



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales

Control poblacional de *Bombus terrestris* y las consecuencias sobre la población de *Bombus dahlbomii* en isla Teja, Valdivia, Chile

Patrocinante: Sra. Cecilia Smith Ramírez

Trabajo de Tesina presentado como parte de los requisitos para optar al Título de **Ingeniera en Conservación de Recursos Naturales**

CRISTINA MONSERRATT DÍAZ LOBOS

VALDIVIA

2025

Índice de materias

Página

i	Calificación del Comité de Titulación	i
ii	AGRADECIMIENTOS	ii
iii	DEDICATORIA	iii
iv	RESUMEN	iv
1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1.	Especies exóticas invasoras ¿Cómo se produce este fenómeno?	4
2.2.	Maneras de controlar y/o erradicar especies exóticas invasoras de insectos	5
2.3.	<i>Bombus terrestris</i> en Chile ¿Cuáles han sido los efectos de su ingreso?	6
2.4.	Ciclo de vida de <i>B. terrestris</i>	8
2.5.	Tratamiento químico con inhibidores de crecimiento en <i>B. terrestris</i>	9
3.	MÉTODOS	10
3.1.	Área de estudio	10
3.1.1.	Sitios de aplicación de diflubenzurón	11
3.2.	Métodos de aplicación de diflubenzurón a <i>B. terrestris</i>	13
3.2.1.	Determinación de fecha de aplicación de diflubenzurón a <i>B. terrestris</i>	15
3.2.2.	Aplicación de diflubenzurón en individuos de <i>B. terrestris</i> durante su tránsito hacia y desde el nido	16
3.3.	Monitoreo en verano del éxito de la aplicación de diflubenzurón	16
3.3.1.	Monitoreo en sitio sin tratamiento químico en verano (Angachilla)	18
3.2.2.	Monitoreo de éxito de la aplicación de diflubenzurón en individuos de <i>B. terrestris</i> durante su tránsito hacia y desde el nido	19
3.3.3.	Monitoreo en primavera del éxito de la aplicación de diflubenzurón	19
3.4.	Análisis de los datos	20
4.	RESULTADOS	21
4.1.	Monitoreo de éxito de la aplicación de diflubenzurón en individuos de <i>B. terrestris</i> durante su tránsito hacia y desde el nido	21
4.2.	Monitoreo anual de <i>Bombus</i> en planta focal que florece en verano	23
4.2.1.	Análisis estadístico del monitoreo anual de <i>Bombus</i> en planta focal que florece en verano	24

4.3.	Monitoreo de éxito durante la aplicación de diflubenzurón a <i>B. terrestris</i> en planta focal que florece en verano	25
4.3.1.	Monitoreo de éxito en sitio control en planta focal que florece en verano	27
4.3.2.	Análisis estadístico de monitoreos en planta focal que florece en verano entre ambos sitios (sin y con aplicación del químico)	30
4.3.3.	Análisis estadístico de monitoreos en planta focal que florece en verano en sitio de aplicación	34
4.4.	Monitoreo anual de <i>Bombus</i> en plantas focales que florecen en primavera	35
4.4.1.	Análisis estadístico del monitoreo anual de <i>Bombus</i> en plantas focales que florecen en primavera	38
5.	DISCUSIÓN	40
5.1.	Efectos de la aplicación de diflubenzurón sobre la actividad en nidos de <i>B. terrestris</i>	40
5.2.	Estrategias temporales y espaciales en la aplicación de diflubenzurón para el control de <i>B. terrestris</i>	42
5.3.	Variación temporal en la abundancia de <i>B. terrestris</i> y de <i>B. dahlbomii</i> en sitio con aplicación de diflubenzurón	44
5.4.	Variación en la abundancia de <i>B. terrestris</i> en ambos sitios durante 2023, 2024 y 2025	47
5.5.	Consideraciones de aplicación de diflubenzurón para control poblacional de <i>B. terrestris</i> u otras especies exóticas	49
6.	CONCLUSIONES	50
7.	REFERENCIAS	51

- 1 Modelo de abundancia poblacional de *B. terrestris* en isla Teja, previamente a la aplicación de diflubenzurón
- 2 Movimiento de individuos en los nidos encontrados en isla Teja (2023-2025)
- 3 Abundancia absoluta de *B. terrestris* registrada en *F. magellanica* en el sitio con tratamiento de diflubenzurón y sitio control
- 4 Abundancia absoluta de *B. dahlbomii* registrada en *F. magellanica* en el sitio con tratamiento de diflubenzurón y sitio control
- 5 Aplicación de diflubenzurón a *B. terrestris* en isla Teja.

Calificación del Comité de Titulación

	Nota
Patrocinante: Sra. Cecilia Smith-Ramírez	<u>7,0</u>
Informante: Sra. Paz Gatica Barrios	<u>7,0</u>
Informante: Sra. Adriana Rendón Funes	<u>6,7</u>

El Patrocinante acredita que el presente Trabajo de Titulación cumple con los requisitos de contenido y de forma contemplados en el Reglamento de Titulación de la Escuela. Del mismo modo, acredita que en el presente documento han sido consideradas las sugerencias y modificaciones propuestas por los demás integrantes del Comité de Titulación.



Sra. Cecilia Smith-Ramírez

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, Paola Lobos, por estar siempre a mi lado y por darme todo. A mi mami, Teresa Zamora, por su apoyo infinito, su fuerza y por siempre recibirme con los brazos abiertos. Y a mi tata, Alfredo Lobos, por ayudarme a cumplir este sueño, y por sentirse tan feliz y orgulloso de cada uno de mis logros, aunque sean pequeñitos. Admiro profundamente todo lo que han hecho para llegar hasta donde están. Son mi mayor ejemplo de esfuerzo, amor y superación. Todo lo que soy, es gracias a ustedes.

A mi profesora patrocinante, Cecilia Smith-Ramírez, por su constante guía, por las valiosas correcciones siempre entregadas con paciencia y dedicación, y por abrirme las puertas de su hermoso hogar, donde siempre me hizo sentir bienvenida y cómoda. Gracias por brindarme la oportunidad de aprender junto a usted y de formar parte de su maravilloso equipo, por confiar en mí y acompañarme con tanta generosidad durante este proceso.

A mis profesoras informantes, Paz Gatica Barrios y Adriana Rendón Funes. A la profesora Adriana, por esa energía tan bonita y motivadora con la que trabajamos el año 2024, y a la profesora Paz, por su apoyo en todo momento, especialmente por ayudarme con tanta rapidez y cariño cuando un abejorro me aguijoneó. Por eso, y por muchísimo más, gracias a ambas.

A mis amigas y amigos por cada carcajada, cada llanto, cada palabra de aliento, y por estar siempre ahí. También a esas amigas que conocí gracias a la profesora Cecilia durante mi práctica, las llevo siempre en mi corazón. Agradezco profundamente haberlas encontrado en este viaje.

A los que trabajaron conmigo y me apoyaron en este estudio: Juan Pablo Vicencio, Camila Rozas, Camila Figueroa, Catalina Rodríguez, Carlos Caipillán, Catalina Méndez, Constanza Navarro, Cindy Garnica, Celeste Soto, Roberto Maichil, Amanda Cabrera, El Sharif, Benjamín Soto, Martina Méndez, Camila Ampuero, Stephanie Puerta, Alejandro Alberto y Karim Cretton.

A la profesora Olga Barbosa y a Carolina Pinda por facilitar el acceso a dos sitios de aplicación del químico. A la profesora Verónica Bittner por su tiempo en ayudarme con dudas estadísticas y por la gran y amorosa disposición que la caracteriza.

Al proyecto ANID FB 210006 del Instituto de Ecología y Biodiversidad - Chile (IEB) por el financiamiento para el desarrollo del estudio y a la Universidad de Los Lagos por financiar a la profesora Cecilia para que pueda brindarme su apoyo.

De todo corazón, muchísimas gracias.

*A quienes me dieron amor, a quienes
caminaron conmigo con ternura,
atención, contención y paciencia, a
quienes me sostuvieron y levantaron
incluso cuando no sabía cómo seguir y a
los polinizadores nativos por enseñarme lo
que vale la pena cuidar y adorar*

RESUMEN

La expansión de *Bombus terrestris* en el sur de Chile ha generado graves impactos ecológicos, incluyendo la disminución poblacional del abejorro nativo, *Bombus dahlbomii*. El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial de un insecticida en disminuir la población de *B. terrestris*, y el efecto indirecto de este control sobre la población de *B. dahlbomii* en la isla Teja, Valdivia.

Para analizar estos efectos, se registró la abundancia de ambos *Bombus* a través de las visitas florales a *Crinodendron hookerianum*, *Rhododendron* sp. y *Fuchsia magellanica*. Los registros se realizaron en dos jardines de la Universidad Austral de Chile donde se usó el insecticida y en un sitio control sin tratamiento químico. El químico usado fue el insecticida diflubenzurón que actúa provocando la mortalidad de las larvas de *Bombus* después de tres a cuatro semanas de aplicado. Se hicieron tres comparaciones:

- 1.- Comparación interanual de visitas florales de *Bombus* en *F. magellanica* años 2009, 2018 a 2025, y en *C. hookerianum* y *Rhododendron* sp. los años 2017-2024; las comparaciones se realizaron en años previos y posteriores a la aplicación de diflubenzurón.
- 2.- Comparación intraanual, años 2023 a 2025 pre y postratamiento con diflubenzurón.
- 3.- Comparación inter e intraanual de visitas florales entre sitio con aplicación y sin aplicación de químico durante tres años.

Se encontró que disminuyeron significativamente las visitas florales de *B. terrestris* posterior a la aplicación del químico, tanto inter como intraanualmente, y respecto al sitio control. Sin embargo, *B. dahlbomii*, no tuvo cambios significativos a nivel poblacional respecto a antes y después de aplicar el químico. La aplicación de diflubenzurón mostró ser efectiva en el colapso de nidos de *B. terrestris*.

Se concluye que la aplicación de diflubenzurón es efectivo en terreno en la disminución de la población de *B. terrestris*, pero esta disminución no produjo aumento de la población de *B. dahlbomii* en los años de estudio.

Palabras clave: abejorros, bumblebee, inhibidores de la síntesis de quitina, reguladores de crecimiento.

1. INTRODUCCIÓN

El intercambio biológico es una de las principales manifestaciones del cambio global, junto con el cambio climático y el cambio en el uso del suelo, afectando profundamente la biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas (Simberloff *et al.* 2013). Las invasiones biológicas, impulsadas por el movimiento deliberado o accidental de especies fuera de sus rangos naturales, ya sea con fines comerciales, agrícolas u otros procesos derivados de la globalización, pueden alterar las dinámicas ecológicas mediante competencia, depredación o transmisión de patógenos (Mack *et al.* 2000, Richardson y Pyšek 2012).

En Chile, el caso de *Bombus terrestris* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae) representa una de las invasiones biológicas más relevantes dentro del grupo de los polinizadores. *B. terrestris* fue introducido a Chile en el año 1997 con fines comerciales para la polinización de cultivos en invernaderos, y para la polinización de cultivos de aire libre. Esta especie logró propagarse tanto en ambientes naturales como urbanizados en el sur de Chile (Pérez 2013). Esta propagación coincide directamente con una marcada disminución en la población de su congénere nativo, *Bombus dahlbomii* Guérin-Ménéville (Hymenoptera: Apidae) (Montalva 2012, Smith-Ramírez *et al.* 2018). Diversos estudios han atribuido esta disminución a múltiples factores asociados a la presencia de *B. terrestris*, incluyendo la competencia directa por recursos florales, la transmisión de parásitos, diferencias en tasas reproductivas y estrategias de forrajeo que favorecen a la especie invasora, e incluso se han observado cambios en el comportamiento de *B. dahlbomii* cuando *B. terrestris* se encuentra presente (Arbetman *et al.* 2013, Combs 2011, Morales 2007, Pérez 2013, Plischuk y Lange 2009).

A pesar de que Chile es parte del Convenio sobre Diversidad Biológica (CBD), el país no ha implementado las medidas regulatorias necesarias que prevengan, mitiguen o controlen esta y otras invasiones, lo que facilita la continua introducción y expansión descontrolada de organismos externos como *B. terrestris* (PNUD 2017b). La erradicación de *B. terrestris* ya no es una opción factible debido a su amplia distribución y capacidad de adaptación, por lo que, la mejor opción es la búsqueda de métodos de control local. Para ello existen tres metodologías generales de control poblacional de individuos invasores: físico o manual, biológico y químico (Capdevila *et al.* 2006, Corcuera 2016). Hasta la fecha no se conoce un agente biológico capaz de controlar la población de *B. terrestris* y la captura de reinas para el control manual de la especie parece no ser efectiva para disminuir su población (Smith-Ramírez, com. pers.). Se conoce que la aplicación de neonicotinoides IGR o reguladores de crecimiento, como el químico diflubenzurón disminuye el número de individuos macho, produce menor fertilidad de los

óvulos, y disminución de la viabilidad de los huevos a *B. terrestris* y es causante de la deformación de la cutícula que recubre a la larva (Mommaerts *et al.* 2006). Este químico también ha sido probado en otra especie de *Bombus* (*Bombus impatiens* Cresson (Hymenoptera: Apidae)), donde también se encontraron resultados muy parecidos a los observados por Mommaerts *et al.* (2006) (Camp *et al.* 2020). No obstante, estos resultados se limitan a condiciones de laboratorio, por lo que es necesario validar su efectividad en terreno.

Este estudio busca evaluar la efectividad del diflubenzurón como método aplicado en terreno sobre la población y nidos de *B. terrestris*, y su posible efecto colateral positivo en la población de *B. dahlbomii*; lo anterior bajo la premisa de que la reducción de la especie exótica (*B. terrestris*) favorecería la recuperación de la especie nativa (*B. dahlbomii*) en isla Teja, Valdivia. La isla Teja es una zona con vastos antecedentes de monitoreo de polinizadores, especialmente *B. terrestris* y *B. dahlbomii*, en tres especies florales como puntos focales de registro de abundancia, una de estas especies ha sido monitoreada en verano y otras dos en primavera (Combs 2011, Ramires 2018, Smith-Ramírez com. pers., Smith-Ramírez *et al.* datos no publicados).

Dado que las poblaciones de *Bombus* presentan una alta variación interanual, se requieren múltiples años de monitoreo para distinguir entre cambios causados por el tratamiento químico y aquellos debidos a fluctuaciones naturales (clima) o a la carga de patógenos que llevan, lo cual produce años de alta abundancia seguidos de años de baja abundancia (Smith-Ramírez *et al.* 2014) Por ello, este estudio incorpora datos históricos recolectados en la misma área años antes de la aplicación de químico. Estos datos son de Ramires (2018, metodología basada en Combs 2011) y Smith-Ramírez *et al.* (datos no publicados), en la isla Teja. Estos estudios abarcan cuatro y seis años de datos previos al tratamiento poblacional de tres años que se reportan y analizan en esta tesina. El número de años del estudio de Ramires (2018) y Smith-Ramírez *et al.* (datos no publicados), usados para estimar la población de *Bombus* en primavera y verano no es el mismo, debido a que, en primavera de los años 2020 y 2021 no se pudo acceder a los jardines de la Universidad Austral de Chile (UACH) debido a restricciones por la pandemia de COVID-19. No obstante, se pudo realizar un cuarto monitoreo en primavera en el año 2022 (Smith-Ramírez com. pers.). Considerando que las dinámicas poblacionales de *Bombus* responden a procesos de segundo orden (Smith-Ramírez *et al.* 2014), se espera que los cambios poblacionales producidos por el tratamiento químico de *B. terrestris* se observen tanto dentro de una misma temporada (primavera a verano) como entre años consecutivos, por lo cual, se justifica la necesidad de un estudio

de mediano plazo. Sin embargo, es posible que las migraciones de *B. terrestris* de áreas contiguas a las tratadas con químico impida ver los efectos esperados. Todo lo anterior será discutido en este estudio.

El diseño experimental de la aplicación del químico requiere considerar tanto un área de tratamiento como un área de control no expuesta al químico, la cual debe estar lo suficientemente cerca para asegurar condiciones ambientales similares, pero lo bastante lejana para evitar cualquier efecto del tratamiento, lo que permitirá la comparación de las abundancias poblacionales de *Bombus* entre sitio tratado y no tratado, considerando que el radio de forrajeo de *B. terrestris* es de aproximadamente 2,5 km (Hagen *et al.* 2011).

Objetivo general:

Evaluar a mediano plazo los efectos del control poblacional de *B. terrestris* mediante el uso de diflubenzurón y su efecto indirecto sobre *B. dahlbomii* en la isla Teja, Valdivia, Chile.

Objetivos específicos:

- 1) Determinar en un periodo de tres años si el uso de diflubenzurón al aire libre disminuye la población de *B. terrestris* en la isla Teja, Valdivia, aplicado cerca y lejos de nidos.
- 2) Comparar la tasa de visitas florales de los tres años de aplicación de diflubenzurón en verano con estudios de primavera y verano realizados en años previos donde no se usó diflubenzurón.
- 3) Determinar si el control poblacional de *B. terrestris* se relaciona con un aumento de la población de *B. dahlbomii*.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Especies exóticas invasoras ¿Cómo se produce este fenómeno?

Para que una especie sea considerada invasora, primero debe moverse desde su hábitat original a un nuevo ambiente. Este movimiento puede ocurrir de manera accidental o intencional, generalmente por acción antrópica, lo cual implica la superación de una barrera geográfica mediante su introducción. Sin embargo, este proceso no garantiza su establecimiento en el nuevo entorno (Mack *et al.* 2000). Para ello, la especie debe superar la barrera ambiental, es decir, debe encontrar condiciones ambientales favorables para su supervivencia. Si logra adaptarse, se considera una especie aclimatada (Richardson y Pyšek 2012, Mack *et al.* 2000). Una vez aclimatada, si la especie supera la barrera reproductiva, puede establecer poblaciones viables que se mantengan en el tiempo, lo cual marca el proceso de naturalización (Richardson y Pyšek 2012). Posteriormente, si estas poblaciones comienzan a expandirse geográfica y poblacionalmente, colonizando áreas previamente no ocupadas y superando en número a las especies nativas, se habla de una invasión biológica, que implica una alteración significativa del ecosistema (Corcuera 2016).

El número de especies que logran sobrevivir en un ambiente nuevo es reducido, y aún menor es el número de aquellas que logran naturalizarse e invadir con éxito (Mack *et al.* 2000). La invasión depende principalmente de tres factores

1. Grado de invasividad de la especie: correspondiente a las características propias del organismo introducido que le permitan establecerse, ya sea adaptación, capacidad de dispersión o plasticidad ecológica. Estas características favorecen un rápido crecimiento poblacional y una ventaja competitiva para el acceso a recursos (Capdevila *et al.* 2006).
2. Invasibilidad del ambiente: hace referencia a las condiciones del ecosistema receptor, como factores climáticos, ausencia de depredadores o parásitos naturales, presencia de nichos vacíos o alteraciones del entorno generadas por la actividad humana (Mack *et al.* 2000).
3. Presión de propágulos: también llamada esfuerzo de introducción, se refiere al número de individuos introducidos y la frecuencia con que esto ocurre. Aunque en muchos casos no se dispone de datos exactos, especialmente si la entrada fue accidental, se puede estimar a través del tiempo de residencia (Vilà *et al.* 2008, Capdevila *et al.* 2006).

En Chile, la introducción y dispersión de especies exóticas ha estado fuertemente ligada al comercio. Para el año 2017, se registraron 1.097 especies exóticas naturalizadas, de las cuales un 39% provienen

de Europa, seguidas por especies de Eurasia (14%) y América del Norte (13%) (PNUD 2017a). Entre estas, 109 especies corresponden a insectos, tres pertenecientes a la familia Apidae: *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae), *Bombus ruderatus* Fab. (Hymenoptera: Apidae) y *B. terrestris* (PNUD 2017a), además de la abeja de la familia Megachilidae, *Megachile rotundata* Fab. (Hymenoptera: Megachilidae) (Arretz 1973).

Dado este escenario, y conforme al artículo 8 (h) del Convenio sobre Diversidad Biológica (CBD), del cual Chile es parte, se establece que “cada parte contratante, en la medida de lo posible y según proceda, impedirá que se introduzcan, controlará o erradicará las especies exóticas que amenacen los ecosistemas, hábitats o especies” (PNUD 2017b, p. 14). Por tanto, resulta necesario implementar alternativas eficientes para abordar esta problemática y proteger la biodiversidad nativa.

2.2. Maneras de controlar y/o erradicar especies exóticas invasoras de insectos

Para controlar la densidad poblacional de especies exóticas invasoras, se reconocen tres estrategias principales sin distinción taxonómica: control mecánico o físico, control biológico y control químico (Capdevila *et al.* 2006, Corcuera 2016).

1. Control mecánico o físico: consiste en la extracción manual de los individuos de la especie invasora. Este método puede incluir modificaciones en las condiciones físicas del ambiente, como la manipulación de la salinidad, humedad o pH, con el objetivo de generar un entorno desfavorable para la supervivencia del organismo (Capdevila *et al.* 2006, PNUD 2017b).
2. Control biológico: se basa en la utilización de organismos vivos o sus extractos para reducir las poblaciones de la especie objetivo (Vinchira y Moreno 2019). Una alternativa es el uso de patógenos o depredadores nativos, que pueden actuar como agentes de control natural. Otra opción es la introducción de enemigos naturales provenientes del área de origen de la especie exótica, lo que requiere una evaluación rigurosa del riesgo ecológico, dado que esta medida podría generar nuevas problemáticas si la especie introducida se comporta también como invasora en el ecosistema receptor (Cisternas y Rodríguez 2021).
3. Control químico: implica el uso de sustancias naturales o sintéticas para afectar directamente a la especie invasora. Antes de su aplicación, es fundamental disponer de información detallada sobre los posibles efectos en especies no objetivo, especialmente en aquellas nativas o en riesgo (Capdevila *et al.* 2006, PNUD 2017b). Entre los compuestos utilizados se encuentran los llamados inhibidores de crecimiento de insectos (IGR, por sus siglas en inglés *Insect Growth Regulators*), que interfieren

en el desarrollo larval. Algunos IGR actúan imitando hormonas como la ecdisona (hormona de la muda) o la hormona juvenil (neotenia), lo que impide el éxito del proceso de muda (Bustillo 2008). Otros, como los compuestos de la familia de las benzoilureas, que interfieren directamente en la síntesis de quitina, una sustancia fundamental para la formación del exoesqueleto (Merzendorfer 2013). Dentro de este grupo se encuentran químicos como el diflubenzurón, flufenoxurón y teflubenzurón, entre otros (IRAC 2025).

2.3. *Bombus terrestris* en Chile ¿Cuáles han sido los efectos de su ingreso?

El género *Bombus* pertenece al orden *Hymenoptera*, familia *Apidae* (Pérez 2013). En Chile se encuentran cuatro especies de este género: *B. terrestris*, *B. ruderatus*, *B. dahlbomii* y *Bombus funebris* Smith, siendo estas dos últimas, especies nativas. Por un lado, *B. funebris* abarca desde Venezuela hasta el norte de Chile, específicamente la región de Arica y Parinacota (MMA 2020), mientras que *B. dahlbomii* se distribuye desde el sur de la región de Coquimbo hasta Magallanes aproximadamente, incluyendo también la isla grande de Chiloé y Tierra del Fuego (MMA 2015). En cuanto a *B. terrestris* y *B. ruderatus*, ambas especies europeas fueron introducidas a Chile con fines comerciales en 1997 y 1982-1983, respectivamente (Barahona-Segovia y Morales 2020). Morfológicamente, *B. terrestris* es un abejorro con densa pilosidad predominantemente negra, con dos franjas amarillas pilosas ubicadas al inicio del tórax y en el abdomen, y una banda pilosa blanca en el extremo de su cuerpo (Barahona-Segovia y Morales 2020, Estay 2007).

El ingreso de *B. terrestris* en el país fue permitido por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), el cual se realiza desde instalaciones europeas (SAG 2019). Se introdujo con el propósito de potenciar la polinización de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Solanaceae) en invernaderos. Este potencial fue estudiado previamente al ingreso formal de *B. terrestris* en la escuela de agricultura de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, cercana a la ciudad de Quillota, donde realizaron ensayos técnicos o pruebas piloto en la especie. Estas pruebas mostraron resultados positivos (en primavera, pero no en verano) en términos de eficiencia en la polinización de tomate (*S. lycopersicum*) (Estay 2007, Schmid-Hempel *et al.* 2014). No obstante, estas pruebas solo se abordaron desde la justificación económica, no ecológica, ya que no fue considerado el riesgo ecológico. Esta validación impulsó un notable aumento en la demanda por la especie, así como en la expansión de los cultivos en invernadero a polinizar (Montalva 2012). Cabe destacar que, en Argentina se ingresó una colonia de *B. terrestris* en los años 1990 con fines experimentales, pero la experiencia culminó con la destrucción de la colonia por recomendación de entomólogos, junto con la decisión de no permitir nuevas introducciones (Aizen *et al.*

2018). En la actualidad *B. terrestris* presenta una distribución similar a la de *B. dahlbomii* (Simonetti *et al.* 2016), aunque, *B. terrestris* muestra mayor abundancia y dominancia en la zona central de Chile, donde la abundancia relativa de la especie nativa *B. dahlbomii* ha disminuido considerablemente (Montalva 2012, Smith-Ramírez *et al.* 2018).

Entre los impactos ecológicos de *B. terrestris* sobre *B. dahlbomii* se encuentra la competencia por recursos, ya que ambas especies son generalistas y comparten numerosas especies vegetales como fuente de alimento (Morales 2007). Además, la transmisión de patógenos, como *Apicystis bombi* (Apicomplexa: Neogregarinorida), desde ejemplares de *B. terrestris* importados desde Europa hacia individuos de *B. dahlbomii*. Este protozoo no afecta gravemente a *B. terrestris*, sin embargo, en especies nativas puede impedir que las nuevas reinas formen colonias y aumentar la mortalidad prematura de obreras (Arbetman *et al.* 2013, Plischuk y Lange 2009). Asimismo, individuos de *B. terrestris* que escapan de invernáculos aumentan el riesgo de dispersión de otros patógenos como *Nosema bombi* (Nosematidae: Dissociodihaplophasida) e incluso de ácaros que pueden eludir los controles sanitarios (Morales 2007, Pérez 2013). Por otro lado, en un estudio realizado en Japón se observó que *B. terrestris* afectó significativamente la producción de semillas en cinco de siete especies vegetales evaluadas. El estudio sugiere que *B. terrestris* puede actuar como un polinizador ineficiente o incluso afectar el proceso de polinización, interfiriendo con la fertilización cruzada y disminuyendo la calidad del servicio ecosistémico (Kenta *et al.* 2007). Estos hallazgos son relevantes para países como Chile, donde *B. terrestris* también interactúa con especies nativas y exóticas de interés ornamental o ecológico.

En un estudio realizado en 2009 en Valdivia, Lago Ranco, Senda Darwin y Chacao (Chiloé), Combs (2011) monitoreó las visitas florales de *Bombus* en *F. magellanica* y descubrió que la presencia de *B. terrestris* influía en el comportamiento de *B. dahlbomii*. En Valdivia y Lago Ranco, *B. terrestris* actuó exclusivamente como ladrón de néctar de *F. magellanica* al existir una discrepancia entre las características florales y características morfológicas de *B. terrestris*, por lo que, para obtener el néctar debe perforar la flor. Como consecuencia, *B. dahlbomii* que se comportaba como un polinizador mutualista realizando polinizaciones legítimas, modificó su comportamiento y comenzó a robar néctar por el mismo orificio generado previamente por *B. terrestris*. Este cambio en la interacción floral no fue observado en Senda Darwin ni en Chacao, sitios donde *B. terrestris* no estaba presente. Además, en Valdivia y Lago Ranco, *B. dahlbomii* presentó una baja abundancia relativa en comparación con *B. terrestris*.

En Valdivia, un estudio realizado por Ramires (2018) registró 56 puntos de muestreo para *B. dahlbomii* y 51 para *B. terrestris*, observando una mayor frecuencia de visitas de *B. terrestris* en 46 de ellos. Además, el promedio de individuos observados por minuto de *B. terrestris* osciló entre 0 y 3,44, mientras que, para *B. dahlbomii* varió entre 0 y 0,33. Por otro lado, en arbustos de *F. magellanica* del Jardín Botánico de la Universidad Austral de Chile (UACH), ubicados en Valdivia, dos estudios independientes compararon la abundancia absoluta de visitantes florales, enfocándose principalmente en *B. terrestris* y *B. dahlbomii*. En los años 2009 y 2018, *B. terrestris* presentó aproximadamente un 90% mayor abundancia que *B. dahlbomii* (Combs 2011, Ramires 2018). Posteriormente, desde el año 2018 hasta 2022, se continuó monitoreando la abundancia de polinizadores en individuos de *F. magellanica* del Jardín Botánico (Smith-Ramírez com. pers.). Asimismo, Ramires (2018) realizó monitoreos de abundancia de abejorros en *C. hookerianum* y *Rhododendron* sp. presentes en los jardines de la UACH durante los años 2017 y 2018, continuando en 2019 (Smith-Ramírez et al. datos no publicados). Durante los años 2020 y 2021 no se pudo llevar a cabo el monitoreo debido a las restricciones de acceso asociadas a la pandemia por COVID-19. Posteriormente, en el año 2022 se realizó otro monitoreo en *C. hookerianum* y *Rhododendron* sp., que siguió la misma metodología de Ramires (2018) en el mismo sitio (Smith-Ramírez com. pers.). Los datos recopilados en los años anteriores serán de gran utilidad para comparar con los datos posteriores a la aplicación del químico (ver ítem 3).

2.4. Ciclo de vida de *B. terrestris*

Bombus terrestris presenta un ciclo de vida anual, que inicia cuando la reina emerge de la fase de diapausa o hibernación, esto a finales de invierno o principios de primavera que, en Chile ocurre a finales de septiembre. Al emerger, las reinas construyen su nido, esto entre finales de septiembre y octubre, generalmente bajo la superficie o bien, utilizando nidos preexistentes de roedores o pájaros (Goulson 2010), y otros elementos como cartones, nylon, madera en podredumbre, entre cemento, entre otros. Una vez instalada la reina en su nuevo nido, generalmente a finales de octubre principios de noviembre, pone entre 8 y 16 huevos, que cubre con cera y polen, posteriormente la reina sale en búsqueda de néctar y polen. Pasados cuatro días después de la postura, los huevos eclosionan (Borges 2018). Luego de desarrollarse por 10 a 14 días, van tejiendo su capullo y pupan, emergiendo la primera generación de obreras luego de 14 días, lo cual da como resultado un tiempo de desarrollo de entre cuatro a cinco semanas, lo que significa que, en Valdivia las obreras emergerían a principios de diciembre, lo que puede variar según la temperatura del nido y la cantidad de alimento suministrada (Goulson 2010). Una vez que emerge esta primera generación de obreras hembras la reina libera feromonas que inhiben la puesta de

huevos de las obreras por las primeras semanas, por lo que, el rol de la mayoría de las obreras es la búsqueda de alimento, mientras que la reina se encargará de poner e incubar los huevos (Coppée 2010).

La siguiente fase de la colonia es *switch point*, que corresponde a la producción de huevos no fecundados (haploides) por parte de la reina, que al emerger son machos. Pasando a la siguiente fase, llamada *competition point*, donde las obreras también comienzan a poner huevos haploides, compitiendo con la reina por la producción de machos. Esta fase se caracteriza por una pérdida de control de la reina sobre la reproducción dentro del nido (Coppée 2010, Goulson 2010). Luego de estas fases, la reina comienza a producir las nuevas reinas vírgenes, lo que generalmente, ocasiona que la producción de obreras se detenga (Borges 2018). Cuando las nuevas reinas vírgenes emergen en marzo/abril, salen del nido hasta ser fecundadas. Una vez fecundadas, se establece en un lugar seguro para comenzar la fase de diapausa o hibernación durante otoño e invierno, para emerger y reproducir el ciclo nuevamente (Borges 2018, Coppée 2010, Goulson 2010).

2.5. Tratamiento químico con inhibidores de crecimiento en *B. terrestris*

En un estudio de laboratorio llevado a cabo por Mommaerts *et al.* (2006) se analizó la toxicidad aguda en *B. terrestris* de ocho sustancias químicas: buprofezina, ciromazina, diflubenzurón, fluciclozurón, flufenoxurón, lufenurón, novalurón y teflubenzurón. Estas sustancias son IGR, específicamente CSI, "Inhibidores de la Síntesis de Quitina" (por sus siglas en inglés, *Chitin Synthesis Inhibitors*). La formación de quitina es un proceso fundamental en el exoesqueleto de los insectos. Al impedirlo, impactan directamente en el proceso de la muda y la supervivencia del individuo, provocando deformaciones en la cutícula (Bustillo 2008, Menzendorfer 2013).

Para el análisis de los CSI, fue aplicada la MFRC "concentración máxima recomendada para el campo" (por sus siglas en inglés, *Maximum Field Recommended Concentration*) en tres rutas de exposición: 1.- Aplicación tópica, 2.- Vía oral con azúcar y agua 3.- Vía oral través del polen. Esto dio como resultado que diflubenzurón y teflubenzurón fueron los químicos con mayores resultados sobre todo al aplicarlos vía oral con azúcar y agua y a través del polen. Ambos generaron disminución en la fertilidad de los óvulos y viabilidad de los huevos en las obreras, esto debido a que, atraviesan la cutícula y pueden acumularse en los ovarios incorporándose en los huevos mientras se forman, además se observó deformación de la cutícula en las larvas y en el caso de diflubenzurón, no emergió ningún zángano durante las once semanas que duró el experimento. Por otro lado, ninguna de las sustancias químicas utilizadas generó la mortalidad aguda en los individuos aplicados (Mommaerts *et al.* 2006).

En otro estudio donde también se probaron los efectos de la aplicación de diflubenzurón, pero ahora en *B. impatiens*, Camp *et al.* (2020) describieron que los efectos comenzaron a observarse aproximadamente tres a cuatro semanas después de la primera aplicación, por lo tanto, es posible esperar que impacte de igual forma en *B. terrestris*, al considerar el ciclo de vida de la especie (Ver 2.3), ya que estas sustancias impactan de forma subletal y acumulativa. Al afectar la síntesis de quitina durante el desarrollo larval y pupal se explica que el impacto se manifieste al momento de la metamorfosis. Considerando que el individuo emerge luego de 3 a 4 semanas de la puesta del huevo los impactos del químico se evidencian al coincidir con la aparición de los primeros individuos afectados.

Si bien, el químico diflubenzurón tuvo resultados significativos tanto en *B. terrestris* como *B. impatiens*, los estudios se realizaron bajo condiciones de laboratorio (Camp *et al.* 2020, Mommaerts *et al.* 2006), por lo que, es necesario conocer su efectividad en el campo. Al conocer el ciclo de vida de *B. terrestris* (Ver 2.3) y el tiempo en el que se observan los efectos, el químico debe administrarse a finales de la primavera inicios de verano, si se aplica con más anticipación el impacto será bajo, al ser una temporada dominada por reinas que no se verán afectadas por el químico, puesto que, tiene efecto en las larvas que darán origen a obreras que emergen a finales de primavera y a las princesas que emergen a fines de verano.

3. METODOS

3.1. Área de estudio

La presente investigación fue llevada a cabo en la ciudad de Valdivia, región de los Ríos, ubicada entre los 39° y 73° latitud sur. La ciudad de Valdivia se caracteriza por presentar abundantes precipitaciones durante todo el año, con siete meses que superan los 100 mm, sin período seco, con una precipitación promedio anual desde 1992 a 2021 de 1857 mm, y presentar una temperatura promedio de 12,70°C (CR2 2024) (fig. 1).

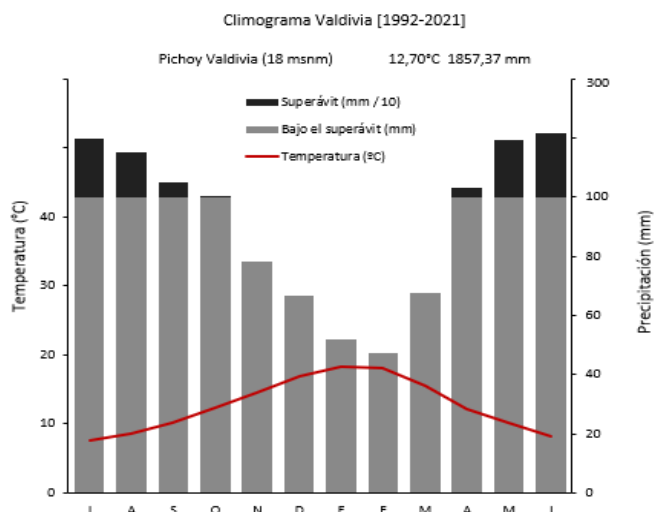


Figura 1. Diagrama ombrotérmico de la zona de Valdivia.

El sitio principal de estudio fueron los jardines de la UACH, específicamente el Jardín Botánico, donde se utilizó a *F. magellanica* como especie focal para muestrear *Bombus*, y el jardín trasero del “Hogar Estudiantil Elena y David”, donde se utilizó a las especies florales *C. hookerianum* y *Rhododendron* sp. (fig. 2); sitios seleccionados por contar con seis y cuatro años de muestreos previos, respectivamente.. Estos datos previos permiten comparar la abundancia de *B. terrestris* años antes y después de la aplicación de diflubenzurón. Además, para esta investigación, se comparó la abundancia de *B. terrestris* durante tres años, entre dos sitios: uno donde se aplicó diflubenzurón (isla Teja) y un sitio control donde no se aplicó el químico. El sitio control (sin tratamiento químico) se ubicó en el condominio “Riberas del Miraflores”, en el sector de Angachilla (39°52’S, 73°14’O) (fig. 4). Este lugar fue seleccionado por encontrarse a aproximadamente 7 km de distancia de isla Teja, situándolo fuera del rango de forrajeo de *B. terrestris* (Hagen *et al.* 2011).

3.1.1. Sitios de aplicación de diflubenzurón

En el primer año de aplicación del químico (2023, en el contexto de la tesina de Diego Cubillos) se seleccionaron las áreas de aplicación de diflubenzurón, para lo cual se mapeó un círculo de 2,5 km de radio con centro en el Jardín Botánico (fig. 2). Se trabajó dentro de este círculo al estar dentro del rango de vuelo de *B. terrestris* (Hagen *et al.* 2011), de forma de aplicar el químico de manera relativamente homogénea en dicha área y que no haya cruce entre individuos contaminados con el químico y aquellos del sitio control.

Posteriormente, se descartaron como sitios de aplicación del químico aquellos no accesibles. En total, se consideraron 27 puntos potenciales que se recorrieron en búsqueda de los lugares con mayor actividad de *B. terrestris*. De estos, se seleccionaron cinco sitios de aplicación del químico ubicados en los jardines de la Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas (FACEA), Teja Sur (calle Los Ciruelos y Los Cerezos), las canchas detrás del gimnasio UACH, entrada del Arboretum y el Jardín Botánico. Para el año 2024 se aplicó en sólo tres de estos sitios debido a que se utilizó una técnica de aplicación más demandante en tiempo y personal. Aquel año, los sitios utilizados fueron FACEA, Teja Sur y el Jardín Botánico. En el año 2025 se decidió aumentar y ampliar los sitios de aplicación, ya que se sospechó que la posible migración de individuos de *B. terrestris* de sitios adyacentes no tratados al sitio con aplicación podría estar generando resultados confusos de explicar. Se seleccionaron nueve puntos de aplicación, manteniendo cuatro sitios utilizados anteriormente (entrada del Arboretum, FACEA, Teja Sur y Jardín Botánico). A estos se sumaron cinco nuevos sitios: Avenida España en el sector "Aeródromo", Plaza Obelisco, Parque Saval, plaza Capitán Ignacio Carrera Pinto, y Condominio Alto Las Cruces (fig.2). Este último sitio, está ubicado ligeramente fuera del rango de 2,5 km, se incorporó en la aplicación para eliminar individuos de *B. terrestris* de las fuentes de emigración más cercanas.

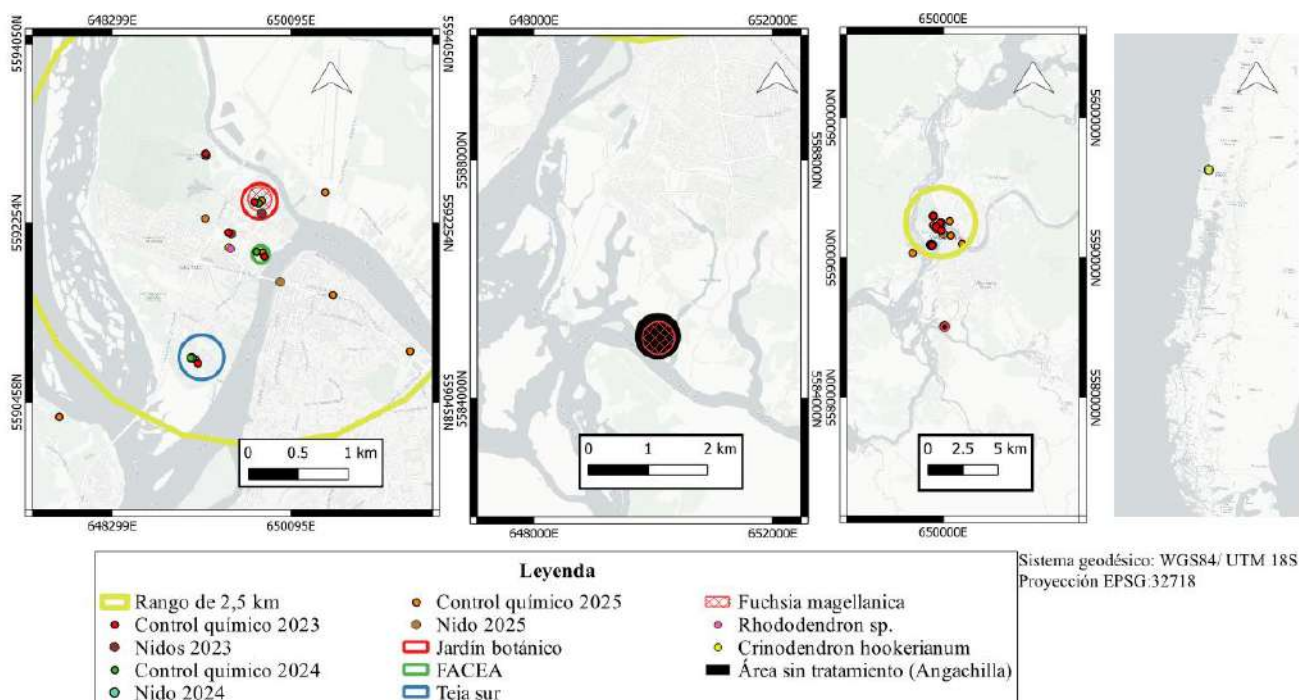


Figura 2. Áreas de estudio junto con el mapa del círculo de 2,5 km de radio, puntos de aplicación, nidos y monitoreo en instalaciones de la UACH y Angachilla.

3.2. Métodos de aplicación de diflubenzurón a *B. terrestris*

En la primera aplicación de diflubenzurón a *B. terrestris* el año 2023, se utilizó una disolución compuesta por 0,05 ml de diflubenzurón concentrado en 500 ml de agua destilada, una concentración que se encuentra dentro del rango utilizado en estudios previos (Camp *et al.* 2020). Sin embargo, a mediados de esa temporada se optó por una dosis mayor: 0,5 ml de diflubenzurón concentrado disuelto en 500 ml de agua destilada, ya que se fue perfeccionando durante la aplicación. A partir del año 2024, esta solución fue complementada con 250 g de azúcar blanca granulada, con el objetivo de aumentar su palatabilidad y favorecer la ingesta por parte de los individuos. Esta dosis corresponde a una de las más letales reportadas para larvas de *B. terrestris*, según lo señalado por Mommaerts *et al.* (2006).

Se implementaron dos técnicas de aplicación. La primera consistió en la captura y aplicación de *B. terrestris* con redes entomológicas, posicionando a los individuos sobre una superficie lisa donde se le aplicaba aproximadamente 0,1 ml de la solución con una jeringa o gotero en tórax y en las bolsas de polen de la tercera corbícula (anexo 5.2.). Durante los años 2024 y 2025, la cantidad administrada podía variar, ya que la adición de azúcar a la solución provocó que algunos individuos ingirieran parte del químico, permitiendo aplicar un volumen ligeramente superior. Una vez aplicados, los individuos fueron

liberados. Esta técnica resultó más rápida y factible cuando las abundancias fueron bajas, y se empleó de manera continua entre 2023 y 2025.

La segunda técnica solo se utilizó en 2024, año en el que hubo alta abundancia de *B. terrestris*. Consistió en aplicar en flores de fácil acceso y visibilidad aproximadamente 0,1 ml de la solución con una jeringa o gotero. Se aplicó en el fondo de las flores de *Acanthus mollis* L.(Acanthaceae), *Lavandula angustifolia* Mill. (Lamiaceae) y *Francoa appendiculata* Cav. (Francoaceae) donde se acumula el néctar (anexo 5.1.). Se seleccionaron estas especies florales debido a que, eran las más visitadas por *B. terrestris* y porque la forma de las flores permitía almacenar el líquido de la solución sin contaminar otras flores y/o plantas. Para identificar en qué flores se aplicó el químico, se marcaron con un polvo fluorescente de uso cosmético. Posteriormente, cuatro a cinco personas se posicionaban frente al conjunto de flores que tenían diflubenzurón, manteniendo una visual completa. Se contabilizó cada vez que un *B. terrestris* ingresó a beber néctar, mientras bebía se marcaba con el mismo polvo cosmético en la parte posterior del abdomen y ocasionalmente el tórax. Cabe destacar que únicamente se permitió el acceso a *B. terrestris*, y se impedía el acceso a cualquier otra especie que quisiera acercarse a alguna flor aplicada con la solución. Al final del día, las flores contaminadas eran cuidadosamente eliminadas, procurando no contaminar el suelo, otras plantas y retirando cualquier elemento posiblemente contaminado. Esta metodología se llevó a cabo principalmente el mes de enero, en los meses posteriores la floración disminuyó, por lo cual no se pudo realizar. Esta técnica de aplicación es más lenta, pero según Mommaerts *et al.* (2006) al ingerir el néctar contaminado es más probable que lo transfieran a las larvas objetivo, que si es polen contaminado. Además, permite minimizar el contacto con especies no objetivo, evitando que las especies nativas accedan a flores tratadas o se aproximen a ellas.

La aplicación de diflubenzurón a *B. terrestris* o en el néctar de las flores se realizó entre las 19:00 y las 21:00 hrs. para disminuir la probabilidad de que exista el contacto con polinizadores no objetivo, esto con el fin de proteger la biodiversidad nativa al ser el horario de menor actividad de los polinizadores nativos (Smith-Ramírez com. pers.). Adicionalmente, en ese horario *B. terrestris* suele retornar al nido, favoreciendo el traslado directo del químico al mismo (Rendón com. pers.). Sin embargo, en los meses de febrero y marzo los individuos ingresan al nido más temprano al disminuir la temperatura y horas de luz. Por esta razón, la aplicación del químico en febrero se realizó entre las 17:00 a 20:00 hrs. y en marzo entre las 16:30 a 18:30 hrs.

Durante las aplicaciones de 2023, 2024 y la primera aplicación de 2025 (enero), se marcó con polvo fluorescente cosmético a cada individuo contaminado con diflubenzurón. Se pudo apreciar que esta

marca tenía una duración máxima de tres días. Sin embargo, en febrero de 2025 se suspendió el uso del polvo fluorescente, ya que se observó que afectaba el vuelo de los individuos (ver ítem 3.2.2.). Por este motivo, se redujo el tiempo de permanencia de los asistentes en cada sitio de aplicación, pasando de 60 minutos a un rango de 20 a 45 minutos, lo que permitió optimizar la eficiencia del proceso.

Este estudio se desarrolló bajo un enfoque metodológico adaptativo, en el que, a medida que se obtenían nuevos aprendizajes y resultados de los monitoreos, se ajustaron ciertos métodos para optimizar la efectividad del tratamiento. Bajo este enfoque se fue perfeccionado la solución, la cantidad de individuos aplicados, el calendario de aplicación, el horario de aplicación, el número de sitios de aplicación y el número de asistentes, con el objetivo de reforzar el impacto del tratamiento químico y aumentar la probabilidad de alcanzar los resultados esperados a nivel poblacional.

3.2.1. Determinación de fechas de aplicación de diflubenzurón a *B. terrestris*

La programación de las aplicaciones de diflubenzurón se basó en un modelo de abundancia poblacional de *B. terrestris*, construido a partir de observaciones empíricas (Combs 2011, Ramires 2018, Smith-Ramírez *et al.* 2014, Smith-Ramírez *et al.* datos no publicados, Smith-Ramírez, com. pers.), que mostraron un aumento progresivo en la actividad de *B. terrestris* desde mediados de agosto, alcanzando un *peak* a finales de enero (anexo 1). Este patrón sugiere que el periodo de mayor abundancia coincide con la emergencia de las obreras y un incremento significativo en la actividad forrajera, mientras que entre agosto y diciembre predominan principalmente reinas en vuelo. Considerando que a mediados de enero las reinas tienden a permanecer en el nido y aún no emerge la mayor cantidad de obreras observadas a fines de enero, se determinó que el momento óptimo para interrumpir el crecimiento poblacional era durante la primera semana de enero. Por esta razón, la primera aplicación de diflubenzurón se realizó en esa fecha en los tres años de tratamiento químico (cuadro 1).

La segunda y tercera aplicación fueron programadas en base al monitoreo continuo y la necesidad de mantener una presión de control poblacional durante la fase reproductiva. Aplicar el químico en momentos de dominancia de reinas no permitiría lograr una reducción efectiva de la población, debido a que el químico diflubenzurón afecta más a las larvas por la inhibición de quitina (Gupta y Doss 2022). Por ello, la aplicación de diflubenzurón se dirigió a etapas en que se desarrollan larvas de obreras y futuras reinas. Así, las aplicaciones de febrero y marzo buscaron reforzar el efecto del tratamiento inicial, coincidiendo con la fase de declive natural en la abundancia de *B. terrestris* al final del verano e inicio de otoño.

Cuadro 1. Detalle de fechas, número de asistentes, número de sitios de aplicación y número total de individuos de *B. terrestris* tratados durante la aplicación de la solución con diflubenzurón desde 2023 a 2025. El guion (-) indica que no se realizó la aplicación.

Año	Aplicación 1	Aplicación 2	Aplicación 3	N° de asistentes	N° de sitios	<i>B. terrestris</i> aplicados
2023	8-13 de enero	22 de febrero-13 de marzo	-	3-4	5	796
2024	7-14 de enero	8-19 de febrero	26 al 28 de marzo	3-5	3	919
2025	8-13 de enero	3 al 13 de febrero	-	5-8	3 y 9	2954

3.2.2. Aplicación de diflubenzurón en individuos de *B. terrestris* durante su tránsito hacia y desde el nido

Para saber si la aplicación de químico provocaba el colapso del nido, se realizó un estudio adicional cerca de los nidos. Los nidos de *B. terrestris* son difíciles de encontrar, por lo que se ofreció una recompensa, anunciada mediante redes sociales, además de buscarlos activamente. En total, durante el año 2023 se encontraron tres nidos: uno en el Jardín Botánico (sector de los chilcos), otro en las canchas ubicadas detrás del gimnasio UACH (Canchas) y un tercero a las afueras del Arboretum (Arboretum) (Cubillos datos no publicados). En el año 2024 se identificó un nido en Teja Sur, específicamente en la calle Los Cerezos. Finalmente, en 2025 se halló un nido bajo el puente Pedro de Valdivia, en el tramo que conecta Valdivia con isla Teja.

Todos los nidos encontrados fueron georreferenciados (fig. 2), monitoreados (ver ítem 3.3.2), y los individuos que ingresaban o salían de ellos fueron tratados con la solución de diflubenzurón mediante la técnica de captura y aplicación con redes entomológicas (ver ítem 3.2). La aplicación del tratamiento se realizó durante el mes de enero, aproximadamente por una hora, entre las 19:00 y 21:00 hrs., posterior al monitoreo de nidos (ver ítem 3.3.2).

En el nido llamado “Puente”, el polvo cosmético fluorescente se aplicó solo el 18 de enero, ya que ese día se observó que *B. terrestris* tenía dificultad para volar, obstrucción visual y demoras en el ingreso de los individuos al nido cuando estaban impregnados de este polvo.

3.3. Monitoreo en verano del éxito de la aplicación de diflubenzurón

El estudio realizado por Mommaerts *et al.* (2006) mostró que luego de tres a cuatro semanas de aplicar diflubenzurón, las larvas no se desarrollaban de manera óptima y las pupas estaban muertas o

deformadas. Por lo tanto, se realizó la primera aplicación de diflubenzurón la primera/segunda semana de enero, el mismo día en el que termina el monitoreo de *Bombus* en *F. magellanica*. Este monitoreo constituye el monitoreo previo que permite comparar la abundancia de *Bombus* antes y después de la aplicación del químico. Siguiendo a Mommaerts *et al.* (2006) a las tres a cuatro semanas de aplicación de diflubenzurón se realiza el monitoreo post tratamiento 1. Posterior a ese monitoreo se vuelve a aplicar el químico, y se vuelve a monitorear en tres semanas después de la segunda aplicación (correspondiente al monitoreo post tratamiento 2), en la medida que el clima lo permite, debiendo en ocasiones retardarse el monitoreo un mes después de la segunda aplicación del químico.

Siguiendo la metodología de Combs (2011) y posteriormente aplicada por Ramires (2018), el monitoreo consistió en la observación de flores en anthesis, moviéndose alrededor de cada arbusto de *F. magellanica* cuando estos tenían grandes dimensiones. Las observaciones se realizaron en periodos de tres minutos por arbusto, en 17 individuos de *F. magellanica* (fig. 3), los que deben presentar entre 30 a 50 flores. Solo se realizó un periodo de observación por individuo por día, que da un total de 51 minutos de observación por día. Para estos efectos se consideró como visita floral tanto la polinización como el robo de néctar. Se registró el horario, especie polinizadora, número de individuos visitantes y casta. Este monitoreo se realizó entre las 11:00 a 14:00 hrs. por cuatro días consecutivos con algunas excepciones producto del mal tiempo (cuadro 2, ítem 3.3.1).

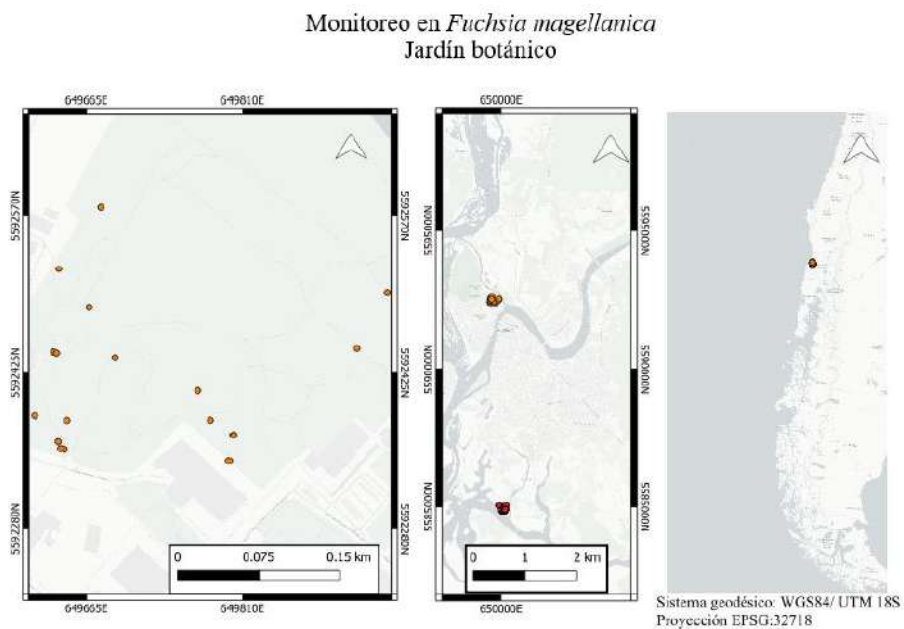


Figura 3. Puntos de monitoreo de *Bombus* en arbustos de *F. magellanica* ubicados en el Jardín Botánico de la UACH.

3.3.1. Monitoreo en sitio sin tratamiento químico en verano (Angachilla)

En el sitio control (fig. 4) se utilizó la misma metodología y fechas (cuadro 2) de monitoreo que en el sitio con tratamiento con diflubenzurón, también se utilizó como especie focal a *F. magellanica* (ver ítem 3.3).

Cuadro 2. Fechas de monitoreo de *Bombus* en *F. magellanica* en sitio sin tratamiento y con tratamiento químico con diflubenzurón durante 2023 a 2025. El guion (-) indica que no se realizó el monitoreo. Los nombres de las etapas de monitoreo (pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2 y post tratamiento 3) se utilizan únicamente para indicar momentos equivalentes de monitoreo en ambos sitios. El sitio control no fue intervenido en ningún momento.

Año	Pre tratamiento	Post tratamiento 1	Post tratamiento 2	Post tratamiento 3
2023	5-8 de enero	4-6 y 8 de febrero	21 y 22 de febrero	22-24 y 26 de marzo
2024	4-7 de enero	1-4 de febrero	10,11,14 y 15 de marzo	-
2025	5 al 8 de enero	6-9 de febrero	25,26 de febrero y 1 de marzo	-

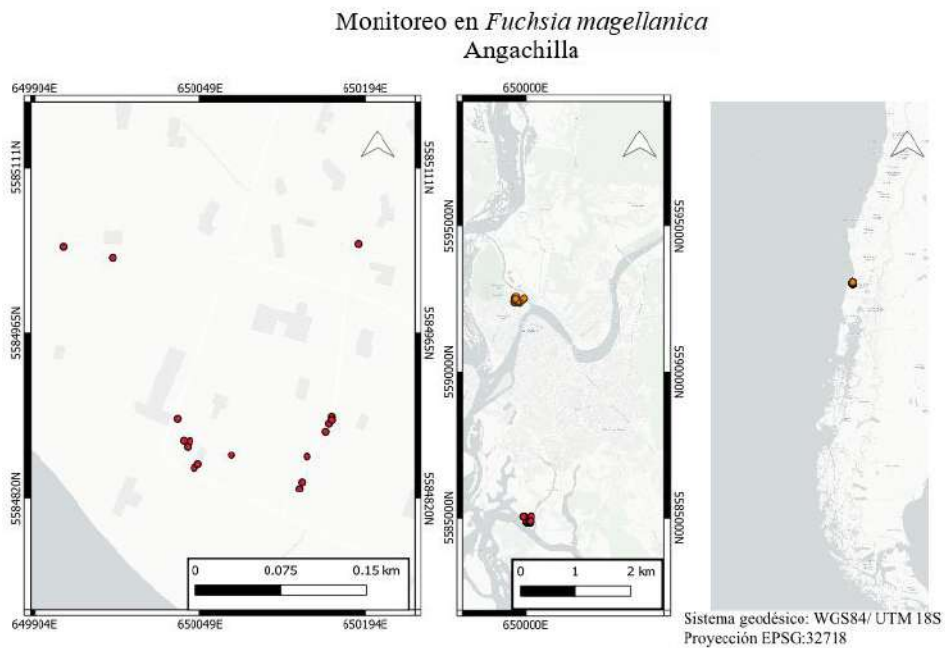


Figura 4. Puntos de monitoreo de *Bombus* en arbustos de *F. magellanica* en el sitio control ubicado en Angachilla.

3.3.2. Monitoreo de éxito de la aplicación de diflubenzurón en individuos de *B. terrestris* durante su tránsito hacia y desde el nido

El monitoreo consistió en posicionarse a aproximadamente 2 metros de distancia del nido durante 15 minutos por día entre las 17:00 y 19:00 hrs., registrando el número de entrada y salida de individuos y respectiva casta. Este monitoreo se asemeja al realizado en *Vespula germanica* Fab. (Hymenoptera: Vespidae) (Malham *et al.* 1991). Se eligió esta hora debido a una razón logística, ya que a las 19:00 hrs. se comenzaba la aplicación del químico, y antes el grupo de trabajo estaba monitoreando cuando correspondía. Las fechas de tratamiento del químico varían ya que dependen de cuando se reportaba el encuentro de un nuevo nido (cuadro 3).

Cuadro 3. Fechas de monitoreo (Pre tratamiento, Post tratamiento 1 y Post tratamiento 2) y tratamiento de individuos de *B. terrestris* que ingresaban o salían del nido durante 2023 a 2025. El guion (-) indica que no se realizó el monitoreo.

Año	Nido	Pre tratamiento	Tratamiento	Post tratamiento 1	Post tratamiento 2
2023	Chilcos	8-13 de enero	8-13 de enero	10-12 y 14 de febrero	19-22 de marzo
	Arboretum	8-13 de enero	8-13 de enero	10-12 y 14 de febrero	19-22 de marzo
	Canchas	16-19 de enero	16-19 de enero	10-12 y 14 de febrero	19-22 de marzo
2024	Teja Sur	17-20, 23 y 27 de enero	17-20, 23 y 27 de enero	1, 5, 10, 16 y 17 de febrero	-
2025	Puente	18-21 de enero	18-21 de enero	27 y 30 de enero	1, 3, 4, 6, 7, 10 y 11 de febrero

3.3.3. Monitoreo en primavera del éxito de la aplicación de diflubenzurón

El monitoreo consistió en observar flores en antesis en periodos de diez minutos de manera intercalada, es decir, tras observar a *C. hookerianum*, se continuaba con un periodo de observación en *Rhododendron* sp., alternando sucesivamente entre ambas especies hasta realizar diez periodos de observación por cada una, lo que da como resultado 100 minutos de observación por especie. Este monitoreo se realizó desde las 10:30 hasta las 14:00 hrs., aproximadamente por cuatro días. Para estos efectos, se registró el horario, especie monitoreada, especie polinizadora, número de individuos visitantes y casta, además de posibles observaciones como lloviznas o sucesos que pudieran cambiar la frecuencia de visitas con el fin de dar contexto a los datos.

En la primavera del año 2023 se hizo desde el 21 a 24 de noviembre y en el año 2024 desde el 18 hasta el 21 de noviembre.

Como ya se explicó, no se aplica diflubenzurón en primavera, ya que es una temporada en que dominan las reinas, y el químico actúa sobre las larvas que dan origen a obreras (desde fines de primavera) y a las princesas (fines de verano). Este monitoreo pretende saber si el químico aplicado en verano afecta la población que luego de la diapausa de invierno, emerge en primavera.

Los minutos de observación fueron distintos en el monitoreo de primavera y verano, debido a que se siguieron metodologías desarrolladas por distintos investigadores en los años previos que servirán para comparar las tendencias poblacionales de *Bombus*. Esto no representa un problema, ya que no se comparan las abundancias entre estaciones, sino entre años con y sin aplicación de diflubenzurón, manteniendo así la consistencia dentro de cada periodo estacional.

3.4. Análisis de los datos

Para evaluar la normalidad de los datos del número de visitas florales de *B. terrestris* y *B. dahlbomii* en *C. hookerianum* y *Rhododendron* sp., se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk. Esta también se utilizó para los datos interanuales de *F. magellanica* (años 2009, 2018 a 2025) correspondientes a monitoreos realizados a inicios de febrero en isla Teja, y para los datos de *F. magellanica* recolectados entre 2023 y 2025 en isla Teja y Angachilla, ya que todos los conjuntos presentaban menos de 5000 observaciones.

En todos los casos, la prueba de Shapiro-Wilk indicó que los datos no seguían una distribución normal ($P < 0,05$). Para los datos interanuales de *F. magellanica*, se intentó aplicar transformaciones logarítmicas, de raíz cuadrada y estandarización mediante *z-score*, sin lograr la normalización de los datos.

Debido a esto, para evaluar las diferencias en la abundancia de visitas de *Bombus* en el tiempo y en relación al tratamiento químico, se utilizaron modelos lineales generalizados (GLM) y modelos mixtos generalizados (GLMM), con distribución binomial negativa. Además, considerando la alta proporción de ceros en los registros de visitas (ceros estructurales), se implementaron GLMM de inflación cero (*zero-inflated models*) también con distribución binomial negativa. Como efectos fijos se incorporaron el año y la condición del tratamiento (pre o post tratamiento), para cada especie de *Bombus* y planta focal según correspondiera.

Para los datos de monitoreo entre 2023 y 2025, tanto en isla Teja como en Angachilla, se aplicó la prueba no paramétrica de Scheirer–Ray–Hare para evaluar el efecto de la etapa de monitoreo, del sitio y

de su interacción en la abundancia de *B. terrestris* y *B. dahlbomii*. Posteriormente, se realizaron comparaciones múltiples mediante la prueba de Wilcoxon.

Adicionalmente, a los datos del sitio tratado (isla Teja) en los mismos años se les aplicó la prueba de Kruskal–Wallis y comparaciones múltiples mediante la prueba de Dunn con corrección de Benjamini-Hochberg, para detectar diferencias entre etapas de monitoreo específicamente en la abundancia de *B. terrestris*. Este análisis no se aplicó a *B. dahlbomii*, ya que no se identificaron diferencias significativas entre etapas para esta especie.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados en R, versión 4.4.2 (2024-10-31 ucrt) y se consideró un valor de significancia de $\alpha = 0,05$ para todas las pruebas estadísticas.

4. RESULTADOS

4.1. Monitoreo de éxito de la aplicación de diflubenzurón en individuos de *B. terrestris* durante su tránsito hacia y desde el nido

En el año 2023, los nidos “Chilcos” y “Arboretum” mostraron a las tres semanas de aplicado el químico una notable baja de la actividad, “Canchas” mostró esta baja casi al mes de aplicación del químico. Los tres nidos mostraron ausencia de actividad pasadas 9 a 10 semanas luego de la aplicación de diflubenzurón (fig. 5). En 2024, el nido “Teja Sur” dejó de presentar movimiento a partir de la cuarta semana posterior a la aplicación (fig. 6), mientras que el nido “Puente” mostró ausencia de actividad a las tres semanas de la aplicación en el año 2025 (fig. 7). Para la elaboración de los gráficos se consideraron únicamente las entradas de individuos, ya que correspondieron al tipo de movimiento registrado con mayor frecuencia. La información detallada de entradas y salidas se encuentra graficada en el anexo 2.

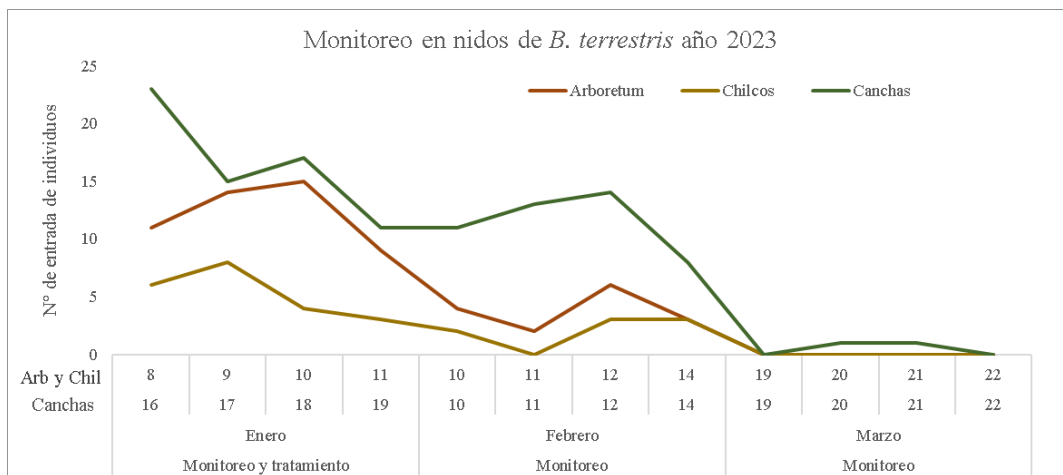


Figura 5. Comparación del movimiento de individuos de *B. terrestris* que entran a los tres nidos encontrados en el año 2023. Los nidos Arboretum y Chilco se encontraron antes que el nido Canchas, por lo cual, la aplicación del químico comenzó antes. Las fechas en enero indican los días de monitoreo y a las vez de aplicación del químico. Las fechas de febrero y marzo son sólo de monitoreo.

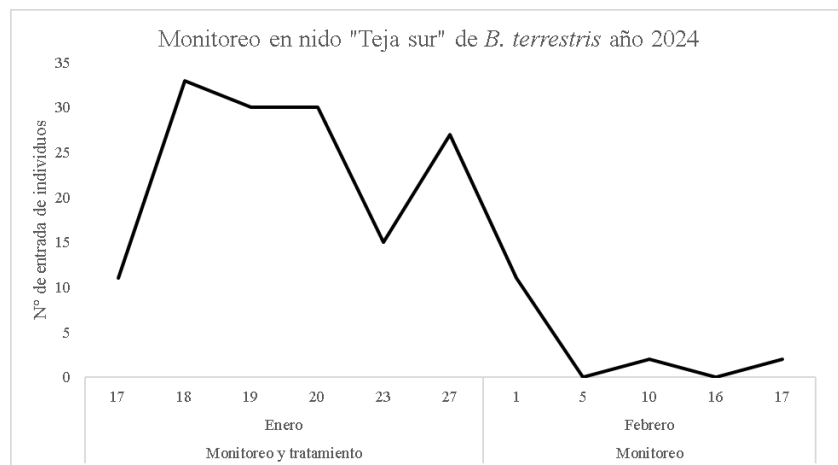


Figura 6. Movimiento de individuos (entradas) en nido “Teja Sur” de *B. terrestris* encontrado en el año 2024. Las fechas en enero indican los días de monitoreo y a las vez de aplicación del químico. Las fechas de febrero son sólo de monitoreo.

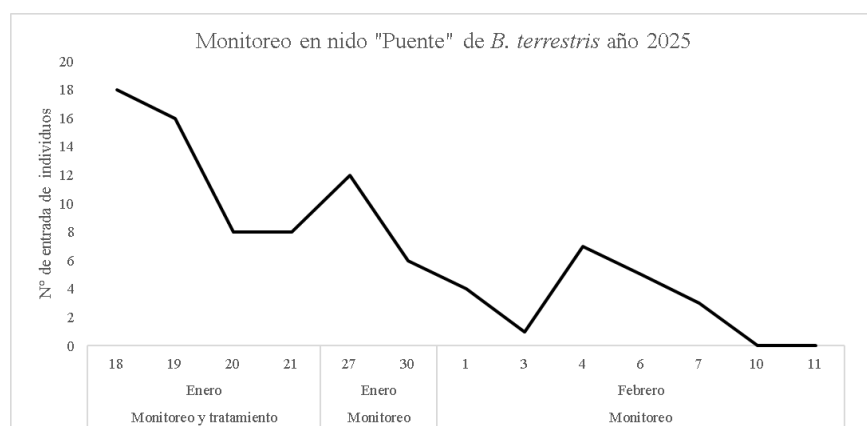


Figura 7. Movimiento de individuos (entradas) en nido de *B. terrestris* encontrado en el puente Pedro de Valdivia camino a isla Teja en el año 2025. Los primeros cuatro días de enero son días de monitoreo y a la vez de aplicación del químico, los dos días restantes y febrero son solo de monitoreo.

4.2. Monitoreo anual de *Bombus* en planta focal que florece en verano

Entre los años 2018 y 2025 se observaron amplias variaciones interanuales en el promedio de visitas de *B. terrestris* y *B. dahlbomii* en *F. magellanica*, particularmente al comparar los periodos sin y con aplicación de diflubenzurón. En *B. terrestris*, los valores más altos en el promedio de visitas se registraron en 2019 ($4,78 \pm 0,45$) y 2020 ($3,35 \pm 0,25$), mientras el valor mínimo fue en 2023 ($0,60 \pm 0,11$) (cuadro 4). En cuanto a *B. dahlbomii*, las visitas fueron generalmente bajas (fig. 8), con ausencia de visitas a las *F. magellanica* los años 2020 y 2021 (sin tratamiento) y un aumento progresivo en el promedio de visitas hasta 2024 ($0,21 \pm 0,06$), antes de volver a cero en 2025.

Con respecto a la distribución de castas, la mayoría de las visitas de *B. terrestris* correspondieron a obreras, patrón que también se observó en *B. dahlbomii*, exceptuando el año 2022, en el cual predominaron las visitas de reinas de *B. dahlbomii* (cuadro 5).

Cuadro 4. Promedio de visitas de *Bombus* en los años sin y con aplicación de diflubenzurón.

Periodo	Año	Prom. de visitas <i>B. terrestris</i>	Prom. de visitas <i>B. dahlbomii</i>
Sin aplicación de diflubenzurón	2018	$2,49 \pm 0,23$	$0,15 \pm 0,06$
	2019	$4,78 \pm 0,45$	$0,04 \pm 0,03$
	2020	$3,35 \pm 0,25$	$0,00 \pm 0,00$
	2021	$0,66 \pm 0,10$	$0,00 \pm 0,00$
	2022	$1,50 \pm 0,09$	$0,18 \pm 0,05$
Aplicación de diflubenzurón	2023	$0,60 \pm 0,11$	$0,07 \pm 0,04$
	2024	$1,31 \pm 0,16$	$0,21 \pm 0,06$
	2025	$1,15 \pm 0,12$	$0,00 \pm 0,00$

Cuadro 5. Distribución porcentual de castas de *Bombus* en años sin y con aplicación de diflubenzurón. El asterisco (*) indica registros sin diferenciación de casta. El guion (-) indica ausencia de visitas florales.

Periodo	Año	Distribución de casta (%)			
		<i>B. terrestris</i>		<i>B. dahlbomii</i>	
		Reinas	Obreras	Reinas	Obreras
Sin aplicación de diflubenzurón	2018	8%	92%	0%	100%
	2019	14%	86%	0%	100%
	2020	*	*	-	-
	2021	0%	100%	-	-
	2022	3%	97%	75%	25%
Aplicación de diflubenzurón	2023	2%	98%	*	*
	2024	33%	67%	29%	71%
	2025	5%	95%	-	-

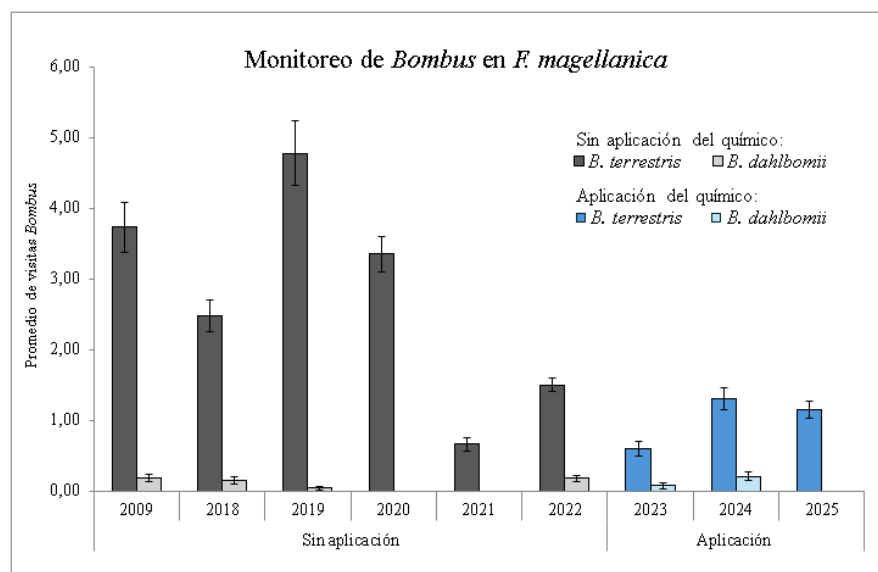


Figura 8. Comparación del promedio de visitas de *Bombus* en *F. magellanica* entre años sin y con aplicación del químico en isla Teja. La barra indica error estándar.

4.2.1. Análisis estadístico del monitoreo anual de *Bombus* en planta focal que florece en verano

El análisis estadístico del monitoreo anual en el Jardín Botánico de *Bombus* en *F. magellanica* los años 2009, 2018-2025 mostró respuestas contrastantes entre *B. terrestris* y *B. dahlbomii* al aplicar el tratamiento con diflubenzurón. Después de la aplicación del químico, *B. terrestris* presentó una disminución significativa en las visitas (Estimate (β) = -0,67, $P < 0,001$), con una disminución significativa asociada al factor año ($\beta = -0,05$ $P < 0,001$) (cuadro 6). Por su parte, *B. dahlbomii* mostró un aumento no significativo en las visitas luego de la aplicación de diflubenzurón ($\beta = 0,40$, $P = 0,18$) con una disminución significativa de *B. dahlbomii* vinculada al factor año ($\beta = -0,08$, $P = 0,02$) (cuadro 7).

Cuadro 6. Abundancia de *B. terrestris* en función de la aplicación del químico (antes y después) y de los años. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Efecto	Estimate (β)	Std. Error	Z-value	P-value	Significancia
Intercepto	100,65	18,83	5,34	9,08E-08	***
Químico (después)	-0,67	0,10	-6,30	2,99E-10	***
Año	-0,05	0,01	-5,30	1,22E-07	***

Cuadro 7. Abundancia de *B. dahlbomii* en función de la aplicación del químico (antes y después) y de los años. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Efecto	Estimate (β)	Std. Error	Z-value	P-value	Significancia
Intercepto	155,62	72,51	2,15	0,03	*
Químico (después)	0,54	0,40	1,35	0,18	ns
Año	-0,08	0,04	-2,18	0,02	*

4.3. Monitoreo de éxito durante la aplicación de diflubenzurón a *B. terrestris* en planta focal que florece en verano

El monitoreo de *Bombus* en *F. magellanica* durante 2023 a 2025 en el sitio de aplicación de diflubenzurón, mostró para *B. terrestris* que el máximo promedio de visitas fue al inicio del estudio en 2023 (monitoreo pre tratamiento) (fig. 9) con un promedio de $1,78 \pm 0,15$, seguido por una disminución del 66% (cuadro 8) en las visitas en el monitoreo post tratamiento 1 ($0,60 \pm 0,11$), un aumento del 17% en el monitoreo post tratamiento 2 ($0,71 \pm 0,08$) y ausencia de visitas en el monitoreo post tratamiento 3. En 2024 y 2025, se observó un comportamiento diferente en el promedio de visitas, donde el promedio fue mayor en el monitoreo post tratamiento 1 ($1,31 \pm 0,16$ y $1,15 \pm 0,12$, respectivamente) con respecto a los monitoreos pre tratamiento y post tratamiento 2.

En cuanto al promedio de visitas de *B. dahlbomii*, en 2023 y 2024 se observó que el valor máximo fue en los monitoreos post tratamiento 3 ($0,25 \pm 0,08$) y post tratamiento 2 ($0,28 \pm 0,07$), respectivamente (cuadro 8 y fig. 10). En 2025 prácticamente no hubo visitas de *B. dahlbomii* ($0,01 \pm 0,01$ solamente en el monitoreo pre tratamiento).

Con respecto a la distribución de castas, la mayoría de las visitas de *B. terrestris* correspondieron a obreras, patrón que también se observó en *B. dahlbomii* (cuadro 9).

Cuadro 8. Abundancias totales de *Bombus* y la diferencia porcentual, junto con el promedio de visitas por especie, entre monitoreos en sitio con aplicación en los tres años de estudio. PreT, PostT1, PostT2, PostT3, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2, post tratamiento 3, respectivamente. El signo negativo en el valor porcentual significa que hubo disminución de la abundancia respecto al muestreo previo.

Año	Monitoreo	Abundancia de <i>B. terrestris</i>	Diferencia(%) <i>B. terrestris</i>	Promedio de visitas de <i>B. terrestris</i>	Abundancia de <i>B. dahlbomii</i>	Diferencia(%) <i>B. dahlbomii</i>	Promedio de visitas de <i>B. dahlbomii</i>
2023	PreT	121	-66%	1,78 ± 0,15	5	0%	0,07 ± 0,03
	PostT1	41	17%	0,60 ± 0,11	5	60%	0,07 ± 0,04
	PostT2	48	-100%	0,71 ± 0,08	8	113%	0,12 ± 0,04
	PostT3	0		0,00 ± 0,00	17		0,25 ± 0,08
2024	PreT	25	256%	0,37 ± 0,09	11	27%	0,16 ± 0,05
	PostT1	89	-92%	1,31 ± 0,16	14	36%	0,21 ± 0,06
	PostT2	7		0,10 ± 0,04	19		0,28 ± 0,07
2025	PreT	43	84%	0,63 ± 0,11	1	100%	0,01 ± 0,01
	PostT1	79	-76%	1,15 ± 0,12	2	-100%	0,03 ± 0,03
	PostT2	19		0,27 ± 0,08	0		0,00 ± 0,00

Cuadro 9. Distribución porcentual de castas de *Bombus* en sitio de aplicación de diflubenzurón (isla Teja). El asterisco (*) indica registros sin diferenciación de casta.

Año	Distribución de casta (%)			
	<i>B. terrestris</i>		<i>B. dahlbomii</i>	
	Reinas	Obreras	Reinas	Obreras
2023	2%	98%	*	*
2024	24%	76%	25%	75%
2025	6%	94%	33%	67%

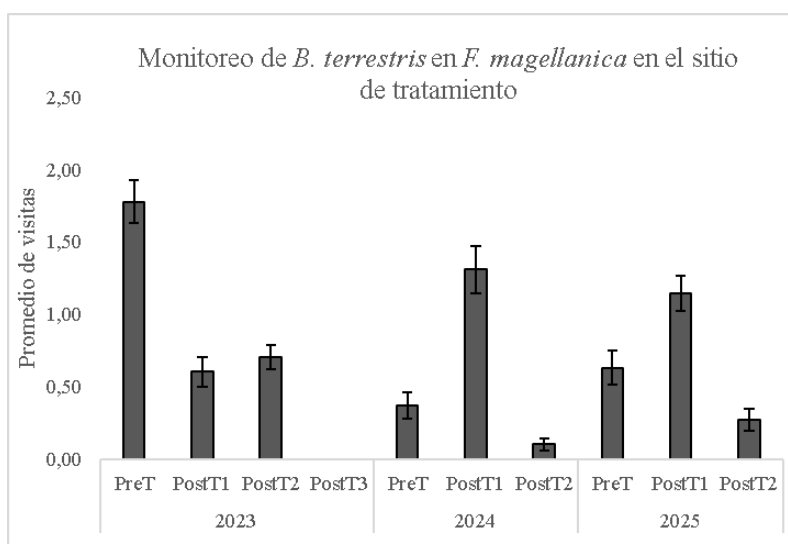


Figura 9 Promedio de visitas de *B. terrestris* en *F. magellanica* durante la aplicación del químico en isla Teja (2023 a 2025). PreT, PostT1, PostT2, PostT3, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2, post tratamiento 3, respectivamente. La barra indica error estándar.

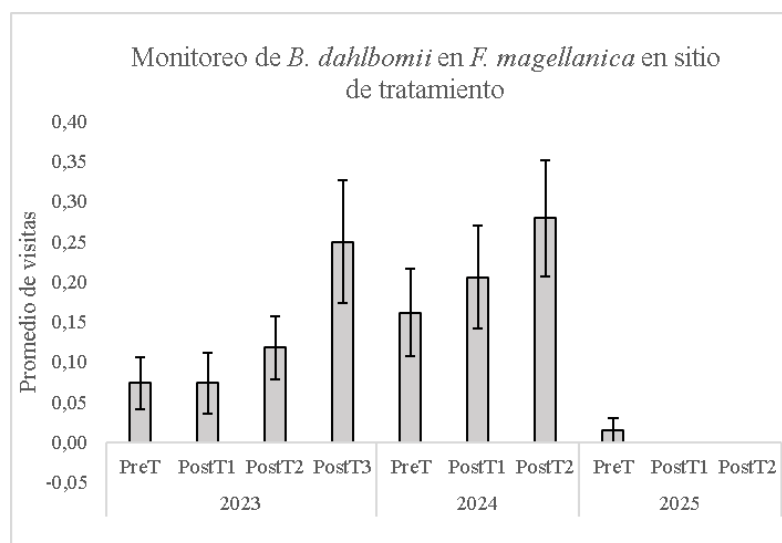


Figura 10. Promedio de visitas de *B. dahlbomii* en *F. magellanica* durante la aplicación del químico en isla Teja (2023 a 2025). PreT, PostT1, PostT2, PostT3, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2, post tratamiento 3, respectivamente. La barra indica error estándar.

4.3.1. Monitoreo de éxito en sitio control en planta focal que florece en verano

Los nombres de las etapas de monitoreo (pre tratamiento, post tratamiento 1 y post tratamiento 2) se utilizan únicamente para indicar momentos equivalentes de monitoreo en ambos sitios. El sitio control no fue intervenido en ningún momento. Durante el monitoreo de *Bombus* en *F. magellanica* en el sitio

control (Angachilla), *B. terrestris* mostró en 2023 una marcada disminución en el promedio de visitas iniciando con $4,26 \pm 0,24$ (monitoreo pre tratamiento), hasta $0,03 \pm 0,02$ en el monitoreo post tratamiento 3. En 2024 y 2025, se observó comportamiento diferente, donde las visitas aumentaron en el monitoreo post tratamiento 1, alcanzando valores máximos de $6,85 \pm 0,53$ y $7,38 \pm 0,35$, respectivamente, lo que representa un aumento en la abundancia del 412% y 672% respecto al monitoreo pre tratamiento. Sin embargo, en ambos años, *B. terrestris* mostró una posterior disminución en la abundancia de un 90% y 87% en el monitoreo post tratamiento 2 (cuadro 10 y fig. 11).

En el caso de *B. dahlbomii*, en 2023 los registros fueron bajos, destacando un aumento en el monitoreo post tratamiento 3 ($0,29 \pm 0,08$). En 2024 y 2025, se observó un incremento progresivo de las visitas a lo largo del monitoreo, alcanzando un máximo de $0,38 \pm 0,07$ en el monitoreo post tratamiento 2 de 2024 y $0,25 \pm 0,07$ en 2025, desde valores iniciales muy bajos (cuadro 10 y fig. 12).

Con respecto a la distribución de castas, la mayoría de las visitas de *B. terrestris* correspondieron a obreras, patrón que también se observó en *B. dahlbomii* (cuadro 11).

Cuadro 10. Abundancias totales de *Bombus* y la diferencia porcentual, junto con el promedio de visitas por especie, entre monitoreos en sitio control en los tres años de estudio. PreT, PostT1, PostT2, PostT3, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2, post tratamiento 3, respectivamente. Las etapas de monitoreo se denominan igual en ambos sitios para representar momentos comparables; sin embargo, el sitio control no recibió tratamiento. El signo negativo en el valor porcentual significa que hubo disminución de la abundancia respecto al muestreo previo.

Año	Monitoreo	Abundancia de <i>B. terrestris</i>	Diferencia(%) <i>B. terrestris</i>	Promedio de visitas de <i>B. terrestris</i>	Abundancia de <i>B. dahlbomii</i>	Diferencia(%) <i>B. dahlbomii</i>	Promedio de visitas de <i>B. dahlbomii</i>
2023	PreT	290	-13%	$4,26 \pm 0,24$	2	-100%	$0,03 \pm 0,03$
	PostT1	251	-92%	$3,70 \pm 0,23$	0	100%	$0,00 \pm 0,00$
	PostT2	21	-90%	$0,31 \pm 0,06$	2	900%	$0,03 \pm 0,02$
	PostT3	2	-90%	$0,03 \pm 0,02$	20	900%	$0,29 \pm 0,08$
2024	PreT	91	412%	$1,34 \pm 0,20$	17	-82%	$0,25 \pm 0,06$
	PostT1	466	-94%	$6,85 \pm 0,53$	3	767%	$0,04 \pm 0,03$
	PostT2	26	-94%	$0,38 \pm 0,08$	26	767%	$0,38 \pm 0,07$
2025	PreT	65	672%	$0,96 \pm 0,14$	2	300%	$0,03 \pm 0,02$
	PostT1	502	-87%	$7,38 \pm 0,35$	8	113%	$0,12 \pm 0,04$
	PostT2	67	-87%	$0,98 \pm 0,13$	17	113%	$0,25 \pm 0,07$

Cuadro 11. Distribución porcentual de castas de *Bombus* en sitio control (Angachilla).

Año	Distribución de casta (%)			
	<i>B. terrestris</i>		<i>B. dahlbomii</i>	
	Reinas	Obreras	Reinas	Obreras
2023	1%	99%	46%	54%
2024	24%	76%	43%	57%
2025	3%	97%	15%	85%

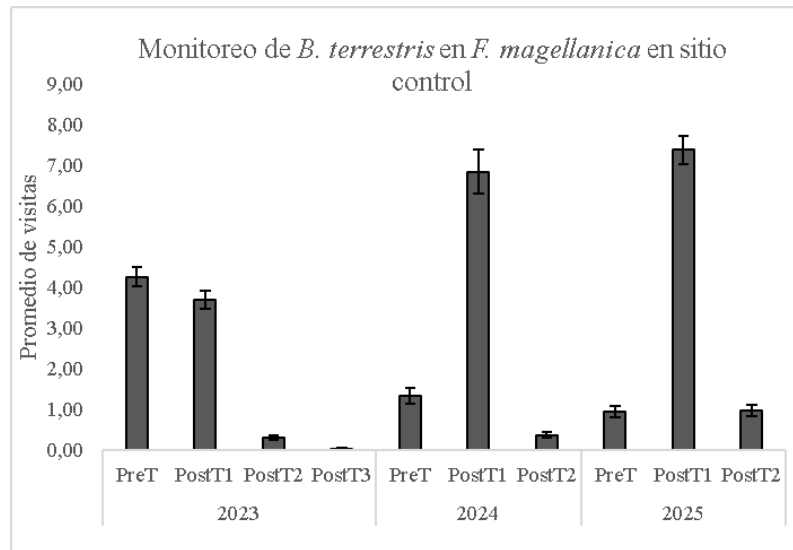


Figura 11. Promedio de visitas de *B. terrestris* en *F. magellanica* en sitio control durante la aplicación del químico (2023-2025). PreT, PostT1, PostT2, PosT3, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2, post tratamiento 3, respectivamente. Las etapas de monitoreo se denominan igual en ambos sitios para representar momentos comparables; sin embargo, el sitio control no recibió tratamiento. La barra indica error estándar.

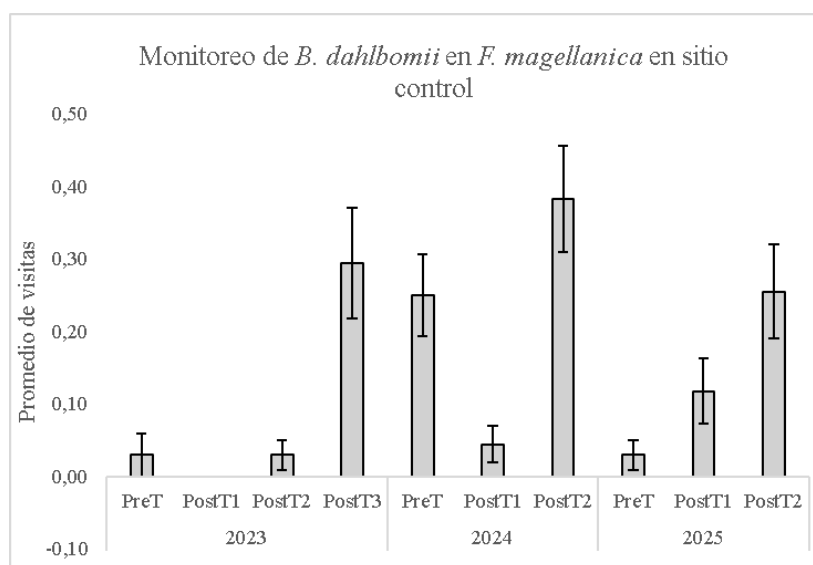


Figura 12. Promedio de visitas de *B. dahlbomii* en *F. magellanica* en sitio control durante la aplicación del químico (2023-2025). PreT, PostT1, PostT2, PosT3, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2, post tratamiento 3, respectivamente. Las etapas de monitoreo se denominan igual en ambos sitios para representar momentos comparables; sin embargo, el sitio control no recibió tratamiento. La barra indica error estándar.

4.3.2. Análisis estadístico de monitoreos en planta focal que florece en verano entre ambos sitios (sin y con aplicación del químico)

El análisis mediante la prueba de Scheirer–Ray–Hare mostró diferencias significativas en la abundancia de *B. terrestris* entre etapas de monitoreo, entre sitios, y en la interacción entre ambos factores durante los años 2023, 2024 y 2025 ($P < 0,001$ en todos los casos; cuadro 12). Estos resultados indican que el patrón de cambio en la abundancia a lo largo del tiempo no fue el mismo en isla Teja y Angachilla. Así mismo, en los tres años evaluados, las pruebas de Wilcoxon indicaron diferencias estadísticamente significativas entre isla Teja y Angachilla en las etapas de monitoreo ($P < 0,001$ en todos los casos; cuadro 13). A pesar de que ambas poblaciones de *B. terrestris* presentaron un patrón similar entre sitios (aumento o disminución) según las etapas de monitoreo (cuadro 9 y 10), la prueba de Wilcoxon compara directamente los valores absolutos de abundancia entre los sitios, por lo que, si bien las tendencias (disminución o aumento) son comparables, las diferencias en los recuentos totales siguen siendo estadísticamente significativas.

Al comparar la abundancia de *B. terrestris* entre las distintas etapas de monitoreo dentro de cada sitio, se observó que en el sitio de aplicación del químico (isla Teja) durante el año 2023, la abundancia

en la etapa de monitoreo post tratamiento 1 fue significativamente menor al monitoreo pre tratamiento ($P < 0,001$) y la abundancia del monitoreo post tratamiento 2 no fue significativamente mayor al monitoreo post tratamiento 1 ($P = 0,14$), indicando una estabilización posterior a la segunda aplicación de diflubenzurón. En el sitio control (Angachilla), se observó que, la abundancia de *B. terrestris* fue significativamente menor en el monitoreo post tratamiento 1 respecto al monitoreo pre tratamiento, al igual el monitoreo post tratamiento 2 respecto al monitoreo post tratamiento 1 ($P = 0,001$ y $P < 0,001$, respectivamente).

En contraste, se observó un patrón diferente en 2024 y 2025, donde en el sitio de aplicación, la abundancia de *B. terrestris* fue significativamente mayor en el monitoreo post tratamiento 1 respecto al pre tratamiento ($P < 0,001$ en ambos casos), para luego en el monitoreo post tratamiento 2 disminuir significativamente respecto al post tratamiento 1 ($P < 0,001$ en ambos casos), lo que sugiere una disminución sostenida en el tiempo tras el tratamiento químico. Este mismo patrón se observó en el sitio control (Angachilla) los años 2024 y 2025, donde la abundancia en el monitoreo post tratamiento 1 fue significativamente mayor a los monitoreos pre tratamiento y post tratamiento 2 ($P < 0,001$ en ambos años) (cuadro 14). La dirección del cambio (aumento o disminución) fue corroborada mediante la inspección visual de las figuras de abundancia por etapa (fig. 9 y 11 y anexo 3).

Con respecto a *B. dahlbomii*, al realizar la prueba de Scheirer–Ray–Hare, se observó que el patrón de abundancia varió según el año. En 2023 se evidenciaron diferencias significativas solo entre sitios ($P = 0,001$), sin efecto significativo en la etapa e interacción sitio-etapa ($P > 0,05$ en ambos casos). Por el contrario, en 2024, solo el factor sitio no fue significativo ($P = 0,44$). Finalmente, en 2025, se encontraron diferencias significativas en los tres factores: etapa ($P = 0,05$), sitio ($P < 0,001$) e interacción entre etapa y sitio ($P = 0,01$) (cuadro 15). Estos resultados indican que, a diferencia de lo observado en *B. terrestris*, la abundancia de *B. dahlbomii* se vio influida principalmente por el sitio y por interacciones específicas con la etapa de monitoreo, principalmente en los años 2024 y 2025.

Al comparar las etapas de monitoreo entre ambos sitios durante el año 2024, se observó que la abundancia de *B. dahlbomii* fue significativamente diferente en el monitoreo post tratamiento 2 en comparación con el monitoreo post tratamiento 1 ($P < 0,001$), mientras que la diferencia entre los monitoreos pre tratamiento y post tratamiento 1 fue marginalmente significativa ($P = 0,06$) (cuadro 16).

Al comparar la abundancia de *B. dahlbomii* entre las distintas etapas de monitoreo dentro de cada sitio, se observó que en el sitio de aplicación del químico (isla Teja), en 2024 no fue significativamente

mayor la abundancia en el monitoreo post tratamiento 1 al monitoreo pre tratamiento, ni en el monitoreo post tratamiento 2 respecto al monitoreo post tratamiento 1 ($P = 0,64$ y $P = 0,58$, respectivamente), lo que podría indicar una estabilización posterior a las aplicaciones del tratamiento químico de *B. terrestris*. Por otro lado, en 2024 se observó en Angachilla (sitio control), que la abundancia de *B. dahlbomii* en el monitoreo post tratamiento 1 fue significativamente menor al monitoreo pre tratamiento y que el monitoreo post tratamiento 2 fue significativamente mayor que el monitoreo post tratamiento 1 ($P < 0,001$ en ambos casos). En el año 2025, en ambos sitios no se observaron diferencias significativas respecto a los monitoreos en la abundancia de *B. dahlbomii* ($P > 0,05$ en todos los casos), incluso no fue posible ver diferencias entre los monitoreos post tratamiento 1 y post tratamiento 2 al presentar ausencia de visitas florales de *B. dahlbomii* en isla Teja (cuadro 17). La dirección del cambio (aumento o disminución) fue corroborada mediante la inspección visual de las figuras de abundancia por etapa (fig. 10 y 12 y anexo 4).

Cuadro 12. Evaluación del efecto del tratamiento químico sobre la abundancia de *B. terrestris* entre ambos sitios (sin y con aplicación de diflubenzurón) mediante la prueba de Scheirer–Ray–Hare (2023–2025). El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Año	Factor	Df	H	P-value	Significancia
2023	Etapas	2	125,62	0	***
	Sitio	1	61,76	3,89E-15	***
	Etapas x sitio	2	69,06	9,99E-16	***
2024	Etapas	2	149,12	0	***
	Sitio	1	46,59	0	***
	Etapas x sitio	2	10,23	0,01	**
2025	Etapas	2	122,48	0	***
	Sitio	1	62,4	0	***
	Etapas x sitio	2	23,33	8,57E-06	***

Cuadro 13. Comparación de etapas de monitoreo entre sitios en la abundancia de *B. terrestris*. PreT, PosT1 y PostT2 corresponden a pre tratamiento, post tratamiento 1 y post tratamiento 2, respectivamente. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Año	Monitoreos	PreT (P)	PostT2 (P)	Significancia
2023	PostT1 (P)	7,40E-05	9,40E-12	***
2024	PostT1 (P)	<2,00E-16	<2,00E-16	***
2025	PostT1 (P)	<2,00E-16	<2,00E-16	***

Cuadro 14. Comparaciones entre la interacción etapa-sitio en la abundancia de *B. terrestris* dentro de cada sitio (isla Teja y Angachilla. PreT, PostT1, PostT2, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1 y post tratamiento 2, respectivamente. Las etapas de monitoreo se denominan igual en ambos sitios para representar momentos comparables; sin embargo, el sitio control (Angachilla) no recibió tratamiento. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Año	Sitio	Monitoreos	PreT (P)	PostT2 (P)	Significancia
2023	Isla Teja	PostT1 (P)	4,20E-08	0,14	***, ns
	Angachilla	PostT1 (P)	0,01	<2,00E-16	*, ***
2024	Isla Teja	PostT1 (P)	5,80E-08	1,10E-13	***
	Angachilla	PostT1 (P)	1,20E-15	<2,00E-16	***
2025	Isla Teja	PostT1 (P)	4,90E-04	8,30E-10	***
	Angachilla	PostT1 (P)	<2,00E-16	<2.00E-16	***

Cuadro 15. Evaluación del efecto del tratamiento químico sobre la abundancia de *B. dahlbomii* entre ambos sitios (sin y con aplicación de diflubenzurón) mediante la prueba de Scheirer–Ray–Hare (2023–2025). El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Año	Factor	Df	H	P-value	Significancia
2023	Etapas	2	2,86	0,24	ns
	Sitio	1	10,18	1,42E-03	***
	Etapas x sitio	2	0,42	0,82	ns
2024	Etapas	2	13,75	1,00E-03	***
	Sitio	1	0,59	0,44	ns
	Etapas x sitio	2	7,49	0,02	**
2025	Etapas	2	5,90	0,05	*
	Sitio	1	19,19	1,20E-05	***
	Etapas x sitio	2	8,77	0,01	**

Cuadro 16. Comparación en la etapa de monitoreo entre sitios en la abundancia de *B. dahlbomii*. PreT, PostT1 y PostT2 corresponden a pre tratamiento, post tratamiento 1 y post tratamiento 2, respectivamente. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Año	Monitoreos	PreT (P)	PostT2 (P)	Significancia
2024	PostT1 (P)	0,06	7,10E-04	ns, ***

Cuadro 17. Comparaciones entre la interacción etapa-sitio en la abundancia de *B. dahlbomii* dentro de cada sitio (isla Teja y Angachilla. PreT, PostT1, PostT2, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1 y post tratamiento 2, respectivamente. Las etapas de monitoreo se denominan igual en ambos sitios para representar momentos comparables; sin embargo, el sitio control (Angachilla) no recibió tratamiento. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Año	Sitio	Monitoreos	PreT (<i>P</i>)	PostT2 (<i>P</i>)	Significancia
2024	Isla Teja	PostT1 (<i>P</i>)	0,64	0,58	ns
	Angachilla	PostT1 (<i>P</i>)	2,00E-03	4,00E-05	***
2025	Isla Teja	PostT1 (<i>P</i>)	0,32	-	ns
	Angachilla	PostT1 (<i>P</i>)	0,13	0,22	ns

4.3.3. Análisis estadístico de los monitoreos de *Bombus* en planta focal que florece en verano en sitio de aplicación

En el sitio de aplicación (isla Teja), la prueba de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas en la abundancia de *B. terrestris* entre las etapas de monitoreo en los tres años evaluados (2023, 2024 y 2025; $P < 0,001$ en todos los casos; cuadro 18). Al comparar las etapas de monitoreo mediante la prueba de Dunn, se observó que en el año 2023 la abundancia de *B. terrestris* fue significativamente menor en el monitoreo post tratamiento 1 en comparación con el monitoreo pre tratamiento ($P < 0,001$), mientras que no se observaron diferencias significativas entre los monitoreos post tratamiento 1 y post tratamiento 2 ($P = 0,14$). Mientras que, en 2024 y 2025 la abundancia de *B. terrestris* fue significativamente mayor en el monitoreo post tratamiento 1 respecto al pre tratamiento ($P < 0,001$), y posteriormente disminuyó significativamente en el monitoreo post tratamiento 2 en comparación con el monitoreo post tratamiento 1 ($P < 0,001$ en ambos años). La dirección del cambio (aumento o disminución) fue corroborada mediante la inspección visual de las figuras de abundancia por etapa (fig. 9 y 11).

A diferencia de lo observado en *B. terrestris*, el análisis mediante la prueba de Kruskal-Wallis no evidenció diferencias significativas en la abundancia de *B. dahlbomii* entre las distintas etapas de monitoreo en el sitio tratado (isla Teja) durante los años 2023, 2024 y 2025 ($P > 0,05$ en todos los casos; cuadro 19).

Cuadro 18. Resultados de la prueba de Kruskal–Wallis (χ^2) para la abundancia de *B. terrestris* entre etapas de monitoreo en isla Teja los años 2023, 2024 y 2025 y comparaciones entre etapas de monitoreo. PreT, PosT1 y PostT2 corresponden a pre tratamiento, post tratamiento 1 y post tratamiento 2, respectivamente. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Año	Prueba	Comparación	Z-value	P-value	Significancia
2023	Kruskal-Wallis			7,77E-10	***
	Post-hoc Dunn	PreT vs PostT1	-6,06	0	***
	Post-hoc Dunn	PostT1 vs PostT2	-1,06	0,14	ns
2024	Kruskal-Wallis			2,46E-15	***
	Post-hoc Dunn	PreT vs PostT1	5,92	0	***
	Post-hoc Dunn	PostT1 vs PostT2	7,87	0	***
2025	Kruskal-Wallis			1,69E-09	***
	Post-hoc Dunn	PreT vs PostT1	3,84	1,00E-04	***
	Post-hoc Dunn	PostT1 vs PostT2	6,31	0	***

Cuadro 19. Resultados de la prueba de Kruskal–Wallis (χ^2) para la abundancia de *B. dahlbomii* entre etapas de monitoreo en isla Teja los años 2023, 2024 y 2025. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Año	X ² (Chi cuadrada)	gl (df)	P-value	Significancia
2023	1,59	2	0,45	ns
2024	1,91	2	0,39	ns
2025	2	2	0,37	ns

4.4. Monitoreo anual de *Bombus* en plantas focales que florecen en primavera

En *Rhododendron* sp., el monitoreo evidenció un valor máximo en el promedio de visitas de *B. terrestris* en 2019 ($14,45 \pm 0,37$), disminuyendo en 2023 ($9,23 \pm 0,49$). En cuanto a *B. dahlbomii*, las visitas fueron más bajas en general, siendo el valor más alto en las visitas en 2024 ($4,28 \pm 0,36$) (cuadro 20 y fig. 13).

En *C. hookerianum*, *B. terrestris* alcanzó un valor máximo en el promedio de las visitas en 2019 ($5,23 \pm 0,58$), disminuyendo en 2022 ($1,35 \pm 0,21$), con ausencia total en 2023 y un leve aumento en 2024 ($1,15 \pm 0,13$). Con respecto a *B. dahlbomii*, el valor máximo en el promedio de las visitas fue en 2018 ($2,28 \pm 0,17$), disminuyendo en 2023 ($0,10 \pm 0,06$), con un leve aumento en 2024 ($0,73 \pm 0,15$) (cuadro 20 y fig. 14).

Al considerar ambas especies florales combinadas, *B. terrestris* mostró un incremento sostenido desde 2017, alcanzando su máximo en 2019 ($19,68 \pm 0,66$). Posteriormente, las visitas disminuyeron en 2022 ($15,38 \pm 0,86$) y 2023 ($9,23 \pm 0,49$). En cuanto a *B. dahlbomii*, el promedio más alto se registró en 2024 ($4,58 \pm 0,39$), tras un descenso entre 2019 y 2023 (cuadro 20 y fig. 15).

Con respecto a la distribución de castas, en *B. terrestris* se observó que la mayoría de las visitas a *Rhododendron* sp. y *C. hookerianum* fueron realizadas por obreras. En cambio, en *B. dahlbomii*, todas las visitas a estas mismas especies correspondieron a reinas (cuadro 21).

Cuadro 20. Tabla de promedios de visitas de *Bombus* en los años sin y con aplicación de diflubenzurón según especie focal que florece en primavera

Periodo	Año	<i>Rhododendron</i> sp.		<i>C. hookerianum</i>		<i>Rhododendron</i> sp.+ <i>C. hookerianum</i>	
		Prom. de visitas <i>B. terrestris</i>	Prom. de visitas <i>B. dahlbomii</i>	Prom. de visitas <i>B. terrestris</i>	Prom. de visitas <i>B. dahlbomii</i>	Prom. de visitas <i>B. terrestris</i>	Prom. de visitas <i>B. dahlbomii</i>
Sin aplicación de diflubenzurón	2017	$7,00 \pm 0,25$	$0,88 \pm 0,11$	$0,28 \pm 0,07$	$2,08 \pm 0,19$	$7,28 \pm 0,27$	$2,95 \pm 0,21$
	2018	$10,98 \pm 0,60$	$1,95 \pm 0,17$	$0,95 \pm 0,26$	$2,28 \pm 0,17$	$11,93 \pm 0,69$	$4,23 \pm 0,22$
	2019	$14,45 \pm 0,37$	$0,70 \pm 0,11$	$5,23 \pm 0,58$	$1,68 \pm 0,16$	$19,68 \pm 0,66$	$2,38 \pm 0,16$
	2022	$14,03 \pm 0,75$	$1,95 \pm 0,23$	$1,35 \pm 0,21$	$0,45 \pm 0,10$	$15,37 \pm 0,86$	$2,40 \pm 0,26$
Aplicación de diflubenzurón	2023	$9,23 \pm 0,49$	$1,58 \pm 0,30$	$0,00 \pm 0,00$	$0,10 \pm 0,06$	$9,23 \pm 0,49$	$1,68 \pm 0,30$
	2024	$13,68 \pm 0,59$	$4,28 \pm 0,36$	$1,15 \pm 0,13$	$0,73 \pm 0,15$	$14,50 \pm 0,62$	$4,58 \pm 0,39$

Cuadro 21. Distribución porcentual de castas de *Bombus* en años sin y con aplicación de diflubenzurón. El guion (-) indica ausencia de visitas florales.

Periodo	Año	<i>Rhododendron</i> sp.				<i>C. hookerianum</i>			
		Distribución de casta (%)		Distribución de casta (%)		Distribución de casta (%)		Distribución de casta (%)	
		<i>B. terrestris</i>		<i>B. dahlbomii</i>		<i>B. terrestris</i>		<i>B. dahlbomii</i>	
		Reina	Obreras	Reinas	Obreras	Reinas	Obreras	Reinas	Obreras
Sin aplicación de diflubenzurón	2017	54%	46%	100%	0%	20%	80%	95%	4%
	2018	39%	61%	95%	5%	8%	92%	93%	7%
	2019	6%	94%	100%	0%	0%	100%	94%	6%
	2022	10%	90%	97%	3%	7%	93%	100%	0%
Aplicación de diflubenzurón	2023	25%	75%	100%	0%	-	-	92%	8%
	2024	21%	79%	100%	0%	3%	94%	67%	33%

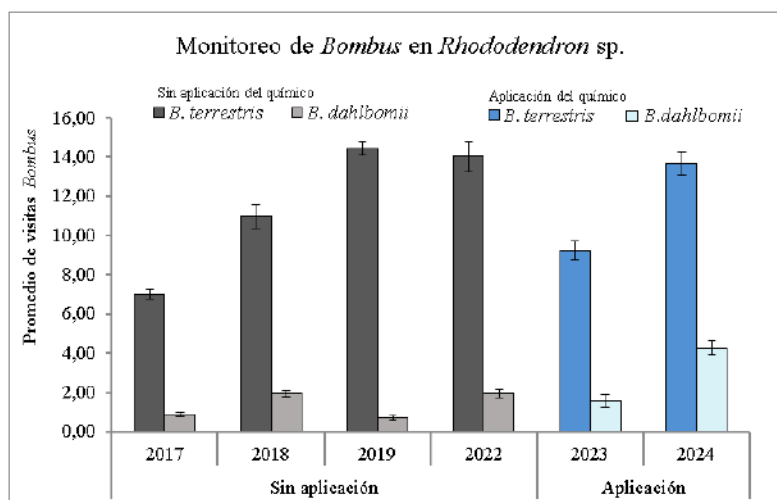


Figura 13. Promedio de visitas de *Bombus* en *Rhododendron* sp. La barra indica error estándar.

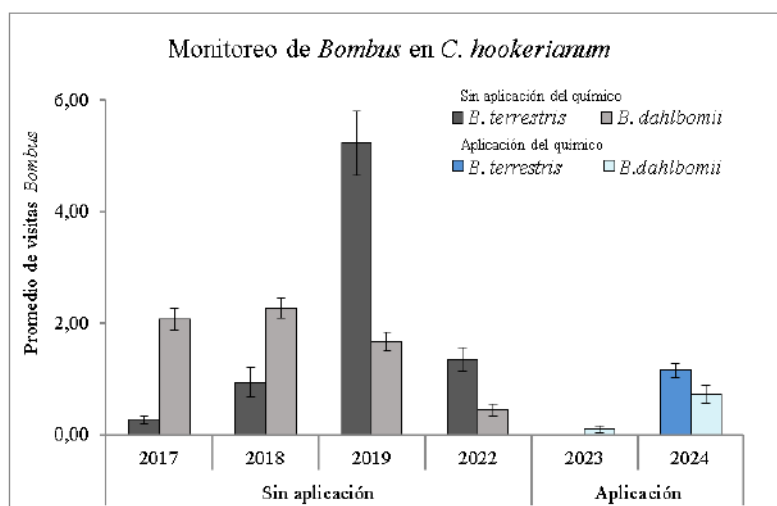


Figura 14. Promedio de visitas de *Bombus* en *C. hookerianum*. La barra indica error estándar.

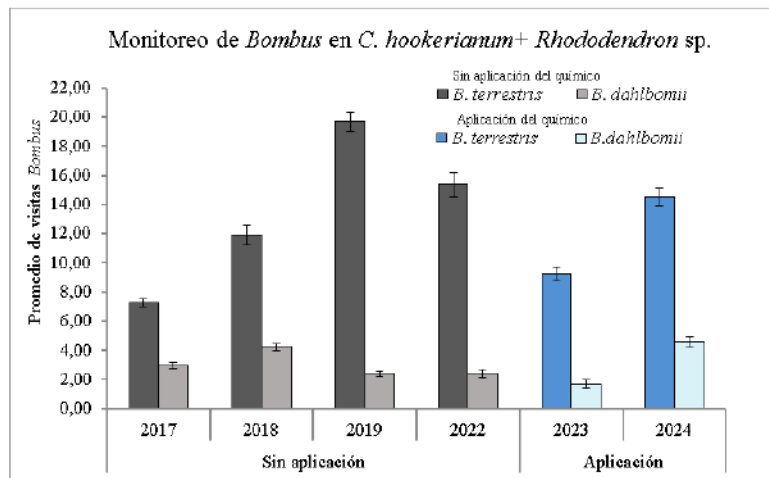


Figura 15. Promedio de visitas de *Bombus* en *C. hookerianum* más *Rhododendron* sp. La barra indica error estándar.

4.4.1. Análisis estadístico del monitoreo anual de *Bombus* en plantas focales que florecen en primavera

El análisis estadístico del monitoreo anual de *Bombus* en *Rhododendron* sp, mostró que *B. terrestris* presentó una disminución significativa luego de la aplicación del tratamiento con diflubenzurón ($\beta = -0,50, P < 0,001$). No obstante, también mostró que el factor año fue significativo ($\beta = 0,11, P < 0,001$) (cuadro 22). Por otro lado, *B. dahlbomii* presentó un aumento no significativo luego de la aplicación del químico ($\beta = 0,11, P = 0,55$), además el factor año es significativo ($\beta = -0,27, P < 0,001$) (cuadro 23).

En *C. hookerianum*, *B. terrestris* mostró al igual que en *Rhododendron* sp. una disminución significativa luego de la aplicación del tratamiento con diflubenzurón ($\beta = -2,71, P < 0,001$), con el factor año significativo ($\beta = 0,25, P < 0,001$) (cuadro 24). Por el contrario, *B. dahlbomii* presentó una disminución no significativa luego de la aplicación del químico ($\beta = -0,77, P = 0,55$) al igual que el factor año ($\beta = -0,27, P < 0,05$) (cuadro 25).

Al sumar los valores de *Rhododendron* sp y *C. hookerianum*, en *B. terrestris* se observó una disminución marginalmente significativa luego de la aplicación del químico ($\beta = -0,24, P = 0,09$), sin embargo, también presentó un aumento significativo a lo largo de los años ($\beta = 0,06, P = 0,01$) (cuadro 26). *B. dahlbomii*, mostró un aumento no significativo luego de la aplicación de diflubenzurón ($\beta = 0,22, P = 0,22$), además de una disminución no significativa en función del año ($\beta = -0,04, P = 0,25$) (cuadro 27).

Cuadro 22. Modelo 1: Abundancia de *B. terrestris* en función de la aplicación del químico (antes y después) y años, en *Rhododendron* sp. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Efecto	Estimate (β)	Std. Error	Z-value	P-value	Significancia
Intercepto	-222,80	26,92	-8,28	<2,00E-16	***
Químico (después)	-0,50	0,07	-6,86	7,13E-12	***
Año	0,11	0,01	8,37	<2,00E-16	***

Cuadro 23. Modelo 2: Abundancia de *B. dahlbomii* en función de la aplicación del químico (antes y después) y años, en *Rhododendron* sp. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Efecto	Estimate (β)	Std. Error	Z-value	P-value	Significancia
Intercepto	-299,58	76,08	-3,94	8,23E-05	***
Químico (después)	0,11	0,19	0,59	0,55	ns
Año	-0,27	0,04	3,94	8,08E-05	***

Cuadro 24. Modelo 3: Abundancia de *B. terrestris* en función de la aplicación del químico (antes y después) y años, en *C. hookerianum*. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Efecto	Estimate (β)	Std. Error	Z-value	P-value	Significancia
Intercepto	-504,85	137,05	-3,68	2,30E-04	***
Químico (después)	-2,71	0,41	-6,68	2,39E-11	***
Año	0,25	0,07	3,69	2,26E-04	***

Cuadro 25. Modelo 4: Abundancia de *B. dahlbomii* en función de la aplicación del químico (antes y después) y años, en *C. hookerianum*. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Efecto	Estimate (β)	Std. Error	Z-value	P-value	Significancia
Intercepto	547,44	85,46	6,41	1,50E-10	***
Químico (después)	-0,77	0,34	-2,27	0,55	ns
Año	-0,27	0,04	-6,40	1,50E-10	***

Cuadro 26. Modelo 5. Abundancia de *B. terrestris* en función de la aplicación del químico (antes y después) y años, en *Rhododendron* sp. más *C. hookerianum*. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Efecto	Estimate (β)	Std. Error	Z-value	P-value	Significancia
Intercepto	-123,93	51,29	-2,42	0,02	*
Químico (después)	-0,24	0,14	-1,71	0,09	ns
Año	0,06	0,03	2,46	0,01	**

Cuadro 27. Modelo 6. Abundancia de *B. dahlbomii* en función de la aplicación del químico (antes y después) y años, en *Rhododendron* sp. más *C. hookerianum*. El nivel de significancia de la prueba estadística corresponde a: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Efecto	Estimate (β)	Std. Error	Z-value	P-value	Significancia
Intercepto	73,97	64,30	1,15	0,25	ns
Químico (después)	0,22	0,18	1,22	0,22	ns
Año	-0,04	0,32	-1,14	0,25	ns

5. DISCUSIÓN

5.1. Efectos de la aplicación de diflubenzurón sobre la actividad en nidos de *B. terrestris*

El monitoreo y aplicación del tratamiento químico sobre los individuos de *B. terrestris* que ingresaban o salían de los nidos, los años 2023 a 2025, mostraron una disminución en la actividad tras la aplicación de diflubenzurón, con diferencias notables en el tiempo de respuesta según el año. En 2023, los tres nidos monitoreados (“Arboretum”, “Canchas” y “Chilcos”) redujeron notablemente su abundancia aproximadamente cuatro a cinco semanas después de la aplicación. Debido a que no se continuó monitoreando a mediados de febrero no se registró de manera clara la fecha de colapso, hasta un mes después. En cambio, en 2024 y 2025 (“Teja Sur” y “Puente”, respectivamente) el continuo monitoreo mostró que dejaron de presentar movimiento a las cuatro y tres semanas, respectivamente. Esta diferencia en la velocidad del colapso podría explicarse por el cambio en la solución final utilizada, puesto que, el 2023 la solución solo constó de agua destilada y 0,5 ml de diflubenzurón concentrado. Aquella solución y vía de aplicación (aplicación tópica) según Mommaerts *et al.* (2006) provocó la

pérdida total de la reproducción y deformación de la cutícula, no obstante, al adicionar azúcar resulta más atractivo de ingerir por los individuos de *B. terrestris*, lo que cambia la vía de exposición del químico. Según Mommaerts *et al.* (2006) y Camp *et al.* (2020), ambas vías de exposición interfieren con el desarrollo larval; sin embargo, la administración oral intensifica los efectos sobre el nido, ya que incrementa la exposición de las obreras y larvas al químico, lo que finalmente acelera el colapso progresivo del nido.

Por otro lado, una diferencia importante entre el año 2023 y los años 2024 y 2025 fue la frecuencia de los monitoreos realizados. En 2023, los nidos fueron monitoreados tres a cuatro semanas después de la aplicación de diflubenzurón, momento en el cual aún se observaba movimiento de individuos. Sin embargo, el siguiente monitoreo se llevó a cabo un mes después, y para entonces los nidos ya habían colapsado completamente. Debido a la distancia temporal entre ambos monitoreos, no fue posible determinar con precisión el momento exacto en que los nidos “Arboretum”, “Canchas” y “Chilcos” dejaron de presentar actividad. Por lo tanto, es probable que el colapso haya ocurrido días o incluso semanas antes de que se realizara ese segundo monitoreo post aplicación.

Es importante destacar que la ausencia total de movimiento en un nido no implica necesariamente su colapso, ya que las reinas o posibles princesas que hayan alcanzado su desarrollo pueden continuar utilizando el nido de manera intermitente. Por esta razón, se recomienda que se registre la casta de los individuos que utilizan el nido en sus etapas finales en las futuras investigaciones. Además, sería ideal contar con un nido control (sin intervención química) ubicado a más de 2,5 km del área tratada, con el fin de comparar comportamientos y actividad de forma más precisa. Sin embargo, en este estudio no fue posible implementar esta medida, ya que los nidos son difíciles de localizar. En 2025, se consideraron dos nidos control y un nido con aplicación de diflubenzurón que fueron detectados con mes y medio de anticipación; sin embargo, al momento de verificar su existencia en terreno, se constató que ninguno de ellos presentaba algún tipo de actividad. De hecho, se comunicó de esto a los dueños del terreno, los cuales confirmaron que al momento de detectar los supuestos nidos había mucha actividad de *B. terrestris* por la zona, lo cual cesó semanas antes de ir a confirmar la existencia de los nidos para realizar los monitoreos y la aplicación de diflubenzurón, según corresponda. Es probable que, al momento de su detección, se haya observado el ingreso de una reina que simplemente estaba explorando el lugar para establecer un nuevo nido, sin que este se hubiese desarrollado efectivamente.

5.2. Estrategias temporales y espaciales en la aplicación de diflubenzurón para el control de *B. terrestris*

La planificación de las fechas de aplicación del diflubenzurón fue un elemento clave del control químico, ya que se buscó interrumpir el crecimiento poblacional de *B. terrestris* antes de su *peak*. El modelo poblacional construido con datos previos permitió identificar que la primera semana de enero era un momento estratégico, cuando las obreras comenzaban a emerger, pero antes de que alcanzaran su máxima abundancia como se muestra en el anexo 1; los datos sustentan la elección de este momento para la primera aplicación. Las aplicaciones posteriores, en febrero y marzo, se definieron según el monitoreo en terreno y permitieron mantener la presión sobre el ciclo reproductivo. Este enfoque permitió intervenir en momentos críticos del desarrollo del nido, particularmente sobre las larvas de obreras y nuevas reinas, lo que aumentó la efectividad del tratamiento.

En el sitio tratado (isla Teja), la prueba de Kruskal-Wallis, Scheirer-Ray-Hare y sus respectivos post-hoc, mostraron diferencias significativas en la abundancia de *B. terrestris* entre las etapas de monitoreo (pre tratamiento, post tratamiento 1 y post tratamiento 2) en los tres años evaluados ($P < 0,001$ en todos los casos). En 2023, la abundancia fue significativamente menor tras la primera aplicación (post tratamiento 1) en comparación con la etapa pre tratamiento ($P < 0,001$), lo que indica un impacto temprano del químico. Si bien no se observaron diferencias significativas entre las etapas post tratamiento 1 y 2 en ese año ($P = 0,14$), la estabilización de la abundancia sugiere un efecto de contención en el crecimiento poblacional de *B. terrestris*.

En cambio, en 2024, la abundancia aumentó significativamente tras la primera aplicación (post tratamiento 1) ($P < 0,001$), lo que podría estar relacionado con las condiciones medioambientales observadas en la primavera del año 2023, donde en noviembre hubo una temperatura media menor y mayor precipitación respecto al noviembre de 2022 y 2024 (que afectaría a 2023 y 2025, respectivamente) según datos de la estación meteorológica Pichoy (CR2 2024). De hecho, fue descrita como una primavera excepcionalmente fría como no ocurría hace 60 a 70 años atrás (Garreaud 2023). Por lo que, al considerar el ciclo de vida de *B. terrestris* (Ver 2.3 y anexo 1), este cambio en la temperatura y precipitaciones pudo haber provocado un retraso en su emergencia, construcción del nido, puesta de huevos y, por tanto, el emerger de las obreras. Lo anterior llevo a que, cuando se aplicó diflubenzurón aún no había una alta proporción de obreras, sino reinas en vuelo previo a la nidificación (cuadro 9), lo que limitaría la eficacia del tratamiento en la primera etapa. Dado que el diflubenzurón actúa principalmente al ser ingerido y trasladado al interior del nido a través de las obreras forrajeras, una

aplicación temprana, previa de la consolidación del nido, podría reducir su efectividad inicial (Mommaerts *et al.* 2006). Esta hipótesis se ve reforzada por el hecho de que la disminución significativa en la abundancia de *B. terrestris* se observó recién en la etapa post tratamiento 2, es decir, varias semanas después de la primera aplicación. Esto sugiere que, aunque la estrategia de atacar en el *peak* fue adecuada según el modelo, factores ambientales interanuales pueden modificar el momento real de desarrollo de la población, y deben considerarse al programar futuras aplicaciones.

Por otro lado, este cambio también pudo estar relacionado con el número y la ubicación de los sitios seleccionados para la aplicación de diflubenzurón en isla Teja durante el año 2024 (fig. 2), los cuales abarcaban un área menor al rango de forrajeo de *B. terrestris* (Hagen *et al.* 2011). Esta limitación espacial pudo haber facilitado el ingreso de individuos desde áreas adyacentes no tratadas, generando una recolonización temprana de los sitios intervenidos. En este sentido, la migración de obreras o reinas desde áreas adyacentes sin control químico podría haber atenuado el impacto del tratamiento, dificultando una reducción sostenida en la abundancia de la especie durante la primera etapa.

Lo anterior también puede estar relacionado con lo observado en el año 2025, puesto que, la abundancia de *B. terrestris* aumentó significativamente tras la primera aplicación (post tratamiento 1) ($P < 0,001$). En la primera aplicación de diflubenzurón se mantuvo el mismo número y sitios de aplicación que el año 2024 (fig. 2). Al observar que se repetía el patrón del año 2024 (aumento tras la primera aplicación de diflubenzurón), se decidió aumentar el esfuerzo de aplicación aumentando el número de asistentes, ampliando el área de tratamiento en la aplicación posterior e incluyendo nuevos puntos de intervención (cuadro 1). Uno de estos sitios correspondió al Condominio Altos del Cruces, ubicado ligeramente fuera del rango estimado de vuelo de *B. terrestris* (Hagen *et al.* 2011) (fig. 2). A pesar de esta distancia, dicho sitio se consideró lo suficientemente alejado del área de control (Angachilla) como para no interferir en los resultados, pero al mismo tiempo relevante para aumentar la cobertura espacial del tratamiento químico y reducir la posibilidad de recolonización desde zonas externas no tratadas. La aplicación en este punto se realizó durante la segunda intervención del año (desde la primera semana de febrero), y considerando que los efectos del diflubenzurón suelen evidenciarse entre tres y cuatro semanas después, su impacto se evaluó en el monitoreo post tratamiento 2 (finales de febrero) (cuadro 1 y 2). En base a esto, se observó que el punto ubicado fuera del radio de 2,5 km no alteró los resultados del sitio control, ya que la abundancia de *B. terrestris* en Angachilla mantuvo un patrón similar tanto en 2024 (año sin ese sitio adicional) como en 2025 en el post tratamiento 2 (Ver 4.3.4 y cuadro 14).

Dado lo anterior, sería recomendable realizar nuevamente la aplicación incorporando estos nuevos sitios en años futuros, con el fin de evaluar si la extensión espacial y aumento del esfuerzo de aplicación del tratamiento permite interrumpir de manera más efectiva el *peak* poblacional de *B. terrestris* observado a finales de enero (anexo 1), optimizando así la estrategia de control poblacional.

En conjunto, los resultados obtenidos los años 2023, 2024 y 2025 evidencian que la estrategia de aplicar diflubenzurón en torno al *peak* poblacional de finales de enero puede ser efectiva para controlar *B. terrestris*, pero también muestran que su impacto está fuertemente influenciado por factores ambientales y espaciales. Las variaciones interanuales en la respuesta poblacional, así como los ajustes realizados en el área de extensión del tratamiento, destacan la importancia de considerar tanto las condiciones meteorológicas previas como la escala espacial del control poblacional. La incorporación de nuevos sitios de aplicación en 2025 representa un avance en la optimización de la estrategia, y su efecto (particularmente en la disminución observada en el monitoreo post tratamiento 2), sugiere que ampliar el área tratada podría ser clave para interrumpir el *peak* de actividad de la especie a finales de enero. Por lo tanto, repetir esta estrategia en años futuros, incorporando lo aprendido, permitirá evaluar su efectividad con mayor precisión y ajustar de forma más dinámica el calendario de control químico con diflubenzurón.

5.3. Variación temporal en la abundancia de *B. terrestris* y *B. dahlbomii* en sitio con aplicación de diflubenzurón

Los análisis de los datos de los años previos a la aplicación de químico (2009, 2018-2022), respecto a los posteriores (2023-2025), muestran que la frecuencia de visitas de *B. terrestris* en *F. magellanica* disminuyó significativamente luego de la aplicación de diflubenzurón ($\beta = -0,67$, $P < 0,001$), además de una significativa disminución asociada factor año ($\beta = -0,05$, $P < 0,001$) (cuadro 6), lo que sugiere posibles efectos acumulativos o indirectos. Una explicación adicional a este patrón corresponde a la dinámica patógeno–hospedero, fenómeno descrito en *B. terrestris*, *B. dahlbomii* y *A. mellifera* en Chiloé (Smith-Ramírez *et al.* 2014). Esta dinámica se basa en que, al aumentar excesivamente la densidad de individuos en un corto periodo de tiempo, también se incrementa la probabilidad de transmisión de patógenos tanto fuera como dentro del nido. En el caso de *B. terrestris*, la alta densidad de individuos forrajeando y compartiendo alimento favorece la propagación de patógenos como *N. bombi*, lo que puede afectar tanto a adultos como a larvas y comprometer el desarrollo de las colonias (Smith-Ramírez *et al.* 2014, Pérez 2013, Morales 2007). A medida que los patógenos se expanden, disminuye la supervivencia y la capacidad reproductiva de la especie, generando una caída poblacional posterior al *peak*. Este patrón

es coherente con los datos obtenidos antes del tratamiento químico, donde se registraron años con frecuencias de visitas muy altas (2018, 2019 y 2020), con un *peak* en 2019, seguidos por una disminución en 2021 y niveles bajos en 2022 (fig. 8). Según esta dinámica, el año 2023 habría correspondido a un nuevo ciclo de alta abundancia, lo cual se refleja en los valores registrados durante el monitoreo pre tratamiento (cuadro 8 y fig. 9). Sin embargo, la aplicación de diflubenzurón interrumpió este ascenso, impidiendo que se alcanzara un nuevo *peak* poblacional. Esto sugiere que, además de los procesos biológicos internos de regulación como la dinámica patógeno–hospedero, la intervención química con diflubenzurón (Mommaerts *et al.* 2006) puede actuar como un mecanismo complementario de contención, reforzando el descenso en la abundancia de *B. terrestris* observado en los años siguientes.

Por otro lado, se espera que la aplicación realizada en verano intervenga en la emergencia de *B. terrestris* en primavera, es decir, que, al aplicar en verano surjan menos princesas, lo que genera menor formación de nidos y, por tanto, disminuir el surgimiento de obreras. Este efecto fue posible observarlo en los monitoreos en *Rhododendron* sp. y *C. hookerianum*. En *Rhododendron* sp., *B. terrestris* mostró una disminución significativa tras la aplicación del tratamiento químico realizada en el verano anterior ($\beta = -0,50$, $P < 0,001$), con un aumento significativo vinculado al factor año ($\beta = 0,11$, $P < 0,001$) (cuadro 22). Asimismo, en *C. hookerianum*, *B. terrestris* tuvo una disminución en la abundancia aún más marcada tras la aplicación de diflubenzurón en verano respecto a *Rhododendron* sp. ($\beta = -2,71$, $P < 0,001$), al igual que un aumento significativo asociado al factor año ($\beta = 0,25$, $P < 0,001$) (cuadro 24). Al considerar conjuntamente ambas especies florales (*Rhododendron* sp. y *C. hookerianum*), se observó que *B. terrestris* tuvo una disminución marginalmente significativa post tratamiento de verano ($\beta = -0,24$, $P = 0,09$), y un aumento significativo vinculado al año ($\beta = 0,06$, $P = 0,01$) (cuadro 26). Estos resultados reflejan una influencia dual, es decir, el químico puede tener un impacto inicial negativo, pero no logra impedir completamente el crecimiento poblacional a largo plazo.

Con respecto a *B. dahlbomii* monitoreado en *F. magellanica*, este presentó promedio de visitas muy bajas en todos los años, con ausencia total entre 2020 y 2021, y un aumento leve y progresivo hasta 2024, seguido nuevamente por una ausencia en 2025 (cuadro 8 y fig. 8). El análisis mostró un aumento no significativo de *B. dahlbomii* luego de la aplicación de diflubenzurón a *B. terrestris* ($\beta = 0,54$, $P = 0,18$), además de una disminución asociada al factor año ($\beta = -0,08$, $P = 0,02$) (cuadro 7). Este patrón sugiere una recuperación inestable y posiblemente condicionada por múltiples factores. Como se mencionó anteriormente, en estudios previos se ha documentado cómo la transmisión de patógenos de *B. terrestris* ha contribuido fuertemente a la disminución de *B. dahlbomii* en el sur de Chile (Arbetman *et al.* 2013; Montalva 2012, Morales 2007 Smith-Ramírez *et al.* 2014, Smith-Ramírez *et al.* 2018). Esto también fue

posible observarlo en los monitoreos realizados en *Rhododendron* sp., *B. dahlbomii* presentó un aumento no significativo tras el tratamiento en verano ($\beta = 0,11$, $p = 0,55$), con una disminución significativa asociada al factor año ($\beta = -0,27$, $P < 0,001$) (cuadro 23). Mientras que, en *C. hookerianum*, *B. dahlbomii* mostró una disminución no significativa luego de la aplicación de diflubenzurón en *B. terrestris* y una disminución significativa asociada al factor año ($\beta = -0,77$, $P = 0,55$ y $\beta = -0,27$, $P < 0,001$, respectivamente) (cuadro 25). Esto podría indicar una tendencia preocupante hacia el debilitamiento poblacional, independiente del tratamiento químico aplicado a *B. terrestris*, ya que esta especie continúa siendo introducida en Chile, lo que facilita la renovación constante de patógenos. Estos patógenos no se eliminarán únicamente con la disminución de la población de *B. terrestris*, ya que, si un individuo de *B. dahlbomii* se contagia, puede comenzar a actuar como hospedero y transmisor del patógeno dentro de su propia especie. Por esta razón, es fundamental mantener una presión constante en el control poblacional de *B. terrestris* durante un período prolongado, permitiendo que *B. dahlbomii* tenga la oportunidad de desarrollar resistencia evolutiva frente a los patógenos compartidos. No obstante, al considerar ambas plantas focales (*Rhododendron* sp. y *C. hookerianum*) en *B. dahlbomii*, se observó un aumento no significativo luego de la aplicación y una disminución no significativa vinculada al factor año ($\beta = 0,22$, $P = 0,22$ y $\beta = -0,04$, $P = 0,25$, respectivamente) (cuadro 27), indicando que su recuperación aún es limitada, posiblemente por su baja abundancia inicial y por las dificultades inherentes a establecer nuevas colonias frente a la presión de *B. terrestris*. Por tanto, si bien la reducción en la abundancia de la especie exótica podría aliviar parcialmente la presión competitiva, la recuperación de la especie nativa requeriría condiciones más favorables y sostenidas a lo largo del tiempo.

Lo anterior demuestra la importancia de considerar distintas plantas focales en estudios de interacción planta-polinizador, puesto que, permite observar con mayor profundidad la dinámica entre los polinizadores y su entorno. El contraste entre *F. magellanica*, *Rhododendron* sp. y *C. hookerianum* mostró patrones diferentes tanto en la abundancia como en la respuesta de *B. terrestris* y *B. dahlbomii* frente a la aplicación de diflubenzurón y a los cambios interanuales.

En el caso de *F. magellanica*, se detectó una disminución estadísticamente significativa en la abundancia de *B. terrestris* tras la aplicación del químico, así como una reducción significativa asociada al factor año. En cambio, en *Rhododendron* sp. y *C. hookerianum*, aunque también se observó una disminución estadísticamente significativa en la abundancia tras la aplicación de diflubenzurón, se registró un aumento significativo asociado al factor año. Este contraste sugiere que la elección de una sola especie vegetal como planta indicadora podría limitar la interpretación del impacto de los

tratamientos, dado que las respuestas pueden variar según la fenología floral, la época del año y el contexto ecológico de cada especie.

Cabe señalar que, al analizar ambas especies florales (*Rhododendron* sp. más *C. hookerianum*) en conjunto, los efectos observados difieren de aquellos obtenidos al analizarlas por separado. Mientras que los análisis individuales mostraban resultados estadísticamente significativos, el análisis combinado arrojó relaciones marginalmente significativas o no significativas. Esto podría estar relacionada con dinámicas particulares de visita de *Bombus* entre ambas especies florales, que al analizarse juntas generan una respuesta antagónica en el modelo, lo que refuerza la necesidad de continuar con los monitoreos en los próximos años con el fin de observar si las tendencias encontradas siguen ocurriendo.

En términos generales, los resultados indican que la aplicación de diflubenzurón tuvo un impacto significativo en la reducción de la abundancia de *B. terrestris*, aunque el monitoreo en primavera reveló aumentos significativos asociados al año, lo que podría reflejar procesos de recolonización o recuperación poblacional. En cuanto a *B. dahlbomii*, si bien se observó un aumento no significativo en su abundancia luego de la aplicación del químico a *B. terrestris*, también se evidenció una disminución significativa asociada al factor año, independiente de la estación monitoreada. Estos resultados sugieren que los efectos indirectos del control poblacional químico aplicado en *B. terrestris* deben ser interpretados con cautela, considerando las variaciones interanuales y las diferencias entre especies florales.

Asimismo, la variabilidad anual observada en la abundancia de ambas especies de *Bombus* refuerza la necesidad de contar con series temporales prolongadas, que permitan distinguir patrones naturales de fluctuación poblacional de aquellos inducidos por perturbaciones antrópicas. En este caso, aunque se detectaron efectos posteriores a la aplicación de diflubenzurón, también fue evidente una dinámica poblacional cambiante en los años previos. Es por ello que, para identificar los efectos de la utilización de tratamiento químico, es necesario diseños de monitoreo que incluyan varios años antes y después de la intervención.

5.4. Variación en la abundancia de *B. terrestris* en ambos sitios durante 2023, 2024 y 2025

Los resultados de Kruskal-Wallis, Scheirer–Ray–Hare y sus respectivos post-hoc aplicados a los datos del monitoreo de la frecuencia de visitas de *B. terrestris* realizadas en *F. magellanica* obtenidos durante los tres años de aplicación del diflubenzurón en *B. terrestris* (2023–2025) en isla Teja permiten afirmar que el uso de este químico en *B. terrestris* al aire libre sí provocó una disminución significativa

en la abundancia de *B. terrestris*. En los tres años evaluados, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las etapas de monitoreo (pre tratamiento, post tratamiento 1 y post tratamiento 2), lo cual indica un efecto directo del tratamiento sobre la población de *B. terrestris* (ver ítem 4.2.4. y 4.2.5.).

En 2023, la aplicación temprana del químico logró una disminución sostenida tras la primera aplicación, sin diferencias estadísticamente significativas posteriores, lo que sugiere un impacto rápido y estable. En cambio, en 2024 y 2025 se observó un aumento inicial en la abundancia posterior a la primera aplicación, seguido de una disminución significativa en el segundo monitoreo (monitoreo post tratamiento 2), lo cual podría estar asociado a la fenología del ciclo reproductivo de *B. terrestris* o a factores ambientales que modificaron el momento óptimo de aplicación, aspectos ya discutidos (ver ítem 5.1.). A pesar de estas variaciones en la velocidad de la respuesta, el patrón general en los tres años muestra una disminución marcada en la abundancia de *B. terrestris* tras el tratamiento, particularmente en la etapa post tratamiento 2 (ver ítem 4.2.4. y 4.2.5.).

Así mismo, el análisis de la interacción entre el sitio y las etapas de monitoreo (Scheirer–Ray–Hare) refuerza aquella interpretación, indicando que los cambios en abundancia de *B. terrestris* no fue observada con la misma magnitud en el sitio control (Angachilla), donde las variaciones no pueden atribuirse al tratamiento químico (cuadro 14 y ver ítem 4.2.4.). Esto valida que la disminución en isla Teja fue consecuencia directa del uso de diflubenzurón, y no de fluctuaciones naturales o factores externos.

Cabe destacar que durante los tres años del tratamiento químico a *B. terrestris* se realizó un esfuerzo creciente en la aplicación de diflubenzurón, tanto en número de individuos aplicados como en el rango espacial. En 2023 se logró aplicar diflubenzurón a 796 individuos, en 2024 a 919, y en 2025 se logró triplicar este esfuerzo, aplicando a 2954 individuos (cuadro 1). Al intensificar la aplicación en el verano del año 2025 podría potenciar la disminución en la abundancia de *B. terrestris* tras la aplicación del tratamiento especialmente si se considera que los efectos de la aplicación pueden proyectarse en el tiempo, afectando la capacidad reproductiva de las colonias y la presencia de individuos durante la siguiente temporada. Aquellos efectos se podrían reflejar más claramente durante la primavera y posiblemente se pueda extender hasta el verano del año 2026. Por ello, es fundamental continuar con el monitoreo tanto en *Rhododendron* sp. y *C. hookerianum* en primavera y en *F. magellanica* en verano, para así evaluar si este aumento en la intensidad del tratamiento logra reforzar la disminución observada en la abundancia de *B. terrestris*, consolidando así una estrategia de control poblacional más efectiva y sostenida en el tiempo.

5.5. Consideraciones de aplicación de diflubenzurón para control poblacional de *B. terrestris* u otras especies exóticas

Para la aplicación de diflubenzurón a *B. terrestris*, en este estudio se consideraron múltiples factores destinados a evitar impactos sobre especies no objetivo. Dado que este químico no afecta a los individuos adultos tratados directamente, sino que actúa sobre los huevos y larvas, su efecto no es inmediato ni visualmente evidente, a diferencia de los métodos de control poblacional mecánico, donde los individuos son eliminados al ser capturados.

Entre las medidas adoptadas para minimizar los riesgos, se priorizó la aplicación en horarios con menor presencia general de polinizadores, y se seleccionaron sitios de alta frecuencia de *B. terrestris*, con baja presencia de otras especies, para reducir al mínimo la posibilidad de contaminación cruzada. Asimismo, todas las capturas y aplicaciones fueron realizadas por personas especializadas y capacitadas, que disponen de conocimientos para reconocer con claridad las diferencias entre especies, asegurando que las capturas correspondieran efectivamente a *B. terrestris*. Aun así, en algunos casos fue inevitable la captura accidental de especies no objetivo. En 2025, por ejemplo, se capturaron erróneamente entre 2 a 3 individuos de *Callithochlora chloris* (Hymenoptera: Halictidae) y 3 de *A. mellifera* durante intentos de captura de *B. terrestris*. Estos individuos debieron ser eliminados para evitar riesgos de contaminación cruzada, ya que es altamente probable que el químico quede retenido dentro de las redes entomológicas. No se registraron errores de captura en *B. dahlbomii*, especie de especial interés para la conservación. Estas decisiones se tomaron en base a un conocimiento profundo del accionar del diflubenzurón y del riesgo que implica su exposición indirecta en el nido.

Este nivel de rigurosidad implica un costo adicional para las instituciones que implementan este tipo de control químico. Contar con personal capacitado no solo es esencial para garantizar la eficacia del tratamiento, sino también para evitar impactos negativos sobre la biodiversidad local. La aplicación de diflubenzurón en campo no puede ser considerada como un método simple o replicable sin formación previa; al contrario, requiere un manejo altamente responsable, ético y técnicamente fundamentado. Por esta razón, no se recomienda su uso por parte de personas no especializadas o sin experiencia en la identificación de especies de abejas nativas y exóticas y sin conocimientos de los impactos del químico.

6. CONCLUSIONES

En base a todo lo anterior, es posible concluir que, la estrategia temporal basada en la aplicación del químico cercano al *peak* poblacional de *B. terrestris* ha mostrado resultados positivos. Sin embargo, su efectividad depende de múltiples factores, incluyendo las condiciones climáticas interanuales, particularmente los cambios de temperatura entre estaciones, la fase del ciclo de vida en que se encuentran los individuos al momento de la aplicación y la cobertura espacial del tratamiento, el número de individuos tratados y quizás la adición de azúcar a la muestra. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de adaptar la planificación del tratamiento químico según las condiciones observadas cada año, incorporando tanto modelos predictivos como un monitoreo constante, con el fin de optimizar el impacto del tratamiento y prevenir la recolonización desde áreas no intervenidas.

Así mismo, se puede concluir que la aplicación de diflubenzurón, especialmente cuando se administra vía oral, resulta altamente efectiva para provocar el colapso de los nidos de *B. terrestris* en condiciones de campo, acercándose a los efectos observados en laboratorio. La diferencia en el tiempo de respuesta entre los años evaluados resalta la importancia de considerar tanto la disolución del químico como la frecuencia de los monitoreos. Un seguimiento más continuo de los nidos, como el realizado en el año 2024 y 2025, permite detectar con mayor precisión la respuesta de las colonias al tratamiento y ajustar con mayor certeza las medidas de aplicación. En este sentido, la integración de una solución más atractiva (con azúcar) y una mayor frecuencia de observación parece optimizar el efecto del químico, y también mejorar la capacidad de evaluación del impacto real sobre las colonias. Aun así, no se logró que la población de *B. terrestris* llegue a cero en el área tratada, lo que podría explicarse por la recolonización desde zonas cercanas no intervenidas, las cuales presentan una alta densidad de *B. terrestris*.

Finalmente, la aplicación de diflubenzurón logra reducir significativamente la población de *B. terrestris* en ambientes urbanos y semiurbanos como isla Teja, aunque su éxito depende de múltiples variables que deben ser cuidadosamente consideradas para optimizar futuras implementaciones. Por otro lado, si bien se logró una disminución de la población de *B. terrestris*, no se observó un beneficio estadísticamente significativo en la población de *B. dahlbomii*.

El uso de diflubenzurón, aunque es una herramienta efectiva, debe ser implementada con extrema cautela. Su uso requiere un enfoque técnico, ético y profesional que asegure tanto la eficacia del tratamiento como la protección de las especies nativas y de la biodiversidad local. Las instituciones que deseen adoptar esta estrategia deben asumir no solo el compromiso ecológico, sino también el costo

asociado a una implementación segura, que incluya personal capacitado, protocolos estrictos y un monitoreo constante. Solo bajo estas condiciones, es posible avanzar hacia un control responsable de especies invasoras sin comprometer los sistemas ecológicos que se busca proteger.

7. REFERENCIAS

- Aizen M, C Smith-Ramírez, C Morales, L Vieli, A Sáez, R Barahona-Segovia, M Arbetman, J Montalva, L Garibaldi, D Inouye, L Harder. 2018. Coordinated species importation policies are needed to reduce serious invasions globally: The case of alien bumblebees in South America. *Journal of Applied Ecology*, 56(1), 100-106. DOI: 10.1111/1365-2664.13121
- Arbetman M, I Meeus, C Morales, M Aizen, G Smagghe. 2013. Alien parasite hitchhikes to Patagonia on invasive bumblebee. *Biological invasions*, 15, 489-494. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10530-012-0311-0>
- Arretz P. 1973. Factores de mortalidad de *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae). *Revista Chilena de Entomología*, 7, 59-78.
- Barahona-Segovia R, C Morales. 2020. Abejas exóticas invasoras en el sur de Sudamérica. *Ciencia ciudadana y polinizadores de América del Sur*. p. 31-36. DOI: <https://doi.org/10.4322/978-65-86819-21-2.s01c03.es>
- Borges J. 2018. *Bombus terrestris* e *Bombus* spp.; Captura, Identificação das Espécies, Subespécies e Castas, Ciclo de Vida e Dinâmica Populacional das Populações Selvagens. Tesis de Máster en Ingeniería Agrícola. Facultad de Ciencias, Universidad de Porto. Oporto, Portugal.
- Bustillo A. 2008. El manejo integrado de los cultivos en relación con el control de plagas. *Los insectos y su manejo en la cultura colombiana*, 93-282.
- Camp A, M Batres, W Williams, D Lehmann. 2020. Impact of diflubenzuron on *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) microcolony development. *Environmental Entomology*, 49(1), 203-210. DOI:10.1093/ee/nvz150.

- Capdevila L, A Iglesias, J.F Orueta, B Zilletti. 2006. Especies Exóticas Invasoras: Diagnóstico y bases para la prevención y el manejo. Ministerio de Medio Ambiente, España. 288 p.
- Cisternas E, F Rodríguez. 2021. Manejo sustentable de artrópodos plaga. Manual de prácticas agrícolas para una agricultura sustentable. La Cruz: Boletín INIA N° 426. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Consultado el 25 de mayo. Disponible en <https://hdl.handle.net/20.500.14001/67616>
- Combs JK. 2011. Predispersal seed predators and nectar robbers: The influence of plant and animal traits on plant reproduction and bumblebee foraging behavior Tesis Doctoral de Filosofía. Seattle, United States. School of Forest Resources, University of Washington. 109 p.
- Coppée A. 2010. *Bombus terrestris* (L. 1758): A complex species or a species complex. Intraspecific pheromonal and genetic variations of *Bombus terrestris* (L.), Impacts on the speciation. Tesis Doctoral de Ciencias. Faculte des Sciences. *Université de Mons*. Mons, Bélgica.
- Corcuera E. 2016. Especies Exóticas Invasoras en Áreas Protegidas de Chile, Memoria Primer Encuentro Reserva Biológica Huilo Huilo. Proyecto GEF/MMA/PNUD: Fortalecimiento de los Marcos Nacionales para la Gobernabilidad de las Especies Exóticas Invasoras (2013-2017). Santiago, Chile. 100 p.
- CR2 (Centro de Ciencia del Clima y la Resiliencia, CL). 2024. Explorador Climático. Consultado 25 jun. 2024. Disponible en <https://explorador.cr2.cl/>
- Estay P. 2007. *Bombus* en Chile: especies, biología y manejo. Colección Num. 22. Instituto de Investigaciones Agrarias (INIA), Santiago, Chile. 84 p.
- Fontúrbel F, Murúa M, Vieli L. 2021. Invasion dynamics of the European bumblebee *Bombus terrestris* in the southern part of South America. *Scientific Reports*, 11, 15306. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94898-8>
- Garraud R. 2023. Análisis CR2. Sorpresas de primavera. Consultado 15 jun. 2025. Disponible en <https://www.cr2.cl/analisis-cr2-sorpresas-de-primavera/>
- Google earth. 2022. Versión 7.3.626. Google. Disponible en <https://earth.google.com>
- Goulson D. 2010. Bumblebees: behaviour, ecology and conservation. Oxford University Press. p. 5-12.

- Gupta R.C, R.B Doss. 2022. Insect Growth and Development Regulator Toxicosis in *Animals*. *MSD Veterinary Manual*. Disponible en <https://www.msdsvetmanual.com/toxicology/insecticide-and-acaricide-organic-toxicity/insect-growth-and-development-regulator-toxicosis-in-animals>
- Hagen M, M Wikelski, W Kissling. 2011. Space use of bumblebees (*Bombus* spp.) revealed by radio-tracking. *PloS one*, 6(5), e19997. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019997>
- IRAC (Insecticide Resistance Action Committee). 2025. Mode of action classification scheme. 42 p. Disponible en <https://irac-online.org/documents/moa-classification/>
- Kenta T, N Inari, T Nagamitsu, K Goka, T Hiura. 2007. Commercialized European bumblebee can cause pollination disturbance: an experiment on seven native plant species in Japan. *Biological Conservation*, 134(3), 298-309. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.07.023>
- Lagos E. 2013. Prospección de parásitos y comensales asociados a insectos adultos en *Bombus* spp. (Hymenoptera: Apidae) en Valdivia. Memoria presentada como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Austral de Chile.
- Mack R, D Simberloff, W Lonsdale, H Evans, M Clout, F Bazzaz. 2000. Invasiones biológicas: causas, epidemiología, consecuencias globales y control. *Tópicos en Ecología*, 5(1-53).
- Malham J, J Rees, P Alspach, J Beggs, H Moller. 1991. Traffic rate as an index of colony size in *Vespula* wasps, New Zealand *Journal of Zoology*, 18:2, 105-109, DOI: [10.1080/03014223.1991.10757956](https://doi.org/10.1080/03014223.1991.10757956)
- Merzendorfer H. 2013. Chitin synthesis inhibitors: old molecules and new developments. *Insect science*, 20 (2), 121-138. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2012.01535.x>
- MMA (Ministerio de Medio Ambiente). 2015. Clasificación de especies: Ficha de antecedentes de especie: *Bombus dahlbomii*. Disponible en https://clasificacionespecies.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2019/10/Bombus_dahlbomii_12RCE_FIN.pdf
- MMA (Ministerio de Medio Ambiente). 2020. Clasificación de especies: Ficha final de antecedentes de especie: *Bombus funebris*. Disponible en https://clasificacionespecies.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2020/09/Bombus_funebris_17RCE_INICIO.pdf

- Mommaerts V, G Sterk, G Smagghe. 2006. Hazards and uptake of chitin synthesis inhibitors in bumblebees *Bombus terrestris*. *Pest Management Science*: anteriormente *Pesticide Science*, 62 (8), 752-758. DOI: 10.1002/ps.1238.
- Montalva J. 2012. La difícil situación del abejorro más austral del mundo (*Bombus dahlbomii* Guérin-Méneville, 1835). *Boletín de Biodiversidad de Chile*, (7), 1-3.
- Morales C. 2007. Introducción de abejorros (*Bombus*) no nativos: causas, consecuencias ecológicas y perspectivas. *Ecología austral*, 17(1), 51-65.
- Morales C, Arbetman M, Cameron S, Aizen M. 2013. Rapid ecological replacement of a native bumble bee by invasive species. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(10), 529–534. DOI: <https://doi.org/10.1890/120321>
- Pérez V. 2013. Introducción de *Bombus (Bombus) terrestris* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Apidae) en la Región de Magallanes: potencial riesgo para las abejas nativas. Universidad de Magallanes. *Anales del Instituto de la Patagonia*. 41(1), 147-152. DOI: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-686X2013000100015>
- PNUD (Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo). 2017a. Catálogo de las especies exóticas asilvestradas/naturalizadas en Chile. Laboratorio de Invasiones Biológicas (LIB). Proyecto GEF/MMA/PNUD Fortalecimiento de los Marcos Nacionales para la Gobernabilidad de las Especies Exóticas Invasoras: Proyecto Piloto en el Archipiélago de Juan Fernández. Santiago de Chile. 61 pp.
- PNUD (Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo). 2017b. Experiencias de control de especies exóticas invasoras en Áreas Silvestres Protegidas del Estado: 11 casos emblemáticos. Santiago, Chile. 94 p.
- Ramires E. 2018. Estudio comparativo de *Bombus dahlbomii* Guérin-Méneville y *Bombus terrestris* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae): preferencias florales, abundancia y distribución. Trabajo de Titulación presentado para optar al Título de Ingeniería en Conservación de Recursos Naturales. Universidad Austral de Chile.
- Richardson D, P Pyšek. 2012. Naturalization of introduced plants: ecological drivers of biogeographical patterns. *New Phytologist*, 196(2), 383-396. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2012.04292.x

- SAG (Servicio Agrícola y Ganadero). 2019. Establece exigencias sanitarias para la importación a Chile de *Bombus terrestris* (L) desde los orígenes que indica y manejo de las colonias en territorio. Resolución exenta N°:5889/2019.
- Schmid-Hempel R, M Eckhardt, D Goulson, D Heinzmann, C Lange, S Plischuk, L Ruz, R Salathé, J Scriven, P Schmid-Hempel. 2014. The invasion of southern South America by imported bumblebees and associated parasites. *Journal of Animal Ecology*, 83(4), 823-837.
- Simonetti J, G Stipicic, G Simonetti-Grez, A Grez. 2017. *Bombus terrestris* (Linnaeus) silvestres en Isla Riesco, Magallanes (Hymenoptera: Apidae). *Revista Chilena de Entomología*, 41 p.
- Smith-Ramírez C, R Ramos-Jiliberto, F Valdovinos, P Martínez, J Castillo, J Armesto. 2014. Decadal trends in the pollinator assemblage of *Eucryphia cordifolia* in Chilean rainforests. *Oecologia*, 176, 157-169. DOI 10.1007/s00442-014-3000-0
- Smith-Ramírez C, L Vieli, R Barahona-Segovia, J Montalva, F Cianferoni, L Ruz, F Fontúrbel, C Valdivia, R Medel, A Pauchard, J Celis-Diez, V Riesco, V Monzón, F Vivallo, M Neira. 2018. Las razones de por qué Chile debe detener la importación del abejorro comercial *Bombus terrestris* (Linnaeus) y comenzar a controlarlo. *Gayana* (Concepción), 82(2), 118-127. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382018000200118>
- Téllez-Farfán L, F Posada-Flórez. 2013. Actividad polinizadora y preferencia floral de *Bombus* spp. (Hymenoptera: Apidae) presentes en una cerca viva. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 16(2), 359-367.
- Vinchira-Villarraga D, N Moreno-Sarmiento. 2019. Control biológico: Camino a la agricultura moderna. *Revista Colombiana de Biotecnología* (1),2-5. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860>
- Vilà M, F Valladares, A Traveset, L Santamaría, P Castro. 2008. Invasiones biológicas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid, 215 p.

Anexos

Anexo 1. Modelo de abundancia poblacional de *B. terrestris* en isla Teja, previamente a la aplicación de diflubenzurón

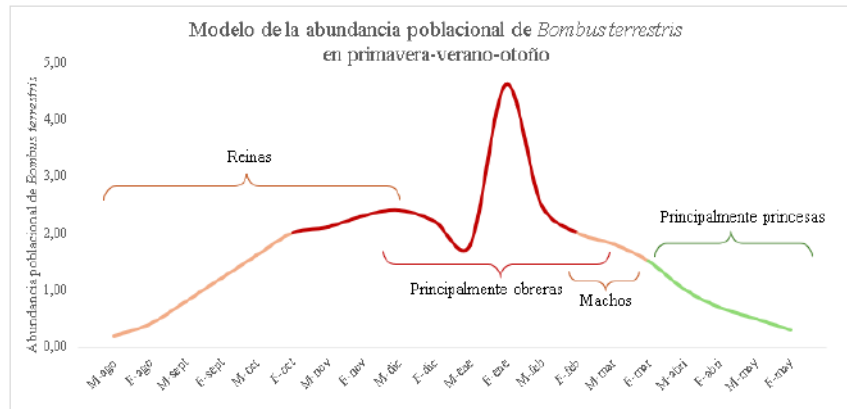


Figura 1.1. Modelo de abundancia poblacional de *B. terrestris* en isla Teja, Valdivia, previamente a la aplicación de diflubenzurón, construido a partir de monitoreos realizados en *Vicia faba*, *Rhododendron* sp. más *C. hookerianum* y *F. magellanica* (Combs 2011, Ramires 2018, Smith-Ramírez *et al.* 2014, Smith-Ramírez *et al.* datos no publicados). Es posible observar esporádicamente alguna reina desde fines de junio a agosto, no obstante, es altamente probable que estos individuos mueran por falta de recursos (Smith-Ramírez com.pers.).

Anexo 2. Movimiento de individuos en los nidos encontrados en isla Teja (2023-2025)

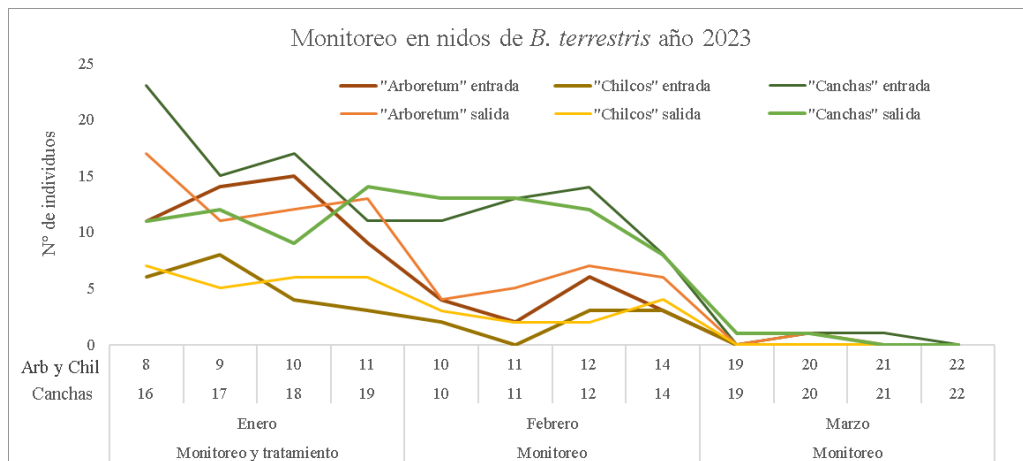


Figura 2.1. Comparación del movimiento (entrada y salida) de individuos de *B. terrestris* en los tres nidos encontrados en el año 2023. Los nidos Arboretum y Chilco se encontraron antes que el nido Canchas, por lo cual, la aplicación del químico comenzó antes. Las fechas en enero indican los días de monitoreo y a las vez de aplicación del químico. Las fechas de febrero y marzo son sólo de monitoreo.

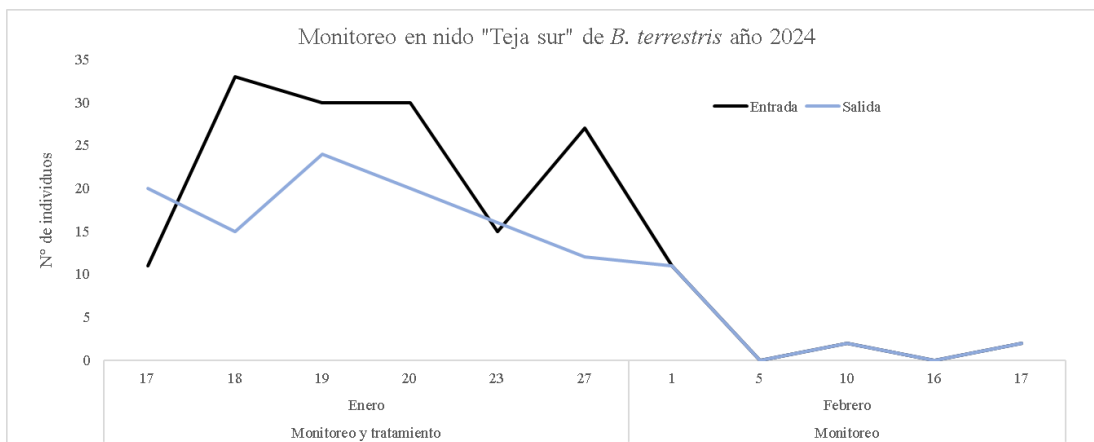


Figura 2.2. Movimiento de individuos (entrada y salida) en nido “Teja Sur” de *B. terrestris* encontrado en el año 2024. Las fechas en enero indican los días de monitoreo y a las vez de aplicación del químico. Las fechas de febrero son sólo de monitoreo.

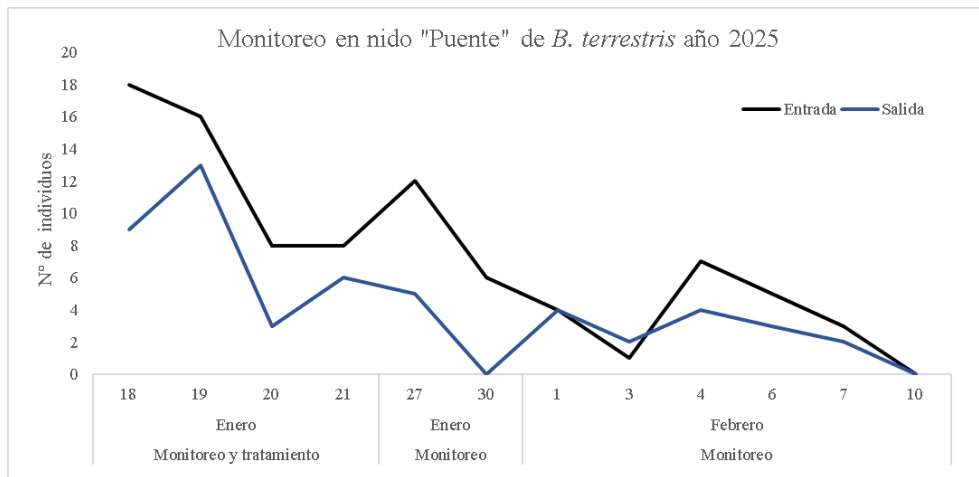


Figura 2.3. Movimiento de individuos (entradas y salidas) en nido “Puente”, ubicado en el Puente Pedro de Valdivia, tramo Valdivia-isla Teja. de *B. terrestris* encontrado en el año 2025. Las fechas en enero indican los días de monitoreo y a las vez de aplicación del químico. Las fechas de febrero son sólo de monitoreo.

Anexo 3. Abundancia absoluta de *B. terrestris* registrada en *F. magellanica* en el sitio con tratamiento de diflubenzurón y sitio control

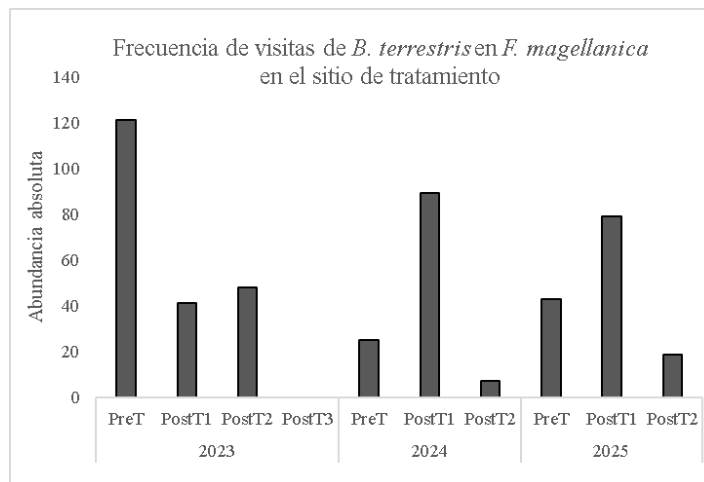


Figura 3.1. Frecuencia de visitas de *B. terrestris* en *F. magellanica* en sitio con tratamiento durante la aplicación del químico (2023-2025). PreT, PostT1, PostT2, PostT3, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2, post tratamiento 3, respectivamente.

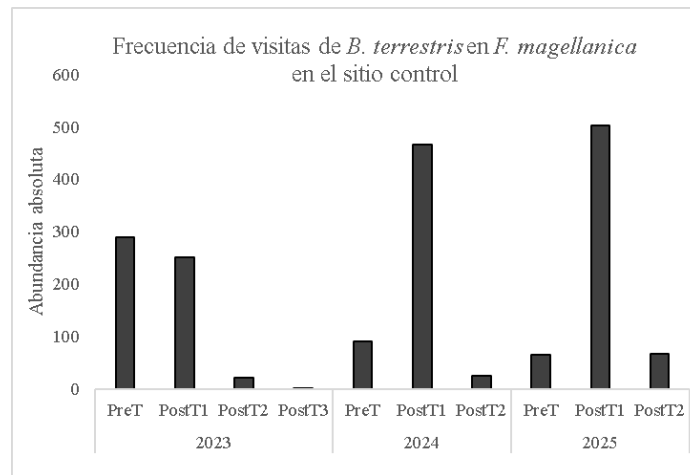


Figura 3.2. Frecuencia de visitas de *B. terrestris* en *F. magellanica* en sitio control durante la aplicación del químico (2023-2025). PreT, PostT1, PostT2, PosT3, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2, post tratamiento 3, respectivamente. Las etapas de monitoreo se denominan igual en ambos sitios para representar momentos comparables; sin embargo, el sitio control no recibió tratamiento.

Anexo 4. Abundancia absoluta de *B. dahlbomii* registrada en *F. magellanica* en el sitio con tratamiento de diflubenzurón y sitio control

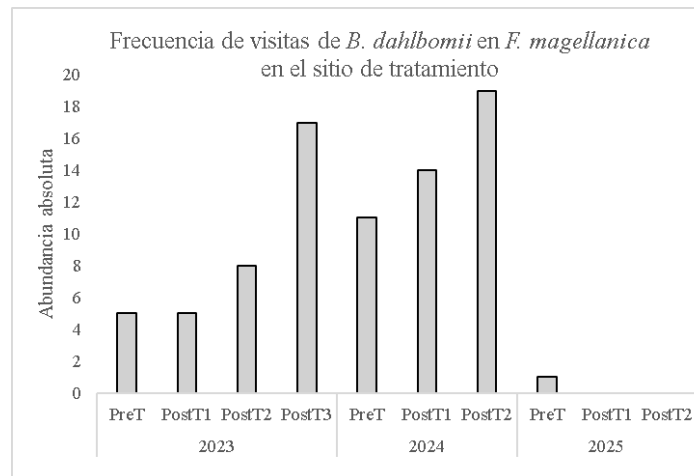


Figura 4.1. Frecuencia de visitas de *B. dahlbomii* en *F. magellanica* en sitio con tratamiento durante la aplicación del químico (2023-2025). PreT, PostT1, PostT2, PosT3, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2, post tratamiento 3, respectivamente.

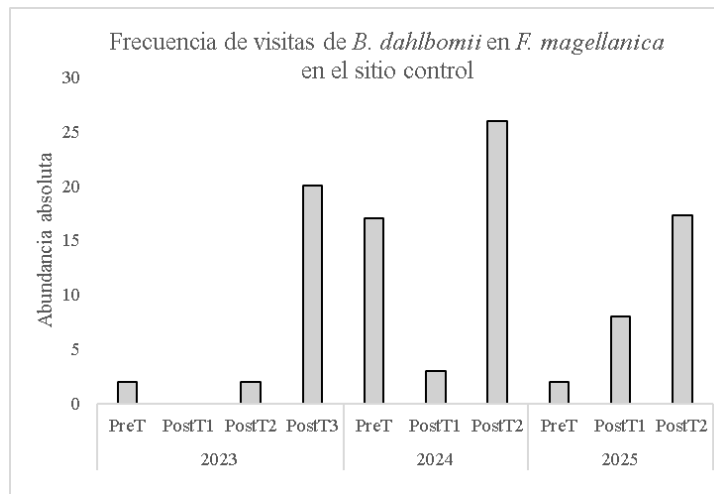


Figura 4.2. Frecuencia de visitas de *B. dahlbomii* en *F. magellanica* en sitio control durante la aplicación del químico (2023-2025). PreT, PostT1, PostT2, PosT3, corresponden al monitoreo pre tratamiento, post tratamiento 1, post tratamiento 2, post tratamiento 3, respectivamente. Las etapas de monitoreo se denominan igual en ambos sitios para representar momentos comparables; sin embargo, el sitio control no recibió tratamiento.

Anexo 5. Aplicación de diflubenzurón a *B. terrestris* en isla Teja



Figura 5.1. Estrategia de aplicación de diflubenzurón en néctar de flores



Figura 5.2. Captura (1 y 2) y aplicación (3) con redes entomológicas de individuos de *B. terrestris* con diflubenzurón.