

Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2020; 10(1):1-16. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.7>
Artigo Original. Recebido: 21/01/2020. Aceito: 25/04/2020. Publicado: 03/05/2020.

Resíduos de pesticidas no mel e na cera de colônias de abelhas em La Comarca Lagunera

Pesticides residues in honey and wax from bee colonies in La Comarca Lagunera

Vargas-Valero Azucena^{1,2*}[ID](#) Reyes-Carrillo José²[ID](#), Moreno-Reséndez Alejandro²[ID](#),
Véliz-Deras Francisco²[ID](#) Gaspar-Ramírez Octavio³[ID](#), Rodríguez-Martínez Rafael^{2*}[ID](#)

¹Instituto Nacional de Investigaciones, Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México. ²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna. México. ³Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. México. *Autor responsável e de correspondência: Rodríguez-Martínez Rafael. Carretera a Sta. Fe y Periférico Raúl López Sánchez s/n C.P. 27054, Torreón, Coahuila, México. azvalero@yahoo.com.mx, jlreyes54@gmail.com, alejamorsa@hotmail.com, velizderas@gmail.com, ogramirez@ciatej.mx, rafael.rdz.mtz@gmail.com

RESUMO

As abelhas são importantes para a segurança alimentar e a manutenção da biodiversidade. O colapso das colônias foi causado pela exposição a pesticidas. O objetivo foi determinar e quantificar a presença de pesticidas no mel e na cera de colônias de abelhas em colapso (BC), com (CA) e sem histórico de colapso (SA). Foram analisadas cinco amostras de mel e cinco de cera das colônias CA e SA, e duas de mel e cera BC; as amostras foram analisadas por LC-QTOF e GC-MS/MS. Um total de 24 pesticidas foram detectados em mel e cera. O acetamipride foi encontrado em 100% das amostras. Nas colônias do BC, eles apresentaram, em média, altos níveis de acetamipride em cera e mel (0,402 e 0,633 mg kg⁻¹, respectivamente). Para as colônias de CA, as médias de acetamipride foram de 0,686 e 0,266 mg kg⁻¹ para cera e mel, respectivamente, para as colônias SA, as médias de acetamipride para cera e mel foram de 0,244 e 0,404 mg kg⁻¹, respectivamente. Em conclusão, as colônias de CA apresentaram a maior diversidade de pesticidas, seguida por SA e BC. Esses resultados podem sugerir a participação de pesticidas como causa do colapso das colônias.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, Transtorno de Colapso de Colônias, México e QuEChERS.

ABSTRACT

Honeybees are important for food security and biodiversity preservation. There has been a collapse of the colonies caused by exposure to pesticides. The aim was to determine and quantify the presence of pesticides in honey and wax from bee colonies, under collapse (BC) and with (CA) and without antecedent of collapse (SA). Five honey samples and five colony wax samples were analyzed from colonies CA y SA, as well as two of honey and two wax from colonies CB; samples were analyzed by LC-QTOF and GC-MS/MS. 24 pesticides were detected in honey and wax analyzed. Acetamiprid was found in all samples. In colonies, CB the wax and honey had high averages levels of acetamiprid (0.402 and 0.633 mg kg⁻¹ respectively). For wax and honey from colonies CA, the averages of acetamiprid were 0.686 and 0.266 mg kg⁻¹ respectively. In wax and honey from colonies SA the averages of acetamiprid were 0.234 and 0.404 mg kg⁻¹ respectively. In conclusion, the colonies CA had the greatest diversity of pesticides, followed by the group SA and finally BC. Our results suggest the participation of pesticides as a cause of colony collapse.

Keywords: *Apis mellifera*, Colony Collapse Disorder, México and QuEChERS.

INTRODUÇÃO

As abelhas são importantes polinizadores duma grande diversidade de culturas e plantas nativas; a polinização realizada por esses insetos é necessária para 35% das culturas destinadas ao consumo humano (Ollerton, 2017). No entanto, em todo o mundo, eles sofreram uma diminuição em suas populações, um fenômeno chamado transtorno de colapso das colônias (DCC) (Brutscher *et al.*, 2016). As características das colônias em colapso são: a morte parcial ou total da colônia com a presença de abelhas mortas na colméia ou próximo a ela, o desaparecimento parcial ou total da colônia, com o abandono das reservas de alimentos e os jovens e enfraquecimento da colônia por meio de desenvolvimento lento durante a primavera, em condições ideais (Simon-Delso *et al.*, 2014).

Embora vários fatores tenham sido relatados, como as prováveis causas do colapso das colônias, um dos mais importantes é a exposição a pesticidas (Calatayud-Vernich *et al.*, 2018; Sánchez-Bayo *et al.*, 2016; Traynor *et al.*, 2016). As abelhas são expostas a pesticidas quando procuram recursos néctar-poliníferos, especialmente se as colônias estiverem localizadas perto de áreas agrícolas (O'Neal *et al.*, 2018). Foi demonstrado que a exposição a doses sub-letais de pesticidas afeta o comportamento das abelhas (Balbuena *et al.*, 2015), forrageamento (Cresswell y Thompson, 2012), sua longevidade (Wu *et al.*, 2011), termorregulação (Tosi *et al.*, 2016); bem como seu aprendizado e memória olfativos (Lu *et al.*, 2014).

Os resíduos de pesticidas podem se acumular no pão de abelha, mel e cera (Johnson *et al.*, 2010; Lozano *et al.*, 2019); apresentando neste último a capacidade de armazenamento residual de pesticidas (Benuszak *et al.*, 2017). Portanto, a partir de um favo de mel contaminado, os resíduos podem ser transferidos para o mel armazenado, apresentando um risco para os consumidores. Além disso, o consumo de "mel no favo de mel", como aditivo alimentar no tratamento de frutas, suplemento alimentar ou aromatizante, representa um risco à saúde (Wilmart *et al.*, 2016).

No semi-deserto do norte do México, a presença de pesticidas em baixas concentrações foi encontrada em amostras de mel e cera (Alcántar-Rosales *et al.*, 2016), e uma redução de até 2010 foi relatada para o período de 2010 a 2017. 35% das colônias de abelhas (SIAP, 2018).

Portanto, o objetivo desta pesquisa foi determinar e quantificar a presença de pesticidas em amostras de mel e cera de colônias de abelhas, com e sem histórico de colapso.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem das matrizes das colmeias. A amostragem foi realizada no semi-deserto do norte de México (25° 05 'e 26° 54' LN e 101° 40 'e 104° 45' LO), entre os meses de junho a setembro de 2017, com base no padrão de apicultores registrados em o Comitê

do Sistema de Produtos Apícolas da Região Lagunera A.C, sob o critério de possuir pelo menos 10 colônias. Foram selecionados 43 apicultores, dos quais, por meio de amostragem aleatória de 20% das colônias de cada apiário e em condições naturais. Foram obtidas 132 amostras de favo de mel com cera e mel de aproximadamente 12 cm². Destas, 12 amostras foram selecionadas aleatoriamente para análise de pesticidas, das quais cinco foram classificadas como provenientes de colônias com histórico de colapso (CA); cinco como assintomáticos ou de colônias sem histórico de colapso (SA) e duas amostras de apiários que no momento da amostragem sofreram colapso (BC). A classificação foi feita de acordo com os dados obtidos do apicultor e com base nos critérios definidos por [Simon-Delso et al. \(2014\)](#).

Com um cortador descartável, um pedaço de favo de mel com mel e cera de aproximadamente 12 cm² foi cortado, colocado em um saco plástico com a respectiva identificação e depois foram transportados para o laboratório de Biologia da Universidade Agrária Autônoma Antonio Narro, Unidade Laguna em Torreón, Coahuila, para armazená-los a -20 °C, até sua análise no laboratório do Centro de Pesquisa e Assistência em Tecnologia e Design do Estado de Jalisco, A.C (CIATEJ), Apodaca, Nuevo León. Foram determinados 165 pesticidas para cada uma das amostras (mel e cera).

Produtos e soluções químicas. Os padrões analíticos de pesticidas foram obtidos na ChemService, Inc. (West Chester, PA, EUA): Sigma-Aldrich-Fluka (St. Louis, MO, EUA), Sigma-Aldrich-Supelco (Bellefonte, PA, EUA), Accustandard (New Haven, CT, EUA) e ULTRA Scientific (N. Kingstown, RI, EUA). O ácido fórmico (grau MS) e o formato de amônio (base de traço metálico) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Acetonitrila e água de qualidade HPLC foram adquiridos à Tedia High Purity Solvents (Fairfield, OH). Os sais de extração "Rápido, Fácil, Barato, Efetivo, Robusto e Seguro" (QuEChERS) (método AOAC) e os kits de dispersão SPE (Bond Elut) foram adquiridos da Agilent Technologies (Santa Clara, CA, EUA).

Preparação e extração de amostras. Foram retirados 7 g de mel e 3 g de cera de cada amostra, que foram previamente descongelados à temperatura ambiente. A extração dos resíduos de pesticidas foi realizada de acordo com uma modificação do método analítico "QuEChERS" ([Valdovinos-Flores et al., 2017](#)), previamente validado no Laboratório de Serviços Analíticos da Sede Nordeste do CIATEJ. Este método consiste em duas etapas: (1) a separação dos pesticidas da matriz com acetonitrila e (2) o extrato de limpeza. Foram utilizadas curvas de calibração matricial, os analitos e o padrão interno foram adicionados após a pesagem das amostras, antes da adição de solventes. 300 µL de extrato foram transferidos para frascos de 2 mL. Uma amostra foi injetada em um sistema de Cromatografia Líquida, acoplado a um espectrômetro de massa de tempo de voo (LC-QTOF); e outro em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massa com triplo quadrupolo (GC-MS/MS).

Extração em mel. De acordo com o método analítico “QuEChERS” modificado por [Valdovinos-Flores et al. \(2017\)](#), num tubo de centrífuga de 50 mL de plástico, foram pesados 7 g de mel, aos quais foram adicionados 10 mL de água desionizada. As amostras foram agitadas manualmente por um minuto, 15 mL de acetonitrila a 1% acidificado com ácido acético (v/v) foram adicionados e agitados novamente por 1 min. Posteriormente, foram utilizados 6 g de MgSO_4 e 1,5 g de acetato de sódio. Todas as amostras foram agitadas por 1 min e centrifugado a 4000 rpm por 5 min.

Para limpar o extrato, 8 mL do sobrenadante foram utilizados e transferidos para um tubo de 15 mL, com 400 mL de amina primária-secundária (PSA), 1200 mg de MgSO_4 e 400 mg de EC-C18; eles foram agitados por 1 min e centrifugado a 4000 rpm por 5 min.

Extração de cera. Para a extração dessa matriz, o método de [Niell et al. \(2014\)](#). 3 g de cera foram pesados em um tubo de centrífuga de 50 mL, 15 mL de acetonitrila acidificado a 1% com ácido acético (v/v) foram adicionados. Os tubos foram colocados em banho-maria a 80 °C até a cera derreter. Depois que a cera foi derretida, eles foram agitados por 20 segundos e foram novamente colocados no banho para que derreta. O processo de fundição e agitação foi repetido mais três vezes. As amostras foram colocadas à temperatura ambiente e depois mantidas em um freezer a -20 °C por duas horas.

Para limpar o extrato, 8 mL do sobrenadante foram removidos e transferidos para um tubo de 15 mL, com 400 mL de amina primária-secundária (PSA), 1200 mg de MgSO_4 e 400 mg de EC-C18. Eles foram agitados por 1 min e centrifugado a 4000 rpm por 5 min.

Cromatografia de líquidos acoplado a um espectrômetro de massas em tempo de voo (LC-QTOF). Para o análise de LC, um sistema HPLC foi usado da serie 1200 de Agilent (Agilent Technologies), com uma bomba binária acoplada um espectrômetro de massas G6530A Q-TOF (Agilent Technologies). A separação cromatográfica é obtida usando uma coluna Eclipse Plus C18 (100 mmx2.1 mm x 1.8 μm , Agilent Technologies). As fases móveis consistiam em água com 0.01% de ácido fórmico + 10 mM de formato de amônio (Solvente A) e metanol com 0.01% de ácido fórmico + 10 mM formato de amônio (Solvente B).

A injeção foi feita usando uma solução de auto-amostrador em que 3 μL de extrato foi misturado com 15 μL de solvente A. O gradiente de eluição foi o seguinte: 20-50% B a 0-3.5 min, 50-90% B a 3.25-8.81 min, 90-100% B a 8.81-10 min, 100% B a 10-12.8 min e re-equilíbrio nas condições iniciais de 12.9 min a 18 min. Uma fonte de ionização por electropulverização Agilent Jet-Stream, foi usada para análise espectrométrica de massa, que operou no modo iônico positivo com os seguintes parâmetros operacionais: modo de aquisição TOF MS, rango de aquisição de 50–950 m/z, N_2 a 180 °C e 13 L/min como gás de secagem, pressão do nebulizador a 40 psi, tensão do bocal a 0 V, gás da bainha a 300 °C e 10 L/min, tensão capilar a 4000 V, voltage skimmer a 65 V, voltage triturador

a 150 V, octapole RF a 750 V. Agilent Mass Hunter, Workstation sfoi usada para aquisição e análise de dados.

Cromatografia de gás acoplado um espectrômetro de massas triplo quadrúpolo (GC-MS/MS). Para a cromatografia de gás, foi usado um cromatógrafo de gás 7890A, acoplado um espectrômetro de massas triplo quadrúpode 7000B, com ionização por impacto de electrôns (EI), equipado com um autoamostrador 7693A (Agilent Technologies). A separação cromatográfica foi realizada usando duas colunas capilares DB-5 MS ultra interesse (15 m × 0.250 mm × 0.25 µm de espessura do filme; Agilent Technologies). Uma junta de extremidade purgada foi usada para conectar as duas colunas e uma lavagem foi realizada após cada execução. 2 µL do extrato foi injetados no modo sem divisão (5 min a 21.1 psi), com um fluxo constante de 1.0 mL/min (columna 1) e 1.2 mL/min (coluna 2).

O hélio de alta pureza foi usado como gás de arrastre. A configuração do injetor foi de 65 °C (contener 0.2 min) a 310 °C a 600 °C/min. A temperatura do forno foi programada para 60 °C (1 min) a 170 °C a 40 °C/min a 310 °C (4 min). El espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização (energía de ionização 70 eV); enquanto a linha de trasferência e a fonte de íons foram ajustadas a °C.

Para a seleção e quantificação das análises foi utilizado o modo de monitoramento de íons (SIM), selecionado com no mínimo três íons para cada análise. A velocidade de verificação para cada segmento foi estabelecida aproximadamente em duas verificações, para obter um mínimo de 10 pontos de dados por pico.

RESULTADOS

Tabela 1. Pesticidas encontrados em amostras de cera e mel em colônias de abelhas em colapso (BC), com histórico de colapso (CA) e sem histórico de colapso (SA), por LC-QTOF e GC-MS/MS

Grupo	Tipo de amostra	Inseticidas	Fungicidas	Acaricidas	Herbicidas	Total
BC	Cera	4	1	0	0	5
	Miel	2	1	0	0	3
CA	Cera	13	4	1	1	19
	Miel	5	2	0	0	7
SA	Cera	11	4	1	1	17
	Miel	5	0	0	0	5
	BC	6	2	0	0	8
	CA	18	6	1	1	26
	SA	16	4	1	1	22

Pesticidas detectados em cera e mel das colônias BC, CA e SA. Na cera, foi encontrada uma maior diversidade de pesticidas (inseticidas, fungicidas, acaricidas e herbicidas), em comparação com as amostras de mel (inseticidas e fungicidas). Por outro lado, o maior

número de pesticidas por grupos foi encontrado em colônias com histórico de colapso (20), seguido por colônias sem histórico (19) e, finalmente, naqueles em colapso (7). Esse mesmo comportamento foi observado ao separar os agrotóxicos por categoria, encontrando em todos os casos uma maior diversidade na CA, seguida pela SA e, finalmente, pela BC (Tabela 1).

Com relação à quantidade de agrotóxicos, o inseticida acetamipride foi o único detectado em todas as amostras de cera analisadas e esteve presente em maior quantidade nas colônias CA (0,686 mg kg⁻¹), seguido por BC (0,402 mg kg⁻¹) e, finalmente, por SA (0,234 mg kg⁻¹) (tabela 2). Esse mesmo inseticida estava presente em todas as amostras de mel, mas em maior quantidade nas colônias de BC (0,633 mg kg⁻¹), seguido pelo SA (0,404 mg kg⁻¹) e, finalmente, o CA (0,266 mg kg⁻¹). (tabela 3)

Por outro lado, o malatión inseticida foi encontrado em 11 amostras de cera das colônias CB, CA e SA; no entanto, os valores foram baixos. Deve-se acrescentar que a permetrina cis foi encontrada apenas em seis amostras de cera CA (0,087 mg kg⁻¹) e SA (0,002 mg kg⁻¹) (Tabela 2).

Tabela 2. Média de pesticidas (mg kg⁻¹) na cera de colônias de abelhas sob (BC), com (CA) e sem (SA) histórico do colapso, detectado por LC-QTOF e GC-MS/MS

Pesticidas Amostra	BC		CA					SA					Positivas	BC ($\bar{x}$)	CA ($\bar{x}$)	SA ($\bar{x}$)
	1	2	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5				
A	0.569	0.235	1.716	0.062	0.64	0.735	0.28	0.198	0.072	0.311	0.35	0.237	12	0.402	0.686	0.234
	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL	CL				
B			0.009	0.032	T	0.008							4			
			CL	CL	CL	CL										
C								0.006					1			
								CL- CG								
D			0.025	0.024	0.023	0.025	0.025		0.024	0.021	0.023	0.023	9		0.025	0.023
			CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG		CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG				
E							T						1			
							CL									
F			0.018		0.009		0.008	0.006				0.008	5		0.012	0.007
			CL		CL		CL	CL				CL				
G	0.004		0.004		0.007		0.006	0.01	0.022	0.025			7		0.006	0.019
	CL- CG		CL- CG		CL- CG		CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG						
H						T				T			2			
						CL				CL						
I			0.011	0.013	0.059	T	0.02		0.004	0.01	0.008	0.003	9		0.026	0.006
			CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG		CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG				

J					0.116				0.052						2			
					CL				CL									
K			T						T						2			
			CL						CL									
L	T	0.005	0.034	0.019	0.008	0.041	0.006	0.008	0.008		0.009	T	11	0.005	0.022	0.008		
	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG		CL- CG	CL- CG						
M			0.015	0.018	0.007	0.013	0.014				0.028	0.015	0.01	8		0.013	0.018	
			CL	CL	CL	CL	CL				CL	CL	CL					
N							0.007				0.007			2				
							CL				CL							
Ñ							T		T					2				
							CL		CL									
O	0.006		T	0.004	T			T		T	T	T	T	9				
	CL- CG		CL- CG	CL- CG	CL- CG			CL- CG		CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG					
P			0.323	0.012	0.002			0.01		0.001	0.003		6		0.087	0.002		
			CL- CG	CL- CG	CL- CG			CL- CG		CL- CG	CL- CG							
Q			0.206	0.007	0.001	T		0.003		0.001	0.001		7		0.054	0.001		
			CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG	CL- CG			CL- CG	CL- CG							
R			T					T					2					
			CL					CL										
S							0.005						1					
							CL											
T		T							T				2					
		CL							CL									
U									0.009				1					
									CL- CG									

A: Acetamiprid, B: Carbendazim, C: Carfentrazona etil, D: Clorpirifós, E: Clorantpriliprole, F: Coumaphos, G: Deltametrina, H: Dimetoato, I: Fluoxastrobina, K: Imidaclopride, L: Malatião, M: Malaoxon, N: Metoxifenoza, Ñ: Propargita, O: Pentaclorofenol, P: Permetrina, cis-, Q: Permetrina, trans-, R: Piraclostrobina, S: Tebutiuron, T: Tiofanato, U: Trifloxistrobina.

T: Traços, CL: Cromatografia líquida CG: Cromatografia gasosa

DISCUSSÃO

Diversidade de pesticidas em cera e mel. As amostras de cera apresentaram maior diversidade de pesticidas (inseticidas, fungicidas, acaricidas e herbicidas), em comparação com as do mel. Do mesmo modo, [Johnson et al. \(2010\)](#), relatam a presença ocasional de resíduos de pesticidas no mel, uma vez que a maioria dos pesticidas é hidrofóbica e pode ser transferida mais facilmente por meio de interações das abelhas em direção à cera ([Calatayud-Vernich et al., 2018](#)). Portanto, os pesticidas podem ser encontrados com mais frequência na cera do que no mel; ou, embora os níveis de

pesticidas no mel sejam baixos, eles tendem a contaminar a cera devido à sua natureza lipofílica (Valdovinos-Flores *et al.*, 2017); bem como uma baixa substituição de cera na colméia e reciclar para reintroduzir. Portanto, pesticidas altamente hidrofóbicos e estáveis são os principais fatores para o armazenamento de pesticidas em cera (Calatayud-Vernich *et al.*, 2018).

Tabela 3. Média de pesticidas (mg kg⁻¹) no mel de colônias de abelhas sob (BC), com (CA) e sem (SA) histórico de colapso, detectado por LC-QTOF

	Amostra	Pesticidas em mel							
		A	B	C	D	E	F	G	H
BC	1	0.579	0.004				0.006		
	2	0.687	traços						
CA	1	0.255				traços	0.006		
	2	0.141	0.008		traços	traços			
	3	0.105						0.002	
	4	0.600						0.004	
	5	0.231		0.008				0.003	
SA	1	0.787				traços	0.007	0.005	
	2	0.101						0.014	traços
	3	0.290				traços			
	4	0.487					0.009		
	5	0.353							
Positivas		12	3	1	1	4	4	5	1
Média BC		0.633							
Média CA		0.266						0.003	
Média SA		0.404						0.010	

A: Acetamipride, B: Carbendazim, C: Imidaclopride, D: Fluoxastrobina, E: Dimetoato, F: Malaoxon, G: Metamidofós, H: Ometoato.

Do total de pesticidas, os inseticidas foram os principais encontrados nas amostras de cera, com 59,1%, que correspondem principalmente a organofosforados (clorpirifós, malatião, coumafós, dimetoato e malaoxon), piretróides (deltametrina, permetrina cis e trans), neonicotinóides (acetamipride e imidaclopride) e organoclorados (pentaclorofenol). Da mesma forma, organofosforados (dimetoato de malaoxon, metamidofós e ometoato) e neonicotinóides (acetamipride e imidaclopride) foram encontrados no mel; representando 75,0% das amostras. A presença de inseticidas no

mel e na cera de abelha representa o maior risco de polinização de insetos ([Botías y Sánchez-Bayo, 2018](#); [Ostiguy et al., 2019](#)); portanto, a detecção e quantificação destes nas amostras analisadas refletem sua alta exposição às abelhas, causando danos irreversíveis em algumas colônias.

Os fungicidas em cera (27,3%) e mel (25,0%) foram a segunda classe de pesticidas encontrados com maior presença. [Botías y Sánchez-Bayo \(2018\)](#) apontam que alguns fungicidas podem aumentar a toxicidade dos inseticidas, reduzindo a capacidade de desintoxicação das abelhas. Também se constatou que resíduos de fungicidas em colônias estão relacionados à prevalência de doenças em abelhas ([Simon-Delso et al., 2014](#)). Além disso, sugere-se que o efeito dos fungicidas nos polinizadores não seja devido à toxicidade direta, mas devido à alteração do microbioma presente no pólen e no néctar das plantas tratadas e/ou contaminadas pelas quais as abelhas se alimentam e por si próprias flora bacteriana ([VanEngelsdorp et al., 2009](#)); que tem consequências importantes sobre a nutrição e o estado de saúde das abelhas.

Finalmente, herbicidas (9,1%) e acaricidas (4,5%) são os pesticidas com menor presença nas amostras de cera analisadas. Os herbicidas não representam toxicidade aguda para insetos polinizadores ([Botías y Sánchez-Bayo, 2018](#)); no entanto, seu uso afeta indiretamente as abelhas, porque elas eliminam um grande número de plantas silvestres e reduzem a diversidade floral, que é a principal fonte de alimento ([Bohnenblust et al., 2016](#)); a baixa presença de herbicidas nas amostras analisadas pode ser atribuída a isso.

No caso dos acaricidas, que são usados para controlar o *Varroa destructor*, eles podem atuar de forma aditiva ou sinérgica com resíduos de inseticidas em colônias de abelhas ([Johnson et al., 2013](#)); no entanto, no nosso caso, os acaricidas encontrados nas amostras foram de 4,5% do total de pesticidas, motivo pelo qual estes possivelmente causam efeitos adversos menores nas colônias de abelhas.

Diversidade de pesticidas em cera e mel das colônias BC, CA e SA. Colônias com histórico de colapso apresentaram maior diversidade de pesticidas (20), em comparação com colônias sem histórico (19) e colônias com colapso (7). Isso também se reflete desagregando pesticidas em inseticidas, fungicidas, acaricidas e herbicidas; exceto nos dois últimos casos, onde não houve presença no BC, e a diversidade foi semelhante nas colônias CA e SA.

[Alcántar-Rosales et al. \(2016\)](#), relatam dados semelhantes em mel e cera a respeito da diversidade reduzida de pesticidas para as colônias que entraram em colapso, encontrando dois pesticidas (neonicotinóides e organofosfatos) nas amostras de mel e quatro (organofosforados, benzimidazol, piretróides e derivados de piridina) na cera; no entanto, eles estão em baixas concentrações. Em relação a isso, a cera contaminada com pesticidas, estando em contato com o ovo em desenvolvimento até a abelha emergir, pode causar efeitos sub-letais nas abelhas operárias, afetando principalmente o

desenvolvimento larval e a longevidade das abelhas (Wu *et al.*, 2011); ser capaz de causar efeitos indiretos na colônia, como alterações prematuras no papel das abelhas e na atividade de forrageamento. Para o presente caso, as colônias que desabaram apresentaram a menor diversidade de pesticidas, mas em grandes quantidades; possivelmente mostrando que a presença de inseticidas e fungicidas afetou as abelhas, causando seu colapso.

Também é importante destacar que a presença de pesticidas se deve ao manejo das colmeias (estacionárias e migratórias), bem como à localização do apiário, entre outros fatores (Ostiguy *et al.*, 2019). Para o nosso caso, nos três grupos (CA, SA e BC), a maioria das colmeias é mobilizada, e foi relatado que a mobilização de colmeias destinadas à polinização causa maior exposição a pesticidas (Traynor *et al.*, 2016). No nosso caso, os apicultores os mobilizam, por dois motivos: a busca por flores e quando são alugados para polinização das culturas. Esse manejo pode causar estresse nas abelhas, tornando-as mais suscetíveis ao envenenamento por pesticidas (Sánchez-Bayo *et al.*, 2016).

A localização dos apiários também é um fator importante, devido ao efeito que a vegetação circundante terá sobre as colméias. Demonstrou-se que a agricultura intensificada causa perda de habitats naturais; portanto, o cultivo intensivo e, em geral, a falta de biodiversidade das plantas limitam a quantidade de alimentos, o que causa uma diminuição na abundância e riqueza dos polinizadores; bem como um impacto na saúde das abelhas (Kovács-Hostyánszki *et al.*, 2017).

No nosso caso, a vegetação circundante no momento da amostragem e as culturas que são plantadas principalmente são as seguintes: para o grupo BC, a vegetação predominante foi pinabete (*Tamarix* spp.); e as culturas próximas aos apiários foram milho (*Zea mays*), alfafa (*Medicago sativa*) e algodão (*Gossypium* spp.). Para o grupo CA, a vegetação predominante foi pinabete (*Tamarix* spp.) e mesquite (*Prosopis laevigata*), com culturas de milho (*Z. mays*), sorgo (*Sorghum vulgare*), algodão (*Gossypium* spp.), alfafa (*M. sativa*), melancia (*Citrullus lannatus*), melão (*Cucumis melo*), pimentão (*Capsicum annuum*) e abóbora (*Cucurbita pepo*). Finalmente, para o grupo SA, a principal vegetação predominante foi o mesquite (*P. laevigata*) e o pinabete (*Tamarix* spp.). Nas culturas de alfafa (*M. sativa*), milho (*Z. mays*), sorgo (*S. vulgare*) e algodão (*Gossypium* spp.). Isso evidencia que as colméias da região estão amplamente expostas a pesticidas, o que significa que as áreas agrícolas contribuem para a alta presença de pesticidas nos produtos das colméias (Traynor *et al.*, 2016).

A maior diversidade de resíduos de pesticidas foi encontrada no mel e na cera nas colônias da CA, podendo estar relacionada à quantidade de culturas próximas às colônias onde as amostras foram coletadas; no entanto, a quantidade de pesticidas foi menor em comparação com colônias em colapso com a presença de grandes quantidades de pesticidas no mel e na cera. Isso possivelmente se deve ao fato dessas colônias apresentarem maior exposição às culturas tratadas ou a uma aplicação recente de

pesticidas durante a estadia das colônias em relação à CA e SA; por apresentarem níveis mais baixos de pesticidas, mesmo estando na mesma região.

A exposição crônica de abelhas a pesticidas em doses subletais pode afetar funções neurológicas, como memória e comportamento; sintomas que podem ocorrer antes do colapso da colméia (Lu *et al.*, 2014). Além disso, a exposição a pragas, doenças, má nutrição ou a interação entre pesticidas e patógenos contribuem para a mortalidade de colônias de abelhas (Broadrup *et al.*, 2019), que possivelmente ocorreu nas colônias do BC.

Quantidade de pesticidas em amostras de mel e cera. O inseticida encontrado em todas as amostras de mel e cera foi o acetamipride, que também foi o que apresentou a maior quantidade média, tanto no mel ($0,385 \text{ mg kg}^{-1}$) quanto na cera ($0,316 \text{ mg kg}^{-1}$); exceder os limites máximos de resíduos (LMR) da União Europeia (UE) ($0,05 \text{ mg kg}^{-1}$). Dados relatados por Gawel *et al.* (2019) no mel diferem das nossas, cujas concentrações são baixas e variam de 0,001 a $0,13 \text{ mg kg}^{-1}$. Da Silva *et al.* (2015), relatam uma média de $0,0025 \text{ mg kg}^{-1}$.

Estudos realizados por El Hassani *et al.*, (2008) indicam que o consumo desse pesticida em doses subletais de $0,1 \mu\text{g/abelha}$ afeta seu comportamento e aprendizado olfativo, devido ao seu efeito imunossupressor (Di Prisco *et al.*, 2013), causando maior suscetibilidade à infecção pelo microsporídeo *Nosema* (Broadrup *et al.*, 2019). Além disso, o enfraquecimento imunológico favorece a disseminação do ácaro *Varroa* nas colônias de abelhas, que é uma fonte de transmissão de vírus (Di Prisco *et al.*, 2016); como o Vírus de Asas Deformadas (DWV), o Vírus de Paralisia Aguda de Israel (IAPV), o Vírus de Paralisia Aguda (ABPV) e o Vírus da Caxemira (KBV) (Belsky y Joshi, 2019; Brutscher *et al.*, 2016). A combinação dessas doenças com inseticidas neonicotinóides contribui para o colapso das colmeias (Sánchez-Bayo *et al.*, 2016). Além disso, o acetamipride pode apresentar efeitos sinérgicos quando combinado com outros pesticidas (Wang *et al.*, 2019), o que possivelmente explica o colapso das colônias nessa região. Além disso, eles provavelmente tiveram mais tempo de exposição a pesticidas.

O segundo pesticida em frequência foi o malatião, encontrado em 11 amostras de cera com níveis de 0,005 a 0,041 e média de $0,015 \text{ mg kg}^{-1}$; número que não exceda os LMR da UE de $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$. Para o norte do México Valdovinos-Flores *et al.* (2017), relatam a presença de malatião em 100% das amostras de cera, com níveis variando de 0,006 a $1,532 \text{ mg kg}^{-1}$, com média de $0,018 \text{ mg kg}^{-1}$. O malatião, utilizado na agricultura como inseticida e acaricida e no controle de pragas urbanas, apresenta baixa persistência e alta toxicidade em insetos (Toxnet, 2019).

Os resultados deste estudo demonstram uma alta incidência de malatião organofosfato no norte do México e, embora tenha baixa persistência, é de alta incidência nas amostras analisadas. Isso provavelmente é explicado pela aplicação de organofosfato próximo às

colmeias antes da coleta das amostras, uma vez que, como mencionado anteriormente, a maioria das colmeias se move em busca de floração e está localizada principalmente perto de culturas agrícolas.

Por fim, a permetrina cis- foi encontrada com menor frequência (seis amostras de cera), mas em maior quantidade ($0,087 \text{ mg kg}^{-1}$); no entanto, a UE não especifica seu LMR. Dados semelhantes são relatados por [Johnson et al. \(2010\)](#), com valores de $0,133 \text{ mg kg}^{-1}$. No entanto, esse inseticida é altamente tóxico para as abelhas, com LD50 tópico de $0,024 \text{ µg/abelha}$ ([Piccolomini et al., 2018](#)). A exposição prolongada de piretróides pode afetar a imunidade celular e humoral; bem como a diminuição da imunidade das abelhas ([Qi et al., 2019](#)). A permetrina é usada principalmente como inseticida e acaricida no tratamento de sementes de uso florestal e no controle de vetores ([Toxnet, 2019](#)); e seu amplo uso pode ser o motivo de sua maior quantidade e presença nas amostras analisadas, uma vez que algumas provêm da proximidade de áreas agrícolas.

É importante observar que La Comarca Lagunera tem sido uma referência em termos de plantio de algodão, cultivo de forragem para gado e também a produção hortícola está em ascensão ([SIAP, 2019](#)); tornando a uma região onde uma grande diversidade de pesticidas foi usada, muitos dos quais com efeito residual ([Vargas-González et al., 2016](#)). Portanto, práticas agrícolas inadequadas e uso e manejo ineficientes de pesticidas ([Esquivel-Valenzuela et al., 2019](#)) criaram um sério problema de saúde pública, devido ao envenenamento por agroquímicos e pelo meio ambiente; destacando os danos causados à apicultura por seu efeito no colapso das colmeias.

CONCLUSÕES

A maior quantidade de pesticidas foi encontrada na cera das colônias com histórico de colapso; assim, eles também apresentam a maior diversidade (inseticidas, fungicidas, acaricidas e herbicidas). A presença de pesticidas no mel e na cera das colônias sob, com e sem histórico de colapso pode ser consequência dos tratamentos fitossanitários utilizados na agricultura, para que sua presença seja influenciada pela origem da amostra, uma vez que o raio de ação das abelhas é de até dez quilômetros. No entanto, nossos dados não nos permitem afirmar que a presença de pesticidas é a principal ou única causa do colapso das colônias; e, portanto, é necessário continuar com esse tipo de pesquisa para determinar os fatores que afetam a saúde das abelhas, como a presença de pesticidas, parasitas e doenças na região.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Nacional de Pesquisa Florestal, Agrícola e Pecuária pela oportunidade de fazer um doutorado; ao UAAAN pelo financiamento dos projetos 2834 e 2835; a sede do CIATEJ A.C Nordeste e o QFB Víctor Alcántar Rosales pelo apoio no processo e análise das amostras; aos apicultores pelas instalações para colher as amostras e aplicar o questionário.

LITERATURA CITADA

- ALCÁNTAR-ROSALES VM, Heras-Ramírez ML, Valdovinos-Flores C, Saldaña-Loza LM, Reyes-Carrillo JL, Dorantes-Ugalde JA, Gaspar-Ramírez O. 2016. Current Situation of Pesticide Use in Mexico and Its Relationship with Colony Collapse Disorder, an Emerging Problem. XVI International Congress of Toxicology. Mérida, México.
- BALBUENA MS, Tison L, Hahn ML, Greggers U, Menzel R, Farina WM. 2015. Effects of Sublethal Doses of Glyphosate on Honeybee Navigation. *Journal of Experimental Biology*. 218: 2799-2805. [https://doi.org/ 10.1242/jeb.117291](https://doi.org/10.1242/jeb.117291)
- BELSKY J, Joshi NK. 2019. Impact of biotic and abiotic stressors on managed and feral bees. *Insect* 10 (233): 1-42. [https://doi.org/ 10.3390/insects10080233](https://doi.org/10.3390/insects10080233).
- BENUSZAK J, Laurent M, Chauzat MP. 2017. The exposure of honey bees (*Apis mellifera*; Hymenoptera: Apidae) to pesticides: Room for improvement in research. *Science of The Total Environment*. 587-588:423-438. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.02.062>
- BOHNENBLUST EW, Vaudo AD, Egan JF, Mortensen DA, Tooker JF. 2016. Effects of the herbicide dicamba on nontarget plants and pollinator visitation. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 35(1):144-51. <https://doi.org/10.1002/etc.3169>
- BOTÍAS C, Sánchez-Bayo F. 2018. Papel de los plaguicidas en la pérdida de polinizadores. *Ecosistemas*. 27(2):34-41. <https://doi.org/10.7818/ECOS.1314>
- BROADRUP RL, Mayack C, Schick SJ, Eppley EJ, White HK, y Macherone A. 2019. Honey bee (*Apis Mellifera*) exposomes and dysregulated metabolic pathways associated with *Nosema ceranae* infection. *PLoS ONE* 14 (4): 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215166>
- BRUTSCHER LM, McMenamin AJ, Flenniken ML. 2016. The Buzz about Honey Bee Viruses. *PLoS Pathogens*. 12(8):1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005757>
- CALATAYUD-VERNICH P, Calatayud, F, Simó E, Picó Y. 2018. Pesticide residues in honey bees, pollen and beeswax: Assessing beehive exposure. *Environmental Pollution*. 241:106-114. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.062>
- CRESSWELL JE, Thompson HM. 2012. Comment on A Common Pesticide Survival in Honey Bees. *Science*. 337:1453-b. <https://doi.org/10.1126/science.1224618>
- DA SILVA PI, Oliveira FAS, Pedroza HP, Gadelha ICN, Melo MM, Soto-Blanco B. 2015. Pesticide exposure of honeybees (*Apis Mellifera*) pollinating melon crops. *Apidologie*. 46 (6): 703-15. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0360-3>
- DI PRISCO G, Annoscia D, Margiotta M, Ferrara R, Varricchio P, Zanni V, Caprio E, Nazzi F, Pennacchio F. 2016. A mutualistic symbiosis between a parasitic mite and a pathogenic virus undermines honey bee immunity and health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113: 1-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1523515113>
- DI PRISCO G, Cavaliere V, Annoscia D, Varricchio P, Caprio E, Nazzi F, Gargiulo G,

- Pennacchio F. 2013. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 110: 18466-18471. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314923110>
- EL HASSANI AK, Dacher M, Gary V, Lambin M, Gauthier M, Armengaud C. 2008. Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 54(4):653-661. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9071-8>
- ESQUIVEL-VALENZUELA B, Cueto-Wong JA, Valdez-Cepeda RD, Pedroza-Sandoval A, Trejo-Calzada R, Pérez-Veyna O. 2019. Prácticas de manejo y análisis de riesgo por el uso de plaguicidas en La Comarca Lagunera, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 35(1):25-33. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.01.02>
- GAWEŁ M, Kiljanek T, Niewiadowska A, Semeniuk S, Goliszek M, Burek O, Posyniak A. 2019. Determination of neonicotinoids and 199 other pesticide residues in honey by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*. 282: 36-47. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.003>
- JOHNSON RM, Dahlgren L, Siegfried BD, Ellis MD. 2013. Acaricide, Fungicide and Drug Interactions in Honey Bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE*. 8(1):e54092. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054092>
- JOHNSON RM, Ellis MD, Mullin CA, Frazier M. 2010. Pesticides and honey bee toxicity – USA. *Apidologie*. 41:312-331. <https://doi.org/10.1051/apido/2010018>
- KOVÁCS-HOSTYÁNSZKI A, Espíndola A, Vanbergen AJ, Settele J, Kremen C y Dicks LV. 2017. Ecological intensification to mitigate impacts of conventional intensive land use on pollinators and pollination. *Ecology Letters*. 20: 673-89. <https://doi.org/10.1111/ele.12762>
- LOZANO A, Hernando MD, Uclés S, Hakme E, Fernández-Alba AR. 2019. Identification and measurement of veterinary drug residues in beehive products. *Food Chemistry*. 274: 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.055>
- LU C, Warchol KM, Callahan RA. 2014. Sub-lethal exposure to neonicotinoids impaired honey bees winterization before proceeding to colony collapse disorder. *Bulletin of Insectology*. 67(1):125-130. <https://doi.org/http://www.bulletinofinsectology.org>
- NIELL S, Hepperle J, Doerk D, Kirsch L, Kolberg D. 2014. QuEChERS-Based Method for the Multiresidue Analysis of Pesticides in Beeswax by LC-MS/MS and GC×GC-TOF. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62:3675-3683. <https://doi.org/10.1021/jf405771t>
- O'NEAL ST, Anderson TD, Wu-Smart JY. 2018. Interactions between pesticides and pathogen susceptibility in honey bees. *Current Opinion in Insect Science*. 26: 57-62. <https://doi.org/10.1016/J.COIS.2018.01.006>
- OLLERTON J. 2017. Pollinator diversity: distribution, ecological function, and conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 48: 353-76. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022919>

- OSTIGUY N, Drummond FA, Aronstein K, Eitzer B, Ellis JD, Spivak M, Sheppard WS. 2019. Honey bee exposure to pesticides: A four-year nationwide study. *Insects*. 10(1):1-34. <https://doi.org/10.3390/insects10010013>
- PICCOLOMINI AM, Whiten RS, Flenniken ML, O'Neill KM, Peterson RKD. 2018. Acute toxicity of permethrin, deltamethrin, and etofenprox to the alfalfa leafcutting bee. *Journal of Economic Entomology*. 111 (3): 1001-5. <https://doi.org/10.1093/jee/toy014>
- QI S, Niu X, Wang DH, Wang C, Zhu L, Xue X, Zhang Z, Wu L. 2019. Flumethrin at sublethal concentrations induces stresses in adult honey bees (*Apis mellifera* L.). *Science of the Total Environment*. 700. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134500>
- SÁNCHEZ-BAYO F, Goulson D, Pennacchio F, Nazzi F, Goka K, Desneux N. 2016. Are bee diseases linked to pesticides? A brief review. *Environment International*. 89-90:7-11. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.01.009>
- SIAP. Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera. 2018. Abejas población apícola. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) 2019. Coahuila Infografía agroalimentaria 2018. file:///E:/Plaguicidas/Coahuila-Infografia-Agroalimentaria-2018.pdf.
- SIMON-DELSON N, Martin GS, Bruneau E, Minsart LA, Mouret C, Hautier L. 2014. Honeybee colony disorder in crop areas: The role of pesticides and viruses. *PLoS ONE*. 9(7):1-16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103073>
- TOSI S, Démares FJ, Nicolson SW, Medrzycki P, Pirk CWW, Human H. 2016. Effects of a neonicotinoid pesticide on thermoregulation of African honey bees (*Apis mellifera scutellata*). *Journal of Insect Physiology*. 93:56-63. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.08.010>
- TOXNET (Toxicology Data Network). 2019. <https://toxnet.nlm.nih.gov/newtoxnet/hsdb.htm>
- TRAYNOR KS, Pettis JS, Tarpy DR, Mullin CA, Frazier JL, Frazier M, vanEngelsdorp D. 2016. In-hive Pesticide Exposome: Assessing risks to migratory honey bees from in-hive pesticide contamination in the Eastern United States. *Scientific Reports*. 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep33207>
- VALDOVINOS-FLORES C, Gaspar-Ramírez O, Dorantes-Ugalde JA. 2017. Agricultural pesticide residues in honey and wax combs from Southeastern, Central and Northeastern Mexico. *Journal of Apicultural Research*. 56(5):667-679. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1340798>
- VANENGELSDORP D, Evans JD, Donovall L, Mullin C, Frazier M, Frazier J, Tarpy DR, Hayes J, Pettis JS. 2009. Entombed Pollen: A new condition in honey bee colonies associated with increased risk of colony mortality. *Journal of Invertebrate Pathology* 101 (2):147-149. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.03.008>
- VARGAS-GONZÁLEZ G, Alvarez-Reyna P, Guigón-López V, Cano-Ríos P, Jiménez-Díaz F, Vásquez-Arroyo J, García-Carrillo M. 2016. Patrón de uso de plaguicidas de alto riesgo

en el cultivo de melón (*Cucumis melo* L.) en La Comarca Lagunera. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 3(9):135 https://doi.org/10.1007/978-3-540-71095-0_2550

WANG Y, Cheng ZY, Li W. 2019. Interaction patterns and combined toxic effects of acetamiprid in combination with seven pesticides on honey bee (*Apis Mellifera* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 190. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2019.110100>

WILMART O, Legre A, Graaf DC, Steurbaut W, Delahaut P, Gustin P, Nguyen BK, Saegerman C. 2016. Residues in Beeswax: A Health Risk for the Consumer of Honey and Beeswas?. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02813>

WU JY, Anelli CM, Sheppard WS. 2011. Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity. *PLoS ONE*. 6(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014720>

Publique seus resultados de pesquisa em revistas abanico.

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico>