicos pueden moverse dentro de los tejidos vasculares (xilema y / o floema) a los tejidos no tratados de la planta o permanecer distribuidos localmente a través del movimiento extracelular. Por lo tanto, un plaguicida puede ser móvil por la xilema, por la floema, móvil por la xilema y floema, o localmente sistémico.

			longevidad de las abejas obreras
Obtención de productos de la colmena	Cantidad y calidad de los productos generados por la colmena	Cantidad y calidad de los productos generados por la colmena; incluyendo los residuos de plaguicidas en la miel/cera	Ensayos de supervivencia de abejas obreras individuales y de larvas; fecundidad/reproducción de la abeja reina; emergencia de larvas

[1] El uso de las abejas melíferas como subrogado de otros insectos polinizadores tiene limitaciones; sin embargo, se asume que de igual modo con todos los subrogados, los datos sobre los organismos individuales, así como los datos a nivel colonia, proporcionen información relevante sobre los efectos potenciales de un plaguicida en ambos: abejas solitarias, así como taxones "eusociales". Además, la protección de las abejas melíferas podría contribuir indirectamente a la diversidad de polinizadores, preservando la propia polinización y la propagación de las especies de plantas que son polinizadas por las abejas de miel, las que a su vez también sirven como fuentes de alimento para otros insectos polinizadores.

[2] Para las abejas manejadas por apicultores, el tamaño de la población puede incluir el número de colonias.

Para la mayoría de los plaguicidas utilizados en un entorno agrícola, las vías de exposición predominantes son por la dieta (es decir, el consumo de néctar y polen) y el contacto (rociado directo). La exposición debida a la fase de vapor de un plaguicida, con excepción de los fumigantes, es relativamente pequeña en comparación con la dieta y el contacto. Además, la importancia de la exposición a través del consumo de agua potable, en relación con la exposición por la alimentación o el contacto, está bajo investigación[6]. Para los plaguicidas que se aplican a las semillas, la exposición a emisiones de polvo de las semillas tratadas durante la siembra también puede ser motivo de preocupación. La medida en que las abejas melíferas están expuestas a través de contacto con el polvo de las semillas escarificadas está determinada por muchos factores, incluyendo las propiedades físico-químicas de la capa protectora de las semillas, el equipo utilizado para la siembra (por ejemplo, sembradoras de precisión), el uso de agentes que facilitan la aplicación (por ejemplo, talco o grafito), las condiciones ambientales (velocidad del viento, humedad), la existencia de flores cercanas al área de siembra y la ubicación de la colmena en relación con el área de siembra. Como reconoció el FIFRA SAP, la producción de polvo durante la siembra se debe disminuir en lo posible, con la finalidad de minimizar la exposición de las abejas; otras consideraciones y evaluaciones de riesgo deben ser completadas con una base química específica.

La pregunta principal que los evaluadores de riesgo deben abordar inicialmente es si, dado el uso o usos existentes o propuestos y las propiedades fisicoquímicas de un plaguicida, es probable que se produzca la exposición de las abejas por un cultivo tratado o como resultado de la dispersión del plaguicida hacia las malezas en floración dentro del cultivo o hacia la vegetación en floración cercana al cultivo. Si la exposición no es probable para las abejas, entonces la formulación del problema debe indicarlo, y el modelo conceptual debe mostrar por qué la exposición se considera poco probable. Cuando la exposición no puede ser impedida, la formulación del problema debe identificar la información disponible sobre la exposición y los efectos que serán considerados para apoyar la evaluación de riesgos a nivel de evaluación general. Si durante la evaluación del riesgo, nuevos refinamientos son necesarios, la hipótesis de riesgo, el modelo conceptual y el plan de análisis se pueden cambiar para identificar más datos de exposición y efectos a ser evaluados. De esta manera se refleja la naturaleza iterativa del proceso de evaluación de riesgos.

[6]Esta investigación considera las recomendaciones proporcionadas por el FIFRA SAP con respecto al modelo utilizado para estimar la importancia relativa del agua potable como una vía de exposición significativa. Actualmente se está completando un análisis exhaustivo del modelo utilizado para estimar las concentraciones de plaguicidas en los charcos.

El uso de las abejas melíferas como subrogado de otros insectos polinizadores tiene limitaciones; sin embargo, de manera similar a todos los subrogados, los datos sobre los organismos individuales, así como los datos a nivel de colonia, proporcionan información relevante sobre los efectos potenciales de un plaguicida, tanto en las abejas solitarias como en las sociales. Además, la protección de las abejas podría contribuir indirectamente a la diversidad de polinizadores para la preservación de diversas especies de plantas que son polinizadas por las abejas, y que también sirven como fuentes de alimento para otros insectos polinizadores. En la evaluación de los riesgos potenciales específicos para las abejas melíferas, los polinizadores comerciales más importantes, los objetivos de protección de los servicios de polinización y de obtención de productos de las colmenas (por ejemplo, la miel y la cera) son rápidamente estimados a través de la medición del tamaño de la población y la estabilidad (por ejemplo, la presencia de una reina, el patrón uniforme de las crías) de la colonia, y a través de valoraciones directas e indirectas de la cantidad y la calidad de los productos de la colmena (**Tabla 1**). Como tal, la sensibilidad de las larvas o adultos individuales de las abejas melíferas, basada en estudios de laboratorio de toxicidad aguda y crónica, sirven como medidas razonables para las evaluaciones generales de los posibles efectos adversos sobre la vitalidad, la supervivencia y la capacidad de la colonia para elaborar cualquier producto. Si bien estos criterios y tipos de respuestas se analizan para las colonias de abejas melíferas cultivadas, también se aplican a las colonias de abejas salvajes y, en ausencia de datos específicos, a otras abejas. Estas respuestas proporcionan además información útil para evaluar la supervivencia y el desarrollo de las abejas solitarias y los efectos potenciales sobre la riqueza y la biodiversidad de especies de abejas. En la medida en que los datos estén disponibles para otras especies, como abejorros (por ejemplo, *Bombus terrestris*), abejas azules del huerto (*Osmia lignaria*) y abejas cortadoras de hojas de alfalfa (*Megachile rotundata*), estas especies también pueden ser consideradas en la evaluación del riesgo. Como se discutió en el documento técnico, la información disponible para abejorros, abejas azules del huerto y abejas cortadoras de hojas de alfalfa, indica que la evaluación del riesgo general basada en los efectos en abejas individuales, posibilita la protección a estas tres especies; sin embargo dado que fue realizado de manera específica para ciertos plaguicidas, es necesario determinar si es aplicable al producto químico en cuestión.

3 Fase de análisis

La fase de análisis consiste en la caracterización de la exposición y de los efectos en las abejas. El enfoque por niveles, desde el más conservador (correspondiente al nivel I) hasta los más realistas en los niveles superiores (niveles II y III), debe ser considerado al momento de establecer los requisitos de información y durante la evaluación de riesgos. Los diagramas de flujo en las **figuras 1 y 2** representan los pasos que se deben seguir en esta caracterización.

3.1 Caracterización de la exposición

3.1.1 Estimación de exposición del nivel I

La exposición dietaria y por contacto se estima por separado, utilizando diferentes enfoques que son específicos para los diferentes métodos de aplicación. La **Tabla 2** resume los métodos utilizados para derivar los EECs de nivel I a través de las rutas dietaria y de contacto, como resultado de la exposición derivada de la aplicación foliar, el tratamiento de suelo y semillas y por inyecciones a los troncos de árboles. Estas EEC se calculan utilizando el modelo Bee-REX.

En el nivel I, la exposición a plaguicidas se calcula con base en las castas de abejas melíferas conocidas por su elevado consumo de alimento. Para las larvas, las tasas de consumo de alimentos se calculan considerando una edad de 5 días, ya que este es el periodo de su ciclo de vida en el que consumen la mayor cantidad de alimento. Para las abejas adultas, la evaluación general se basa en las abejas forrajeras, quienes consumen la mayor cantidad de alimento (polen y néctar) en comparación con otras abejas obreras adultas. Se asume que este valor será comparable a las tasas de consumo de los zánganos adultos y que también servirá para proteger a las reinas adultas. Aunque la reina consume más alimentos que las obreras adultas y los zánganos, se considera, basados en datos disponibles en la actualidad, que el alimento que consume contiene concentraciones de plaguicidas varios ordenes de magnitud menores que el alimento consumido por los obreros, ya que la reina solo se nutre con un alimento procesado, conocido como jalea real. Como se describe en el documento técnico, el néctar es la principal fuente de alimento para las abejas forrajeras, así como las abejas nodrizas. Por lo tanto, los residuos de plaguicidas en el néctar probablemente representan la mayor contribución a la exposición para las abejas, y pueden representar el mayor potencial de riesgo para las abejas adultas. Sin embargo, si los residuos en el polen son una preocupación, la exposición a las abejas nodrizas, que consumen más polen que cualquier otra abeja adulta, debe ser considerada. Este sería el caso en el que las concentraciones de plaguicidas en el polen fueran mucho mayores que en el néctar, o cuando estas concentraciones fueran elevadas en los cultivos que actúan como fuentes principales de polen para las abejas. Por lo tanto, cada caso se debe evaluar individualmente. De hecho, el modelo Bee-REX permite el cálculo de RQ para todo tipo de castas de abejas.

Para representar la concentración del plaguicida en el polen y el néctar, en el caso de productos químicos sin datos empíricos, la exposición dietaria para la evaluación del riesgo de nivel I se calcula utilizando los datos genéricos de residuos obtenidos para otras sustancias químicas, así como para otras partes de la planta. En las aplicaciones foliares asociadas a exposición dietaria, se asume que los residuos de plaguicidas en pastos altos (a partir del nomograma Kenaga de T-REX que se incorpora en Bee-REX) son un subrogado adecuado para los residuos en el polen y el néctar de las flores que son rociadas directamente. Para aplicaciones de suelo, se asume que las concentraciones de plaguicidas en el polen y en el néctar son consistentes con las concentraciones en el xilema de la cebada (calculados a partir del modelo de Briggs). Para el tratamiento de semillas, las concentraciones de plaguicidas en el polen y el néctar se basan en las concentraciones en las hojas y tallos de las plantas tratadas (basadas en el valor predeterminado por la Organización Europea y Mediterránea de Protección de Plantas (EPPO por sus siglas en inglés) que es discutido en el documento técnico, y se consideran iguales a 1 miligramo por kilogramo (mg/kg) o 1 parte por millón (ppm). Los detalles adicionales sobre estos métodos se encuentran en el documento técnico y en la guía del usuario de T-REX. Los métodos para inyecciones en troncos de árbol aún están en desarrollo, como se analiza en el documento técnico; sin embargo, uno de los enfoques incluidos estima las tasas de aplicación en función del peso del follaje (**Tabla 2**).

El procedimiento de nivel I pretende generar estimaciones "razonablemente conservadoras" de la exposición a plaguicidas para las abejas melíferas, cuando no hay valores de residuos confiables disponibles (por ejemplo, los valores de residuos medidos en el polen o néctar). Como se observa en la **Tabla 2** (columna derecha), las estimaciones de exposición para aplicaciones foliares se derivan de la Tasa de Aplicación (AR, por sus siglas en inglés) que se está evaluando. Cuando los usuarios utilicen el modelo deben seguir las indicaciones sobre los parámetros que aparecen en la guía del usuario de Bee-REX.

Tabla 2. Resumen de las estimaciones de exposición por contacto y dietaria, utilizadas para aplicaciones foliares, tratamiento de suelo y de semillas y las inyecciones en troncos de árbol, de plaguicidas para las evaluaciones de riesgo de nivel I.

Respuesta (endpoint)	Ruta de exposición	Estimación de exposición*
Aplicación foliar		
Sobrevivencia individual (adultos)	Contacto	AR_{USA} (2.7 μg a.i./abeja) $AR_{Canadá}$*(2.4 μg a.i./abeja)
Sobrevivencia individual (adultos)	Dietaria	AR_{USA} *(110 μg a.i /g)*(0.292 g/ día) $AR_{Canadá}$ *(98 μg a.i /g)*(0.292 g/ día)
Tamaño y sobrevivencia de las crías	Dietaria	AR_{USA} *(110 μg a.i /g)*(0.124 g/día) $AR_{Canadá}$ *(98 μg a.i /g)*(0.124 g/día)
Tratamiento de suelos		
Sobrevivencia individual (adultos)	Dietaria	(Briggs EEC)*(0.292 g/ día)
Tamaño y sobrevivencia de las crías	Dietaria	(Briggs EEC)*(0.124 g/ día)
Tratamiento de semillas		
Sobrevivencia individual (adultos)	Dietaria	(1 μg a.i /g)*(0.292 g/ día)
Tamaño y sobrevivencia de las crías	Dietaria	(1 μg a.i /g)*(0.124 g/ día)
Aplicaciones de Tronco[++]		
Sobrevivencia individual (adultos)	Dietaria	(μg a.i. aplicado al árbol/g de follaje)*(0.292 g/día)
Tamaño y sobrevivencia de las crías	Dietaria	(μg a.i. aplicado al árbol/g de follaje)*(0.124 g/día)

AR_{USA} = Tasa de aplicación lbs a.i./A; $AR_{Canadá}$ = tasa de aplicación kg a.i./ha
[*]Basado en las tasas de consumo de alimentos para larvas (0.124 g/día) y las abejas obreras adultas (0.292 g/ía) y la concentración en el polen y néctar.
[++] Note que las estimaciones de concentración para aplicaciones de tronco son específicas para el tipo y la edad del cultivo al que se aplica el producto químico.

En el enfoque del nivel I se asume que todos los plaguicidas aplicados para tratar el suelo o las semillas y para inyectar los troncos pueden ser transportados por vía sistémica. Esta suposición puede ser refutada mediante datos como el Log K_{OW} (Ryan *et al.* 1988) y con los datos de monitoreo (por ejemplo, estudios de rotación de cultivos). El transporte de un plaguicida químico por vía sistémica en las plantas podría ser confirmado mediante datos empíricos presentados a la EPA, PMRA y CDPR (por ejemplo, estudios de metabolismo de las plantas); sin embargo, son los solicitantes del registro del plaguicida los que deben someter datos suficientes para demostrar que éste no es sistémico.

3.1.2 Refinamientos de las estimaciones de exposición de nivel I

En los casos donde los RQs excedan el LOC (discutido abajo), las estimaciones de la exposición pueden ser refinadas usando concentraciones medidas de plaguicidas en el polen y el néctar de los cultivos tratados, y también utilizadas para otras castas de abejas que consumen esos mismos productos como alimento (véase la **Tabla 3**).

Como se discutió en la **Sección 3.1.1**, la exposición estimada más conservadora (el valor más alto) para las vías de exposición por contacto o dietaria son seleccionadas para el nivel I de evaluación general. Estas estimaciones de la exposición se basan en los efectos observados en las abejas adultas y en las larvas que tienen las tasas más altas de consumo de alimentos. El modelo Bee-REX también calcula los valores de la exposición dietaria y los RQs asociados a las larvas de diferentes edades, las obreras adultas con diferentes tareas (y requerimientos energéticos asociados) y la reina. Esto se logra usando las tasas de consumo de alimento proporcionadas en la **Tabla 3**. Estas tasas de consumo de alimento se basan en el trabajo descrito en el documento técnico (USEPA, PMRA, CDPR 2012)[7] y que se ha actualizado para reflejar los comentarios del SAP. Los valores de exposición para otros grupos de abejas junto con sus RQs se pueden utilizar para caracterizar los riesgos de la exposición dietaria de diferentes abejas dentro de la colmena.

Los datos empíricos pueden utilizarse para refinar la exposición estimada más conservadora y reducir las incertidumbres asociadas a la evaluación de la exposición de nivel I ya que proporcionan medidas directas de las concentraciones de plaguicidas resultantes al utilizar situaciones de uso más reales. Los estudios para investigar las concentraciones de plaguicidas en el polen y el néctar deben estar diseñados para proporcionar datos sobre los residuos en los cultivos y métodos de aplicación. El **Apéndice 2** incluye consideraciones relacionadas con la cuantificación de residuos de plaguicidas en el polen y el néctar utilizando estudios específicos de plaguicidas.

[7] USEPA, PMRA, CDPR (2012) White paper in support of the proposed risk assessment process for bees. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, Oficina de Programas de Plaguicidas, Washington DC. Salud Canadá Agencia de Regulación de Manejo de Plagas, Ottawa. Departamento de Regulación de Plaguicidas de California, Sacramento, CA.

Tabla 3. Estimación de las tasas de consumo de alimento de las abejas.

Etapa de vida	Casta (tarea en la colmena[a])	Edad media (en días)[a]	Tasa de consumo diario (mg/día)			
			Jalea	Néctar[b]	Polen	Total
Larva	Obrera	1	1.9	0	0	1.9
		2	9.4	0	0	9.4
		3	19	0	0	19
		4	0	60 [c]	1.8[d]	62
		5	0	120 [c]	3.6[d]	124
	Zángano	6+	0	130	3.6	134
	Reina	1	1.9	0	0	1.9
		2	9.4	0	0	9.4
		3	23	0	0	23
		4+	141	0	0	141
Adulta	Obrera (limpieza de celda y tapado)	0-10	0	60[f]	1.3 - 12[g,h]	61 - 72
	Obrera (cría y cuidado de la reina, abejas nodrizas)	6-17	0	113 - 167[f]	1.3 - 12[g,h]	114 - 179
	Obrera (construcción de la colmena, limpieza y manipulación de alimentos)	11-18	0	60[f]	1.7[g]	62
	Obrera (Forrajera de polen)	>18	0	35 - 52[f]	0.041[g]	35 - 52
	Obrera (Forrajera de néctar)	>18	0	292 (media)[c]	0.041[g]	292
	Obrera (mantenimiento de la colmena en invierno)	0-90	0	29[f]	2[g]	31
	Zángano	>10	0	133 - 337 [c]	0.0002[c]	133 - 337
	Reina (pone 1500 huevos/día)	Toda la etapa de vida	525	0	0	525

[a] Winston (1987)
[b] El consumo de la miel se convierte en equivalentes de néctar, utilizando el contenido de azúcar en la miel y el néctar
[c] Calculado como se describe en este documento.

[d] Simpson (1955) and Babendreier *et al*. (2004)
[e] Las tasas de consumo de polen para las larvas de zángano son desconocidas. Las tasas de consumo de polen para las larvas de los obreros se utilizan como sustituto.
[f] Basado en las tasas de consumo de azúcar de Rortais *et al.* (2005). Se asume que el contenido promedio de azúcar del néctar es de 30%.
[g] Crailsheim *et al.* (1992, 1993)
[h] Pain and Maugenet 1966

3.2 Caracterización de efectos

3.2.1 Requisitos de la USEPA para los estudios de toxicidad en abejas

1. Los datos requeridos por USEPA para los estudios en polinizadores actualmente se especifican en el Título 40 (Protección del Medio Ambiente) del Código de Regulaciones Federales, Parte 158 (Requisitos de Datos para Plaguicidas) Subparte G (Efectos Ecológicos) § 158.630 (Tabla de Datos Requeridos para los Organismos Terrestres y Acuáticos No Blanco).[8] Cuando se cumplen ciertos criterios o patrones en el uso de plaguicidas, los requisitos de prueba actuales para las abejas melíferas incluyen el estudio de toxicidad aguda por contacto (Guía OCSPP 850.3020)[9], el estudio de toxicidad de los residuos de plaguicidas en el follaje (Guía OCSPP 850.3030)[10] y el estudio de campo en polinizadores (Guía OCSPP 850.3040)[11]. El estudio de toxicidad aguda por contacto se debe llevar a cabo con el ingrediente activo o plaguicida grado técnico (TGAI) para usos terrestres, silvicultura y residenciales al aire libre; y está condicionalmente requerido para plaguicidas con usos acuáticos, como en los estudios de nivel I realizados en condiciones de laboratorio. Si los resultados del estudio de toxicidad aguda por contacto indican que un plaguicida tiene una dosis letal media aguda (DL_{50}) menor de (<) 11 microgramos (µg) por abeja y el patrón de uso indica que las abejas pueden estar expuestas, entonces se requiere el estudio de toxicidad de los residuos del plaguicida en el follaje, que sea realizado en el laboratorio utilizando el producto típico de consumo final (TEP). Si se cumple cualquiera de las siguientes condiciones, como se especifica en el CFR40 § 158.630[12], se requiere un estudio de campo en polinizadores.

   - Los datos de otras fuentes (Programa de Permiso de Uso Experimental, investigaciones realizadas por universidades, estudios sometidos por los registrantes, *etc.*) que indiquen un potencial de efectos adversos en las colonias, especialmente otros efectos además de la mortalidad aguda (reproductivos, de comportamiento, *etc.*); los datos en los estudios de toxicidad residual indiquen efectos tóxicos prolongados; o los datos derivados de estudios con artrópodos terrestres distintos de las abejas indiquen un potencial de efectos crónicos, reproductivos o de comportamiento.

[8] CFR40. 2011. Part 158, subpart G, §158.630 http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr;sid=fe712efed37d095118c7637457e011b3;rgn=div5;view=text;node=40%3A23.0.1.1.9;idno=40;cc=ecfr#40:23.0.1.1.9.7
[9] USEPA. 1996*a*. Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.3020. Honey Bee Acute Contact Toxicity. EPA 712-C-96-147. http://www.epa.gov/ocspp/pubs/frs/publications/OPPTS_Harmonized/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines/Drafts/850-3020.pdf
[10] USEPA 1996*b*. Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.3030. Honey Bee Toxicity of Residues on Foliage. EPA 712-C-96-148. http://www.epa.gov/ocspp/pubs/frs/publications/OPPTS_Harmonized/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines/Drafts/850-3030.pdf
[11] USEPA 1996c. Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.3040. Field Testing for Pollinators. EPA 712-C-96-150. http://www.epa.gov/ocspp/pubs/frs/publications/OPPTS_Harmonized/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines/Drafts/850-3040.pdf
[12] *Ibid* CFR40 2011.

- Los estudios de campo buscan representar las condiciones reales y son considerados estudios de toxicidad de nivel III. El diseño de los estudios de campo para polinizadores ha variado considerablemente en el pasado; por lo tanto, los elementos en el diseño del estudio, que son consistentes con la hipótesis que se está probando, deben ser identificados de antemano y tomados en cuenta en el desarrollo del protocolo del estudio. El **Apéndice 4.** Consideraciones de los estudios de campo a nivel III incluye algunos elementos genéricos del diseño de estudios.

3.2.2 Guía adicional de USEPA para el estudio de polinizadores

Además del estudio de toxicidad por contacto en abejas melíferas adultas, identificado en el 40 CFR158, se recomiendan varios estudios adicionales para apoyar la evaluación de nivel I, como se indica en la

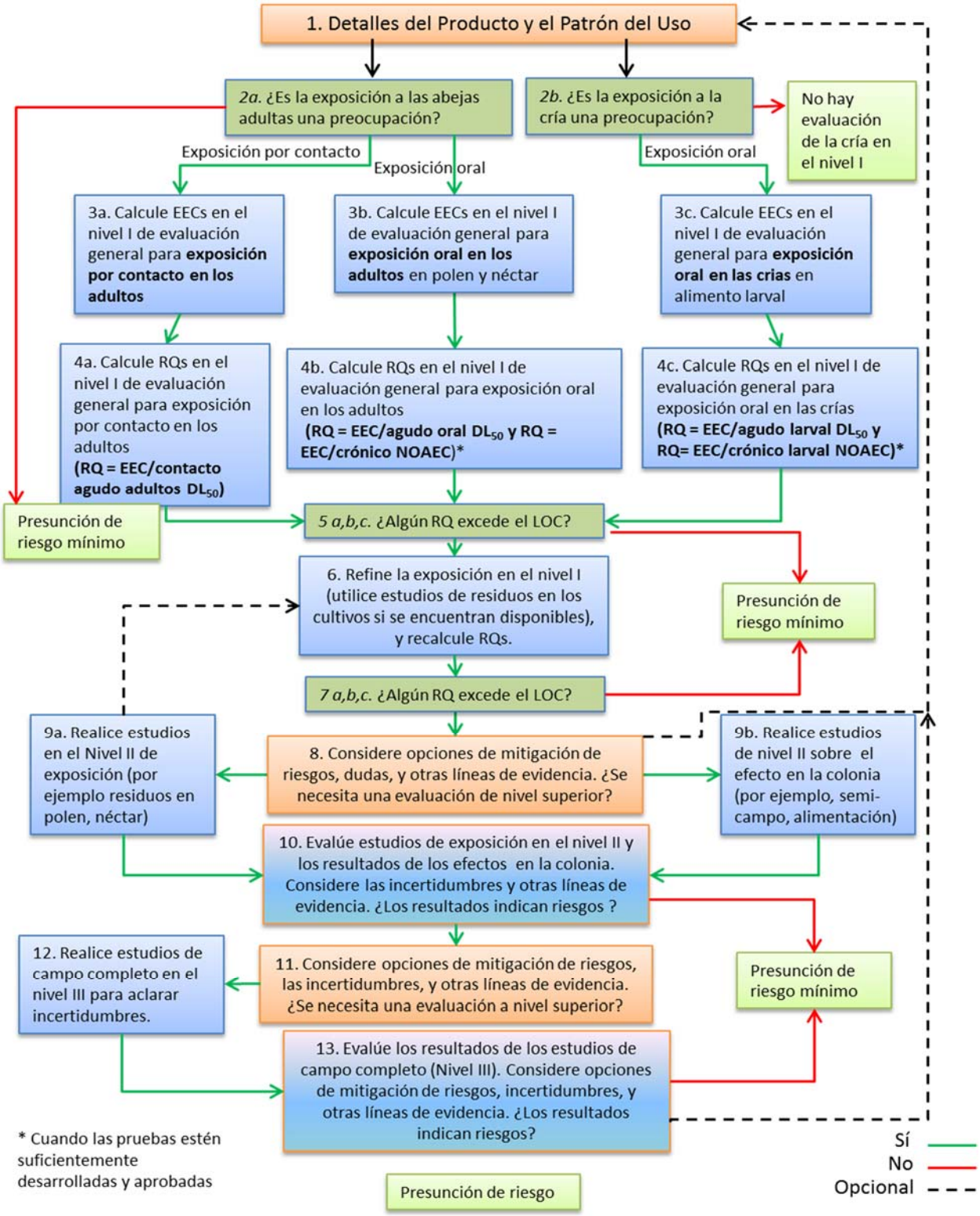


Figura 1 y **Figura 2** y como se explica en el documento técnico. Estos estudios incluyen:

• Toxicidad oral aguda en abejas adultas.
• Toxicidad oral aguda en larvas de abejas.
• Toxicidad oral crónica en abejas adultas.
• Toxicidad oral crónica en larvas de abejas.

Aunque la USEPA no ha preparado guías para estos estudios, la OECD ha desarrollado la guía formal para el estudio de toxicidad oral aguda en abejas melíferas adultas (OECD 213)[13], así como una la guía para el estudio de toxicidad oral aguda en larvas de abejas melíferas (OECD 237)[14]. Como se señala en el documento técnico, la OECD también ha desarrollado guías para evaluar la toxicidad aguda por contacto en abejas adultas (OECD 214)[15], que pueden proporcionar datos suficientes para cumplir el requisito de prueba de toxicidad por contacto para abejas adultas 40CFR158 solicitado por la USEPA (850.3020). Actualmente, la OECD está desarrollando una guía para el estudio crónico (de dosis repetida) para evaluar la toxicidad oral en las larvas de abejas, al igual que una guía para evaluar la toxicidad oral crónica (10 días) para las abejas adultas. En situaciones en donde no existen guías oficiales, se deben identificar los datos necesarios para manejar las incertidumbres específicas con respecto a la posibilidad de que se presenten efectos adversos. Estos estudios deben ser recomendados como "estudios especiales" y deben hacer referencia a las guías apropiadas de la OECD y/u otras guías aplicables. Por lo general, los estudios recomendados como "especiales" (por ejemplo, los estudios de toxicidad aguda oral en adultos y larvas) tienen como objetivo aclarar incertidumbres específicas y deberá incluirse una justificación de los motivos para realizarlos en las recomendaciones sobre los datos requeridos.

Los estudios de semi-campo (por ejemplo, los estudios de túnel) y de campo se han englobado con frecuencia en la misma categoría de estudios de campo para polinizadores, considerados en los requisitos 850.3040 de la USEPA. Como se indicó en el documento técnico, la OECD ha elaborado guías para las pruebas de semi-campo (por ejemplo, la OECD 75)[16] y está realizando esfuerzos para perfeccionar y estandarizar los métodos para realizar dichas pruebas. Como se discutió previamente, los estudios del Nivel III de abejas de libre forrajeo son frecuentemente requeridos para aclarar incertidumbres específicas, identificadas en los estudios de nivel inferior o con base en múltiples líneas de evidencia. Por lo tanto, los métodos utilizados en estos estudios, que se describen de forma genérica en los requisitos 850.3040 de la USEPA, probablemente sean específicos para ciertos compuestos químicos o usos, y para ellos se proporciona orientación en esta guía (véase **Apéndice 4.** Consideraciones de los estudios de campo a nivel III) sobre los elementos que se deben tener en cuenta al recomendar/evaluar este tipo de estudios.

---

[13] OECD. 1998*a*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Honeybees, Acute Oral Toxicity Test. 213. http://lysander.sourceoecd.org/vl=5988235/cl=12/nw=1/rpsv/cgi-bin/fulltextew.pl?prpsv=/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s14/p1.idx

[14] OECD. 2013. OECD Guidelines for Testing Chemicals. Honey bee (*Apis mellifera*) larval toxicity test, single exposure.. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-237-honey-bee-apis-mellifera-larval-toxicity-test-single-exposure_9789264203723-en

[15] OECD.1998*a*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Test Number 214, Acute Contact Toxicity Test. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-214-honey bees-acute-contact-toxicity-test_9789264070189-en;jsessionid=43gvto47wnue9.delta

[16] OECD 2007. Guidance document on the honey bee (*Apis mellifera*) brood test under semi-field conditions. OECD Environment, Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 75. ENV/JM/MONO (2007) 22.

La decisión de recomendar los datos de toxicidad en abejas debe considerar varios factores, entre ellos el patrón de uso y las propiedades químicas de los plaguicidas, y la naturaleza de las incertidumbres basadas en los datos existentes para el compuesto químico o compuestos químicos con estructura similar. Por ejemplo, los estudios de toxicidad de nivel I se limitan generalmente a los patrones de uso al aire libre, aunque algunos de los usos en invernadero también pueden justificar la realización de pruebas cuando las plantas son polinizadas comercialmente (por ejemplo, en el caso de abejorros que polinizan cultivos de jitomate). Como se discutió en el documento técnico y en esta guía, si la exposición no se considera probable, entonces la realización de las pruebas de toxicidad puede no estar justificada en absoluto o más allá de los datos de la evaluación general de nivel I. Si se determina que un uso particular no da lugar a la exposición de las abejas, entonces se debe desarrollar una justificación adecuada para apoyar esta decisión. Sin embargo, pueden ser necesarios los datos de toxicidad utilizando el TEP además de datos sobre TGAI si hay evidencias que indiquen que un producto formulado de uso final es potencialmente más tóxico que el ingrediente activo de grado técnico y que las abejas pueden entrar directamente en contacto con el TEP intacto.

La necesidad de considerar datos adicionales debe ser documentada con base en cualquier información que haya sido identificada y debe considerar múltiples líneas de evidencia. Esto puede incluir datos que estén disponibles sobre otros plaguicidas de estructura química similar y con modos de acción comunes, para economizar esfuerzos y limitar, en la medida de lo posible, la necesidad de realizar pruebas con animales que en última instancia pueden llegar a ser redundantes.

Si bien esta guía articula una progresión por niveles de los datos de exposición y de efectos, las agencias se reservan el derecho de pedir datos en el orden que sea más relevante para las necesidades de manejo de riesgos, teniendo en cuenta las múltiples líneas de evidencia que estén disponibles.

3.2.3 Requisitos de PMRA para los estudios de toxicidad en abejas

La PMRA solicita estudios de toxicidad aguda oral y por contacto para abejas melíferas cuando existe la posibilidad de exposición de los insectos polinizadores. También solicita estudios a nivel de las colonias cuando hay un potencial de exposición para éstas y de efectos en las crías y en el desarrollo de las colonias. Los estudios de toxicidad aguda, junto con los estudios a nivel de colonias, incluidos los de nivel II de semi-campo y los de nivel III de campo, normalmente se incorporan en la evaluación del riesgo para los insectos polinizadores. Con base en el Marco de Evaluación de Riesgos de Polinizadores del SAP, se recomienda llevar a cabo estudios adicionales para apoyar dicha evaluación cuando se considere una exposición probable. Éstos incluyen estudios de toxicidad crónica en larvas y abejas adultas por vía oral. Los estudios para insectos polinizadores normalmente no se solicitan para las categorías de uso por sitio en las que su exposición no se considera probable. En general, los estudios de nivel I deben llevarse a cabo en condiciones controladas de laboratorio, utilizando el TGAI; mientras que los estudios con productos formulados de uso final pueden utilizarse como complemento a la información del TGAI. Además, puede ser necesaria la información sobre los productos de transformación potencialmente tóxicos. Los estudios de nivel II y III deben realizarse bajo condiciones más realistas utilizando TEP. Un procedimiento por etapas o niveles se debe utilizar para cumplir con estos requerimientos de información; cuando se identifica un riesgo a un nivel inferior, se deberán realizar los estudios de nivel superior para afinar la evaluación de riesgos. Además, si la información disponible, como las investigaciones científicas y la literatura publicada indica la posibilidad de efectos adversos en los insectos polinizadores o sus colonias, entonces los estudios de nivel superior u otros específicos pueden ser necesarios para aclarar incertidumbres.

Los datos sometidos a PMRA para otros artrópodos no blanco (depredadores y parasitoides) también pueden ser considerados en la evaluación de riesgos para los insectos polinizadores.

En general, se pueden requerir los siguientes estudios para evaluar el riesgo para los insectos polinizadores:

- Estudios de nivel I de insectos polinizadores:
    - Toxicidad aguda por contacto en abejas adultas
    - Toxicidad oral aguda en abejas adultas
    - Toxicidad de larvas
    - Toxicidad oral crónica en abejas adultas
- Estudios de niveles superiores y otros estudios de insectos polinizadores:
    - Estudio de los efectos de los residuos de plaguicidas en los insectos polinizadores
    - Estudio de semi-campo para los insectos polinizadores
    - Estudio de campo para los insectos polinizadores
    - Toxicidad para las abejas de los residuos de plaguicidas en el follaje
    - Otros estudios en insectos polinizadores

3.2.4 Caracterización de los efectos de nivel I

3.2.4.1 Estudios agudos orales y por contacto

Los estudios de toxicidad aguda en abejas, tanto en adultos como en larvas, examinan los efectos a corto plazo del plaguicida de interés después de una exposición breve; mientras que las pruebas de toxicidad crónica normalmente examinan múltiples exposiciones (dosis repetidas o continuas) con un largo período de observación. Los estudios de toxicidad aguda o crónica oral y por contacto deben llevarse a cabo según las guías disponibles descritas en las secciones anteriores. En los casos en los que las guías no estén disponibles, ya sea en América del Norte o por medio de la OECD, los protocolos para llevar a cabo estos estudios deben ser revisados y aprobados antes de iniciarlos. Idealmente, estos protocolos aprobados deben estar disponibles para ser revisados por otros evaluadores de riesgos que intentan clarificar incertidumbres similares.

Típicamente, el indicador para evaluar la respuesta derivada de los estudios de toxicidad aguda oral y por contacto es la dosis letal media para el 50% de los organismos de prueba (DL_{50}). *A. mellifera* se utiliza como un subrogado para evaluar los riesgos para las abejas; sin embargo, dependiendo de las circunstancias que determinen qué datos son necesarios, los evaluadores de riesgo pueden ser flexibles al determinar cuáles especies y estudios son más relevantes.

Todo efecto biológico y respuestas anormales, incluidos los efectos sub-letales, distintos a la mortalidad, deben ser reportados durante los estudios agudos orales y por contacto, de acuerdo a las guías correspondientes. En la medida en que las respuestas concuerden con las dosis administradas, se debe considerar la posibilidad de calcular una Dosis Efectiva media (DE_{50}), además de la DL_{50}, si los datos permiten tal análisis. De otra manera, la evaluación del riesgo deberá tener en cuenta la existencia de tendencias en las respuestas sub-letales medidas a través de los niveles de tratamiento.

Aunque pueda ser posible estimar tanto una concentración de efectos adversos no observables (NOAEL) como una DE_x o DL_x a partir de los estudios de toxicidad aguda realizados en laboratorio, es importante tener en cuenta las diferencias entre los estudios con un diseño basado en hipótesis, necesario para respaldar adecuadamente el cálculo de la NOAEL y los estudios con un diseño basado en un análisis de regresión, necesarios para apoyar las estimaciones de DE_x y DL_x. Las respuestas de los estudios basados en hipótesis requieren suficientes réplicas para probar los efectos del tratamiento; mientras que las estimaciones basadas en análisis de regresión no lo requieren. La relación dosis-respuesta derivadas de los estudios de nivel I puede proporcionar información útil en términos de la pendiente de la curva dosis-respuesta.

3.2.4.2 Estudios de toxicidad crónica

Los efectos crónicos en las abejas adultas o en las larvas son considerados en el nivel I del nuevo marco de evaluación. Estos efectos, cuando han sido observados en los estudios de toxicidad que cuentan con protocolos aceptados o cuando se ha reportado en la literatura que pueden afectar a las colonias, pueden ser considerados para determinar la necesidad, si es el caso, de estudios de niveles superiores y el diseño que éstos deben tener. Los estudios que están en desarrollo incluyen la prueba de toxicidad de 10 días para abejas adultas y la prueba de toxicidad de dosis repetidas para larvas. El diseño de la primera prueba se discute en el apéndice O de la Guía para la Evaluación de Riesgos para las Abejas de la Autoridad Europea

de Seguridad de Alimentos (EFSA, por sus siglas en inglés) (EFSA 2013)[17]; mientras que la OECD se encuentra actualmente evaluando una propuesta para la guía de la prueba en larvas, la cual se extiende hasta la etapa adulta. Para la primera prueba, la EFSA recomienda el cálculo de la CL_{50} y la NOAEC, en tanto que para la segunda prueba, la OECD solo recomienda la derivación de la NOAEC; sin embargo, como se mencionó anteriormente, se debe considerar el diseño del estudio para determinar la respuesta de toxicidad más apropiada a evaluar.

3.2.4.3 Estudios de toxicidad que implican exposición a los plaguicidas en fase de vapor

Para un número limitado de compuestos (por ejemplo, los fumigantes) pueden ser necesarios hacer estudios especiales, tales como pruebas de toxicidad por inhalación. Actualmente los ensayos de toxicidad aguda con abejas adultas se llevan a cabo utilizando una pequeña jaula donde los organismos son expuestos a través de la alimentación (solución de azúcar enriquecida), de esta misma forma sería posible llevar a cabo los estudios de inhalación, utilizando un diseño similar donde las abejas son alimentadas con la solución de azúcar (sin tratar), y donde la jaula esté contenida dentro de un recipiente hermético o bajo la influencia de un flujo continuo que contenga diferentes concentraciones del plaguicida en el aire. Debido a que este cambio es una modificación del protocolo existente, los registrantes deben presentar el protocolo de estudio propuesto para la revisión y aprobación por parte de EPA o PMRA, antes de realizar el estudio. El protocolo debe contener una justificación de las concentraciones de plaguicidas probadas y de la duración de la exposición.

3.2.4.4 Toxicidad de los residuos de plaguicidas en el follaje para las abejas melíferas

Con base en el valor de la DL_{50} por contacto, un plaguicida se clasifica como prácticamente no tóxico ($DL_{50} \geq 11$ μg/abeja), moderadamente tóxico ($10.9 > DL_{50} > 2$ μg/abeja) o muy tóxico (< 2 μg/abeja). La EPA normalmente requiere un estudio sobre la toxicidad de los residuos del plaguicida en el follaje para las abejas melíferas (OCSPP 850.3030; USEPA 2012)[18] a menos que se determine que el plaguicida es prácticamente no tóxico.

El estudio actual de la guía OCSPP 850.3030 (USEPA 2012) evalúa la toxicidad de los residuos en el follaje para las abejas melíferas. En este estudio, el producto formulado se aplica a una planta atractiva para las abejas (por ejemplo, el trébol o la alfalfa) usando la tasa de aplicación máxima con el intervalo de aplicación mínima. El cultivo se cosecha de manera tal que se puedan obtener diferentes muestras de residuos a través del tiempo (por ejemplo, 0, 3, 8, 24, 48, 72 y 96 horas después de la aplicación). El follaje cosechado es llevado al laboratorio donde se coloca en jaulas. Las abejas adultas se colocan en cada jaula y se dejan en contacto con el follaje. La comida y el agua se proporcionan *ad libitum*. Las abejas expuestas al follaje son monitoreadas por un período de tiempo hasta que la mortalidad disminuye por debajo del 25%. La respuesta de toxicidad a evaluar en este estudio es el Tiempo Residual para observar un 25% de mortalidad (RT_{25}), que se define como el tiempo necesario para reducir la "toxicidad residual" del plaguicida, medida por la mortalidad en el 25% de los organismos de prueba. La duración del período determinado por este valor es el tiempo en el que se espera que el plaguicida mantenga sus propiedades tóxicas para las abejas en el campo, debido al contacto con los residuos del producto que se encuentran en el follaje, a una tasa de aplicación determinada (normalmente expresada en términos de libras de ingrediente activo por acre o lbs a.i./A). Los resultados de los estudios de residuos en el follaje pueden ser útiles en la caracterización de los

[17] EFSA. Guidance on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees. EFSA Journal 2013;11(7):3295, 266 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3295. Disponible en-linea: www.efsa.europa.eu/efsajournal

[18] USEPA. 2012. Ecological Effects Test Guidelines OCSPP 850.3030 Honey Bee Toxicity of Residues on Foliage. EPA 712-C-018. January 2012. http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPAHQ-OPPT-2009-0154-0017

efectos y riesgos de un plaguicida para las abejas expuestas a través del follaje tratado y se pueden utilizar para informar sobre las medidas de mitigación relacionadas con el tiempo de aplicación del plaguicida (por ejemplo, cuánto tiempo se espera que el plaguicida represente un riesgo para las abejas después de su aplicación). Actualmente, el estudio de residuo en el follaje no se utiliza para derivar RQ como parte del proceso de evaluación de riesgos de nivel I; sin embargo, la prueba puede proporcionar información útil para caracterizar la duración de tiempo en que los residuos pueden mantener sus propiedades tóxicas para las abejas y pueden ser útiles en la identificación de formulaciones que posean toxicidad residual prolongada. Es importante tener en cuenta que los valores de RT_{25} son específicos para formulaciones y pueden no ser predictivos a través de múltiples formulaciones de un mismo ingrediente activo. Aunque se puede inferir en el documento técnico que un RT_{25}> 8 horas representa a una sustancia química con una Toxicidad Residual Prolongada (ERT, por sus siglas en inglés), el ERT no se ha definido formalmente por la EPA.

3.2.5 Caracterización de los efectos de nivel II

Como se discutió en el documento técnico, la decisión de pasar a las pruebas de efectos más refinados y hacer la transición de los estudios de laboratorio con las abejas individuales (es decir, de nivel I) a los estudios en colonias (es decir, de nivel II o nivel III) depende de si en el nivel I los LOC se superan, de la disponibilidad de datos, y de la naturaleza de las incertidumbres que requieren pruebas adicionales. Los estudios de nivel II son típicamente considerados estudios de semi-campo donde pequeñas colonias (conocidas como núcleos o "NUCS")[19] están encerradas en túneles, junto con los cultivos tratados con los plaguicidas. Los estudios de nivel II también pueden incluir estudios de alimentación en el que colonias enteras se ponen a prueba; sin embargo, en estos casos no es necesario que las colonias sean encerradas. Típicamente los estudios de semi-campo suelen realizarse en condiciones que representan el peor escenario de exposición (durante el estudio) para toda la colonia, entre todos los usos propuestos o son diseñados para aclarar las incertidumbres específicas con respecto a los efectos en la colonia; mientras que, los estudios de alimentación se realizan normalmente con dietas adicionadas con una concentración conocida del plaguicida utilizando colonias que no se confinan en recintos cerrados (es decir, abejas forrajeras en libertad).

El diseño de los estudios de nivel II puede ser ajustado a tratamientos adicionales de niveles superiores o a la inclusión de réplicas, lo que facilita la cuantificación de las respuestas a tasa de aplicación específicas (estudio de túnel) o la construcción de curvas dosis-respuesta (estudio de alimentación) a nivel de colonia y la determinación de una NOAEC. Esta información puede ser particularmente útil y transferible de los cultivos y concentraciones bajo estudio a otros cultivos para los cuales se conocen las concentraciones de residuos en el polen y el néctar, así como las tasas de aplicación del plaguicida.

3.2.5.1 Diseño de estudios de túneles

Los estudios de túnel de semi-campo proporcionan un medio para registrar ciertas respuestas, como por ejemplo, la supervivencia de las abejas adultas y de las larvas, el desarrollo larval/pupal, la fecundidad de la reina, el comportamiento de las abejas obreras, y con ello estimar diversos atributos respecto a toda la colonia. El diseño de un estudio de túnel de nivel II debe ser flexible y aclarar los riesgos específicos que fueron identificados en la evaluación de nivel I para aplicación foliar o tratamiento de semillas o suelos, u otras vías de exposición de interés, con las modificaciones que se requieran. Aunque la guía para conducir estudios de semi-campo todavía está en desarrollo, la guía 75 de la OECD para los estudios en crías de

[19] Colonias núcleos se han caracterizado como un conjunto de aproximadamente 3000 celdas de cría, respectivamente, 750 cm 'con cría en todas las etapas, 1 buen panal con miel y polen y aproximadamente 6000 abejas obreras; la proporción de cría, a la alimentación (polen / néctar) no debe exceder de 4:1 (OECD 2007).

abejas melíferas[20], y la 170 de la Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas (EPPO) describen los elementos básicos que deberían ser considerados en esos casos.

En un estudio de túnel típicamente hay un período de exposición a los plaguicidas en la carpa o túnel, y un período de observación extendida en el que a las abejas bajo estudio se les permite alimentarse libremente de los alrededores. Aunque normalmente las colonias sólo pueden mantenerse en recintos por un tiempo de exposición limitado (~ 10 días), estas colonias pueden ser monitoreadas después de su retirada del túnel para evaluar los efectos derivados del período de exposición o de la exposición tardía por la ingestión del polen/néctar almacenados. Cada una de estas fases del estudio presenta una serie de aspectos de atención especial. Algunas de estos aspectos incluyen los siguientes temas:

Abejas en el túnel o carpa. Fuente de alimento. Es importante asegurar, en la medida de lo posible, que las abejas tengan suficiente forraje y que la fuente de polen y néctar no se agote durante el estudio. En los estudios de túnel, pequeñas colmenas, llamadas "NUCS", se utilizan para no rebasar la capacidad de forrajeo comprendida en el recinto. La duración de la exposición de estos estudios es generalmente de unos 10 días, incluido un período de aclimatación, debido a que el período de floración es limitado para la mayoría de las plantas utilizadas en estos estudios y a la presión o el estrés a los que se someten las abejas confinadas a un área limitada de forrajeo.

Estrés. Las abejas están destinadas a volar libremente y el confinamiento en el túnel puede causarles estrés. Reducir este estrés es otra de las razones por las cuales la duración de los estudios del túnel se limita generalmente a 10 días.

Comportamiento de las abejas en el estudio. Las abejas melíferas forrajeras vuelan libremente en un área grande. El espacio que poseen en los estudios de túnel es limitado y esto puede tener un impacto en su comportamiento. Por lo tanto, se debe tener cuidado en la interpretación de los resultados que están relacionados con los posibles cambios en dicho comportamiento.

Período de aclimatación. Los períodos de aclimatación largos (es decir, > 3 días) dentro del túnel deben evitarse, ya que pueden limitar aún más el período de exposición; sin embargo, si los períodos de aclimatación no son suficientes, puede ser que las abejas comiencen el forrajeo eficientemente hasta después de que los residuos del plaguicida en las plantas tratadas han comenzado a disminuir. Por lo tanto, la mortalidad inicial de las abejas que no han sido adecuadamente aclimatadas no proporciona resultados confiables de los efectos relacionados con el tratamiento. Por otro lado, para el caso del tratamiento de semillas o del suelo con un plaguicida sistémico se espera la presencia de sus residuos en el polen o néctar en algún momento después de su aplicación. En estos casos, es necesario que la información sobre el momento de aplicación y de las concentraciones máximas de residuos resultantes esté incluida en el estudio, para garantizar exposiciones adecuadas (por ejemplo, las concentraciones máximas). Tales consideraciones de exposición pueden justificar que no sea necesario incluir un período de aclimatación libre de plaguicidas en los túneles.

Clima y éxito del estudio. Dado que estos estudios se llevan a cabo al aire libre, el inicio del estudio puede verse retrasado debido a las inclemencias del tiempo y puede no ser factible seguir adelante con las aplicaciones del plaguicida.

[20] OECD. 2007. Guidance document on the honey bee (*Apis mellifera* L.) brood test under semi-field conditions. Series on Testing and Assessment No. 75. ENV/JM/MONO (2007)22.

Ubicación del lugar de forrajeo. Dependiendo del objetivo del estudio, el cual puede considerar necesario un período de observación prolongado, el reporte debe describir los lugares potenciales para el forrajeo de las colonias. Además, una vez que las colmenas son retiradas del túnel y se les permita el libre forraje, debe procurarse que los lugares óptimos para esta actividad no se ubiquen en zonas agrícolas donde puede tener lugar la exposición a plaguicidas, y de esta manera se generen confusiones en los resultados del estudio.

Los estudios de semi-campo también proporcionan una oportunidad para recoger datos de exposición. Se recomienda que se midan los residuos de plaguicidas en polen y néctar, así como en el follaje, ya que esta cuantificación proporciona datos para confirmar el nivel de exposición potencial de las colmenas y para refinar RQ, como parte de la caracterización de riesgo de nivel I. Por lo tanto, debe considerarse la posibilidad de recomendar estas mediciones en el polen y el néctar de las plantas tratadas en los estudios de semi-campo siempre que dichos análisis químicos no interfieran con la exposición de las abejas. Dependiendo del cultivo tratado, las muestras de polen o néctar no siempre podrán obtenerse fácilmente a partir de las plantas tratadas, por lo que en tales casos será necesario considerar medios alternativos para recoger estas muestras. Una opción puede ser utilizar a las propias abejas confinadas para colectar el polen o néctar; de lo contrario, puede ser necesario el uso de flores intactas como un medio indirecto para determinar los residuos en el polen o néctar combinados. Aunque la respuesta de toxicidad a evaluar de un estudio de semi-campo puede ser definida en términos de la tasa de aplicación, la cuantificación de los residuos de plaguicidas en el polen y néctar permite conocer de forma más directa las concentraciones a las que están expuestas las abejas durante el estudio y permite transferir los resultados del efecto estudiado a otros cultivos, para los cuales se cuenta con datos empíricos disponibles sobre las cantidades de residuos en el polen y el néctar. Además, el polen y el néctar (almacenados en las colmenas en forma de pan de abejas, miel o miel al descubierto) pueden ser muestreados dentro de la colmena para caracterizar aún más la exposición de la colonia. Para los plaguicidas sistémicos, el tiempo de aplicación representa una incertidumbre ya que el movimiento del compuesto hasta el polen y el néctar varía con las especies de plantas y las técnicas de cultivo.

Como se mencionó anteriormente, los estudios de semi-campo realizados en túneles tienen limitaciones ya que las colonias típicamente se pueden mantener tan sólo un tiempo limitado dentro de los recintos, antes de que las reservas de alimentos se agoten y que las abejas comiencen a agobiarse por las condiciones de confinamiento. Además, la búsqueda de alimento no es totalmente natural, porque los túneles pueden alterar el comportamiento de alimentación de las abejas. Estas tensiones pueden afectar la función de las colonias con el tiempo y dar lugar a efectos adversos, tales como la reducción de la producción de crías o disminución del almacenamiento de alimentos, desde el propio recinto. De manera similar a todos los estudios de nivel superior, el poder estadístico de los estudios de túnel suele ser bajo debido a la alta variabilidad, así como a las reducidas posibilidades de replicación; sin embargo, como con cualquier estudio, si se dispone de recursos suficientes, el número de repeticiones puede aumentarse y de esta manera incrementar el poder estadístico.

A pesar de las limitaciones indicadas anteriormente, los estudios de túnel del nivel II proporcionan información importante de toxicidad para un tiempo de exposición limitado, con el fin de caracterizar el riesgo asociado con patrones específicos de uso, basados en el diseño específico de esos estudios. No todos los cultivos florecen durante períodos prolongados y algunos períodos de exposición serán de corta duración, como es el caso de las aplicaciones foliares con una vida media de disipación relativamente corta. Así que el estudio de túnel es el más apropiado para la evaluación de escenarios en los que se prevé un período de exposición corta (por ejemplo, la floración a corto plazo o la degradación/disipación rápida). Múltiples tasas de aplicación pueden ser evaluadas para un tipo de cultivo para estimar una NOAEC. Esta tasa de aplicación puede entonces compararse con las tasas de aplicación propuestas, para caracterizar el riesgo potencial de la exposición de un patrón de uso o para determinar la utilidad de diversas opciones de

mitigación. Además, la correlación de los residuos en polen y néctar asociadas a las distintas tasas de aplicación obtenidas en el estudio de túnel pueden proporcionar información relevante a otros cultivos para los cuales se cuenta con datos disponibles de residuos en polen y néctar. Es importante notar, sin embargo, las diferencias entre el cultivo evaluado en el túnel y los usos reales (por ejemplo, los cultivos propuesto en la etiqueta) a los que el estudio túnel pretende representar; estas diferencias pueden incluir la atracción de las abejas, la producción de polen y néctar, la duración del periodo de floración, etc., con el fin de identificar si esta comparación es apropiada.

A pesar de que los estudios de túnel tienen un valor limitado para estimar las incertidumbres relacionadas con la exposición crónica y los efectos a largo plazo, pueden proporcionar información valiosa para exposiciones de corta duración que incluyan efectos por todas las vías (por ejemplo, aplicaciones foliares por contacto y oral), y para niveles de exposición de residuos reales que sean específicos para los métodos y tasas de aplicación y para los cultivos bajo consideración.

3.2.5.2 Diseño de los estudios de alimentación

La metodología descrita por Oomen *et al*. 1992[21] y el diseño de los estudios de campo de alimentación extendida propuestos en el documento técnico del SAP se pueden considerar útiles para evaluar los posibles efectos de los plaguicidas en las abejas a nivel de la colonia. En vez de restringir a las abejas a túneles con un cultivo tratado, las colonias no son restringidas y son nutridas con alimentos adicionados con una concentración conocida del plaguicida. La cantidad de plaguicida utilizada puede ser monitoreada para proporcionar una estimación de la cantidad total de plaguicida consumida por las colmenas.

El diseño del estudio de campo de alimentación extendida ofrece algunas ventajas sobre el diseño del estudio de túnel, en que la duración de la exposición se puede ampliar (por ejemplo, semanas o meses en comparación con solo 10 días en los de túnel), ya que las abejas no se mantienen confinadas. La exposición también puede ser programada con un período de escasez de los alimentos disponibles, para maximizar el potencial de exposición a la alimentación tratada. Este diseño puede ser especialmente aplicable a los plaguicidas cuyo patrón de uso y sus propiedades relacionadas con su destino ambiental sugieren la probabilidad de exposición prolongada en las abejas.

Algunas limitaciones en el estudio de alimentación extendida incluyen el hecho de que las abejas son libres de buscar comida en fuentes distintas al alimento adicionado con plaguicida que se les provee, lo cual puede introducir incertidumbre en la evaluación de la exposición. Los datos actualmente disponibles de estos estudios sugieren que la colonia consumirá completamente las soluciones de sacarosa proporcionadas, pero el néctar y el polen forrajeado también entran en las colmenas libremente. En los estudios de alimentación extendida las abejas son expuestas a través de rutas específicamente, definidas por las fuentes de alimento adicionado que se les proveen, mientras que las abejas en el campo más bien se exponen de manera simultánea a través de múltiples rutas, incluidos el polen y el néctar, dependiendo de cultivo. Cabe señalar que los estudios de alimentación también pueden incluir polen adicionado con plaguicida, a parte de la de sacarosa adicionada que se provee. En estos estudios, frecuentemente las abejas son también expuestas a diferentes concentraciones de plaguicidas, pero estas concentraciones puede que no representen la exposición que resultaría de los métodos de aplicaciones o patrones de uso propuestos. Las diferencias en las rutas de exposición en el campo y entre los niveles de residuos relacionados con estas rutas y las concentraciones examinadas pueden contribuir a incrementar la incertidumbre asociada a los efectos observados en el estudio. Además, el exceso en el suministro de sacarosa o polen pueden tener impacto en

[21] Oomen, P. A. A. DeRuijter and J. Van der Steen. 1992. Method for honey bee brood feeding tests with insect growth-regulating insecticides. Bul OEPP/EPPO Bulletin 22: 613 – 616.

el comportamiento de forrajeo de las abejas y puede causar incertidumbre en los efectos sobre el desarrollo de la colonia. De igual manera que en los estudios de túnel, en los estudios de alimentación de campo, las abejas también muestran gran variabilidad entre ellas, lo que disminuye el poder estadístico de los estudios. Sin embargo, si se dispone de recursos suficientes, se puede aumentar el número de repeticiones y de esta manera aumentar el poder estadístico.

A pesar de las limitaciones anteriores, el diseño de los estudios de alimentación puede proporcionar información útil para la caracterización del riesgo asociado con diferentes patrones de uso en los cultivos. Este diseño puede incorporar múltiples niveles de tratamiento con residuos de plaguicidas en los alimentos adicionados, para obtener una curva dosis-respuesta y una NOAEC a nivel de la colonia para una ruta específica de exposición dietaria (por ejemplo, a través del polen, el néctar, o ambos). La curva dosis-respuesta obtenida en este estudio puede ser entonces comparada con los niveles de residuos encontrados en polen y el néctar de estudios especialmente diseñados para medir dichos residuos bajo tasas de aplicación específicas. Al examinar estas comparaciones en el caso particular del néctar, el evaluador de riesgos debe tener en cuenta el contenido de azúcar en el alimento proveído a las abejas en relación con el contenido de azúcar en néctar de un cultivo determinado, ya que la proporción de plaguicida por cantidad de azúcar puede ser diferente. En ausencia de información específica para el cultivo, la evaluación de nivel I asume un valor promedio de 30%, con base en los niveles de residuos normalizados por contenido de azúcar. Estas comparaciones de la curva dosis-respuesta con niveles de residuos medidos pueden proporcionar información sobre los efectos observados a nivel de colonia para la caracterización del riesgo para las abejas expuestas a un plaguicida determinado en un cultivo específico. El diseño de los estudios de alimentación extendida también ofrece algunas ventajas sobre el diseño de túnel en sentido de reducir el estrés que produce el confinamiento que se da en los estudios de túnel, y por lo tanto es posible prolongar la duración de la exposición.

3.2.6 Caracterización de efectos de nivel III

Como se indica en el documento técnico, los estudios de campo representan el nivel más alto de refinamiento de los estudios con polinizadores, ya que reflejan los posibles efectos en las colonias de abejas bajo condiciones reales del uso del plaguicida. La realización de los estudios de nivel III se considera cuando los riesgos para los polinizadores no se pueden excluir a partir de los resultados de los niveles inferiores (nivel I y II) de la evaluación. Estos estudios tienen como objetivo aclarar incertidumbres específicas; es decir, las hipótesis de riesgo, las cuales han sido identificadas en los estudios de nivel I y II o a través de la documentación pública, considerando los peores escenarios posibles de exposición en campo. Si bien la guía OCSPP 850.3040[22], EPPO 170 está disponible para los estudios de polinizadores en campo, esta información es relativamente genérica y solo provee orientación sobre los elementos que deben considerarse para el diseño de ese tipo de estudios. La guía de los estudios de campo para organismos terrestres de vida silvestre (OCSPP 850.2500)[23] también provee información adicional. Dado que los estudios de campo pretenden aclarar incertidumbres específicas, los protocolos de estos estudios deben ser revisados y aprobados por los evaluadores antes de ser realizados. Del mismo modo que en los protocolos de los estudios de semi-campo que son destinados a aclarar incertidumbres específicas, todos los protocolos aprobados de los estudios de campo deben estar accesibles a otros evaluadores, ya que podrían enfrentar las mismas incertidumbres en el futuro.

[22] *Ibid* USEPA.1996c.
[23] USEPA 2012. Ecological Effects Test Guidelines OCSPP 850.2500: Field Testing for Terrestrial Wildlife. Office of Chemical Safety and Pollution Prevention (7101). EPA 712-C-021. January 2012. http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPPT-2009-0154-0014

Aunque las pruebas de campo para polinizadores se han centrado históricamente en las abejas melíferas, estos estudios no se limitan a las abejas eusociales, como *A. mellifera,* y podrían incluir otras especies (por ejemplo, abejorros y especies solitarias) que se utilizan simultáneamente o en lugar de las abejas melíferas. La justificación para recomendar otra especie alternativa de prueba debe incluirse en el protocolo para ser revisada por los evaluadores de riesgos. Dada la variabilidad asociada a los estudios a escala de campo, también deben ser considerados, el tamaño de la parcela de estudio y el atractivo del cultivo de prueba. El uso de curvas de extinción (es decir, la disminución en el número de abejas en actividad de forrajeo conforme aumenta la distancia de su colonia) para estimar las distancias de forrajeo de las especies en el estudio, como un medio para determinar el tamaño adecuado de las parcelas de prueba, podrían ser útiles si tales datos se encuentran disponibles. En el **Apéndice 4** (Consideraciones para los estudios de campo de nivel III) y en el documento técnico se identifican varias consideraciones para el diseño de los estudios de campo, sin embargo, la hipótesis de riesgos debe ser la consideración primordial.

La duración de los estudios de campo debe ser sopesada con respecto a la magnitud en la que los factores de confusión pueden limitar la utilidad de la información obtenida del estudio. Se debe considerar el tipo de efectos sobre los polinizadores que se pretende observar en el estudio de campo. Para efectos crónicos se debe considerar una duración mayor, que incluya un periodo que sobrepase el invierno. Sin embargo, como se indica en el documento técnico, muchos factores (por ejemplo, la nutrición, las enfermedades y las plagas) pueden afectar la supervivencia de la colonia, por lo que duraciones mayores del estudio pueden influir sobre la magnitud en que estos otros factores puedan confundir los resultados del estudio. Las manipulaciones frecuentes de la colonia para evaluar su respuesta, también la pueden estresar e influir sobre su grado de vulnerabilidad antes enfermedades/plagas. Por lo tanto, la decisión de recabar dicha información debe ponderarse con respecto a la importancia de esos datos, considerando la hipótesis de riesgo.

Del mismo modo que en los estudios de semi-campo, los estudios de campo deben incluir medidas de exposición que se puedan utilizar para relacionar los datos de los residuos en polen/néctar y follaje con las tasas de aplicación específicas. De esta manera, los valores medidos de los residuos proporcionan un medio para asegurar que la exposición se produce realmente por periodos que se espera que ocurran en las condiciones y los usos reales del plaguicida bajo estudio. Estos datos también proporcionan un medio para rastrear el movimiento de residuos en distintos compartimentos de la colonia y para determinar la extensión (es decir, la magnitud y la duración) en la que otras castas o etapas de la vida de las abejas puedan estar expuestas. Además, las medidas de la actividad de forrajeo en el cultivo tratado pueden proporcionar información para determinar el grado en que las abejas utilizan dicho cultivo. Análogo a los estudios de semi-campo, las muestras de polen o néctar no serán fáciles de colectar a partir de las plantas tratadas, por lo que será necesario tener en cuenta otros medios alternos para obtener estas muestras (por ejemplo, uso de abejas confinadas para recoger el polen/néctar). Además, como las abejas son propensas a buscar alimento en plantas distintas a las del cultivo en el estudio, la composición del polen (palinología) y el análisis de residuos en el polen recolectado por las abejas libres pueden utilizarse para estimar el grado en que las abejas están forrajeando en los cultivos tratado y no tratado (es decir, el nivel de dilución de la exposición). La observación de esta dilución en la exposición y sus efectos asociados permite una comprensión más directa del nivel real de exposición a la que se encuentran sujetas las colmenas, y del potencial de extrapolación de los efectos observados en el estudio a otros cultivos para los cuales pueden estar disponibles datos empíricos de residuos y preferencia de forrajeo.

Como se discutió en el documento técnico, es responsabilidad del evaluador de riesgos determinar si las respuestas que resultan estadísticamente significativas también son biológicamente significativas en los niveles II y III. De forma similar, la alta variabilidad de algunas de las respuestas medidas, puede dificultar la detección de un efecto estadísticamente significativo; sin embargo, una tendencia y una magnitud

suficiente de respuesta pueden ser reportadas para apoyar la conclusión de que el efecto es biológicamente significativo. La utilidad de estos efectos debe ser discutida en la sección de caracterización del riesgo como parte de la evaluación.

En las secciones anteriores, se discuten los estudios que se deben realizar para el nivelI y para los niveles de mayor refinamiento (niveles II y III). La **Tabla 4** proporciona una visión general de las ventajas y limitaciones de los distintos estudios de toxicidad para las abejas en el contexto de los objetivos de la evaluación de riesgos en general. Sin embargo, las ventajas y desventajas específicas asociadas con cualquier estudio dependen del propósito con el que se realiza y de las hipótesis particulares bajo estudio.

Tabla 4. Respuestas esperadas, ventajas y limitaciones de los estudios de toxicidad con abejas melíferas.

Nombre del estudio	Respuestas primarias (Endpoints)	Ventajas	Limitaciones
Nivel I			
Toxicidad aguda por contacto en abejas adultas	Mortalidad, DL_{50}	• Se cuantifican las dosis del estudio • Se genera una curva dosis-respuesta • Se pueden medir algunos efectos subletales	• Solo se considera una ruta de exposición • Normalmente las NOAEC no son estimadas Solo se considera una exposición aguda • La medición de los efectos subletales es a menudo limitada • Los efectos se evalúan a nivel individual
Toxicidad aguda oral en abejas adultas	Mortalidad, DL_{50}		
Toxicidad crónica oral en abejas adultas	Mortalidad, NOAEC	• Se cuantifican las dosis de estudio • Se obtienen NOAEC o curvas dosis-respuesta • Se pueden medir algunos efectos subletales	• Solo se considera una ruta de exposición • La medición de los efectos subletales es a menudo limitada • Los efectos son evaluados a nivel individual • Este tipo de estudios está actualmente en desarrollo
Toxicidad aguda (una dosis) en larvas	Mortalidad, DL_{50}/NOAEC	• Se cuantifican las concentraciones de estudio • Se obtienen NOAEC o curvas dosis-respuesta • Se incluyen las rutas de exposición por contacto y oral	• La dosis real consumida puede variar • Los efectos sobre el proceso de pupación son difíciles de evaluar.
Toxicidad crónico (dosis repetidas) en larvas	Emergencia de adultos/NOAEC		

Nombre del estudio	Respuestas primarias (Endpoints)	Ventajas	Limitaciones
		• Los efectos en las larvas son importantes para algunos MOA (reguladores de crecimiento de insectos)	• Los efectos son evaluados a nivel individual • Este tipo de estudios está actualmente en desarrollo
Toxicidad por residuo en el follaje	Mortalidad, toxicidad residual o RT_{25}	• Se considera una exposición por contacto a los residuos del plaguicida en el follaje • Se puede evaluar la toxicidad residual del plaguicida	• Solo se considera exposición aguda • La dosis real es difícil de cuantificar • Los efectos son evaluados a nivel individual
Nivel 2			
Estudios de túnel de semi-campo	Fuerza de la colonia Patrón y desarrollo de las crías Actividad de forrajeo Mortalidad y comportamiento de las obreras Almacenamiento y consumo de alimentos Salud de la reina	• Vías múltiples de exposición (por contacto y oral) en relación con los métodos de uso del plaguicida • Se reduce la influencia de la exposición del exterior a otros productos químicos • Se pueden cuantificar algunas respuestas tóxicas de los efectos en el comportamiento • Se cuenta con un protocolo de prueba estandarizado (OECD) • Los efectos a nivel de la colonia se pueden relacionar con la tasa de aplicación del plaguicida o con los niveles de residuos	• Solo se considera una exposición a corto plazo en el túnel (generalmente 7-10 días) • El forrajeo puede no ser natural • Se produce estrés en colonias por el confinamiento en túnel • El número de réplicas y el poder estadístico del estudio suelen ser bajos • Por lo general, se lleva a cabo en un cultivo representativo
Estudios de alimentación de semi-campo	Fuerza de la colonia Patrón y desarrollo de las crías Actividad de forrajeo Almacenamiento y consumo de alimentos	• Se puede evaluar la exposición a largo plazo • Los efectos a nivel de la colonia se pueden relacionar con las concentraciones de plaguicida en la dieta • Se puede obtener un mayor nivel de	• Solo se considera la exposición por vía oral • La dosis consumida puede ser diferente a la encontrada en el campo • Los protocolos de este tipo de estudios no han

Nombre del estudio	Respuestas primarias (Endpoints)	Ventajas	Limitaciones
	Mortalidad y comportamiento de los obreros Salud de la reina	replicación, en comparación con los estudios de túnel o de campo • Mayor control sobre la exposición vs. estudios de campo	sido estandarizados todavía • El consumo de alimento fuera del túnel es un factor de confusión para estimar la exposición real • El forrajeo puede que no sea natural
Nivel 3			
Estudios experimentales de campo	Fuerza de la colonia Patrón y desarrollo de las crías Actividad de forrajeo Mortalidad y comportamiento de las obreras Almacenamiento y consumo de alimentos Salud de la reina	• Se considera que reflejan de mejor las condiciones reales de exposición (cultivo/plaguicida) • Pueden resolver las incertidumbres específicas planteadas en los niveles inferiores	• Algunas restricciones prácticas pueden limitar la habilidad de evaluar escenarios de exposición "de alto grado" • El número de réplicas y el poder estadístico suelen ser bajos • Pueden presentarse influencias que confundan la actividad de forrajeo y la exposición • Son costosos
Estudios de monitoreo en campo	Fuerza de la colonia Patrón y desarrollo de las crías Actividad de forrajeo Mortalidad y comportamiento de las obreras Almacenamiento y consumo de alimentos Salud de la reina	• Se considera que reflejan de mejor las condiciones reales de exposición (cultivo/plaguicida) Pueden incorporar múltiples escenarios de exposición en los cultivos	• La exposición puede ser difícil de cuantificar • Los vínculos causales pueden ser confundidos por otros factores de estrés • Son costosos

4 Caracterización de los riesgos

La caracterización del riesgo es la fase final del proceso de evaluación y se compone de dos partes: la estimación del riesgo y la descripción del riesgo. La primera consiste en la integración de la información sobre la exposición y los efectos para estimar la probabilidad de efectos adversos en los receptores ecológicos que pueden resultar de esa exposición. En el nivel I, la estimación del riesgo consiste en el cálculo de los RQ. Por su parte, la segunda incluye una interpretación de los riesgos en el contexto de las

incertidumbres y la sensibilidad de las estimaciones para destacar los supuestos considerados y la calidad de los datos. Además, la descripción de riesgos considera las formas en que el riesgo puede ser mitigado a través de un lenguaje restrictivo en las etiquetas o de mejores prácticas de manejo (BMP, por sus siglas en inglés). La caracterización general de riesgo debe basarse en el peso de la evidencia utilizada. También debe discutir las deficiencia en los datos y si las incertidumbres podrían aclararse fácilmente mediante datos adicionales.

4.1 Estimación del riesgo

4.1.1 Cálculo de los cocientes de riesgo para la evaluación de nivel I

La **Tabla 5** enumera las estimaciones de exposición y los efectos utilizados en la cuantificación del riesgo en el nivel I. Como se menciona en el documento técnico, en este nivel los riesgos se cuantifican para las abejas individuales; sin embargo, los valores del RQ no se derivan de los efectos a nivel de colonia. Como es el caso con otros taxones, los valores del RQ se calculan dividiendo las estimaciones de exposición entre las respuestas evaluadas. Es importante que se incluyan las unidades en que fueron registradas las respuestas o que se conviertan a unidades que sean consistentes con la exposición estimada, para que el valor del RQ pueda ser derivado en el nivel I de evaluación.

Tabla 5. Resumen de la exposición y los efectos estimados para calcular los Cocientes de Riesgo para las evaluaciones de nivel I.

Respuesta medida (Endpoints)	Ruta de exposición	Exposición estimada+	Indicador de respuesta aguda	Indicador de respuesta crónica+++
Aplicaciones foliares				
Supervivencia individual (abejas adultas)	Por contacto	$AR_{EUA\ y\ Canadá}$ (2.7 μg i.a./abeja) $AR_{Canadá}$* (2.4 μg i.a./abeja)	DL_{50}	Ninguno
Supervivencia o longevidad individual (abejas adultas)	Oral (alimentación)	$AR_{EUA\ y\ Canadá}$* (110 μg i.a. /g) (0.292 g/ día) $AR_{Canadá}$* (98 μg i.a./g) (0.292 g/ día)	DL_{50}	NOAEL oral crónico de las adultas (efectos a la supervivencia o la longevidad)
Tamaño y sobrevivencia de las crías (larvas) o emergencia de abejas adultas	Oral (alimentación)	$AR_{EUA\ y\ Canadá}$* (110 μg i.a. /g) (0.124 g/ día) $AR_{Canadá}$*(98 μg i.a./g) (0.124 g/ día)	DL_{50}	NOAEL oral crónico de la larva (efectos en la emergencia de adultos, la supervivencia)
Tratamiento de suelos				
Supervivencia individual o longevidad (abejas adultas)	Oral (alimentación)	(Briggs EEC)* (0.292 g/día)	DL_{50}	NOAEL oral crónico de las adultas (efectos a la supervivencia o la longevidad)
Tamaño y supervivencia de las crías (larvas) o emergencia de abejas adultas	Oral (alimentación)	(Briggs EEC)* (0.124 g/ día)	DL_{50}	NOAEL oral crónico de la larva (efectos en la emergencia de adultos, la supervivencia)
Tratamiento de semillas				
Supervivencia individual o longevidad (abejas adultas)	Oral (alimentación)	(1 μg i.a./g)* (0.292 g/ día)	DL_{50}	NOAEL oral crónico de las adultas (efectos a la supervivencia o la longevidad)
Tamaño y supervivencia de las crías (larvas) o emergencia de abejas adultas	Oral (alimentación)	(1 μg i.a./g)* (0.124 g/ día)	DL_{50}	NOAEL oral crónico de la larva (efectos en la emergencia de adultos, la supervivencia)
Aplicaciones de troncos de árbol++				
Supervivencia individual o longevidad (abejas adultas)	Oral (alimentación)	(μg i.a, aplicados al árbol/g de follaje)* (0.292 g/ día)	DL_{50}	NOAEL oral crónico de las adultas (efectos a la supervivencia o la longevidad)
Tamaño y supervivencia de las crías (larvas) o emergencia en abejas adultas	Oral (alimentación)	(μg i.a. aplicados al árbol/g de follaje)* (0.124 g/ día)	DL_{50}	NOAEL oral crónico de la larva (efectos en la emergencia de adultos, la supervivencia)

$AR_{EUA\ y\ CANADÁ}$ = tasa de aplicación en libras de ingrediente activo lb a.i./Acre; $AR_{Métrico}$ = tasa de aplicación en kg de ingrediente activo/hectárea

[+] Basado en las tasas de consumo de alimentos para larvas (0.124 g/día) y las abejas obreras adultos (0.292 g/día) y la concentración en el polen y el néctar

[++] Note que las concentraciones estimadas para aplicaciones de árboles son específicas para el tipo y la edad del cultivo al que se aplica el producto químico.

[+++] Para calcular los RQs para efectos crónicos es posible utilizar la NOAEC como la respuesta a evaluar para compararla con la estimación de exposición.

4.1.2 Niveles de preocupación para la evaluación de riesgo de nivel I

Basado en el proceso descrito en el documento técnico, los riesgos estimados; es decir, los valores de los RQ solo son calculados para los adultos individuales y las larvas en el nivel I de evaluación general. Los valores del RQ son comparados con los LOC. Los LOC para la exposición aguda y crónica son iguales a 0.4 y 1.0, respectivamente. Si durante la evaluación un RQ excede su LOC, entonces el uso del plaguicida representa un riesgo potencial para los insectos polinizadores. Los valores de RQ se calculan para las abejas individuales y pueden considerarse aplicables a las abejas solitarias y sociales, aunque pueden ser estimaciones conservadoras de riesgo para estas últimas.

El LOC de 0.4 identificado en el documento técnico para la evaluación de los riesgos a las abejas individuales fue considerado muy conservador por la FIFRA SAP. Este valor se basa en la pendiente de la función probit de la curva dosis-respuesta, obtenida a través de los estudios de toxicidad aguda oral y de contacto. El SAP señaló correctamente que un nivel de mortalidad de un 10%, que resulta cuando los valores del RQ son iguales a un LOC de 0.4, no se ha demostrado que sea perjudicial para colonias intactas; este LOC se basa en un nivel de efecto que sería consistente con el de evaluación general (es decir, la mortalidad en el control) en los estudios de laboratorio. Se pretende que el LOC sea conservador y así sirva como un nivel de evaluación general para determinar si es necesario realizar estudios de un nivel superior.

Como se ha mencionado en el documento técnico y se representa en la

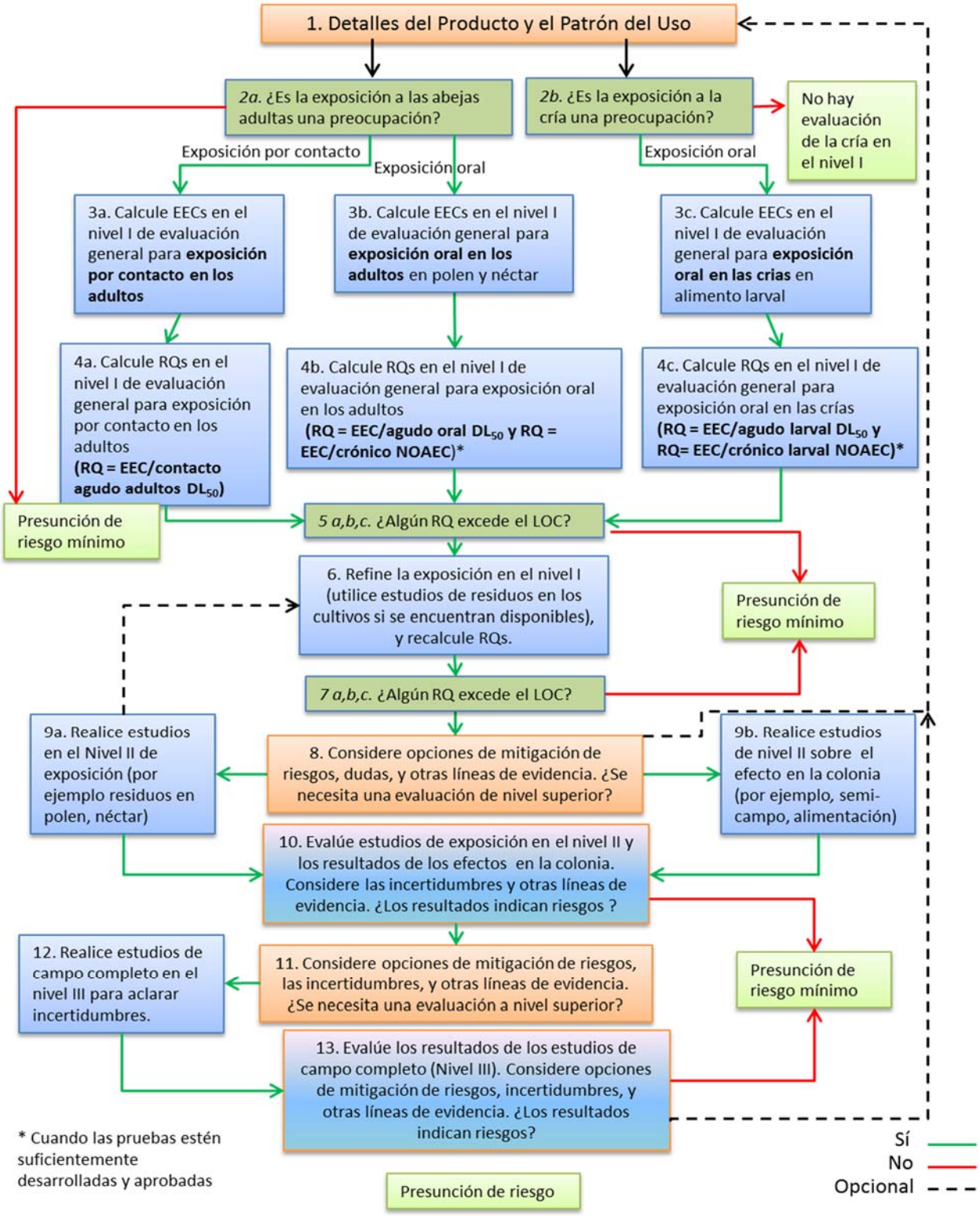


Figura 1 y Figura 2, los valores de RQ estimados por los modelos de exposición en el nivel I pueden ser refinados utilizando los datos las concentraciones de residuos del plaguicida antes de determinar si son necesarios datos adicionales a nivel de la colonia (nivel II). El LOC de 0.4 solo se aplica a la interpretación de los valores de RQ de los estudios de toxicidad aguda de las abejas individuales en el laboratorio y no se

aplica a los estudios de niveles superiores en las colonias (estudios de semi-campo y de campo, del nivel II y III, respectivamente). El LOC de 0.4 se aplica también a la interpretación de los valores de RQ de la toxicidad aguda de las larvas porque la información disponible sobre la pendiente de la curva dosis-respuesta para ellas es limitada, lo cual impide la determinación de un LOC utilizando el mismo mecanismo que en el caso de las abejas adultas.

Aunque los estudios de toxicidad crónica realizados en laboratorio con abejas adultas y larvas están todavía en desarrollo, algunos protocolos para ello se han preparado, los cuales pueden estar disponibles para su revisión. Como se discutió en el documento técnico, los valores de RQ crónicos deben ser comparados con un LOC de 1.0 y el riesgo es evaluado con base el hecho de que las EEC excedan la NOAEC de los estudios de toxicidad crónica con abejas individuales.

Para aquellos plaguicidas con los valores de RQ que exceden el LOC, aún después de que la exposición haya sido refinada utilizando los valores de los residuos medidos en el polen y el néctar, sería necesario hacer pruebas adicionales en las colonias a través de los estudios de nivel II de semi-campo. Dependiendo de la naturaleza de las incertidumbres, tal vez sea necesario realizar estudios de campo de nivel III. Los estudios de niveles superiores se utilizan para proporcionar una caracterización más realista de los posibles efectos adversos a las colonias, ya que buscan reflejar las condiciones reales del plaguicida en el medio ambiente. El evaluador de riesgo debe utilizar los estudios de semi-campo y de campo para determinar si la magnitud y duración de los efectos observados en los estudios de laboratorio en las abejas individuales se reflejan a nivel de toda la colonia. También se deben considerar las rutas de exposición, la relevancia biológica de los efectos, y los efectos subletales que tal vez no se manifiesten en los estudios de nivel I. En la medida que sea posible, la exposición de las colonias estimada a partir de los resultados de residuos de plaguicida medidos en el polen y el néctar (utilizando el plaguicida según las indicaciones de la etiqueta) debe ser caracterizada en relación a los efectos reportados.

4.2 Descripción de riesgo

4.2.1 El uso de otras líneas de evidencia

La fase de descripción de la caracterización del riesgo ofrece una oportunidad para discutir otras líneas de evidencia así como incertidumbres con respecto a los riesgos potenciales a las abejas más allá de los valores de RQ calculados en la estimación del riesgo.

Todos los estudios así como información relevante se utilizan para evaluar la probabilidad y/o extensión de los riesgos para las abejas en diversos escenarios de uso de plaguicida. Las evaluaciones de riesgos deben proporcionar una descripción transparente de las suposiciones e incertidumbres relacionadas a la evaluación y las líneas de evidencia que son consideradas. Cuando sea posible, la evaluación del riesgo deberá hacer referencia a discusiones más detalladas de las incertidumbres relacionadas a otras líneas de evidencia, además de aquellas contenidas en el Documento de Compendio, la documentación técnica y esta guía. En una evaluación de riesgo no es necesario incluir todas las incertidumbres indicadas en este documento; sin embargo, si el evaluador de riesgos considera que una incertidumbre es de particular preocupación sobre el producto químico que se está evaluando, se debe incluir una discusión de esa incertidumbre en la evaluación del riesgo. En la caracterización de la incertidumbre, el evaluador del riesgo debe incluir toda la evidencia. Un análisis donde se evalúa el peso de la evidencia puede describirse como un proceso integrador e interpretativo que se utiliza de manera rutinaria para evaluar los datos de toxicidad ecológicos[24] donde se toma en cuenta toda la información científica pertinente. El análisis debería considerar si los datos

[24]USEPA. 1998. Guidelines for Ecological Risk Assessment. Published on May 14, 1998, Federal Register 63(93): 26846 – 26924. http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/ECOTXTBX.PDF

existentes ofrecen evidencia relevante, robusta y consistente (por ejemplo, que los resultados de estudios de laboratorio, de semi-campo y de campo concuerden), de que un producto químico tenga el potencial de afectar negativamente a las abejas y en qué nivel de organización biológica (es decir, abejas individuales o a nivel de la colonia) y en qué condiciones (por ejemplo, con qué tasa de aplicación, duración de la exposición). Como parte de este análisis, el evaluador del riesgo debe considerar la factibilidad biológica del efecto, la coherencia y la regularidad de toda la información relevante que se encuentre disponible.

Datos de incidentes del Sistema Ecológico de Información sobre Incidentes de la EPA (EIIS, por sus siglas en inglés), Programa de Información de Incidentes Plaguicidas PMRA (IRP, por sus siglas en inglés) y otras bases de datos (por ejemplo, el sistema de datos de incidentes de la EPA) deben considerarse en el contexto del grado de confianza en estos datos.

Estudios científicos de acceso público que hayan cumplido con los estándares de la Agencia para ser incluidos en las evaluaciones de riesgos ecológicos también deben ser discutidos en la descripción del riesgo. Estos estudios pueden proporcionar información útil cuando se considera un enfoque basado en evidencia para la caracterización del riesgo. Una consideración cuidadosa debe hacerse respecto a la importancia de las respuestas evaluadas en los estudios de acceso público en relación con las respuestas que se reconocieron preocupantes.

Además, la sección de descripción de riesgo es un buen espacio para incorporar posibles opciones de mitigación y describir cómo las mitigaciones específicas podrían afectar las conclusiones del riesgo. A través de la incorporación de administradores de riesgos, los evaluadores de riesgos pueden incorporar múltiples líneas de evidencia y escenarios de exposición alternos en la descripción del riesgo.

4.2.2 Síntesis de los riesgos entre los niveles

La descripción del riesgo debe proporcionar una síntesis de los diversos niveles de refinamiento, para las exposiciones y los efectos considerados. También debe discutir en qué medida los estudios semi-campo y los estudios de campo de colonias enteras, cuando existan, ofrecen información congruente con estudios de laboratorio conducidos con las abejas individuales. Por ejemplo, si se observó mortalidad aguda en las larvas en condiciones de laboratorio, entonces en los estudios semi-campo, deberá preguntarse si se lograron identificar efectos en el desarrollo de la crías en la colonia. Si bien el riesgo cuantificado en el nivel I para las abejas individuales es importante, para las abejas sociales, una pregunta crítica es si también se producen efectos adversos a nivel de la colonia completa.

Los estudios de toxicidad en el nivel I con abejas melíferas normalmente involucran abejas de verano en lugar de las abejas de invierno. Esto se hace primordialmente por las limitaciones de recolectar un número adecuado de abejas de invierno sin dañar irreparablemente la colonia de la que se obtuvieron. En el verano, las abejas obreras pueden ser potencialmente sustituidas por la reina, mientras que esto no es posible en invierno. La evaluación debe tomar en cuenta esta distinción así como la reducción de la supervivencia de las abejas de invierno, las cuales dado que no pueden ser reemplazadas necesitan sobrevivir por más tiempo para asegurarse que la colonia pueda sobrevivir en el invierno. Por lo tanto, el periodo de tiempo cuando puede ocurrir la exposición potencial a las abejas en el campo debe ser considerado durante la evaluación de riesgos.

En cada colmena sólo hay una reina, en comparación con las abejas obreras que son muchas y típicamente reemplazadas. La pérdida de la reina puede resultar en la pérdida de toda la colonia, aunque las colonias pueden intentar reemplazar a una reina que no desempeñe sus funciones. Los efectos en la reina pueden ser estudiados en el nivel I mediante la modificación del protocolo que está diseñado actualmente para medir los efectos en las abejas obreras (estudios de toxicidad al nivel I). Como parte de la evaluación a nivel de colonia, se debe tener en cuenta si hay datos que podrían determinar si la reina está funcionando

correctamente. Si no hay medidas directas disponibles para observar la toxicidad en la reina, la condición de la cría puede servir como una medida indirecta del desempeño de la reina. El patrón de la cría (por ejemplo, irregular o uniforme), la presencia de huevos, y el desarrollo uniforme de las larvas y pupas pueden ser indicadores útiles. Otro indicador útil del desempeño de la reina puede ser la presencia de celdas reales destinadas a sustituir a una reina vieja y moribunda en el panal de cría y el reemplazo de la reina; las colonias en las que la reina que no esté funcionando podrían intentar sustituir (reemplazar) la reina. Además, un exceso de celdas de zánganos puede ser indicativo de una reina que no se ha fertilizado y que provocaría la pérdida de la colonia.

Los estudios de toda la colonia deben evitar la manipulación innecesaria de la colonia. La evaluación debe incluir observaciones generales de la actividad y la salud de la colonia. Las colonias limitadas a un recinto durante un estudio de nivel II probablemente exhibirán un aumento de estrés relacionado con el confinamiento y el espacio limitado dentro de los recintos. Estos factores deben ser descritos, incluso si no se considera que están relacionados con el tratamiento, ya que podrían afectar la detección de los efectos en el tratamiento bajo estudio. Una descripción adicional sobre la presencia de plagas y enfermedades antes y después de la aplicación deberá evaluarse como un indicador de la salud de las abejas.

4.2.3 Descripción de riesgo para efectos subletales

Además de las respuestas medidas que están ligadas directamente a los criterios toxicológicos de evaluación y que fueron utilizadas cuantitativamente en la caracterización del riesgo, la descripción del riesgo también debe incluir, si están disponibles, las respuestas sub-letales (por ejemplo, efectos en el comportamiento, el reflejo de extensión de probóscide) que están asociadas con el producto químico bajo investigación. Sin embargo, con frecuencia estas respuestas sub-letales carecen de información sobre los efectos en la sobrevivencia, el crecimiento o la reproducción. Aunque el FIFRA SAP recomendó un mayor uso de las respuestas sub-letales, su uso debe permanecer bajo un criterio cualitativo hasta que se hayan establecido vínculos adecuados entre estas respuestas y los criterios de evaluación toxicológicos. Esto es congruente con el proceso utilizado para otros taxones, como se describe en el Documento de Compendio, así como en las guías de investigaciones de acceso público.

Se requiere la observación de los efectos sub-letales en los estudios de toxicidad de laboratorio de nivel I. Sin embargo, estos estudios utilizan abejas individuales. La capacidad de estos estudios para probar las interacciones sociales entre las abejas (como tropholaxia, es decir, la transferencia de comida entre las abejas), y el comportamiento de vuelo o de forrajeo es limitada. Sin embargo, la información sobre los efectos sub-letales debe ser considerada como parte de la evidencia contundente para decidir la necesidad de hacer estudios a los niveles más altos así como parte de la caracterización general del riesgo.

Es importante que los efectos sub-letales sean descritos incluso cuando la asociación entre ellos y las respuestas capitales o apicales (por ejemplo, la supervivencia de la colonia) no sea aparente, ya que la ausencia de este efecto puede ser el resultado de limitaciones en el diseño del estudio (por ejemplo, insuficiencia en la duración del estudio). Por ejemplo, la técnica de identificación por radiofrecuencia (tecnología RFID) se ha empleado para marcar y seguir el movimiento de abejas, además de ser útil para cuantificar la actividad forrajera; sin embargo, algunas situaciones en donde se presente una caída marcada en la actividad forrajera, que no se vea reflejada en las estimaciones de la supervivencia de los adultos o larvas, podría indicar que existen mecanismos compensatorios (por ejemplo, suficientes reservas de alimento en el panal) que enmascaren el efecto.

La medida en que el comportamiento de las abejas forrajeras o de las abejas de la colmena se ve afectado por los tratamientos con plaguicidas debe ser discutida considerando si otras respuestas también se vieron afectadas. En los estudios de corta duración es difícil detectar un comportamiento irregular que pueda dañar el funcionamiento de la colmena. Del mismo modo, los estudios de mayor duración pueden ser perjudicados

por una serie de factores que pueden aumentar la variabilidad en la toxicidad y hacer difícil la detección de los efectos estadísticamente significativos a nivel de la colonia (por ejemplo, el clima, las plagas, las enfermedades y el forraje disponible). Cuando sea posible y donde los efectos de comportamiento sean reportados, ya sea en los estudios presentados como parte de requisitos de pruebas o en estudios científicos aceptados, se debe hacer un esfuerzo por determinar si estos efectos también son evidentes en otras respuestas que es muy probable que también se vean afectadas. Por ejemplo, un forrajeo irregular puede afectar las magnitud de la reserva de alimento en el panal y que, por consiguiente, puede ser acompañado por la disminución de la producción de cría por la reina.

Al revisar los estudios individuales, toda la información disponible se debe considerar cuando se evalúa la dinámica de desarrollo de la colonia y las interacciones potenciales entre las respuestas medidas.

4.2.4 Uso de los modelos de simulación

Diferentes aplicaciones de modelos de simulación de colonias para plaguicidas se encuentran en evaluación actualmente. Algunas de estas aplicaciones potenciales incluyen: la estimación de la exposición y caracterización de riesgos a las abejas expuestas a los plaguicidas cuando la disponibilidad de datos es limitada, y para completar un análisis de sensibilidad de las respuestas letales y sub-letales para determinar cuáles de estas respuestas son críticas para la supervivencia de una colonia (esto podría ser utilizado para informar los diseños del estudio de toxicidad o los LOCs para la evaluación de riesgos). El documento técnico discutió modelos de simulación y el SAP estuvo de acuerdo en que estos modelos pueden ser útiles, pero ninguno de los modelos disponibles se considera adecuado en este momento. Sin embargo, el SAP recomendó que componentes de los modelos existentes (por ejemplo, sub-rutinas analíticas) podrían ser apropiados para su uso en este momento. La EPA y PMRA están trabajando con investigadores en el gobierno, la academia y la industria a nivel nacional e internacional para evaluar y adaptar modelos e incluirlos en las evaluaciones de riesgos para usos regulatorios.

4.2.5 Incertidumbres

Las fuentes principales de incertidumbre en las evaluaciones del riesgo están relacionados con la estimación de la exposición de las abejas a plaguicidas y los efectos de esas exposiciones. Con respecto a la exposición dietaria, la primera fuente de incertidumbre puede estar relacionada con la cantidad de plaguicida en las fuentes de alimento consumido por las abejas para el nivel 1. Para la exposición por contacto, la incertidumbre se encuentra en la cantidad de residuos disponibles en las hojas y en el suelo que pueda ser absorbida por las abejas. También hay incertidumbre con respecto de la cantidad de residuos de plaguicidas a los que las abejas pueden ser expuestas a través de diversas fuentes de agua, incluyendo charcos y exudados de plantas, y cómo se utiliza esa agua (por ejemplo, si se ingiere, para utilizarla para diluir la miel, o para enfriar la colonia). La segunda fuente de incertidumbre está relacionada con las diferencias en la biología de las abejas y sus conductas en forrajeo que pueden impactar directamente las vías de exposición y el grado en que las abejas se alimentan en el cultivo tratado. Todas estas fuentes de incertidumbre pueden reflejarse en los diseños de los estudios de los diferentes niveles.

4.2.5.1 Incertidumbres: estimación de la exposición a nivel I

En la evaluación al nivel I, la exposición dietaria se basa en las tasas de consumo de alimentos con límite superior para las abejas melíferas. Estas tasas son estimadas con base en los estudios de laboratorio realizados en condiciones controladas. Pueden existir incertidumbres con respecto a los cambios fisiológicos que ocurren naturalmente en las abejas, por ejemplo, la diferencia entre las abejas en verano y las abejas en invierno. Sin embargo, se espera que las tasas de consumo de alimentos con límite superior utilizados en las evaluaciones sean conservadoras.

El modelo Briggs se utiliza actualmente para estimar los EECs de nivel I que resulta de una aplicación al suelo. Hay cinco limitaciones notables en el uso del modelo Briggs. La primera es que esta metodología se basa en datos empíricos de una sola especie de planta. La segunda limitación es que los datos utilizados para derivar elementos de ese modelo están basados en un número limitado de productos químicos que representan sólo dos clases de plaguicidas (es decir, oximas *O*-metilcarbamoílo y fenilureas sustituidas). La tercera limitación es que el enfoque se basa en datos de productos químicos orgánicos no iónicos; y su utilidad es limitada para los productos químicos iónicos porque el transporte no se puede predecir adecuadamente utilizando K_{OW} y K_{OC}). La cuarta limitación del modelo Briggs es que está basado en el transporte pasivo de sustancias químicas por el xilema, por lo tanto, este enfoque no calcula directamente las concentraciones de plaguicidas en las plantas que son el resultado del transporte en el floema. La quinta limitación involucra el uso de concentraciones de plaguicidas estimados en materia vegetativa de la planta como sustituto de néctar y polen. A medida que más datos estén disponibles, la utilidad del modelo Briggs para estimar las concentraciones de exposición para las aplicaciones en suelo será evaluada y revisada o bien, se adoptarán medios más apropiados para la estimación de exposición a Nivel de evaluación general.

4.2.5.2 Incertidumbres: el uso de los datos de residuos

El uso de datos de residuos en polen y néctar para cada producto químico reduce las incertidumbres asociadas a los métodos descritos anteriormente; sin embargo, estos datos deben ser utilizados con prudencia. Se debe tener cuidado de asegurar que los datos empíricos disponibles sean representativos de los usos propuestos del producto químico de interés y no representar exposiciones bajas a las abejas. Las muestras tomadas de las abejas forrajeras (que pueden forrajear en cultivos no blanco) pueden subestimar la concentración de plaguicidas en el polen y néctar de un cultivo tratado, ya que las abejas no se alimentan exclusivamente de los cultivos tratados.

4.2.5.3 Incertidumbres: prácticas agronómicas

Una de las consideraciones más importantes dentro de las prácticas agronómicas es el uso de los polinizadores criados por un apicultor para la producción de cultivos. Para algunos cultivos, los productores traerán abejas criadas por un apicultor para aumentar los servicios de polinización cuando las poblaciones de abejas silvestres no son suficientes para polinizar adecuadamente el cultivo. Estas abejas criadas comercialmente pueden incluir las abejas melíferas, abejorros, abejas azules del huerto, abejas cortadoras de hojas de alfalfa, etc. Cuando se utilizan abejas criadas comercialmente para polinizar un cultivo, se puede aumentar ampliamente la posibilidad y magnitud de la exposición a las abejas polinizadoras.

Las propiedades físico-químicas del plaguicida, las prácticas agronómicas (por ejemplo, riego) y usos de un plaguicida pueden afectar la translocación de plaguicidas sistémicos y tener efectos en la cantidad de los residuos en las fuentes de alimento de las abejas.

Las prácticas agronómicas también pueden estar relacionadas con el grado en que un uso particular registrado puede ser aplicado a través de toda el área con ese mismo uso. Diferentes patrones de uso pueden cubrir extensiones espaciales variables.

4.2.5.4 Incertidumbres: biología de la polinización

Incertidumbres relacionadas con la exposición de polinizadores a los plaguicidas en el campo también se asocian con la biología de la polinización de plantas/cultivos. La evaluación de riesgo por lo general abarca una gran variedad de cultivos o plantas que tienen características particulares de polinización. Estas plantas pueden incluir plantas ornamentales anuales o perennes, árboles o arbustos que están cubiertos por los usos

registrados para el sector forestal o cultivos anuales o perennes. Es importante tener en cuenta la biología de la polinización de cada una de estas plantas cuando se desarrolla una descripción de los riesgos potenciales a las abejas. En la fase de la formulación del problema en la evaluación, se debe considerar la información sobre la capacidad de atracción de las plantas a los polinizadores bajo los usos propuestos para determinar si la exposición puede ocurrir y el alcance de la evaluación de riesgos. En la fase de la descripción del riesgo como parte de la evaluación, la información sobre la capacidad de atracción de la planta al polinizador, áreas cultivadas totales, y métodos de aplicación, ayudarán al asesor de riesgos a determinar el aspecto espacial y temporal de los riesgos a los polinizadores así como potenciales soluciones de mitigación.

La biología de la polinización de las plantas se refiere a las características de la propia planta. Estas características incluyen las siguientes consideraciones:

Visita de las abejas a las flores de árboles, plantas ornamentales, o cultivos: No todas las plantas producen flores que son fuentes atractivas de forrajeo para las abejas, abejorros, o abejas solitarias. Por otro lado, flores de algunas especies de plantas sólo duran un corto período. La duración de floración corta reduce la exposición potencial de los visitantes de las flores.

Periodo de cosecha del cultivo: Mientras que un cultivo o planta puede producir flores que son atractivas para las abejas, algunos de estos cultivos se cosechan antes de la floración.

Periodo de floración del cultivo: Diferentes especies de plantas florecen en diferentes épocas del año. Además, la duración del período de floración puede diferir entre variedades de plantas. Por ejemplo, algunas variedades de plantas florecen dentro de un periodo específico y relativamente limitado llamado un período de floración determinado. Otros cultivos pueden producir flores de forma continua durante la temporada de cultivo o en un periodo de tiempo largo, a esto se le llama la floración indeterminada. Los cultivos que florecen indeterminadamente ofrecen un periodo mucho más prolongado de exposición potencial para las abejas polinizadoras.

Polen vs. Néctar como fuente de alimento para las abejas: No todas las flores producen néctar como premio para las abejas, y en algunas especies de plantas, las flores pueden no ser la única fuente de néctar (por ejemplo, algodón). Dependiendo de las especies de plantas, algunas flores no producen polen que las abejas recolecten. Por ejemplo, algunas variedades de cítricos producen cantidades mínimas de polen, y al mismo tiempo, proporcionan una fuente rica de néctar para las abejas polinizadoras. Por otro lado, el maíz es una monocotiledónea que produce grandes cantidades de polen que las abejas utilizan en diversos grados, mientras que no produce néctar. Así, el tipo de alimento producido por la planta puede ser una consideración importante para el cultivo específico.

Diversidad de abejas: En cuanto a los tipos de abejas, las abejas melíferas y los abejorros son coloniales, mientras que hay una variedad de abejas, ya sea criadas por un apicultor y/o silvestres, que son solitarias, por lo cual, dependiendo de la planta y de las estrategias de forrajeo su potencial de exposición, puede variar sustancialmente.

4.2.5.5 Incertidumbres: las diferencias en la historia de vida de las abejas

Como se ha indicado en el documento técnico y en el SAP, existe incertidumbre sobre el grado en que el proceso de evaluación de riesgos basado en datos sobre una especie específica (por ejemplo, *A. mellifera*), puede ser representativo de todo un taxón o múltiples taxones. Esto es especialmente cierto cuando las abejas melíferas son utilizadas como una especie representativa de todos los polinizadores. Las abejas son una especie social (eusociales), y la supervivencia de la colonia/colmena depende de las tareas colectivas

de varias castas que funcionan como un "súper-organismo"; mientras que, la mayoría de las otras especies de abejas, en particular las especies nativas de América del Norte, son solitarias.

4.2.5.6 Incertidumbres: las diferencias en plagas/patógenos/nutrición/manejo

Hay múltiples factores que influyen en la fuerza y la sobrevivencia de las abejas solitarias y sociales. Estos factores incluyen la presencia de enfermedades, plagas (por ejemplo, ácaros), calidad de la nutrición y las prácticas de manejo. Estos factores pueden confundir la interpretación de los estudios que examinan la relación entre un producto químico y un receptor (abeja adulta o larvas). Por lo tanto, la mayoría de los estudios intentan minimizar la medida en que estos factores afectan el estudio; sin embargo, los estudios en un nivel superior ofrecen menos control sobre estos factores y por tal motivo, estos roles pueden llegar a ser cada vez más importantes cuando la duración del estudio se extiende. Aunque los estudios intentan minimizar los efectos de otros factores ambientales, existe incertidumbre acerca de la medida en que los efectos de una sustancia química puedan ser sustancialmente diferentes si estos otros factores ambientales hubieran estado presentes.

4.2.5.7 Incertidumbres: incertidumbres en el diseño de estudios

Los datos de la toxicidad de los residuos en el follaje se utilizan para caracterizar cualitativamente la cantidad de tiempo que los residuos siguen siendo tóxicos para las abejas. Los resultados del estudios podrán resultar en declaraciones de precaución en la etiqueta del producto similares a los discutidos en el Manual de Revisión de Etiquetas de la EPA[25] o en los documentos guías destinados a reducir los efectos potenciales de los plaguicidas en las abejas (por ejemplo, Riedl *et al*., 2006)[26].

Estudios en los que se les provee a las colonias de una fuente alimentaria de comida que contiene el plaguicida (es decir, solución de azúcar o polen) se refieren como "los estudios de alimentación". Los estudios de alimentación se utilizan como medio para examinar los efectos potenciales del plaguicida en las colonias de abejas que están forrajeando libremente; sin embargo, hay incertidumbres asociadas a estos estudios. Debido a que a las abejas se les proporciona una alimentación específica; por ejemplo, solución de azúcar con plaguicida, como lo propuso Oomen *et al*., 1992[27], existe incertidumbre sobre si la dieta específica puede limitar la diversidad nutricional necesaria para las abejas en el experimento. Aunque se registra la cantidad de comida consumida, las tasas de consumo dentro de los tratamientos pueden variar ampliamente, y hay incertidumbre sobre la cantidad de material que se consume en comparación con la comida almacenada en el panal. La riqueza de otras fuentes de alimento en la zona de estudio también puede influir en el consumo real del químico que se provee en el estudio. Aunque las colonias son típicamente colocadas lejos de las áreas agrícolas, la medida en que las abejas forrajeras libres pueden tener acceso a las plantas contaminadas con otros plaguicidas es incierta. Además, estos estudios pueden tener un gran número de colonias, que pertenecen a diferentes grupos de tratamiento, en las proximidades donde las abejas pueden cruzar entre los tratamientos ya sea para robar o recoger de colonias que están deterioradas; esta actividad se produciría en las zonas con menos forraje. Por último, abejas de otros grupos de tratamientos/controles pueden robar recursos de las colonias deterioradas resultando de esta manera en una dosis de exposición diferente a la planeada

Los estudios de túneles de nivel II contienen desafíos inherentes al diseño. En estos estudios, se coloca una red sobre las colonias y se contiene dentro de sus límites un cultivo de ensayo que sirve como fuente de alimento. Los encierros pueden afectar el desempeño de las colonias y causar un desarrollo limitado de

[25] USEPA. 2012. Label Review Manual. http://www.epa.gov/oppfead1/labeling/lrm/
[26] Riedl, H. E. Johansen, L. Brewer and J. Barbour. 2006. How to Reduce Bee Poisoning from Pesticides. A Pacific Northwest Extension Publication. Oregon State University, University of Idaho, and Washington State University. http://extension.oregonstate.edu/catalog/pdf/pnw/pnw591.pdf
[27] *Ibid* Oomen *et al*. 1992.

éstas, como resultado del estrés de las abejas en los túneles o por el forraje insuficiente para las abejas dentro de los túneles. La disponibilidad de fuente de alimento y el impacto en el comportamiento de las abejas de ensayo limita la duración de la exposición en el estudio de túnel. Aunque un estudio de nivel II se debe diseñar cuidadosamente, a través de la consideración del tamaño de la colmena de prueba, duración de la exposición y la suficiencia de alimentación, para minimizar el efecto del túnel, el evaluador debe prestar atención al comportamiento de las colonias de control dentro de los túneles para determinar si el estrés causado en las colonias tiene un efecto notable en su comportamiento que pueda afectar la capacidad de obtener resultados significativos a partir de los datos del estudio.

La evaluación de estudios de nivel II (semi-campo) o de nivel III (de campo completo) puede ser difícil porque el ambiente de estudio no es controlado y varios factores pueden impactar el estudio. En el caso de estudios de túneles, estos factores pueden incluir el clima, las enfermedades/parásitos, la cantidad del cultivo tratado que las abejas consumen en comparación con simplemente el almacenamiento de la comida tratada, y la posibilidad de encontrar forraje contaminado o inadecuado una vez que se colocan las colonias fuera del túnel para la evaluación extendida. En el caso de estudios de campo, factores de confusión también pueden incluir el clima, las enfermedades/parásitos, la cantidad que las abejas consumen en comparación con cuánto almacenan de la comida tratada, además de la alternativa de áreas de forraje (no tratada o tratada con otros plaguicidas) y la distancia que las abejas obreras pueden forrajear para alimentarse durante la fase de exposición del estudio. Cuando se encuentran efectos que confunden en estos estudios, el evaluador debe determinar si alguna información está contenida en el estudio, teniendo en cuenta la complejidad y el costo de estos estudios. El SAP acertadamente señaló que mientras más tiempo dura un estudio, mayor será la oportunidad de que otros factores afecten a las colonias bajo estudio; diseños de estudio apropiados y replicación pueden proporcionar una forma de explicar estos otros factores, en particular los estudios de escalas de espacio-tiempo extendidos.

Las mediciones directas de los efectos sobre las castas específicas (por ejemplo, reinas) pueden ser limitadas debido a un número inadecuado de los organismos experimentales o limitaciones logísticas para aislar elementos particulares de la colonia en estudio. Por lo tanto, los efectos potenciales o la ausencia de ellos, se infieren con frecuencia tomando como base otras mediciones a nivel de colonia. Por ejemplo, el desempeño de la reina puede evaluarse indirectamente a través de la evaluación de la puesta de huevos, reemplazo, y la extensión de la producción de células de zánganos. La evaluación de riesgos debe ser transparente en el reconocimiento de las incertidumbres asociadas con este tipo de inferencias.

Debido al alto costo y gran variabilidad de las condiciones de campo asociadas con un estudio de campo, el diseño de un estudio de campo apropiado puede ser difícil. Además, debido a las preocupaciones de la utilización de productos químicos tóxicos de evaluación general en estudios de campo abiertos, estos estudios no incluyen con frecuencia productos químicos tóxicos de evaluación general tales como los utilizados en estudios de laboratorio y semi-campo. Los estudios de campo también raramente tienen un alto número de replicaciones; por lo tanto, el poder de detección estadística de un estudio puede ser bajo. Sin embargo, estudios de campos se realizan bajo condiciones de exposición más realistas (tasas de aplicación reales) y se espera que reflejen el impacto potencial de un plaguicida en el campo. Aunque la evaluación del riesgo considera todo el peso de la evidencia de todos los estudios evaluados, los resultados de los estudios de Nivel III ofrecen la comprensión más realista de los efectos en las colonias para el uso recomendado del plaguicida.

4.2.6 Deficiencia de datos o de información

Uno de los mayores desafíos que enfrentan los evaluadores de riesgos es la magnitud de la variabilidad y la incertidumbre asociada al estimar la probabilidad potencial y la magnitud de los efectos adversos a las abejas. La decisión de recomendar estudios adicionales se debe basar en una hipótesis razonable de riesgo que haya considerado todas las líneas de evidencia disponibles en un estudio.

Como se ha indicado en ésta guía, la evaluación del riesgo a nivel general puede ser refinada utilizando datos de residuos de químicos específicos. Estudios de residuos para apoyar las evaluaciones de riesgos en la etapa a nivel de evaluación general deben enfocarse en un pequeño número de cultivos que son atractivos para los polinizadores que pueden servir como una buena fuente de polen o néctar para las abejas forrajeras y por lo tanto ser una lista representativa de otros cultivos. Consideraciones adicionales para la selección de los cultivos podrían incluir la superficie del cultivo que potencialmente puede ser tratada en una zona, o el porcentaje de la cosecha tratada, así como los métodos de aplicación. Cuando se examinan otras líneas de evidencia, los evaluadores de riesgos deben determinar si los datos de exposición de los productos químicos de estructura similar podrían ser utilizados y/o si los datos requeridos por otras autoridades reguladoras son accesibles. Mientras que varios usos pueden ser propuestos, no es práctico y/o razonable intentar recolectar datos de residuos para todos los cultivos sólo para aumentar la precisión de las estimaciones de riesgo. Mientras que los datos utilizados en estudios de residuos se utilizan típicamente para refinar los valores de RQ a nivel de evaluación general, los datos de los estudios pueden ser útiles para ponerlos a nivel de la colonia en su contexto, particularmente cuando se obtienen datos similares durante la realización de estudios de nivel II y nivel III.

Con base en las propiedades de las sustancias químicas de interés, los usos propuestos y la evidencia disponible, se debe adoptar un enfoque de niveles múltiples para determinar qué información sobre los efectos es necesaria para realizar una evaluación adecuada del riesgo a los polinizadores. Las vías potenciales de exposición, su duración y el nivel de exposición deben ser consideradas para determinar los tipos de estudios que se requieren. Por ejemplo, si se esperan múltiples exposiciones, puede ser necesario realizar un estudio crónico. Se requieren estudios a niveles superiores cuando las preocupaciones de riesgo no pueden ser tratados en los niveles inferiores. Además, y si es posible, los estudios al nivel superior deben estar diseñados y realizados para aclarar riesgos específicamente identificados en los niveles inferiores o por otra información disponible (véase la **Sección 0** para más detalles sobre los requisitos de datos).

Como se indicó en esta guía, la necesidad de datos adicionales y el orden de las recomendaciones de datos no son dictadas por una secuencia estricta. Por el contrario, varias líneas de investigación deben ser consideradas en conjunto con un entendimiento de las necesidades para el manejo de riesgos. Se debe hacer un esfuerzo por determinar si hay datos disponibles sobre productos químicos de estructura similar con un modo de acción común; estos datos podrían aclarar algunas incertidumbres y reducir la necesidad para estudios adicionales. Del mismo modo, los datos de otros productos químicos pueden informar las decisiones que se desvían de la secuencia típica de los estudios y recomendar estudios especiales para resolver incertidumbres particulares. En cada etapa del proceso, las medidas de mitigación de riesgos potenciales y las opciones de manejo deben ser consideradas para que puedan reducir la necesidad de realizar estudios adicionales ya que la probabilidad de la exposición ha sido mitigada suficientemente.

Apéndice 1. Modelos conceptuales

A1.1 Plaguicidas no sistémicos: Aplicación foliar

Para los plaguicidas no sistémicos aplicados mediante rocío foliar, las vías de exposición predominantes para las abejas incluyen el depósito directo de las gotas de aerosol sobre las abejas, depósito sobre superficies de las plantas (hoja, flor, polen, néctar, nectarios extra-florales) seguido por el contacto y/o la ingestión, y la inhalación de químicos en fase gaseosa (para plaguicidas sumamente volátiles; **Figura A1.1**).

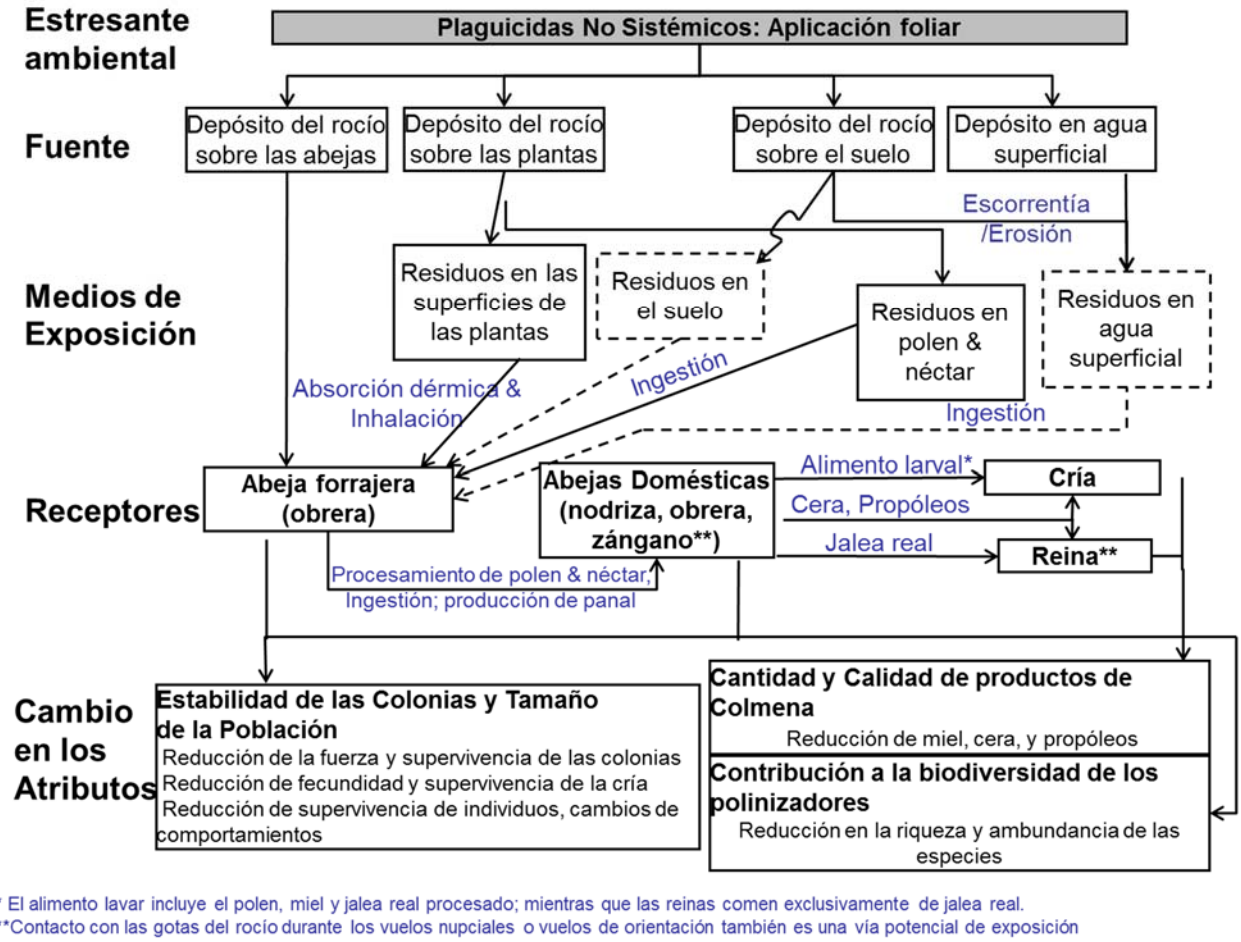


Figura A1.1. Modelo conceptual genérico para la evaluación de riesgo de las abejas para plaguicidas no sistémicos con aplicación foliar. Las líneas discontinuas representan vías de exposición que no están consideradas como rutas principales de exposición.

A1.2. Plaguicidas sistémicos: Aplicación foliar

Las aplicaciones foliares de plaguicidas sistémicos probablemente resultarán en muchas de las mismas vías de exposición a las abejas como se describió previamente para los plaguicidas no sistémicos, con varias excepciones importantes. Primeramente, el depósito sobre la superficie de las plantas y el suelo resultará en la translocación del plaguicida a otros tejidos de la planta, contribuyendo potencialmente a mayores cantidades de residuos de plaguicidas en el polen y el néctar. Para los plaguicidas sistémicos persistentes, la exposición podría incluir mayores períodos de tiempo (flechas rojas; **Figura A1.2**) en comparación con aplicaciones similares de plaguicidas no sistémicos. Segundo, los residuos de plaguicidas en exudados de plantas (líquido de gutación, mielato) también se convierten en vías potencialmente relevantes en la exposición.

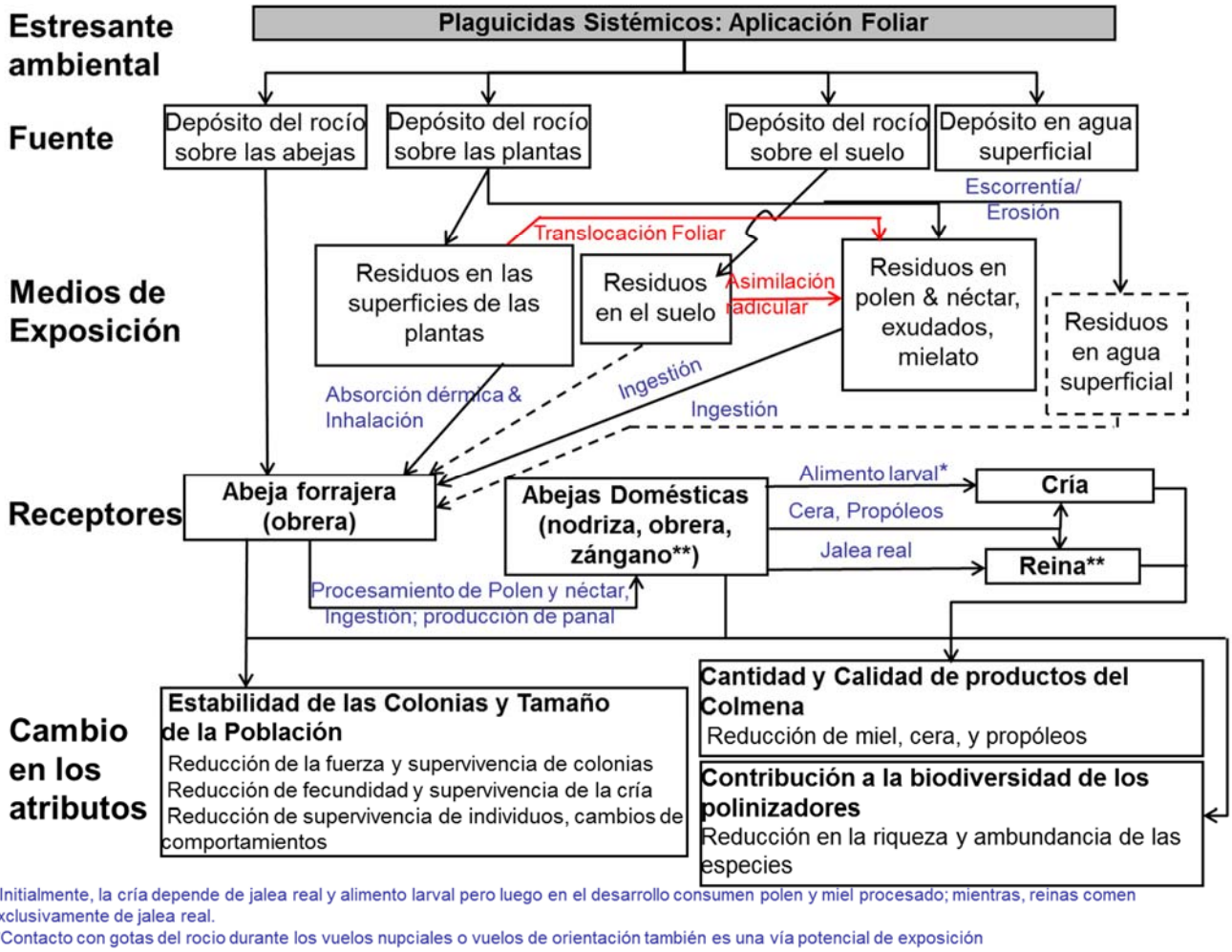
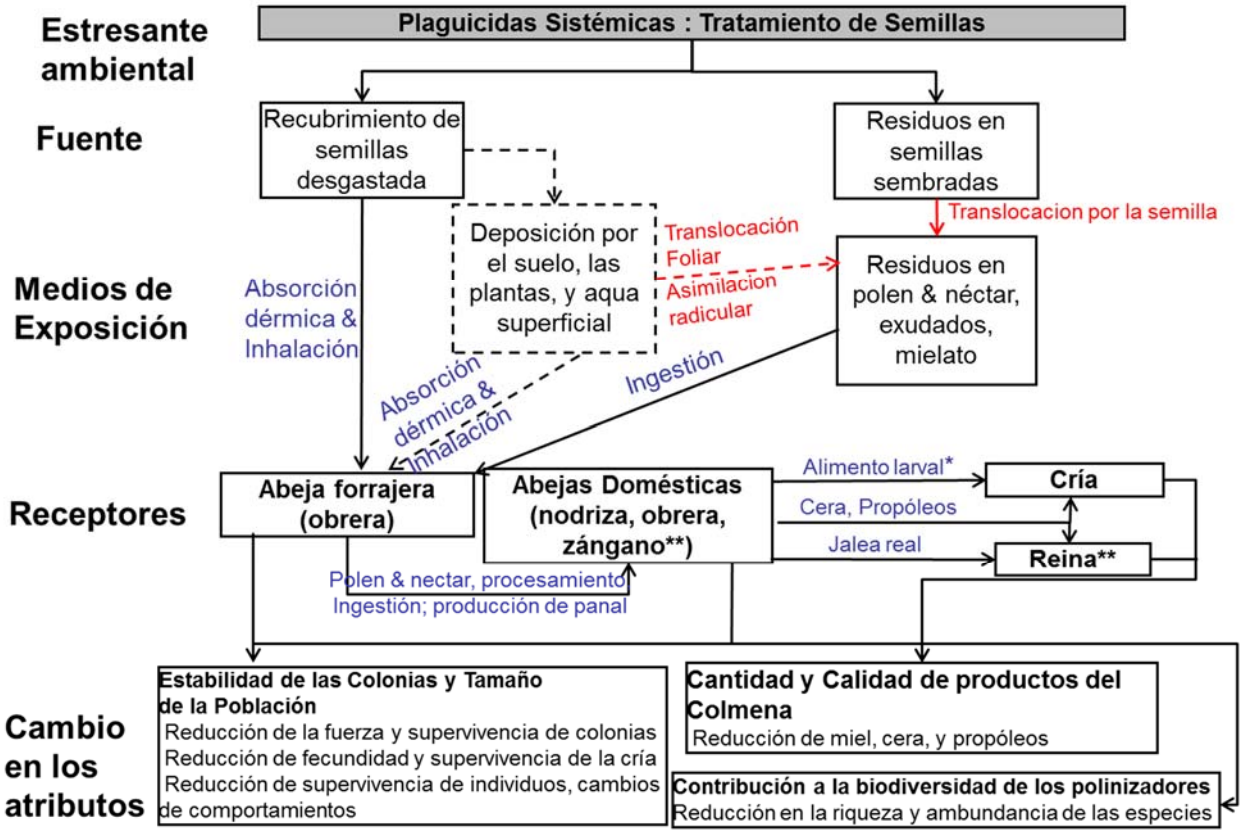


Figura A1.2. Modelo conceptual genérico para la evaluación de riesgo en las abejas por plaguicidas no sistémicos de aplicación foliar. El color rojo indica las vías sistémicas. Las líneas discontinuas representan vías de exposición que no están consideradas como las rutas principales de exposición.

A1.3 Plaguicidas sistémicos: Tratamientos de semillas

Las principales vías de exposición para las abejas a los plaguicidas sistémicos utilizados como tratamientos de semillas incluyen polen, néctar, exudados (por ejemplo, fluido de gutación y mielato) resultante de la translocación desde la semilla a los tejidos de la planta que están en desarrollo **(Figura A1.3)**. Otra ruta importante de exposición incluye el contacto con el polvo de las semillas escarificadas durante la siembra.



*Inicialmente, la cría depende de jalea real y alimento larval, posteriormente en el desarrollo consumen polen y miel procesados; mientras que las reinas comen exclusivamente jalea real.

*El contacto con las partículas de polvo es también una vía potencial de exposición durante los vuelos nupciales o vuelos de orientación.

Figura A1.3. Modelo conceptual genérico para la evaluación del riesgo en las abejas por plaguicidas no sistémicos utilizados en el tratamiento de semillas. El color rojo indica las vías sistémicas. Las líneas discontinuas representan vías de exposición que no son consideradas como las rutas principales de exposición.

A1.4 Plaguicidas sistémicos: Aplicación al suelo

Los plaguicidas sistémicos también incluyen las aplicaciones al suelo (**Figura A1.4**). Se espera que la exposición de las abejas a plaguicidas a través de estas aplicaciones resulte principalmente en la translocación a otras partes de la planta (polen, néctar, exudados y mielatos). En aplicaciones al suelo, existe la posibilidad de exposición a través de la escorrentía y luego una translocación a las plantas adyacentes al campo tratado.

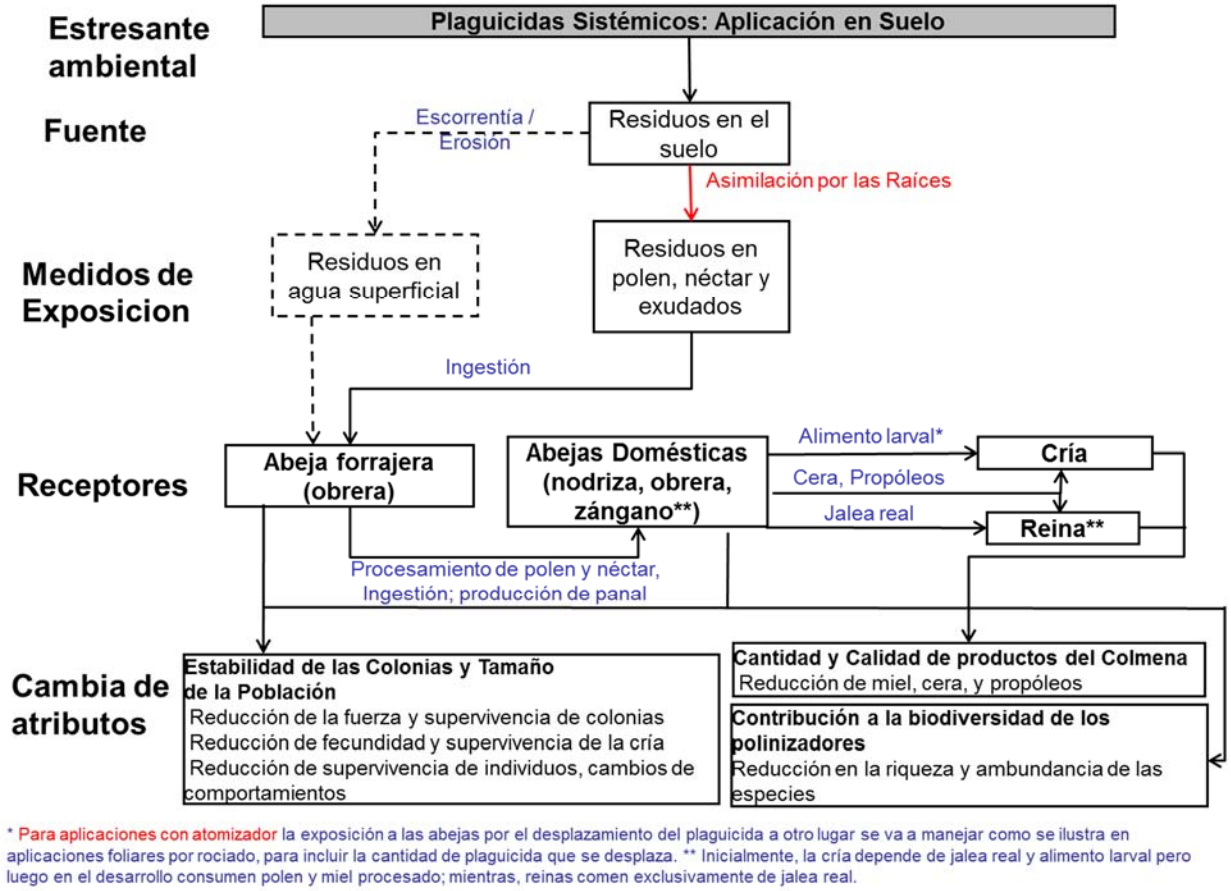


Figura A1.4. Modelo conceptual genérico para la evaluación de riesgo en las abejas por plaguicidas sistémicos, aplicación al suelo. El color rojo indica las vías sistémicas. Las líneas discontinuas representan vías de exposición que no están consideradas como las rutas principales de exposición.

Apéndice 2. Consideraciones relacionadas con la cuantificación de residuos de plaguicidas en el polen y en el néctar utilizando estudios específicos de plaguicidas

Los datos empíricos pueden utilizarse para refinar las suposiciones conservadoras y reducir la incertidumbre asociada a la evaluación de la exposición nivel I, ya que proporcionan medidas directas de las concentraciones de plaguicidas resultantes de los usos reales. Los estudios que investiguen las concentraciones de plaguicidas en el polen y el néctar deben estar diseñados para proporcionar datos sobre los residuos en los cultivos y métodos de aplicación.

Es preferible que los residuos se midan a partir de muestras de polen y néctar colectadas directamente de un cultivo. De lo contrario, se pueden medir a partir de muestras de polen y néctar tomadas de abejas que han colectado las muestras (por ejemplo, durante los estudios de túnel de nivel II). Se deben tomar medidas para evitar la degradación durante el muestreo. El uso de las abejas melíferas para recoger muestras puede ser deseable para cultivos que tienen estructuras florales que complican la colecta directa de polen y néctar por los seres humanos. Sin embargo, cuando se utilizan las abejas para el muestreo de polen/néctar, se debe tener cuidado y asegurarse de que los datos de residuos son representativos del cultivo blanco; de lo contrario, los datos de residuos pueden subestimar la exposición al cultivo. La degradación química en el polen y el néctar puede ocurrir en o sobre las abejas después de ser colectadas. Se debe limitar a las abejas de la recolección de polen y néctar de otras fuentes distintas del cultivo de interés.

Las consideraciones adicionales pueden incluir la colecta de partes vegetativas del cultivo tratado garantizando así que la concentración máxima de residuos sea capturada. Estos datos, tomados durante un periodo de tiempo, pueden reflejar la curva de acumulación/depuración de los químicos y pueden proporcionar información sobre el transporte y las posibles medidas de duración/concentración en la planta.

No es necesario tener datos de residuos de cada cultivo para los cuales se ha registrado/propuesto un plaguicida. Para efectos de refinamiento, se considera suficiente apoyarse en los datos de un número selecto de cultivos que representan adecuadamente la diversidad de los cultivos que atraen polinizadores y los usos registrados. En este enfoque, los cultivos individuales se utilizan como sustitutos de otros cultivos. Cuando se seleccionan los cultivos substitutos, la naturaleza del cultivo (es decir, si florece en un período determinado o indeterminado), que tan atractivo es para las abejas, el método de aplicación, y la selección del lugar deben ser considerados para seleccionar las exposiciones que producirán una estimación conservadora a través del polen y néctar (por ejemplo, mayor magnitud, la duración y la extensión espacial de los residuos). En cuanto al número y naturaleza de los estudios de residuos a recomendar, los evaluadores de riesgos deben tener en cuenta cómo se utilizarán estos datos para la evaluación de riesgos. En la medida posible, los estudios deben centrarse en aquellos escenarios que se cree representan la exposición de más alto potencial (método de aplicación/cultivo/suelo/ubicación). De igual forma que en cualquier estudio, se deben considerar no sólo los recursos que intervienen en la realización del estudio, sino también la revisión de los estudios, así como su contribución a la totalidad de la evaluación de riesgos.

Las siguientes consideraciones son relevantes para evaluar la amplitud y el diseño de los protocolos para los estudios de residuos:

- -Atracción de los cultivos bajo estudio a las abejas
- -Área de extensión del cultivo (por ejemplo, los acres que se esperan para el uso)
- -Duración y tiempo del período de floración en relación con la polinización/forrajeo de abejas
- - Tasas de aplicación del plaguicida, tiempo y métodos
- - Influencia de los factores del suelo y prácticas agronómicas sobre residuos en el cultivo
- - Influencia de las condiciones hídricas/meteorológicas y de transpiración del suelo de los residuos

en el cultivo
- Diversidad de la biología y la fisiología de los cultivos dentro de un grupo de cultivos, y
- Naturaleza temporal de residuos de plaguicidas en el polen y néctar (por ejemplo, tiempo hasta el pico de residuos y el potencial de acumulación de los residuos de plaguicidas de temporada a temporada)

Aunque la lista de consideraciones antes mencionadas es sustancial, lo más probable es que no será necesario cuantificar el efecto de todos esos factores sobre los residuos en cada cultivo sustituto. La comprensión de la naturaleza de los residuos de plaguicidas en los cultivos se puede obtener de la magnitud de los residuos, el metabolismo de la planta y los estudios de rotación de cultivos realizados en la evaluación de la salud humana. Por otra parte, estudios de residuos en cultivos pueden ser estructurados de tal manera que los resultados de estudios anteriores pueden ayudar a informar acerca del diseño y de la necesidad de estudios posteriores.

Apéndice 3. Bee-REX

El modelo Bee-REX es una herramienta de nivel de evaluación general destinado para su uso en la evaluación de riesgos de nivel I para evaluar las exposiciones de las abejas a los plaguicidas y para calcular los cocientes de riesgo. Este modelo está basado en el individuo, y no tiene como objetivo evaluar la exposición y los efectos a nivel de la colonia (es decir, para las abejas melíferas).

El método de exposición de nivel I pretende dar cuenta de las principales vías de exposición a los plaguicidas que son relevantes para las abejas (es decir, a través de la dieta y de contacto). Las vías de exposición para las abejas difieren según el tipo de aplicación. En el modelo, las abejas que se alimentan en un campo tratado con un plaguicida a través de aplicación foliar directa podrían estar potencialmente expuestas al plaguicida a través de la rociada directa, así como a través del consumo de alimentos contaminados. No se espera rociada directa sobre las abejas melíferas que forrajean en los campos tratados con plaguicidas a través de la aplicación directa al suelo (por ejemplo, la irrigación por goteo), a través de tratamientos de semillas, o por medio de la inyección a los troncos de árboles. Para estos métodos de aplicación, se espera que la exposición a plaguicidas a través del consumo de los residuos en el néctar y el polen sean las rutas dominantes. Las abejas melíferas forrajeras también pueden estar expuestas a los plaguicidas a través del contacto con el polvo de los tratamientos de semillas o bien mediante el consumo de las aguas superficiales, los charcos, la formación de gotas de rocío en las hojas y fluido de gutación; sin embargo, la herramienta Bee-REX no incluye la cuantificación de las exposiciones a través de estas rutas.

El **Apéndice 3, Tabla 1** resume los estimados de exposiciones y efectos utilizados en el desarrollo de los Cocientes de Riesgo (RQs) de nivel 1 de evaluación general para abejas adultas individuales y larvas para aplicaciones de rocío foliar, aplicaciones en suelos, tratamientos de semillas y aplicaciones en troncos de árboles. Los valores de exposición apropiados y estimados de toxicidad serían utilizados para derivar estos RQs. Los valores de RQ resultantes serían entonces comparados con los LOCs para exposiciones agudas y crónicas, que son 0.4 y 1.0, respectivamente.

Apéndice 3, Tabla 1. **Resumen de las exposición y efectos estimados para derivar los cocientes de riesgo para las evaluaciones de riesgo en el Nivel I**

Respuesta medida (Endpoints)	Ruta de Exposición	Exposición estimada+	Efecto tóxico agudo evaluado	Efecto crónico evaluado+++
Aplicaciones Foliares				
Supervivencia Individual (adulto)	Contacto	AR_{USA} (2.7 μg a.i./abeja) $AR_{Canadá}$* (2.4 μg a.i./abeja)	Contacto Agudo DL_{50}	Ninguno
Supervivencia Individual (adulto)	Alimentación	AR_{USA} * (110 μg a.i /g) (0.292 g/ día) $AR_{Canadá}$ * (98 μg a.i /g) (0.292 g/ día)	Oral Agudo DL_{50}	NOAEL de efecto oral crónico en los adultos (efectos en la supervivencia o la longevidad)
Tamaño y sobrevivencia de la cría	Alimentación	AR_{USA} * (110 μg a.i /g) (0.124 g/ día) $AR_{Canadá}$ *(98 μg a.i /g) (0.124 g/ día)	Larva DL_{50}	NOAEL oral crónico en la larva (efectos en la emergencia de adultos, la supervivencia)
Tratamientos de Suelos				
Supervivencia Individual (adulto)	Alimentación	(Briggs EEC) * (0.292 g/día)	Oral Agudo DL_{50}	NOAEL de efecto oral crónico en los adultos (efectos a la supervivencia o la longevidad)
Tamaño y supervivencia de la cría	Alimentación	(Briggs EEC) * (0.124 g/ día)	Larval DL_{50}	NOAEL oral crónico en larva (efectos a la emergencia de adultos, la supervivencia)
Tratamientos de Semillas				
Supervivencia Individual (adulto)	Alimentación	(1 μg a.i /g) * (0.292 g/ día)	Oral Agudo DL_{50}	NOAEL de efecto oral crónico en los adultos (efectos a la supervivencia o la longevidad)
Tamaño y supervivencia de la cría	Alimentación	(1 μg a.i /g) * (0.124 g/ día)	Larva DL_{50}	NOAEL Crónico oral en larva (efectos a la emergencia de adultos, la supervivencia)
Aplicaciones de Troncos de Árbol++				
Supervivencia Individual (adulto)	Alimentación	(μg a.i. aplicada al árbol/g de follaje) * (0.292 g/ día)	Oral Agudo DL_{50}	NOAEL de efecto oral crónico en los adultos (efectos a la supervivencia o la longevidad)
Tamaño y supervivencia de la cría	Alimentación	(μg a.i. aplicada al árbol/g de follaje) * (0.124 g/ día)	Larva DL_{50}	NOAEL oral crónico en larva (efectos a la emergencia de adultos, la supervivencia)

AR_{USA} = tasa de aplicación en libras de ingrediente activo lb a.i./Acre; $AR_{Canadá}$= tasa de aplicación en kg de ingrediente activo/hectárea

+ Basado en las tasas de consumo de alimentos para larvas (0.124 g/día) y las abejas obreras adultas (0.292 g/día) y la concentración en el polen y el néctar.

++ Note que las concentraciones estimadas para aplicaciones de árboles son específicos para el tipo y la edad del cultivo al que se aplica el producto químico.

+++ Para calcular RQ para efectos crónicos, es posible utilizar NOAEC como la respuesta a evaluar para el efecto para comparar con el estimado de exposición en la concentración.

1.1. Valores de toxicidad

Las concentraciones de exposición estimadas se integran con los datos de toxicidad disponibles con la finalidad de caracterizar los riesgos de un plaguicida para las abejas melíferas. Al hacerlo, las estimaciones de exposiciones y de toxicidad en el nivel I son comparados con base en las mismas rutas de exposición. Por ejemplo, las exposiciones estimadas mediante rociado directo sobre las abejas que están libando se combinan con las respuestas por contacto, mientras que las estimaciones de exposiciones dietarias se comparan con los datos de toxicidad oral.

Para exposiciones agudas, las respuestas medidas son los valores de DL_{50} para abejas adultas y larvas expuestas a una sola dosis del plaguicida y observadas durante varios días. Para las abejas adultas, el valor de la DL_{50} por contacto debe ser derivado de un estudio que se lleve a cabo de una manera consistente con la guía 850.2020[28] o la 214 de la OCDE. La respuesta medida para el caso de la exposición oral de abejas adultas debe ser de obtenida de un estudio que sea similar al considerado en la guía 213 de la OECD[29]. Para las larvas, la DL_{50} oral aguda debe ser obtenerse de un estudio que se lleve a cabo de una manera consistente con la guía 237 de la OECD[30]. La guía para los estudios crónicos en larvas se encuentra en desarrollo y la estimación de toxicidad crónica se debe generar de una manera consistente con esta guía.

Actualmente, no hay guías estandarizadas disponibles de evaluación general para los estudios crónicos en laboratorio para las abejas. Si un nivel de efecto adverso no observado (NOAEL) o concentración (NOAEC) científicamente válido, a partir de un estudio crónico con abejas o larvas adultas se encuentra disponible, el usuario del modelo puede ingresar los datos de dichos estudios en la herramienta Bee-REX para calcular RQ crónicos. Cabe señalar que aunque puede ser posible extraer tanto un NOAEL o NOEAC como un CE_x o CL_x de los estudios de laboratorio, es importante tener en cuenta las diferencias en los diseños de los estudios basados en hipótesis que son necesarios para sostener de una forma confiable el NOAEL/NOAEC, comparado con un diseño de estudio basado en una regresión necesaria para apoyar los estimados de CE_x y CL_x. Cuando un NOAEC, o un CE_x o CL_x son utilizados como estimados de toxicidad, se deben utilizar los estimados de exposición en concentraciones. En este caso, RQ pueden ser generados fuera de la herramienta Bee-REX, dividiendo el estimado de exposición basado en la concentración, por el estimado de toxicidad apropiado.

Cabe señalar que la herramienta utiliza los datos de toxicidad para las abejas obreras para calcular los valores de RQ para las reinas y los zánganos. Existe incertidumbre en el uso de las abejas obreras como sustitutos para la casta real debido a las diferencias de tamaño de las abejas (es decir, las reinas y los zánganos adultos son más grandes que las obreras).

1.2. Tasas de consumo de alimento

Como se discutió en la caracterización de efectos, son necesarios los datos de toxicidad oral para adultos y larvas, con el fin de caracterizar los riesgos de un plaguicida. Es importante que los estimados de exposición y de toxicidad estén en las misma unidades para el cálculo del RQ; de lo contrario, debe llevarse a cabo la conversión de unidades. Cuando los estimados de toxicidad se expresan como concentración (por ejemplo, NOAEC), los estimados de exposición deben estar en las mismas unidades de concentración, y no es necesaria la conversión utilizando la tasa de consumo de alimentos.

---

[28] USEPA. 2012. Ecological Effects Test Guidelines. OCSPP 850.3020 Honey Bee Acute Contact Toxicity. EPA 712-C-019. January 2012. http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPPT-2009-0154-0016

[29] OECD. 1998. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Test Number 213: Honey bees, Acute Oral Toxicity Test. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-213-honey bees-acute-oral-toxicity-test_9789264070165-en;jsessionid=5p2ngklfmv8p4.epsilon

[30] OECD. 2013. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Test Number 237: Honey bee (Apis mellifera) larval toxicity test, single exposure. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-237-honey-bee-apis-mellifera-larval-toxicity-test-single-exposure_9789264203723-en

Cuando los estimados de toxicidad se expresan a base de dosis (es decir, µg a.i./abeja), es necesario convertir las concentraciones estimadas de plaguicidas en los alimentos (expresado como mg a.i./kg) en dosis. Los requerimientos nutricionales principales de las abejas melíferas se cumplen a través del consumo de néctar, miel, polen y el pan de abejas, así como la jalea real y el alimento de la cría. Las dosis de plaguicidas recibidas por las abejas pueden calcularse utilizando las tasas de consumo de néctar y polen de las larvas de abejas y obreras adultas. Para las larvas, la tasa de consumo de alimentos total propuesto es de 124 mg/día, que se basa en el consumo diario total de polen y néctar de las larvas durante los últimos días en dicha etapa de vida. Para las abejas obreras adultas, la tasa de consumo de alimentos propuesto es de 292 mg/día, con base en las tasas de consumo de néctar de las abejas libando néctar, que se espera reciban las exposiciones dietarias más altas entre los diferentes tipos de abejas obreras. Además, es probable que estas tasas de consumo de alimentos sean protectoras de zánganos y reinas.

La herramienta Bee-REX calcula los valores de la exposición dietaria de las larvas de diferentes edades, las obreras adultas con diferentes tareas (y requerimientos energéticos asociados) y las castas reales. El RQ más conservador es seleccionado para el nivel I de evaluación general. Todos los RQs se pueden utilizar para propósitos de caracterización de riesgo. Esas tasas de consumo de alimentos, que se proporcionan en el **Apéndice 3, Tabla 2**, se basan en el trabajo descrito en el Apéndice 1 de USEPA, PMRA y CADPR 2012[31] y actualizados por Garber (inédito)[32].

La herramienta también tiene la capacidad de cambiar las concentraciones estimadas con datos empíricos sobre las concentraciones de plaguicidas en el polen, néctar, jalea y pan de abejas. Cuando las concentraciones de plaguicidas en el polen son un orden de magnitud mayor o superior que en el néctar, el adulto más conservador puede ser la abeja nodriza, la cual consume de 1.3 a 12 mg de polen/día, combinados con 113-167 mg néctar/día (**Apéndice 3, Tabla 2**). La herramienta Bee-REX utiliza tasas de consumo de alimentos establecidas para representar abejas típicas dentro del grupo de abejas obreras o de casta real. Para las abejas nodrizas, se utilizaron tasas de consumo de alimentos de 9.6 mg de polen/día y 140 mg néctar/día para representar tendencias centrales de consumo de alimentos. El consumo de polen refleja la mayor tasa de consumo promedio diario determinado para las abejas nodrizas, dada la limitada disponibilidad de datos (sólo dos estudios empíricos fueron localizados). Si los valores de RQs refinados (obtenidos a partir de datos de concentración empíricos) están cerca del LOC, el evaluador de riesgo puede explorar la influencia de la variabilidad en las concentraciones y en las tasas de consumo de alimentos en las conclusiones de riesgo (por ejemplo, delimitando la exposición utilizando valores de consumo de alimentos altos y bajos, combinados con concentraciones de plaguicidas altas y bajas).

[31] USEPA, PMRA, and CADPR (2012) White paper in support of the proposed risk assessment process for bees. United States Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, Washington DC. Pest Management Regulatory Agency, Health Canada, Ottawa. California Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA.

[32] Garber, K.V. manuscrito en preparación: "Estimation of food consumption rates of honey bees (*Apis mellifera*) by caste and worker task for use in assessing dietary risks of pesticides."

Apéndice 3. Tabla 2. Estimados de las tasas de consumo de la comida de las abejas.

Etapa de Vida	Casta (labor en la colmena[a])	Edad Media (en días)[a]	Tasa de Consumo Diario (mg/día)			
			Jalea	Néctar[b]	Polen	Total
Larva	Obrera	1	1.9	0	0	1.9
		2	9.4	0	0	9.4
		3	19	0	0	19
		4	0	60[c]	1.8[d]	62
		5	0	120[c]	3.6[d]	124
	Zángano	6+	0	130	3.6	134
	Reina	1	1.9	0	0	1.9
		2	9.4	0	0	9.4
		3	23	0	0	23
		4+	141	0	0	141
Adulta	Obrera (limpieza de celda y tapado)	0-10	0	60[f]	1.3 - 12[g,h]	61 - 72
	Obrera (cría y cuidado de la reina, abejas nodrizas)	6-17	0	113 - 167[f]	1.3 - 12[g,h]	114 - 179
	Obrera (construcción de la colmena, limpieza y manipulación de alimentos)	11-18	0	60[f]	1.7[g]	62
	Obrera (Forrajera de polen)	>18	0	35 - 52[f]	0.041[g]	35 - 52
	Obrera (Forrajera de néctar)	>18	0	292 (media)[c]	0.041[g]	292
	Obrera (mantenimiento de la colmena en invierno)	0-90	0	29[f]	2[g]	31
	Zángano	>10	0	133 - 337[c]	0.0002[c]	133 - 337
	Reina (pone 1500 huevos/día)	Toda la etapa de vida	525	0	0	525

[a] Winston (1987)
[b] El consumo de la miel se convierte en equivalentes de néctar utilizando contenido de azúcar en la miel y el néctar
[c] Calculado como se describe en este documento.
[d] Simpson (1955) and Babendreier *et al*. (2004)
[e] Las tasas de consumo de polen para las larvas de zángano son desconocidas. Las tasas de consumo de polen para las larvas de las obreras se utilizan como sustituto.
[f] Basado en las tasas de consumo de azúcar de Rortais *et al.* (2005). Asume que el contenido promedio de azúcar del néctar es de 30%.
[g] Crailsheim *et al.* (1992, 1993)
[h] Pain and Maugenet 1966

En el enfoque propuesto para la representación de las tasas de consumo de alimento de larvas y adultos, se presume que la exposición a través del consumo de néctar y polen son representaciones conservadoras de las exposiciones potenciales por el consumo de la miel y del pan de abeja, respectivamente. Es probable que este enfoque sea conservador porque asume que los plaguicidas no se degradan mientras la miel y el pan de abejas se almacenan en la colmena. Para las abejas que consumen miel, se asume que las exposiciones a plaguicidas estimadas pueden estar relacionadas a la concentración original en el néctar mediante el cálculo de la cantidad de azúcar consumida por las abejas. También se asume que las tasas de consumo de polen y néctar y las exposiciones resultantes son protectoras de las exposiciones de las abejas a los plaguicidas a través del consumo de jalea real y alimento de la cría. Esto se apoya en el trabajo de Davis y Shuel 1988[33] y Kamel *et al.* (Inédito)[34], demostrando que las concentraciones de plaguicidas en los alimentos consumidos por las abejas nodrizas son 2-4 órdenes de magnitud superiores a las concentraciones medidas en la jalea real. Basándose en estas observaciones, para calcular los RQs para las reinas, las concentraciones en la jalea real son 100X menores comparados al residuo en el néctar o el polen, cualquiera que sea mayor.

1.3. Estimación de las concentraciones de plaguicidas en el polen y el néctar

En una situación ideal, las estimaciones de la exposición del Nivel I de evaluación general a las abejas melíferas se basarían en valores de los residuos medidos directamente en el néctar y polen de las flores rociadas con plaguicidas. Esto no se puede lograr en este momento porque no hay datos suficientes que puedan ser usados para describir adecuadamente la distribución de residuos de plaguicidas que se encuentran en el polen y néctar, relativa a la tasa de aplicación de plaguicidas. Como alternativa, el método propuesto se basa en los valores de residuos de límite superior de plaguicidas en las hojas de la planta, que servirán como un sustituto de polen y néctar.

Los Métodos para estimar las exposiciones dietarias para las abejas difieren en la naturaleza de las concentraciones estimadas en el polen y néctar. Para aplicaciones de rocío foliar, el enfoque implica el uso del valor del residuo de la hierba alta del modelo T-REX (v. 1.5) como un sustituto para concentraciones de plaguicidas en el néctar y el polen. Para los tratamientos de suelo, el método se basa en una modificación de un modelo de absorción de la planta-suelo, desarrollado por Briggs *et al.* 1982 y 1983, que está diseñado para estimar las concentraciones de plaguicidas en brotes de plantas; las concentraciones en brotes de plantas se proponen como un sustituto de las concentraciones en el polen y néctar (siguiendo transporte sistémico). Para los tratamientos de semillas, el método de exposición de Nivel I de evaluación general se basa en la concentración de 1 mg i.a./kg de la Comisión Internacional para las Relaciones de Plantas y Abejas (ICP-BR, por sus siglas en inglés) para representar una concentración límite superior en el néctar y el polen. Para las inyecciones de árboles y el empapado de troncos, el método es un enfoque simplista que considera la masa del plaguicida aplicado a un árbol y la masa de las hojas del árbol.

Al nivel I, tanto las estimaciones de exposición aguda como crónica están representadas por el valor más alto de un solo día. Aunque un valor de exposición estimado de tiempo sopesado puede ser más representativo de la exposición utilizada en una prueba de toxicidad crónica, la exposición que ocurre por la estimación más alta de residuos potencialmente podría ser suficiente para provocar efectos mientras se asume que no ocurre ninguna degradación. Por lo tanto, en el enfoque del Nivel I, la exposición crónica se representa conservadoramente por la exposición máxima estimada de un solo día.

---

[33] Davis, A.R. and Shuel, R.W. (1988) Distribution of C(14)-Labeled carbofuran and dimethoate in royal jelly, queen larvae and nurse honeybees. Apicologie, 19 (1), 37-50.

[34] Kamel, A.; Dively, G.; Hawthorn, D. and Pettis, J. Unpublished research examining the fate of imidacloprid and its metabolites in honey bee hives.

1.3.1. Rocíos foliares

Para la exposición dietaria, el método incluye el uso del residuo límite superior de hierba alta utilizado en el modelo T-REX (es decir, 110 µg de i.a./g por 1 lb de i.a./A ó 98 µg de i.a./g por 1 kg de i.a./ha) como sustituto de las concentraciones de plaguicidas en el polen y el néctar de las flores que se rocían directamente con un plaguicida. Esta concentración de la exposición sería entonces convertida a una dosis dietaria recibida por adultos y larvas de abejas obreras, utilizando las tasas de consumo de polen y néctar para estas dos etapas de la vida, que son 0.292 y 0.124 g/día, respectivamente.

Con el fin de cuantificar las exposiciones de contacto debidas a un rocío directo, el valor límite superior propuesto es de 2.7 µg i.a./abeja por 1 lb i.a./A, o 2.4 µg i.a./abeja por 1 kg de i.a./ha, según los datos publicados por Koch y Weisser (1997). Al igual que con la exposición dietaria, el valor de exposición por contacto se puede ajustar para tener en cuenta la tasa de aplicación.

1.3.2. Tratamientos de suelos

Para los tratamientos del suelo, se asume que las abejas estarán expuestas mediante el consumo alimentario de polen y néctar contaminados como resultado del transporte sistémico de los plaguicidas desde el suelo. Para estos tipos de aplicaciones, se asume que las abejas no estarán expuestas directamente por contacto debido a que no se espera que estén presentes en la superficie del suelo. El método para estimar las exposiciones dietarias para las abejas resultantes de tratamientos del suelo se basa en un modelo empírico desarrollado por Briggs *et al.* 1982 y 1983, con las modificaciones (denominado aquí como el "Modelo de Briggs"). Este modelo relaciona el Log K_{OW} de un producto químico a su concentración en brotes de plantas, la cual se puede utilizar como un sustituto para concentraciones en néctar y en el polen). En comparación con los valores de exposición basados en la dieta propuestos para las aplicaciones por rociadores foliares (es decir, basados en el valor límite superior de la hierba alta), el modelo de Briggs genera valores de exposición que son por lo general inferiores en dos órdenes de magnitud. Al usar el modelo de Briggs, el enfoque es utilizar la **Ecuación 1**, con el valor de TSCF de percentil 95, el cual es específico del Log K_{OW} del plaguicida evaluado (calculado utilizando la **Ecuación 2**). Se asume que el valor resultante es equivalente a las concentraciones de plaguicidas en el polen y néctar de los cultivos que reciben tratamientos de suelo con el plaguicida. La concentración estimada en el polen y el néctar se puede convertir en exposiciones basadas en la dieta de adultos y larvas de abejas utilizando las tasas de consumo de polen y néctar (es decir, 292 y 120 mg/día, respectivamente).

Ecuación 1. $C_{stem} = \left[10^{(0.95*LogKow-2.05)} + 0.82\right] * TSCF * \left[\frac{\rho}{\theta+\rho*Koc*foc}\right] * C_{soil}$

Dónde: C_{stem} = concentración en los tallos (μg i.a./g planta)
C_{soil} = concentración en suelo (μg i.a./g-suelo)
f_{oc} = fracción de carbono orgánico en suelo
θ = contenido de agua en suelo por volumen (cm^3/cm^3)
ρ = densidad aparente del suelo (g-dw/cm^3)
K_{oc} = coeficiente de partición de carbono orgánico en suelo/agua (cm^3/g-oc or L/kg-oc)
TSCF = Factor de Concentración de Corriente de Transpiración

Ecuación 2. $TSCF = -0.0648 * (Log\ Kow)^2 + 0.241 * LogKow + 0.5822$

Para los parámetros en la **Ecuación 1** que definen las propiedades del suelo, se eligieron valores conservadores para maximizar la concentración en el agua de los poros del suelo y por lo tanto maximizar la cantidad de producto químico disponible para la absorción hacia los tallos. Los valores

se eligieron para que sean consistentes con escenarios estándares utilizados para ejecutar PRZM. Para la fracción de carbono orgánico en el suelo (f_{OC}), se utiliza un valor de 0.01. Un valor de 1.5 g-dw/cm^3 es seleccionado para representar la densidad aparente (ρ). El contenido de agua del suelo (θ) se establece en 0.2 cm^3/cm^3. La **Ecuación 1** se puede utilizar para calcular la concentración de un producto químico en los tallos usando los valores de los parámetros anteriores y la tasa de aplicación. Si se asume que esta tasa de aplicación se distribuye homogéneamente a través de las 6 pulgadas superiores (15 cm) del suelo tratado (basado en la suposición de que la mayor parte del plaguicida permanecerá en esta porción del terreno), una tasa de 1 libra i.a./A es equivalente a 0.50 µg i.a./g-suelo (usando la densidad aparente), una tasa de 1 kg de i.a./ha es equivalente a 0.45 µg i.a./g-suelo (usando la densidad aparente).

En el enfoque del nivel I, se asume que todos los productos químicos pueden ser transportados por vía sistémica. Este supuesto puede ser limitado basado en el Log K_{OW} (Ryan *et al.*, 1988). Por lo tanto, podría circunscribirse a los valores límites de Log K_{OW} utilizados en el conjunto de datos empíricos generado por el modelo de Briggs (es decir, para sustancias químicas con Log K_{OW} <5, que es el límite en el conjunto de datos utilizado por Briggs). El que un producto químico se transporte por vía sistémica en plantas podría confirmarse mediante datos empíricos presentados a la EPA y PMRA (por ejemplo, estudios de metabolismo de las plantas); sin embargo, estaría en manos de los registrantes de plaguicidas el presentar datos suficientes para demostrar que un plaguicida no es sistémico.

Hay cinco limitaciones notorias en la utilización del enfoque del modelo de Briggs modificado. La primera es que esta metodología se basa en datos empíricos de un solo tipo de planta. La segunda limitación es que el conjunto de datos utilizado para derivar la **Ecuación 1** se basa en un número limitado de productos químicos que representan sólo dos clases de plaguicidas. La tercera limitación es que este enfoque está basado en datos de productos químicos orgánicos no iónicos y puede tener una utilidad limitada para productos químicos iónicos cuyo transporte no se puede predecir bien utilizando K_{OW} y K_{OC}. La cuarta limitación del modelo de Briggs es que se basa en el transporte pasivo de sustancias químicas en el xilema, por lo tanto, este enfoque no calcula directamente las concentraciones de plaguicidas en las plantas que son el resultado del transporte del floema. La quinta limitación implica el uso de concentraciones de plaguicidas estimados en la matriz vegetativa de las plantas (es decir, brotes) como un sustituto de néctar y polen.

En este momento, el método Briggs modificado representa el mejor método disponible para estimar las concentraciones de plaguicidas en el polen y el néctar de los cultivos en los suelos tratados con plaguicidas. El uso de este enfoque fue apoyado por el FIFRA SAP. A medida que se disponga de más datos (por ejemplo, residuos de plaguicidas medidos en el polen y el néctar de los cultivos en tierra tratada), la EPA, PMRA y CADPR volverán a evaluar el método de Briggs modificado.

1.3.3. Tratamientos de semillas

El método de exposición de nivel I para tratamientos de semillas se basa en el valor de evaluación general de EPPO 2010 de 1 mg i.a./kg en el polen y el néctar de las plantas a las que se les realizaron los tratamientos de semillas. Para estos tipos de aplicaciones, se asume que las abejas sólo serán expuestas a través de la dieta. En el enfoque de nivel I, se asume que todos los plaguicidas que se aplican a las semillas son sistémicos, y por lo tanto pueden ser transportados en el polen y el néctar que pueden ser consumidos por las abejas melíferas. Este enfoque puede ser utilizado para todos los plaguicidas que se aplican a través de tratamiento de semillas, asumiendo que el valor de exposición de límite superior para el polen y néctar es 1 mg i.a./kg. Este valor se puede multiplicar por el consumo de néctar y polen para abejas obreras adultas y larvas para determinar las dosis límite superior potencialmente recibidas por las abejas. Este método se puede aplicar a todas las sustancias químicas

que se aplican a las semillas, sin necesidad de un ajuste basado en la tasa de aplicación o propiedades químicas.

1.3.4. Aplicaciones en tronco de árboles

El método implica estimar la concentración en la parte vegetativa del árbol tratado (excluyendo las partes leñosas) dividiendo la masa del plaguicida aplicado al árbol entre la masa de la vegetación arbórea representada principalmente por las hojas, pero también por las flores. La tasa de aplicación debe introducirse como la masa total del plaguicida aplicada por árbol.

La masa de las hojas del árbol debe ser estimada con base en las características esperadas del árbol al que se puede aplicar el plaguicida. Se espera que la masa de hojas y flores de un árbol varié, por especies y edad del árbol, por lo tanto no se proporciona una ecuación estándar. Existen diversas fuentes disponibles de publicaciones gubernamentales, oficinas de extensión y la literatura científica que proporcionan ecuaciones para estimar la masa de hojas de los árboles. Por ejemplo, Jenkins *et al.* 2003[35] proporciona ecuaciones para diversas especies de árboles que pueden ser utilizadas para estimar la masa de follaje de las especies de maderas duras y blandas. Alva *et al.* 2003[36] proporciona datos sobre masas de hojas de los árboles de cítricos.

Esta masa de hojas debe introducirse como un valor de peso húmedo. En algunos casos, puede ser necesario convertir de peso seco a peso húmedo. En ese caso un supuesto estándar de 80% de contenido de agua en las hojas puede ser utilizado (esto es consistente con el enfoque de T-REX para hierba y hojas).

Este enfoque asume que el plaguicida aplicado se distribuye homogéneamente en hojas y flores del árbol y que no está presente en otras partes del árbol. Una gran incertidumbre asociada con este enfoque es la estimación de la masa vegetativa del árbol, que puede variar mucho dependiendo de la especie, edad, época del año y de la geografía. Además, en este enfoque, se asume que el 100% del ingrediente activo es tomado por el árbol y trasladado a las hojas y flores. Es poco probable que la totalidad de la masa del plaguicida aplicado al árbol efectivamente entre únicamente a las hojas.

1.4. Utilizando los datos de exposición empíricos

Si se dispone de datos empíricos para un producto químico, estos datos se pueden introducir en la herramienta Bee-REX para calcular RQ. Los valores de exposición estimados serán automáticamente cambiados por los valores empíricos introducidos por el usuario. Esto se puede lograr mediante la selección de la opción “sí” a la pregunta, “¿Hay datos empíricos disponibles sobre residuos?” Una vez hecho esto, el usuario debe introducir los valores disponibles para el polen, néctar y jalea.

[35] Jenkins, J., D. Chojinacky, L. Heath, and R. Birdsey. 2003. Comprehensive database of diameter-based biomass regressions for North American tree species. General Technical Report NE-319, Forest Service, United States Department of Agriculture.

[36] Alva, A.K.; Fares, A. and H. Dou. 2003. Managing citrus trees to optimize dry mass and nutrient partitioning. Journal of Plant Nutrition, 26 (8): 1541-1559.

Apéndice 4. Consideraciones de los estudios de campo a nivel III

Los estudios de nivel III llevados a cabo en condiciones de campo completo donde las abejas forrajean libremente pretenden aclarar incertidumbres/riesgos específicos que han sido identificados en los estudios de nivel inferior. El diseño de estos estudios dependerá de las preguntas específicas que necesitan ser contestadas; por lo tanto, no es posible definir un único diseño del estudio o elementos de diseño específicos que deben ser incorporados en todos los estudios de campo. A continuación se presentan los elementos que el evaluador del riesgo debe tener en cuenta; sin embargo, éstos no pretenden ser prescriptivos. Es responsabilidad del equipo de revisión identificar finalmente los elementos de diseño de estudio que deben ser considerados por el registrante del plaguicida en el desarrollo de un protocolo de estudio que responda a la exigencia de estudio de nivel III. También hay que señalar que el conjunto de datos presentados por el registrante ya puede incluir una serie de estudios de abejas que abarcan múltiples niveles; en tales casos, el revisor debe garantizar que los estudios abordan las incertidumbres identificadas por el equipo de revisión para determinar si pueden ser necesarios estudios adicionales.

Consideraciones para el Diseño del Estudio Crónico de Campo para Polinizadores

<u>Condiciones de aplicación</u>

- Tasa de aplicación máxima
- Intervalo mínimo de reaplicación
- Número máximo de aplicaciones
- Uso del producto típico de consumo final
- Método de aplicación
    - Foliar
    - Tratamiento de suelo
    - Tratamiento de semilla
    - Combinación
- Clima adecuado
    - Evite aplicaciones cuando se espera lluvia o mucho viento
- Temporada

<u>Cultivos bajo estudio</u>

- Atractivo para estudiar las abejas
- Período de floración largo para aclarar las incertidumbres identificadas en los niveles inferiores
- Amplia zona para garantizar mayoría de forrajeo en cultivos de prueba
- Seguir las prácticas estándar de la agricultura [locales]

<u>Colonias</u>

- Empaque abejas/equipos nuevos para limitar la incidencia de enfermedad; si se utilizan colonias más viejas, deben ser lo más libre posible de plagas/enfermedades.
    - Las colonias no deben utilizarse si han recibido cualquier tratamiento químico dentro de las últimas 4 semanas. Las colonias sospechosas de tener el ataque bacteriano (lo que americana) no deben ser utilizadas. Otros tratamientos de enfermedades deben ser reportados.
    - Práctica estándar del apicultor para mantener la salud de colonias durante el estudio
        - Los tratamientos deben ser uniformes en todas las colonias del estudio.
- Reina-correcta (reina sana que esté presente); reinas hermanas para cada réplica.

- Período de aclimatación: mínimo 2 meses para establecer la distribución representativa por edades en las colmenas que se establecieron recientemente
- Fortaleza homogénea en la colonia, patrón de cría lo más cercano posible
- Si colonias existentes se van a utilizar; amplio espectro de análisis de residuos en productos de la colmena (miel/néctar, polen, cera); se debe documentar baja incidencia de enfermedades/parásitos.
- El tamaño de las colonias puede variar dependiendo del enfoque del estudio y cuando éste se inicia. Normalmente, cada colmena debe tener al menos 10000 abejas para cubrir 10 fotogramas e incluir al menos 5 cuadros de cría. Se debe evitar el exceso de almacenamiento de alimentos.
- Las colonias pueden ser colocadas en las parcelas de prueba cuando los cultivos están floreciendo lo suficiente para minimizar que las abejas forrajeen en plantas distintas a las del cultivo de estudio, por ejemplo, 20-25% floración.

Consideraciones sobre el diseño del estudio

Históricamente ha sido difícil controlar el grado en que las abejas forrajeras libres utilizan el cultivo tratado o que los grupos de tratamiento se entrecrucen. Las parcelas de campo suficientemente grandes, si es factible, superarán el problema de cruce entre parcelas y de asegurar la exposición a los cultivos tratados debido a una vegetación competidora.

- La distancia media de forrajeo para las abejas es de 1,5-3 km, con distancias extremas de 10 km; rango promedio superficial de 7 – 100 km^2 (Medrzycki *et al*. 2013[37]).
    - EFSA 2013[38] recomienda un mínimo de 2 ha para proporcionar suficientes flores y apoyar forrajeo exclusivo; Medrzycki *et al*. 2013 recomienda un mínimo de 5 ha
- Cultivo adecuado que sea representativo del uso real; buena fuente de polen y néctar, (por ejemplo, phacelia (*Phacelia tanacetifolia*), el nabo, , la mostaza, el trigo sarraceno)
    - Atractivos para los polinizadores
    - Tomar en cuenta los cultivos/forrajes alternativos dentro de unos 3 km de las colonias.

La distancia entre el cultivo tratado y otras plantas productoras de néctar es esencial para asegurar la exposición y por lo tanto debe ser documentado.

- Las trampas de polen deben ser utilizadas para demostrar hasta qué punto las abejas han forrajeado en el cultivo tratado.
- La identificación de polen (análisis palinológico) se puede utilizar para asegurar el origen del polen
- Colecta de polen/néctar para los análisis de residuos
    - Colectado por las abejas y muestreado utilizando trampas de polen (polen corbicular)
    - Colectado directamente de las plantas
    - Muestreo de contenidos estomacales de abejas forrajeras de néctar
    - Muestreo de polen/néctar

Número mínimo de colonias replicadas: 6 - 10 por tratamiento (Medrzycki *et al*. 2013); el número de repeticiones por tratamiento dependerá de la magnitud seleccionada de los efectos y el poder

[37] Medrzycki, P. H. Giffard, P. Aupinel, L. P. Belzunces, M-P. Chauzat, C. Classen, M. E. Colin, T. Dupont, V. Girolami, R. Johnson, Y. LeConte, J. Lückmann, M. Marzaro, J. Pistorius, C. Porrini, A. Schur, F. Sgolastra, N. S. Delso, J van der Steen, K. Wallner, C. Alaux, D. G. Biron, N. Blot, G. Bogo, J-L Burnet, F. Delbac, M. Diogon, H. El Alaoui, B. Provost, S. Tosi and C. Vidau. 2013. Standard methods for toxicology research in Apis mellifera. Journal of Apicultural Research 52(4): http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.14

[38] EFSA..Guidance on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees. EFSA Journal 2013;11(7):3295, 266 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3295. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

estadístico deseado.

La duración del estudio debe evaluar al menos dos ciclos de cría (42 días) para garantizar que la cría está expuesta a los residuos almacenados en la colonia (EFSA 2013).

Medidas toxicológicas: depende de la hipótesis de riesgo bajo estudio y de la naturaleza de las incertidumbres identificadas en niveles inferiores. Las medidas toxicológicas pueden incluir:

Abejas adultas forrajeras

- Supervivencia de la abeja adulta/longevidad
- Actividad de forrajeo de las abejas adultas (conteos visuales de cazadores-recolectores que regresan; marcaje y recaptura; calibrar trampas de zonas de abejas muertas)

Estado de la reina en el transcurso de la exposición

Salud de las colonias (enfermedad/incidencia de la plaga)

Fortaleza de la colonia

- Cría (cuantificar el número de huevos, larvas, celdas operculadas, polen, miel/celdas de néctar)
- Monitoreo de la cría en un mínimo de dos cohortes escalonados, a mitad de camino y al final del período de exposición
- Longevidad de los adultos: medida utilizando 30 abejas adultas recién emergidas de cada colonia (mínimo n = 6 colonias/tratamiento) en un experimento de laboratorio controlado en jaula de vigilancia de la mortalidad diaria.
- Peso de abejas recién nacidas
- Peso de la colmena

Otras respuestas potenciales (Endpoints)

- Sobrevivencia invernal
- Medida de aptitud: desafío de patógenos (por ejemplo, la exposición a Nosema) para las abejas recién nacidas
- Evaluar la capacidad de las colonias para poner una nueva reina por ellas mismas mediante la eliminación de todas las reinas y determinar el éxito de cada colonia en la crianza de una reina de reemplazo.

Documentando la exposición

- Análisis de residuos de polen/néctar recogido de cultivos
- Análisis de residuos de polen/néctar recolectado de las abejas
- Análisis de residuos de polen/néctar/miel recolectada de las colmenas
- Análisis de residuos en los cadáveres de abejas
- Análisis de residuos en cera
- Análisis de residuos en hojas
- Medir los residuos totales de preocupación (padres + productos de degradación)

Controles adecuados para las abejas (análisis de residuos para demostrar la falta de exposición). Utilidad de marcaje y recaptura para documentar el desvío de las abejas provenientes de colonias tratadas.